

VIBRIO DUODENALIS n. sp.

Por RICARDO A. MARGNI

Por tratarse de un vibrión no identificado entre los conocidos y por presentar la paciente de la cual fué aislado ciertas manifestaciones clínicas diferentes a las observadas en las enfermedades a vibrios, es que hacemos esta comunicación.

La historia clínica de la enferma, por conceptuarla de interés la transcribimos en forma resumida:

C. M. de B., viuda, de 56 años de edad, presenta desde hace aproximadamente tres años, accesos febriles que llegan a 38° - 39°C, que la mantienen postrada por una semana, con una neuritis generalizada y que principalmente ataca a los huesos pelvianos, articulaciones de los brazos y occipito-atloidea, y además con todas las manifestaciones secundarias que acompañan a las elevaciones térmicas y que se repiten periódicamente cada dos o tres meses. Durante estos accesos se le ha aplicado sulfamidas, penicilina y estreptomycin, demostrando esta última cierta acción favorable, no así las dos primeras. Creyóse en primer momento que la causa era una sinusitis maxilar, de la que fué tratada, pero sin lograr modificación alguna en los procesos térmicos periódicos. Fué examinada por varios facultativos, algunos de los cuales llegaron a pensar que se trataba de un caso de paludismo, pero en los exámenes de laboratorio que le efectuamos no pudimos constatar la presencia de Plasmodium, siendo asimismo negativos los hemocultivos practicados y las reacciones de aglutinación para Salmonellas y Brucella. Le hicimos además otros exámenes de laboratorio, sin que los mismos aportaran datos de interés, a excepción de las eritrosedimentaciones que siempre fueron muy aceleradas (Índices de Katz comprendidos entre 20 y 50).

Es de hacer notar que la enferma nunca ha tenido diarreas y que por el contrario, padece de estreñimiento.

El último de los facultativos que la atendió, sospechando una infección de vías biliares, le ordenó una prueba de Meltzer-Lyon con el correspondiente estudio bacteriológico de las distintas fracciones de bilis. Cuando practicamos el sondaje, y por tres veces consecutivas, previa preparación de la enferma con antiespasmódicos y sedantes, encontramos dificultades en la ejecución del sondaje, y tras múltiples esfuerzos y aun después de haber aplicado estímulos, sólo pudo extraerse al estado de pureza unos mililitros de líquido duodenal, entendiéndose por tal, según V. Lyon, al líquido alcalino, color amarillo limón que se obtiene cuando la sonda ha penetrado en el duodeno y antes de haberse aplicado excitantes. En realidad se trata de una mezcla de bilis C (bilis hepática), líquido pancreático y secreción intestinal propia.

Esta bilis fué sembrada en los medios ordinarios y cultivó al estado de pureza, un bacilo incurvado, gram negativo, con ciertos caracteres morfológicos semejantes a los de un vibrión, lo que nos llevó a efectuar el minucioso estudio bacteriológico que se detalla a continuación.

MORFOLOGIA: Bastones cortos, incurvados, de 0,6 a 0,7 μ x 2 a 5 μ , presentando frecuentemente formas degenerativas de aspecto cocobacilar, filamentoso o espirilar, agrupándose en cadenas, acentuándose estas formas irregulares en los cultivos en medio ácido o adicionados de antisépticos.

No toma el gram, no forma cápsula ni esporas. No es ácidorresistente. Los frotos efectuados con material tomado de cultivos adicionados de hidratos de carbono dejan ver muy frecuentemente bastones cortos, teñidos intensamente en la parte central, a diferencia de los efectuados con cultivos en caldo de 48 horas, en los que se observa bacilos con tinción bipolar. Después de varios repiques en agar, en los preparados se observan pequeños bacilos muy semejantes al *Bacterium coli*. Es móvil, desplazándose con movimientos rotatorios merced a un flagelo polar, difícil de teñir; sólo se ha conseguido buena tinción por el método de Casares Gil.

CARACTERES CULTURALES: Cultiva bien en los medios comunes, ya a temperatura ambiente o a 37°C. La supervivencia es mayor a temperatura ambiente.

Caldo: Desarrollo abundante a las 24 horas, con enturbiamiento uniforme. A las 48 horas forma anillo y

ligero depósito; no forma película. El medio se alcaliniza.

Agua peptonada: A las 12 horas hay desarrollo, siendo muy marcada a las 24 horas semejante al observado en caldo. Se alcaliniza.

Leche: Desarrolla bien: coagula en 48 horas con producción de ácido.

Bilis: Desarrollo abundante.

Medio de Mac Conkey (líquido): Buen desarrollo.

Medio de Koser: Enturbiamiento franco a las 24 horas.

Medio de Yen: Cultiva bien.

Caldo con 4 por ciento de ClNa: Cultiva con dificultad.

Gelatina punción: Es licuada rápidamente en forma sacular. A la semana la licuación es total.

Agar Placa: Se obtienen tres tipos de colonias de color blanco amarillento.

- a) Colonias lisas, de 2 a 3 mm. de diámetro, de bordes seguidos, semejantes a las de las Enterobacteriáceas.
- b) Colonias rugosas, más opacas y densas que las anteriores.
- c) Pequeñas colonias esferoidales, de borde seguido, ligeramente elevadas.

Cualquiera de los tres tipos de colonias al ser repicadas dan colonias del tipo a).

Agar Estria: Desarrollo abundante a las 24 horas, de color blanco amarillento, de aspecto cremoso.

Agar sangre: Desarrollo semejante al observado en agar simple. Hemólisis muy marcada.

Papa simple alcalinizada: Cultivo de aspecto cremoso, con tinte pardo rosado a las 24 horas, tomando después de las 48 horas un color café con leche.

FISILOGIA

RELACIONES CON LA TEMPERATURA. — Cultiva bien a temperatura ambiente y a 37°C. A temperaturas inferiores a 20°C se obtienen cultivos muy pobres. El calor húmedo a 60°C produce la muerte de las bacterias (siembras efectuadas en caldo peptonado) en seis minutos.

RELACIONES CON EL pH. — A pH 5,5 da cultivos muy pobres, al igual que en medios muy alcalinos (pH superiores a 9). Los mejores desarrollos se obtienen a pH 8 - 8,5.

RELACIONES CON EL OXIGENO. — Es aerobio y anaerobio facultativo. Cultiva bien en los medios de Tarozzi, Veillon y caldo en tubos de Hall.

ACCION SOBRE LAS PROTEINAS Y DERIVADOS. — Licúa la gelatina. La producción de indol es positiva. Producción de H_2S : positiva. Reacción del rojo cólera: positiva débil. Producción de NH_3 : positiva intensa. Reducción de los nitratos a nitritos: positiva. Producción de metil acetil carbinol (V. P.) negativa.

ACCION SOBRE LOS HIDRATOS DE CARBONO. — Fermenta con producción de ácido y gas a la glucosa, sacarosa, manita, lactosa y salicina, siendo la reacción más intensa en las dos primeras. Las pruebas de fermentación fueron hechas por duplicado, en agar blando y en agua peptonada con tubos de Durhan invertidos, adicionados de los respectivos hidratos de carbono, con resultados concordantes. Las lecturas del poder fermentativo deben hacerse a las 24 horas, como máximo a las 48 horas, ya que, dado que el germen es productor activo de NH_3 , lecturas efectuadas a un tiempo mayor podrían falsear los resultados.

Hidrólisis del almidón: positiva franca.

Reacción del rojo de metilo (R. M.): negativa.

Reducción del azul de metileno: negativa.

Reacción de las catalasas: positiva.

RELACION CON LOS ANTIBIOTICOS. — Se ensayó resistencia frente al sulfatiazol, penicilina y estreptomycin. Para cultivos en caldo se necesitó las siguientes cantidades de antibiótico para inhibir el desarrollo:

Sulfatiazol 2,2 mgr. por ml.

Penicilina 1,0 Un. Oxf. por ml.

Estreptomycin 0,0008 mgr. por ml.

Como puede verse se trata de un germen marcadamente resistente a las sulfamidas y penicilina, siendo más sensible a la estreptomycin, lo que está de acuerdo con la clínica, ya que fué esta última droga la única que consiguió disminuir la temperatura de la enferma durante los accesos febriles.

PATOGENIA. — No tiene acción patógena sobre palomas, cobayos o conejos. En estos últimos, cuando la inyección se hace por vía endovenosa se observa una ligera necrosis en el punto de inoculación.

Marcada virulencia en lauchas. Las inoculadas por vía intramuscular, subcutánea o intraperitoneal mueren

a las 24 horas por septicemia, pudiéndose en estos casos aislar el germen al estado de pureza de la sangre obtenida por punción cardíaca y del líquido de lavado peritoneal.

Cuando las lauchas se inoculan por vía venosa (vena caudal), mueren en 48 horas, presentando la cola una marcada necrosis; si la supervivencia se prolonga 72 horas o más, la cola se desprende antes de la muerte del animal.

PRODUCCIÓN DE TOXINAS. — Hemolisinas: acción hemolítica muy marcada sobre los glóbulos rojos de conejo.

Se efectuaron cultivos en caldo, en anaerobiosis y aerobiosis; en este último caso las siembras se hicieron en frascos de ginebra inclinados, cuidando que el espesor de la capa líquida no fuese superior a los 0,5 centímetros. Después de cuatro días de incubación a 37°C se filtraron por bujía Berkefeld W. Con estos filtrados, previamente controlada su esterilidad, se inoculó lauchas por vía endovenosa, intraperitoneal y subcutánea, con los siguientes resultados:

Muerte de los ratones blancos por inyección de 0,5 ml. de filtrado		
	Anaerobiosis	Aerobiosis
Vía endovenosa	1 hora a 1 hora y 15 min.	24 horas
Vía intraperitoneal .	40 horas	60 horas
Vía subcutánea	70 horas	96 horas

Se determinó, además, el poder hemolítico frente a una suspensión de glóbulos rojos de conejo, lavados, al 5 %, resultando activos los filtrados de cultivos en anaerobiosis hasta una dilución 1 : 400, mientras que los provenientes de cultivos en aerobiosis sólo eran activos cuando se los ensayaba sin dilución previa. Existe, pues, una marcada relación entre la acción tóxica y hemolítica de los filtrados.

Esto explica también porque mueren después las lauchas inoculadas por vía endovenosa, ya que en el interior de los tejidos el medio es más reductor que en el torrente sanguíneo, y en este caso la producción de toxina es menor y la muerte de los animales, lógicamente, debe producirse en un tiempo más prolongado.

Las lauchas mueren por fijación de la toxina en el sistema nervioso central, preferentemente, ya que de los animales muertos se hizo una maceración en solución fisiológica de hígado y cerebro y sólo murieron las inoculadas con esta última suspensión.

De la selectividad de la toxina por el sistema nervioso nos habla ya la polineuritis que experimenta la enferma durante los accesos febriles.

ANTICUERPOS. — En el suero de la enferma se buscó aglutinias y anticuerpos fijadores del complemento. En este último caso el resultado fué negativo. Respecto a las aglutinias se obtuvo aglutinación positiva hasta el título 1 : 50.

Si bien por los caracteres morfológicos, flagelo polar, formas involutivas, producción de NH_3 , hidrólisis del almidón, desarrollo favorable en los medios alcalinos, etc., no fué tarea difícil ubicar a la bacteria en estudio en el género *Vibrio*, tribu *Spirilleae*, familia *Pseudomonadaceae* de la clasificación de Bergey, lo fué cuando trató de determinarse la especie, a causa de lo mal estudiado que está este género, al igual que otros como el *Alcaligenes*, *Streptococcus*, etc., y a la incompleta descripción de numerosas especies conocidas.

Para poder ubicar a esta bacteria teníamos que basarnos en clasificaciones ya existentes, fundadas las unas en la constitución antigénica y especialmente en el antígeno somático "O", como la de Gardner y Vankatraman; otras en el poder fermentativo de ciertos y determinados azúcares como la sacarosa, manosa y arabinosa, o aceptar clasificaciones incompletas como la de Bergey, o descripciones más o menos detalladas de la mayor parte de los vibriones conocidos, tal como lo hace Ford.

Si bien la clasificación de Gardner y Vankatraman sería la más aceptable, mediante ella puede hacerse una buena identificación de las bacterias pertenecientes al grupo I, ya que en él están solamente ubicados el *Vibrio comma* y el *Vibrio* de El Tor verdadero, diferenciados únicamente por el poder hemolítico de este último. En cambio, en los grupos "O" II, III, IV, V, VI y cepas individuales están incluidos los para-cólera, cólera similis, algunos tipos de El Tor y otras variedades de *Vibrios* indeterminados. Como vemos, mediante esta clasificación, al igual que la de Heiberg, basada en la fermentación de los tres azúcares arriba citados y que establece también seis grupos, de los cuales el primero concuerda con el "O" I de la clasificación serológica y los restantes difieren del cólera tipo serológica y bioquímicamente, no podíamos parangonar el vibrión en estudio con las especies conocidas. Para lo-

grar nuestro propósito tuvimos que recurrir a la clasificación de Bergey, basada en la morfología, propiedades culturales y bioquímicas de las bacterias, y ampliar la descripción de muchos de ellos con las informaciones suministradas por Ford.

Teniendo en cuenta únicamente los vibriones licuadores de gelatina, hemos tenido que ampliar la clasificación que da Bergey para poder ubicar la bacteria por nosotros estudiada.

CLAVE DETERMINATIVA DE VIBRIOS

(Modificación de la de Bergey)

I—Licúan la gelatina:

A) Transforman los nitratos en nitritos.

1—Forman indol

a—no coagulan al leche

1. *Vibrio comma*

2. *Vibrio berolinensis*

aa—coagulan la leche y producen pigmento pardo en papa.

b—Patógeno para la paloma

3. *Vibrio metschnikovii*

bb—No patógeno para la paloma, pero sí para el ratón blanco.

4. *Vibrio duodenalis* n. sp.

1—No forman indol

B) No transforman los nitratos en nitritos

II—No licúan la gelatina

CONCLUSIONES. — 1º Creemos no equivocarnos al afirmar que se trata de una especie no descripta hasta el presente, lamentándonos de no poder hacer comparaciones con otras de descripción defectuosa.

2º Nuestra afirmación se funda en el hecho de no haber hallado en la bibliografía ninguna especie de *Vibrio* que se le asemeje. Sin embargo, en la nacional existe un estudio de Miravent y Bertacchini, en el año 1941, sobre un vibrión aislado de sangre, el que difiere del descrito por nosotros en que no es licuador de gelatina. Sólo el *Vibrio metschnikovii* comparte ciertos caracteres, pero se diferencia de él por producir gas en los hidratos de carbono que fermenta, en no ser patógeno para la paloma, en licuar la gelatina rápidamente en forma sacular, en coagular la leche en 48 horas, etc.

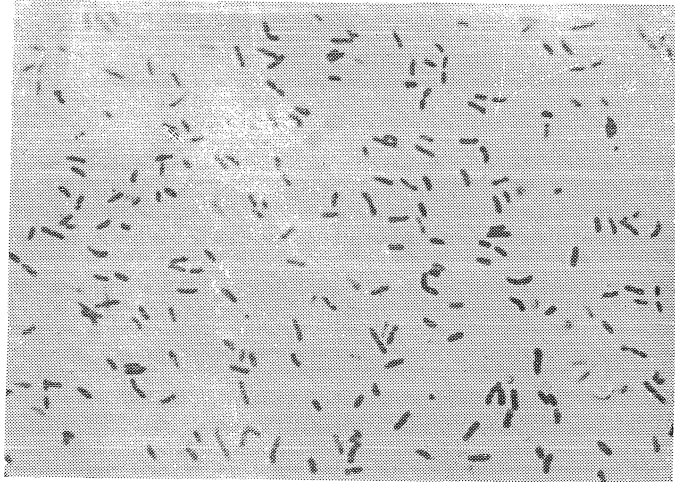
3º La sintomatología clínica de la enferma difiere en

ciertos aspectos fundamentalmente de la producida por enfermedades a vibrios, ya que la regla es en estos casos la colitis; en cambio, la paciente en estudio padece de estreñimiento.

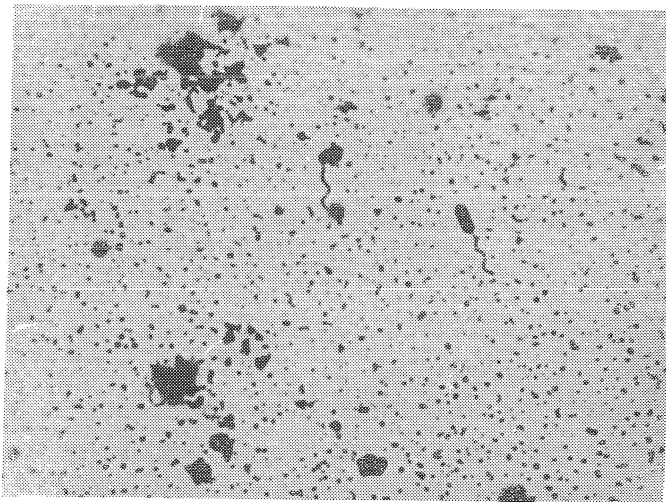
4º En cuanto a la etiología de la enfermedad referida, muy probablemente sea la causa, ya que, aunque de título bajo, se hallaron aglutininas específicas en el suero de la enferma.

5º Un hecho que debe recalcarse es que se trata de un bastoncito gram negativo, fermentador de lactosa, que desarrolla en el medio de Mac Conkey líquido a 37°C y no a 44°C, y en el medio de Koser, caracteres éstos compartidos por el *Aerobacter aerógenes* y que puede llevar a confusiones, especialmente en los estudios bacteriológicos de aguas.

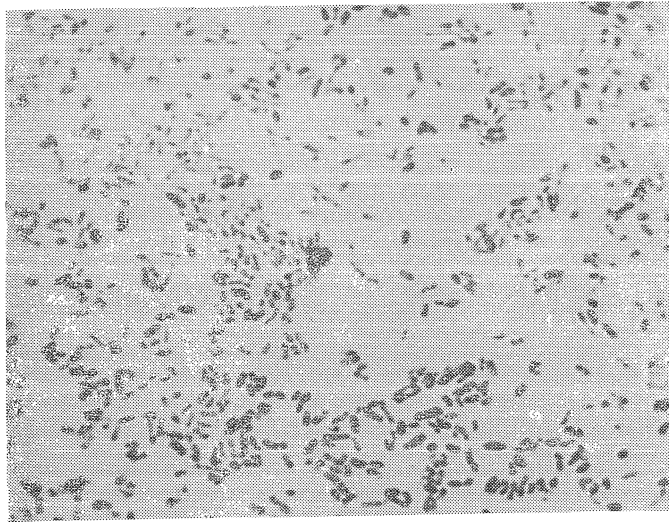
1. BERGEY. — *Manuel of Determinative Bacteriology*. 1939.
2. BERTACCHINI, C. A. — *Clave de géneros para clasificar bacterias*. "Agronomía", agosto de 1940. Buenos Aires.
3. BESSON, A., RANQUE, A. et SENEZ, C. — *C. R. Sol. Biol.* 1918, 81:933.
4. BRUCE WHITE, P. — *Journ Path. Bact.* 1938, 46:1.
5. FORD, W. W. — *Test Book of Bacteriology*. 1927.
6. GOLLUT, J. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1949, 75: 122-135.
7. GARDNER, A. D. and VANKATRAMAN, V. K. — *Journ. of Hyg.* 1935, 35: 262.
8. GENEVRAY, J. — *C. R. Soc. Biol.* 1940, 133:196.
9. GORDON, J. AND JOHNSTONE, K. I *Journ. of Path. and Bact.* 1942, 54: 221-225.
10. HEIBERG, B. — *Journ. of Hyg.* 1936, 36:114.
11. MACKIE, T. J. — *A system of Bacteriology*, 1929, t. 4, 339-424.
12. MACKIE, T. J. AND FINKELSTEIN, M. H. — *Journ of Hyg.* 1931, 31:35.
13. MIRAVENT, J. M. y BERTACCHINI, G. A. — *Revista del Inst. Bacter.* 1941, 10:172.
14. NOBECHI, K. J. — *Journ. of Bact.* 1925, 10:197.
15. OTSUHO, C. — *Off. Inst. d'Hyg. Pub.* 1938, 30:1442.
16. RUSSO, C. — *Off. Inst. d'Hyg. Pub.* 1938, 30:1455.
17. Y5N, A. C. H. — *Proc. Soc. Exper. Biol.* 1932-33, Nº 6, 30:884.



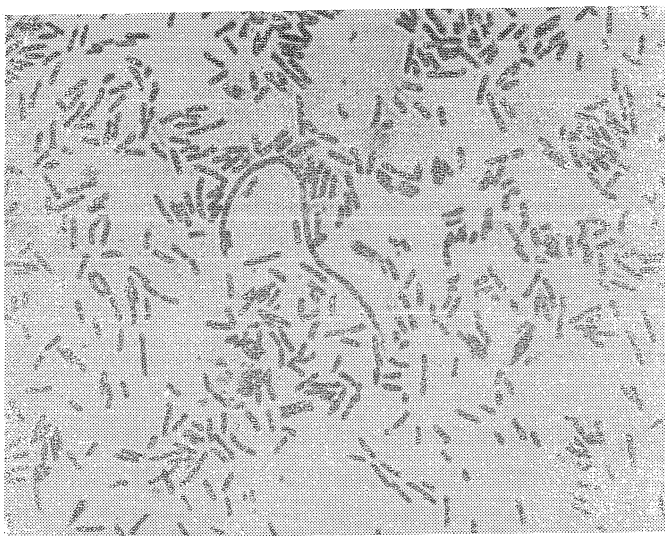
Vibrio duodenalis n. sp. De un cultivo en agar de 24 horas.



Vibrio duodenalis n. sp. Coloración de Casares Gil.



Vibrio duodenalis n. sp. Formas de involución cocobacilares.



Vibrio duodenalis n. sp. Formas de involución filamentosas.