

Facultad de Química Berzelius

INCORPORADA A LA
Universidad Nacional Autónoma de México.

**Propiedades Culturales Bioquímicas
y Antigénicas del Género
Proteus.**



QUÍMICA

TESIS

Que Para Obtener el Título de
Química Farmacéutica Bióloga,
Presenta:

ESTHER BUEN ABAD M.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*A mis Padres, con
Agradecimiento y Cariño.*

A mi Escuela y Maestros.

*Quiero expresar mi gratitud al Doctor Alberto P. León.
Sin cuya valiosa dirección no hubiera podido,
llevar a cabo el presente trabajo.*

INVESTIGACIONES SOBRE LAS PROPIEDADES CULTURALES BIOQUÍMICAS
Y ANTI-GENICAS DEL GÉNERO PROTEUS.

CONSIDERACIONES GENERALES.

Es un hecho generalmente bien aceptado, que gérmenes - del género Proteus causan varios estados infecciosos que por lo regular ocurren en el tracto gastro-intestinal o urinario, así - como algunas veces en otros órganos o sistemas; v.g: la sangre, - médula ósea, hígado y vías biliares, oído medio, tejido celular - subcutáneo, dando lugar a abscesos, o infectando heridas. Ninguno de los cuadros clínicos de las infecciones por Proteus, le es - peculiar; es decir, otras bacterias pueden inducir un cuadro --- igual; por lo tanto, la única manera de llegar al diagnóstico eti- lógico es por el examen de laboratorio, aislando e identificando - el germen causal. El germen puede ser aislado de la sangre, ori- na, pus, esputo, bilis y materias fecales. Cuando es aislado de - los primeros productos, habrá poca o ninguna duda sobre la patoge- nicidad y papel etiológico del Proteus aislado del caso clínico -- por diagnosticar; pero la duda ha nacido cuando este germen ha si- do aislado de las materias fecales en casos de infecciones del --- tracto gastro-intestinal, porque ha habido la tendencia a conside- rar a los Proteus como gérmenes de la flora normal del intestino- humano. Sin embargo se repiten las observaciones, como las reporta- das por Cope y Kasper (1949), en que se aislan estos gérmenes de - las materias fecales de casos de disenterías, diarreas, enterocoli- tis o gastro-enteritis, en los que ningún otro germen se aísla y - en los que en el suero sanguíneo de los enfermos se encuentran --- aglutininas para la cepa de Proteus aislada, haciendo ello pensar- que sea este germen el agente etiológico del cuadro patológico en-

observación. Por estas razones se ha creído conveniente hacer un estudio para precisar las propiedades culturales, bioquímicas y sobre todo serológicas de Proteus aislados precisamente de los estados patológicos que se han referido, pero muy particularmente del tracto gastro-intestinal.

Hausser en 1885 estableció el género Proteus, e hizo notar la característica que este germen tiene de extenderse en los cultivos de gelosa (agarina) y nombró dos especies: Proteus mirabilis y Proteus vulgaris, éste último licuando la gelatina rápidamente, y el primero lentamente. Theobald Smith (1883), quien fue el primero en estudiar la acción del P. vulgaris sobre la glucosa, la sacarosa y la lactosa, insistió en dos características importantes de estos gérmenes: a), la pequeña cantidad de gas producida en comparación de otras especies de la familia Enterobacteriaceae, y b), su inhabilidad de hidrolizar la lactosa. Wanner y Rettger (1919), que estudiaron 73 cepas de Proteus, las pudieron dividir en dos grupos claramente distintos: cepas que atacaban la glucosa, la sacarosa y la maltosa rápidamente, fueron clasificadas como Proteus vulgaris, y cepas que atacaban la glucosa rápidamente, la sacarosa lentamente y no fermentaban la maltosa, fueron clasificadas como Proteus mirabilis. Moltke (1927), estableció el hecho de que todas las cepas del género Proteus atacan la urea. Hausa (1936), al examinar cultivos del bacilo de Morgan No. 1, concluyó que este organismo pertenece al género Proteus. Las escuelas Americana e Inglesa clasifican a este germen como Proteus morganii. En 1904 Rettger aisló un organismo antes no descrito, de las materias fecales de pollos afectados por una epidemia de diarrea coleriforme. Rustigian y

Stuart (1943) mostraron que este germen hidroliza fuerte y rápidamente la urea, que algunas cepas se extienden en los cultivos (swarming), y propusieron que este organismo fuera clasificado como Proteus rettgeri. Morgan (1906), aisló de varios casos de diarrea infantil de verano el germen ahora llamado Proteus morganii en su honor. Cooper, Davies y Wiseman (1941), reportaron sobre el aislamiento de gérmenes del género Proteus de casos de un brote de intoxicación alimenticia. Pierson y Honke (1941) hicieron una interesante revista de los casos de infecciones del tracto urinario, debidas a Proteus. Neter y Farrar (1943), reportaron el hallazgo de Proteus vulgaris y Proteus morganii, en casos de diarreas infantiles. León en 1937, aisló Proteus rettgeri de las materias fecales de 23 casos de un cuadro clínico semejante a fiebre tifoidea durante un brote epidémico, así como del agua del abasto público y de las materias fecales de pollos que morían de diarrea coleriforme durante una epizootia que ocurría simultáneamente con la epidemia de fiebre semejante a la tifoidea en humanos, en un pequeño poblado del estado de Veracruz. Kauffmann y Perch aislaron 538 cepas de Proteus, principalmente de materias fecales de casos de diarrea, pero también de orina, de esputo y pus, e hicieron un interesante estudio serológico. Kauffmann y Perch desarrollaron un Esquema Serológico para el Diagnóstico de Proteus. (1951).

El género Proteus puede actualmente ser definido como - "un grupo de bacilos Gram negativos, no esporulados, mostrando -- con algunas excepciones, una fase de flagelos peritrichous, en la que ocurren generalmente; que siempre hidroliza la urea y la glucosa con pequeña o sin producción de gas; que no fermentan la lac

tosa; la reacción de Voges-Proskauer es negativa y usualmente la del rojo de metilo positiva; y producen generalmente en cultivos de gelosa el fenómeno del swarming."

El género Proteus es dividido por Rustigian y Stuart - en cuatro subgrupos bioquímicos: 1) Proteus vulgaris; 2) Proteus mirabilis; 3) Proteus morganii y 4) Proteus rettgeri. Las reacciones bioquímicas por las que se pueden distinguir estos cuatro grupos, y que encontramos en las cepas aisladas por nosotros, se muestran en el cuadro Núm. 1.

Serológicamente el Proteus vulgaris y el Proteus mirabilis constituyen un sólo grupo, de acuerdo con Kauffmann y Perch (1947), y por lo tanto son incluidos por ellos en una misma especie. Este grupo serológico es designado por ellos como Proteus hauseri y dividido en dos tipos bioquímicos, designados como tipos bioquímicos 1 y 2. Estos autores piensan que la designación de vulgaris y mirabilis, no correspondiendo a las designaciones originalmente dadas por Hauser, son superfluas. Estos dos tipos del Proteus hauseri licúan la gelatina y por ésta, entre otras propiedades, pueden distinguirse de Proteus morganii y Proteus rettgeri.

A continuación describimos los métodos seguidos en nuestro estudio y los resultados obtenidos.

REACCIONES BIOQUÍMICAS.

Para la identificación bioquímica de las distintas cepas de *Proteus* aisladas, se recurrió a la fermentación de varios carbohidratos, la producción de hidrógeno sulfurado, reducción de nitratos, licuefacción de gelatina, acción sobre la leche tornasol, sobre el medio de Voges Proskauer; la reacción al rojo de metilo, producción de urea y de indol, tratándose siempre de bacilos Gram negativos, generalmente móviles.

MATERIA L.

CALDO NUTRITIVO.- Se preparó con infusión de carne, peptona y cloruro de sodio.

GELOSA SIMPLE.- Al caldo nutritivo se le agrega gelosa en proporción de 2 gr. por 100 c.c.

CARBOHIDRATOS.- Los carbohidratos empleados fueron: glucosa, lactosa, sacarosa, manita, maltosa, galactosa, salicina, inositol. Estas soluciones se prepararon a partir de caldo nutritivo, hecho con extracto de carne y esterilizado, al que se le agregó el azúcar en proporción de 1%. Para utilizarse, se pasa estérilmente a tubos pequeños, conteniendo cada uno 5 c.c. aproximadamente. Como indicador, se usó rojo de fenol.

AGAR ACETATO DE PLOMO.- Se prepara en proporción de 1% de subacetato de plomo en gelosa simple.

MEDIO PARA ROJO DE METILO DE VOGES PROSKAUER.- Es a base de peptona (0.5%), dextrosa (0.5%) y fosfato bipotásico (0.5%), en agua, ajustando el pH a 6.8 - 7.1.

LECHE TORNASOL.- A la leche desnatada y esterilizada, se le agrega solución de tornasol en cantidad suficiente para comunicarle color azul.

MEDIO PARA LIQUL.- Es a base de peptona con cloruro de sodio y agua.

MEDIO PARA OBSERVAR REDUCCION DE NITRATOS.- Se prepara el caldo nutritivo peptonado y glucosado al 0.5%, y a base de extracto de carne, y se le añade nitrato de sodio al 1%.

MEDIO CON UREA.- Se prepara una base con extracto de carne, peptona, cloruro de sodio y agua. Por cada 100 c.c. de esta base, se añade un gramo de urea, y como colorante, azul de bromotimol. Una vez esterilizado a 7 libras de presión, se agrega el gramo de sacarosa por cada 100 c.c. de solución.

GELATINA.- Al caldo nutritivo preparado con extracto de carne, peptona y NaCl, se le agrega la gelatina en proporción de 15%.

M E T O D O.

Una vez aislado el germen del cultivo (coprocultivo, urg cultivo o bilicultivo), se procede a su identificación, para lo cual se escoge una colonia y se siembra en caldo nutritivo, incubándose en la estufa a 37°C, durante 3 o 4 horas. Cuando se ha desarrollado el germen, con pipeta se pasa 0.1 c.c. de caldo a cada tubo, conteniendo el azúcar, el medio de Voges, la leche, etc.; es decir, los medios líquidos.

Para ver la licuefacción de la gelatina, se siembra en piquete con el asa recta. Para observar la producción de hidrógeno sulfurado, se siembra también en piquete, pero introduciendo el asa varias veces.

El swarming es una propiedad que puede llamarse exclusiva del género *Proteus*, aunque algunas cepas no la presentan. Consiste en la extensión del germen sobre la total superficie del me-

dio sólido. Para identificar esta propiedad, se utiliza un tubo conteniendo gelosa semisólida inclinada, en la cual se siembra el germen en estría.

Después de sembrados todos los tubos, se incuban en la estufa a 37°C, durante 24 horas, al cabo de las cuales se hace la lectura.

La fermentación de los azúcares está indicada por el cambio de color del medio rojo a amarillo, y la producción de gases se observa en la campana de cristal introducida en el medio, la cual presentará una burbuja de mayor o menor tamaño.

La producción de hidrógeno sulfurado se pone de manifiesto por el color negro que toma el agar acetato de plomo al formarse sulfuro de plomo.

La reacción al rojo de metilo se observa agregando una gota de éste (según fórmula de Stitt), a una siembra en el medio de Voges Proskauer. La aparición de un color rojo (ácido) se considera positivo, y amarillo (alcalino), negativo.

La reacción de Voges Proskauer se considera positiva cuando aparece un color rojo al agregar al tubo conteniendo este medio y el germen, 0.1 c.c. de KOH al 10%. La observación debe hacerse después de añadir la potasa e incubar 24 horas a 37°C.

La leche tornasol se considera ácida o alcalina, según tome color rosado (4.5 pH), o azul (8.3 pH); también puede aparecer digerida o coagulada.

La reducción de nitratos se observa añadiendo al medio en que se ha cultivado el germen 0.5 c.c. de solución A, y la misma cantidad de solución B. La solución A contiene ácido sulfúrico y ácido acético; la solución B, alfa-naftil-amina y áci

de acético. Una vez añadidas las soluciones, se mezcla. La reacción positiva indicando la presencia de nitritos, se manifiesta por un color rojo púrpura o marrón; la reacción negativa no produce cambio de coloración.

Se identificaron 154 cepas de *Proteus*; es decir, se llevaron a cabo 2,618 reacciones bioquímicas.

CUADRO NUM. 1.

REACCIONES BIOQUÍMICAS DE 154 CEPAS DE PROTEUS AISLADAS DE CASOS CLÍNICOS EN QUE ESTE GÉNERO FUE CONSIDERADO EL AGENTE ETIOLÓGICO.

	<u>Proteus</u>		<u>Hauseri.</u>		<u>Proteus</u>		<u>Proteus</u>	
	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 1	Tipo 2	Morganii	rettgeri.	Pos. Neg.	Pos. Neg.
Glucosa.....	7	0	92	0	42	0	13	0
Lactosa.....	0	7	0	92	0	42	0	13
Sacaroaa.....	7	0	71	21	38	4	12	1
Manita.....	0	7	90	2	0	42	13	0
Maltosa.....	7	0	0	92	0	42	0	13
Salicina.....	2	0	16	20	1	6	1	3
Inositol.....	0	7	0	36	0	7	13	0
Inol.....	7	0	0	92	42	0	13	0
H ₂ S.....	7	0	77	15	10	32	0	13
Gelatina....	5	2	77	15	1	41	2	11
Voges-Proskauer.	0	7	0	92	0	42	0	13
Rojo Metilo.	0	7	31	61	36	6	9	4
Urea.....	7	0	92	0	42	0	13	0
KNO ₃	2	0	35	0	7	0	2	2

PREPARACION DE SUEROS.

Para obtener los sueros Anti-Proteus, con las distintas cepas, se procedió de la siguiente manera:-

Se usaron conejos de más de 2 kilos de peso, a los que se les aplicaron dosis progresivas de una suspensión de mil millones de gérmenes por centímetro cúbico, en solución de cloruro de sodio, al 0.5%. La vía utilizada fue la endovenosa, utilizándose para ello la vena marginal de la oreja. Por una serie de pruebas anteriores, se observó que con gérmenes vivos se obtienen sueros con títulos muy superiores y más completos que con antígenos de gérmenes muertos.

Las inyecciones se aplicaron con intervalos de 5 días, y las cantidades fueron de 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, y 2.0 c.c. A partir de la última dosis, se dejaron pasar cinco días, al cabo de los cuales se hizo una pequeña sangría de prueba, para cerciorarse de que el suero aglutinaba a título alto con la cepa homóloga, también en suspensión de mil millones de gérmenes vivos -- por c.c.

En ninguno de los casos se necesitó aplicar una nueva inyección al conejo, ya que el título menor del suero así obtenido, fue de 1:320 y el mayor de 1:10240.

Una vez titulado el suero, se llevó a cabo la sangría formal, extrayendo la sangre del corazón. El suero se conservó en refrigerador, agregándole una solución de mertiolato en proporción de 1:10 000.

Los síntomas observados en los conejos durante el período de inoculación, fueron: enflaquecimiento marcado y diarrea.

Se presentaron algunos casos de muerte antes de terminar la serie de inyecciones, 7 casos en 30 conejos inoculados. Al hacerse la autopsia, se encontró: enteritis, esplenitis y neumonía lobar.

Por coprocultivo se recuperó la cepa de *Proteus* inoculados, no encontrándose ningún otro germen, excepto *Escherichia coli*.

PREPARACION DE ANTIGENOS.

ANTIGENOS SCLEROTICOS ("0").

Se sembró la cepa en caldo nutritivo y se incubó en la estufa a 37°C durante 3 horas, al cabo de las cuales es notable la turbidez. De ahí se sembraron con pipeta 5 c.c. en cada caja de Nolle, conteniendo 50 c.c. de gelosa simple, se removió la caja para extender el caldo sobre la superficie y se dejó en reposo 30 minutos, al cabo de los cuales se volteó la caja de modo que la gelosa quedara en la cara superior, y se incubó en la estufa a 37°C 20 horas, al cabo de las cuales se cosechó.

El primer paso consiste en extraer y desechar el agua de condensación. Después se agrega a cada caja 10 c.c. de suero fisiológico estéril, y se mueve la caja suavemente para separar los gérmenes desarrollados en la superficie de la gelosa. Se hacen frotis de la suspensión de cada caja, a fin de verificar si no ha habido contaminación; el frotis se tinte por Gram.

En seguida se extrae con pipeta volumétrica el contenido de cada caja y se pasa a tubos de centrifuga. Se centrifuga a 3 500 revoluciones por minuto durante 45 minutos; se desecha el sobrenadante y el sedimento se resuspende en 25 c.c. de solución de Na Cl al 0.85%. A fin de obtener una suspensión homogénea, se absorbe y expelle el líquido varias veces, utilizando una pipeta volumétrica provista de un bulbo de hule. Después se --- agrega alcohol de 96° en igual proporción que la solución salina; es decir, 25 c.c. Se mezcla y se lleva a la estufa por 24 - horas, al cabo de las cuales se hace la prueba de esterilidad, - para lo cual se siembra con el asa de platino un poco de la sus-

pensión del antígeno en caldo y en gelosa simple. Se observa 6 días, al cabo de los cuales y si no hay desarrollo, se titula el antígeno a 1000 millones de gérmenes por c.c. y se envasa.

En el caso de que se observara desarrollo durante la prueba de esterilidad, se agrega más alcohol al antígeno, se vuelve a incubar y se repite la siembra en caldo y gelosa. Este caso no se presentó.

Debe tomarse en cuenta el grado de turbidez que adquiere el caldo al introducir el asa de platino con la suspensión de antígeno, para no confundir ésta con un posible desarrollo.

ANTÍGENO FLAGELAR ("F").—Para la preparación de estos antígenos, se utilizan tubos en forma de U, conteniendo 10 c.c. de gelosa semisólida. Se siembra la cepa en un extremo del tubo y se incuba a 37°C 24 horas, al cabo de las cuales la cepa debe haber dado la vuelta al tubo, apareciendo por el otro extremo. En caso de que tarde más tiempo, se vuelve a sembrar en otro tubo igual, pero utilizando los gérmenes que ya atraviesaron la gelosa.

Una vez obtenidos en esta forma los bacilos móviles, se siembran en caldo nutritivo y se sigue exactamente el mismo procedimiento que para los antígenos "O", excepto que para matar los gérmenes, en vez de alcohol, se utiliza formol en proporción de 0.4 %, es decir, en este caso, 0.1 c.c. de formol, para los 0.5 c.c. de suspensión de gérmenes en suero fisiológico.

Los antígenos se conservaron en el refrigerador hasta el momento de ser usados.

Se prepararon 19 sueros: 17 antivivos, 1 anti "O" y 1 -

anti "H".

Además se prepararon 40 antígenos "H" y 43 antígenos-
"O".

Se llevaron a cabo 2,105 reacciones de aglutinación;-
cada una consta de 10 diluciones y un testigo; es decir, el tra-
bajo constó de 23,155 tubos de aglutinación.

ESQUEMA ANTIGENICO DE LA ESTRUCTURA DE BROTEUS ALBERTI.
(30 CEPAS).

Cepas	Grupo	Antígenos.		No. Ide.	Tipo	Tipo Bioquímico.
	Serológico.	O	H	Ce-llas	Serol. (real. co.)	
335	I	I	1,...	1	1	1
432	II	II.V	2,...	1	1	1 (Vulgaris).
431		II.	3,...	2	2	2 (Mirabilis).
445	III	III	9,6...	1	1	1
317	IV	IV	1,...	1	1	2
319	V	V.	2,3...	2	1	2
336	"	"	1,6...	1	2	2
404	"	"	6,3...	1	3	2
326	VI	VI.	4,...	3	1	2
338	"	"	1,6...	1	2	2
330	"	"	6,4...	1	3	2
374	"	"	2,4...	1	4	2
393	"	17	3,6,2...	2	5	2
328	VII	VII	6,4,5	1	1	2
408	VII.	VII.III	6,...	1	2	2
332	VIII	VIII.	1,3,6...	1	1	2
337	IX	IX	2,5,...	1	1	2
339	X	X.V.	2,3...	1	1	2
359	XI	XI.	1,3...	1	1	2
421	XII	XII.	7,...	1	1	1
363	XIII	XIII.V	1,6...	1	1	2
392	XIV	XIV.IV.III	1,6...	1	1	2
428	XV	XV.II	6,2...	1	1	2
345	XVI	XVI.	2,6...	1	1	2
395	XVII	XVII.	6.2...	1	1	2

RESULTADOS.

I.-CARACTERÍSTICAS CULTURALES.-Todas las cepas de Proteus, pertenecientes a las tres especies, Pr. hauseri, Pr. morgani y Pr. rettgeri, desarrollaron bien en el medio de aislamiento de Mac. Conckey, en el que se inhibe casi siempre el "swarming" y se obtienen colonias bien aisladas, incoloras y de fácil identificación y aislamiento. Siempre que se obtuvieron colonias de los Proteus en el medio de aislamiento, con pocas excepciones, se obtuvo desarrollo en el medio de enriquecimiento caldo tetrionato Difco; pero en algunos casos, no habiéndose obtenido desarrollo en la siembra directa en el medio de aislamiento, se obtuvo después de la siembra en el medio de enriquecimiento.

Las resiembras dieron siempre un desarrollo abundante y rápido en caldo nutritivo que se enturbió uniformemente y en gelosa simple, en la que hubo desarrollo confluyente, frecuentemente con "swarming", siempre en los cultivos clasificados como Pr. Hauseri, excepcionalmente en los de Pr. rettgeri y nunca en los Pr. morgani.

II.-REACCIONES BIOQUÍMICAS.-Todas las cepas de Proteus de las tres especies fermentaron la glucosa, siempre con la formación de pequeña cantidad de gas, particularmente las especies Pr. morgani y Pr. rettgeri, ésta última siendo frecuentemente anaerogónica.

Ninguna cepa fermentó la lactosa.

La sacarosa siempre fue fermentada por las cepas de Pr. hauseri, tipo I (vulgaris); frecuentemente por las cepas de Pr. hauseri, tipo II (mirabilis), de Pr. morgani y Pr. rettgeri.

La maltosa solamente es fermentada por el Pr. hauseri, tipo I, y siempre lo es.

La manita y el inositol solamente fueron fermentados -- por el Pr. rettgeri y por esta especie siempre lo fueron.

La salicina es variablemente fermentada por las tres especies.

El indol fue siempre producido por las especies Pr. hauseri, tipo 1, Pr. morgani y Pr. rettgeri; en cambio nunca produjo indol el Pr. hauseri, tipo 2.

El hidrógeno sulfurado siempre fue producido por el Pr. hauseri, tipo 1; en la mayoría de los casos por el Pr. hauseri, tipo 2; por la minoría de las cepas de Pr. morgani y nunca por el Pr. rettgeri.

La gelatina fue licuada casi siempre por el Pr. hauseri, tipos 1 y 2; por sólo una de 42 cepas de Pr. morgani y por sólo 2 de trece cepas de Pr. rettgeri.

La reacción de Voges-Proskauer siempre fue negativa con las tres especies de Proteus.

La reacción al rojo de metilo fue siempre negativa con el Pr. hauseri, tipo 1 y variablemente positiva con las demás especies.

La urea fue siempre hidrolizada por las tres especies de Proteus.

Los nitratos fueron reducidos siempre por los Proteus hauseri y morgani, y en forma variable por el Pr. rettgeri.

Por lo tanto, puede observarse que el Pr. hauseri, tipo 1, puede identificarse porque fermenta la maltosa; el Pr. hauseri, tipo 2, por no producir indol; el Proteus rettgeri, por fermentar-

la manita y el inositol y el Pr. moraxii, por no fermentar estos azúcares ni la maltosa, producir inóul y no licuar la gelatina (sólo una excepción).

III.-STRUCTURA ANTIGENICA.- Por nuestros estudios, como por todos los anteriores, inmediatamente se observa que el género Proteus forma un grupo antigénicamente heterogéneo.

Por medio de reacciones cruzadas de aglutinación, entre cepas tipo de Proteus hauseri, se pudieron identificar 17 antígenos somáticos distintos y 8 antígenos flagelares, y por medio de la aglutinación con los sueros tipo, así obtenidos frente a los antígenos "C" y "H" preparados, se identificaron 17 grupos y 25 tipos serológicos, cuya estructura antigénica, indicándose sólo los antígenos mayores o principales, se especifican en el cuadro No. 2. Para expresar la fórmula antigénica de los Proteus hauseri, designamos a los antígenos somáticos con números romanos, y a los flagelares con números arábigos, siguiendo un procedimiento similar al usado por Kauffmann y White para la expresión de la estructura antigénica de las ionella.

Del análisis del cuadro No. 2 puede observarse que 19 tipos serológicos pudieron ser clasificados con tan sólo un antígeno somático mayor; cinco tipos necesitaron de dos antígenos somáticos mayores y un tipo de tres antígenos somáticos mayores, uno y dos respectivamente, de los cuales, se cruzan con el de otro grupo serológico. Diecinueve tipos serológicos pueden identificarse con un sólo antígeno flagelar; cinco con dos antígenos y tres con tres antígenos flagelares. Los grupos serológicos, que son XVII, se designan con números romanos, progresivamente del I al XVII, y el antígeno somático mayor que tienen los tipos serológ

ricos pertenecientes a cada grupo, se designa con el mismo número que el del grupo al que pertenece. Los tipos serológicos son designados con números arábigos, progresivamente del 1 al x número de tipos serológicos que hay dentro de cada grupo serológico. Conforme a este procedimiento, una cepa puede ser identificada, indicando el tipo y grupo serológico a que pertenece y su estructura antigénica; v.g: la cepa 319 es tipo 1, grupo V, y tiene la estructura antigénica VI:3...; la cepa 393 es tipo 5, grupo VI, y tiene la estructura antigénica VI:3,6,2....; la cepa 392 es tipo 1, grupo XIV, y tiene la estructura antigénica XIV.IV.III:1,6...; siendo el orden en que se escriben los antígenos el mismo que tienen en importancia, a juzgar por los títulos de aglutinación, en la estructura antigénica del germen.

Para los Proteus morganii se identificaron cuatro antígenos somáticos y un antígeno flagelar, con cuatro cepas tipo con las que se prepararon sueros, tres de las cuales eran de la variedad no mótil. La estructura antigénica de estas cepas sería como sigue:

Cepa.	Grupo serológico.	Antígenos. -	
		"O"	"H"
455	I	I:	-
446	II	II:	-
323	III	III:	1,...
454	IV	IV:	-

Otras cuatro cepas de Proteus morganii no aglutinaron con ninguno de los sueros de los grupos anteriores y no fueron identificadas serológicamente.

Se aislaron trece cepas de Proteus que fueron clasificadas como Proteus rettgeri, con las que sólo se han establecido -

dos tipos serológicos. El estudio de la estructura antigénica de los Proteus morganii y Pr. rettgeri continúa y será objeto de posterior comunicación.

D I S C U S I O N .

Como ha sido mencionado anteriormente, Kauffmann y Perch (1936), establecieron 49 grupos serológicos por medio de otros tantos antígenos somáticos identificados, así como 96 tipos serológicos por los antígenos flagelares, con cuyos datos establecieron un esquema de diagnóstico serológico. Los tipos serológicos identificados por nosotros para los Proteus hauseri, encontrados en casos patológicos de México, hubiera sido conveniente hacerlo siguiendo el mismo esquema establecido por Kauffmann y Perch; pero no fue posible obtener los sueros correspondientes, por no tenerlos ya los autores; pero esperamos obtener las cepas para preparar los sueros respectivos, en cuyo caso podremos hacer una comparación entre los grupos y tipos serológicos nuestros y los de aquellos autores, para establecer un sistema uniforme.

Raus (1936), investigó 48 cepas de Proteus morganii y por medio de los antígenos "O" y "H" distinguió 17 tipos. Cada tipo tiene un antígeno "O" diferente, así es que estableció 17 diferentes grupos serológicos. Encontró 7 antígenos "H", uno de los cuales se mostró semejante o idéntico con un antígeno flagelar de Pr. hauseri. De los cuatro grupos serológicos identificados por nosotros en la especie Pr. morganii, el antígeno flagelar -- identificado cruzó con uno de los tipos de Pr. hauseri.

Kasper (1949), hizo un estudio serológico de 111 cepas-

De Pr. rettgeri aisladas de muestras de materias fecales de casos patológicos. Identificó por medio de antígenos "O", "H" y "L" (vivos), cinco grupos serológicos que llamó A, B, C, D y E, con la siguiente frecuencia de cepas: 20, 50, 43, 5 y 7 en cada grupo respectivamente.

Como antes se ha indicado, entre las 13 cepas de Pr. rettgeri aisladas por nosotros, sólo dos tipos (en los grupos) serológicos, fue posible identificar. Ninguna de nuestras cepas de Pr. rettgeri aglutinó con sueros preparados frente a Pr. hauseri o Pr. morgani, así como tampoco aglutinan con sueros anti Salmonella o anti Shigella, como fue previamente observado por Fulton y Curtin (1944).

Nuestros estudios serológicos y los de otros investigadores referidos, permiten establecer que el género Proteus es antigénicamente distinto de otros de la familia Enterobacteriaceae, y dentro de este género las tres especies Pr. hauseri, -- Pr. morgani y Pr. rettgeri, son a su vez serológicamente distintas, pudiéndose identificar dentro de cada una de ellas varios grupos y tipos serológicos cuya identificación precisa es no sólo posible, sino fácil, por medio de aglutinaciones con sueros tipo, siguiendo un esquema semejante en principio al usado para el diagnóstico de la Salmonella.

Los resultados obtenidos por nuestros estudios de las características culturales y bioquímicas del Proteus, muestran que para su aislamiento e identificación podría, y así conviene, seguir la misma técnica recomendada por Kauffmann (loc. cit.)-- para el aislamiento e identificación de la Salmonella.

Los gérmenes, siendo clasificados como Proteus por ..

Las siguientes características: bacilos Gram-negativos, móviles generalmente, no esporulados, que fermentan la glucosa con producción de ácido y con escasa o sin producción de gas, que no fermentan la lactosa y que descomponen la urea; serían identificados como alguno de los tipos (o grupos) bioquímicos Proteus hauseri tipos I o II, Proteus morganii o Proteus rettgeri.

Serán Pr. hauseri si licúan la gelatina, y pertenecerán al tipo I si fermentan la maltosa y producen indol, y al tipo II en el caso contrario. Serán Pr. morganii, si no licuando la gelatina, no fermentan el manitol ni el inositol; y serán -- Pr. rettgeri, si fermentar estos dos hidratos de carbono.

CONCLUSIONES.

1.- Por las características culturales, los gérmenes-
que pertenecan al género *Proteus* pueden:-

- a).- Aislarse en medios selectivos como el Mac. Conckey, --
con o sin previo cultivo en medios de concentración, --
como el caldo tetratonato, seleccionando las colonias
incoloras.
- b).- Identificarse como *Proteus* con tres reacciones bioquí-
micas: fermentar la glucosa e hidrolizar la urea, y no
fermentar la lactosa.
- c).- Identificarse dentro de uno de cuatro tipos bioquími-
cos:

Pr. hauseri tipo I, si licúa la gelatina, produce indol y fer-
-menta la maltosa.

Pr. hauseri tipo II, si licúa la gelatina, no produce indol, ni
fermenta la maltosa.

Pr. moricani, si no licúa la gelatina, no fermenta el manitol -
ni el inositol.

Pr. reitteri si no licúa la gelatina y fermenta el manitol y el
inositol.

2.- Por las características antigénicas y usando la -
reacción de aglutinación, pueden identificarse antígenos somáti-
cos y flagelares del Género *Proteus* y precisar por ellos la es-
tructura antigénica, la especie y el tipo serológico a que per-
tenece un germen, usando el esquema que hemos desarrollado, se-
mejante al de Kauffman y Perch.

B I B L I O G R A P H I A .

- Fuchsenhan and Fulmer. "Physiology and Biochemistry of Bacteria". Vol III.
1st edit.
- Cope E.J. and Milender K. 1942. "Study of atypical enteric organisms of
the Shigella Group". Am. J. Public Health, 32, 352.
- Cope E.J. and J. A. Kasper 1949. J.Bact. 57,259.
- Cooper K.h., Davies J. and Wiseman J. 1941. "An investigation of an out-
break of food poisoning associated with organisms of
the Proteus Group". J. Path. and Bact. 52, 91 - 98.
- Christensen W.R. 1946. "Urea decomposition as a mean of differentiating -
Proteus and Paracolon cultures from each other and
from Salmonella and Shigella types". J. Bact. 52,
461 - 466.
- Fulton Mac Donald and Curtis S.F. 1946. "A study of kettger's bacillus and
related Bacteria". Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 61,
354 - 380.
- Hauser G. 1886. Sitzber physik. med. Societat Erlangen, 156.
- Kasper J. 1949. "Serological study of Proteus kettgeri and similar organisms"
J. Bact. 57, 259 - 264.
- Kauffmann F. and B. Porch 1961. "Enterobacteriaceae". 1st edit. Copen-
hagen.
- León. A.P. 1937. Comunicación personal.
- Moltke O. 1927. "Contribution to the characterisation and systematic cla-
ssification of Bac. Proteus vulgaris (Hauser)". Le-
vin and Munksgaard. Copenhagen.

- Morgan H. F. 1908. "Upon the Bacteriology of the summer diarrhea in infants".
Brac. Med. J. 1, 908 - 912.
- Keter E.H. and Farrar R.H. 1943. "Proteus vulgaris and Proteus morganii in
diarrheal diseases of infants". Am. J. Digest. Dis. and
Nutrition. 10, 344 - 347.
- Pierson L.E. and Honke E.H. 1941. "Pathological discussion of urinary tract
infections due to the Bacillus Proteus". Urol. and Cutan.
Rev. 45, 643 - 654.
- Kauss K.V. 1936. "The systematic position of Morgan's Bacillus". J. Path. -
and Bact. 42, 183 - 192.
- Kustigian Robert and C.A. Stuart. 1941. "Decomposition of urea by Proteus".
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 47, 108 - 112.
- Kustigian Robert and C.A. Stuart. 1944. "The Biochemical and Serological -
relationships of the organisms of the Genus Proteus". J.
of Bact. 49, 419 - 435.
- Smith Theobald 1893. "The fermentation tube". In Hilder Quarter century Book,
157 - 232.
- Topley and Wilson. "Principles of Bacteriology and Immunity". 3rd Edit.
- U.S.A. War Department 1946. "Methods for Laboratory Technicians".
- Wenner J.J. and Kettger L.F. 1919. J. Bact. 4, 331.