

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA Y PARASITOLOGIA

CATEDRA DE MICROBIOLOGIA

PROF. DR. VICENTE CALLAO

Ars Pharm. VIII, 5-6 (1967)

DESCRIPCION DE GERMENES INDOLOGENOS DENTRO DEL GRUPO KLEBSIELLA-AEROBACTER.

por

A. Ramos y V. Callao

INTRODUCCION

Durante las investigaciones realizadas en el estudio de gérmenes Gram negativos, productores de infecciones urinarias, encontramos bacilos correspondientes al *Aerobacter aerogenes*, que se caracterizaban por formar indol hecho que nos llamó poderosamente la atención. Por lo que hemos realizado un estudio bioquímico más amplio, con el fin de ahondar más en su identidad.

Podemos considerar que, hasta el momento, no se han descrito tales microorganismos en ninguna clasificación, no ocurriendo igual con los *Klebsiellas* de los que se conocen varias descripciones.

MATERIAL Y METODOS

Las muestras de orina, para el aislamiento de los gérmenes, procedían de enfermos que están incluidos en la Residencia Ruiz de Alda del S. O. E. sita en Granada.

El aislamiento se realizó en placas de Petri, en el medio de Wurtz (agar-lactosa-tornasol), siguiendo los procedimientos de rutina del laboratorio.

Las pruebas bioquímicas utilizadas en la identificación fueron:

A) Actuación sobre los azúcares: (Se realizó en agua de peptona, con el indicador de Andrade) la apreciación de formación de gases se obtuvo con tubos de Durham, incu-

bándose durante quince días. Los carbohidratos ensayados fueron:

glucosa	inosita
lactosa	melibiosa
arabinosa	galactosa
fructosa	melecitosa
celobiosa	rafinosa
maltosa	adonita
manita	sorbita
trealosa	xilosa
dulcitol	ramnosa
manosa	fucosa
sorbosa	sacarosa
salicina	

B) Utilización de ácidos orgánicos: en agua de peptona, más el ácido orgánico, empleando azul de bromotimol como indicador, ensayamos con: d-tartárico, m-tartárico, múico, citrato, y l-tartárico.

C) Formación de indol: en medio con agua de peptona, e investigando con el reactivo de Kovacs.

D) Formación de SH_2 : en medio de Kligler

E) Reacción del rojo de metilo.

F) Reacción del Voges-Proskauer, por el método de BARRIT (1).

G) Crecimiento en el medio de Koser como única fuente de carbono citratos.

H) Licuación de la gelatina, por el procedimiento de SMITH et al. (9)

- I) Decarboxilación de la arginina, y lisina, según MOLLER (8).
 J) Descomposición de la urea, en el medio de Christensen.
 K) Reducción de nitratos, en agua de peptona, investigando la reducción por el reactivo Griess-Ilosvay.

Previamente se realizaron las pruebas de movilidad, catalasa y oxidasa.

Para la clasificación seguimos la sistemática de BERGEY (2), guiándonos al mismo tiempo del KAUFFMAN (6), y del COWAN y STEEL (3).

RESULTADOS

Los bacilos Gram negativos estudiados fueron incluidos en el grupo Klebsiella-Aerobacter, por ser catalasa positivos y oxidasa negativos, fermentar los azúcares, ser V-P positivos, R-M negativos, y crecer en el medio de Koser. De un total de 54 gérmenes pertenecientes a este grupo, 37 incluidos como Klebsiella y 17 como Aerobacter; adoptando como criterio fundamental de diferenciación la movilidad. No encontramos ninguna cepa entre los Klebsiella que fueran formadores de indol, siendo 5 los correspondientes al género Aerobacter, que representan el 9'26 por ciento sobre el global del grupo Klebsiella-Aerobacter, y el 29'41 por ciento de los aislados en relación al Aerobacter. Las características bioquímicas de estos cinco microorganismos van descritas en las tablas I y II.

TABLA I. ACCION SOBRE LOS CARBOHIDRATOS

Carbohidrato	Germen				
	1	2	3	4	5
<i>Pentosas:</i>					
Arabinosa	+—	+—	++	+—	++
Xylosa	++	+—	+—	++	+—
<i>Metilpentosa:</i>					
Ramnosa	+—	+—	+—	+—	+—
<i>Hexosas:</i>					
Fructosa	+—	+—	+—	+—	+—
Galactosa	++	+—	++	++	++
Glucosa	++	++	++	++	++
Manosa	+—	+—	+—	+—	+—
Sorbosa	+—	—	+—	—	—
<i>Disacáridos:</i>					
Celobiosa	+—	—	+—	—	+—

Lactosa	++	++	++	++	++
Maltosa	++	+—	++	+—	+—
Melibiosa	++	+—	+—	—	+—
Sacarosa	++	++	++	++	++
Trealosa	+—	+—	+—	+—	+—
<i>Trisacáridos:</i>					
Melecitosa	++	—	—	+—	—
Rafinosa	++	—	—	—	++
<i>Glicósidos:</i>					
Salicina	+—	—	+—	+—	+—
<i>Alcoholes:</i>					
Adonitol	—	—	—	++	—
Dulcitol	—	—	—	+—	—
Manitol	++	+—	++	++	++
Sorbitol	+—	+—	+—	+—	++
Inositol	+—	—	—	+—	—

(no carbohidrato)

Clave:

- ++ : actuación con formación de ácidos y gases
 +— : formación de ácidos, no de gases
 — : no formación de ácidos, ni gases.

TABLA II. PROPIEDADES BIOQUÍMICAS GENERALES

Prueba	Germen				
	1	2	3	4	5
Formación de indol	+	+	+	+	+
Rojo de Metilo	—	—	—	—	—
Voges-Proskauer	+	+	+	+	+
Crecimiento en Koser	+	+	+	+	+
Reducción de nitratos	+	+	+	+	+
Utilización de ácidos:					
d-tartárico	—	—	—	—	—
m-tartárico	—	—	—	—	—
l-tartárico	—	—	—	—	—
mucato (múxico)	+	+	+	+	+
Cítrico	+	+	—	+	+
Decarboxilación:					
Arginina	—	+	+	+	—
Lisina	—	+	+	+	—
Formación de SH ₂	—	—	—	—	—
Ureasa	—	—	—	+	+
Gelatinasa	—	—	—	—	—
Catalasa	+	+	+	+	+
Oxidasa	—	—	—	—	—

- Clave: + : reacción positiva
 + : reacción muy débil
 — : negativa

COMENTARIOS Y DISCUSION

No somos los primeros en descubrir tal característica de formación de indol por gérmenes del grupo *Klebsiella-Aerobacter*, pues anteriormente LAUTROP (7), HUGH (5) y TURCK et al. (11), lo mismo que SUASUNA (10), mencionan tal propiedad. Sin embargo, ellos los incluyen como *Klebsiella*, mientras que nosotros consideramos el hecho en el género *Aerobacter*, basándonos en la movilidad; germen que de acuerdo con HORMACHE y EDWARDS (3), podía ser considerado como *Enterobacter*, pero por no licuar la gelatina incluimos en grupo aparte.

Por otro lado, los bacilos Gram negativos descritos por LAUTROP (7), como *Klebsiella oxytoca*, unían a su capacidad formadora de indol, la característica de licuar la gelatina, propiedad ésta que en ninguna de las estirpes aisladas por nosotros se manifestó.

Así pues esta característica no coincide con los gérmenes indológenos del grupo *Klebsiella-Aerobacter*, nos hace pensar la existencia de un nuevo grupo "Intermedio" en sus caracteres bioquímicos entre los *Escherichia* —incluyendo el *Citrobacter*, que consideramos *Escherichia freundii*— y los *Klebsiella-Aerobacter*, ya que al carácter no coincidente de la formación de indol, se unen otros como el distinto comportamiento de estos gérmenes en la fermentación de azúcares. Concretamente dentro de los alcoholes cabe destacar la no fermentación de ácidos a partir

de la adonita en cuatro de estos *Aerobacter indológenos*; que podrían ir situados en un grupo "Intermedio", o ser considerados como una nueva especie dentro del género propuesto por HORMACHE y EDWARDS, o más propiamente dentro del mismo género *Aerobacter*. Incluyendo como principales características para diferenciación de estirpes, su comportamiento frente a diversos carbohidratos. Y como caracteres comunes la de ser bacilos, Gram negativos, catalasa positivos y oxidasa negativos, móviles por flagelos peritricos, anaerobios facultativos, fermentadores de azúcares, normalmente con la formación de ácidos y gases, no licuadores de la gelatina, V-P positivos, y crecimiento en el medio de Koser, con citratos como única fuente de carbono.

Es evidente pues la existencia de estos gérmenes, que podrían ir situados en un grupo "Intermedio", o ser considerados como una nueva especie dentro del género propuesto por HORMACHE y EDWARDS, o más propiamente dentro del mismo género *Aerobacter*. Incluyendo como principales características para diferenciación de estirpes, su comportamiento frente a diversos carbohidratos. Y como caracteres comunes la de ser bacilos, Gram negativos, catalasa positivos y oxidasa negativos, móviles por flagelos peritricos, anaerobios facultativos, fermentadores de azúcares, normalmente con la formación de ácidos y gases, no licuadores de la gelatina, V-P positivos, y crecimiento en el medio de Koser, con citratos como única fuente de carbono.

RESUMEN

Se describen las reacciones bioquímicas de cinco *Aerobacter*, indol positivos, que suponen la posibilidad de una nueva especie.

SUMMARY

The paper describes, the biochemical reactions of five *Aerobacter*, indol positive forms; it supposes the possibility of a new specie.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BARRITT, M. M.—"The intensification of the Voges-Proskauer reaction by the addition of the a-naftol. *J. Path. Bact.* 42, 441, 1936).
- (2) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 7th ed. Baltimore: The Williams Wilkins Company.
- (3) COWAN, S. T. and STEEL, K. J.—"Manual for the identification of medical Bacteria". Cambridge Univ. Press (1965).
- (4) HARRIGAN, W. F. and MARGARET E. McCANCE.—"Laboratory Methods in Microbiology". Academic Press. London (1966).
- (5) HUGH, R.—"Oxytoca group organisms isolated from the oropharyngeal region". *Cand. J. Microbiol.* 256, 251, (1959).

- (6) KAUFMANN, F.—“Enterobacteriaceae”. Ejnar Munksgard Publisher. Copenhagen (1954).
- (7) LAUTROP, H.—“Gelatin-liquefying Klebsiella strains (*Bacterium oxytocum-Flügge*)”. Acta path. microbiol. scand. 39, 375, (1956).
- (8) MOLLER, V.—“Activity determination of amino acid decarboxylases in Enterobacteriaceae”. Acta path. microbiol. scand. 34, 102, (1954).
- (9) SMITH, N. R. GORDON, R. E. and CLARK, F. E.—“Aerobic spore-forming bacteria. U. S. Dept. Agric. Monograph No 16. Washington. U. S. Dept. Agriculture.
- (10) SUASSUNA, I.—“Indole reactions of Enterobacteriaceas. III Inteference of some substances in the culture media and limited observations on the physiological meaning”. Anais Microbiol. Univ. Brasil, 11, 105, (1963).
- (11) TIRK, M., FOURNIER, M. R. PETERSDORF, R. G.—“Laboratory and clinical studies of *E. coli* infections”. Antimicrobial Agentes and Chemoterapy, 113, American Soc. Microbiol. Michigan (1961).

Granada, Junio 1967.