

VI CONGRESSO INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA
ROMA 6-12 SETTEMBRE 1953

Segretario Gen.: E. BIOCCHI

Presidente: V. PUNTONI

ATTI
DEL VI CONGRESSO
INTERNAZIONALE DI
MICROBIOLOGIA

VOLUME V
SEZIONI XIII-XVI
N. 1-145

SEZIONE XIII - Spirochete

SEZIONE XIV - Miceti

SEZIONE XV - Protozoa

SEZIONE XVI - Artropodi trasmettitori di microrganismi

VI CONGRESSO INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA
ROMA 6-12 SETTEMBRE 1953

Segretario Gen.: E. BIOCCHI

Presidente: V. PUNTONI

ATTI
DEL VI CONGRESSO
INTERNAZIONALE DI
MICROBIOLOGIA

VOLUME V

SEZIONI XIII-XVI

N. 1 - 145

SEZIONE XIII - Spirochete

SEZIONE XIV - Miceti

SEZIONE XV - Protozoa

SEZIONE XVI - Artropodi trasmettitori di microrganismi

—
PROPRIETÀ LETTERARIA RISERVATA
—

La pubblicazione degli Atti del VI Congresso internazionale di microbiologia ha presentato alcune serie difficoltà di ordine teorico e di ordine pratico, dovute alla complessità del Congresso stesso ed al numero molto elevato delle comunicazioni e delle discussioni.

A lato di contributi pregevolissimi sono stati inviati i testi di comunicazioni che non sarebbero degni di comparire accanto ai primi se non fosse prevalso il concetto della massima liberalità.

Tutti i lavori, seguiti dalle relative discussioni, sono stati inviati ai Presidenti di Sezione per la loro approvazione; il Comitato di redazione si è limitato a richiamare l'attenzione dei Presidenti su alcuni contributi poco raccomandabili, al fine di controllare se essi corrispondessero alle comunicazioni esposte in sede di Congresso.

Le bozze di stampa di tutti i lavori, seguiti dalle relative discussioni, sono state inviate agli Autori; la redazione degli Atti non può assumere responsabilità per eventuali errori tipografici dovuti a mancato rinvio delle bozze di stampa da parte degli Autori stessi.

Il Comitato di redazione non ha creduto opportuno di apportare proprie correzioni ad eventuali inosservanze delle regole di nomenclatura microbiologica e di citazioni bibliografiche, lasciando agli Autori la responsabilità dei loro testi.

La maggior difficoltà incontrata dal Comitato nella redazione è stata rappresentata dalla raccolta e dalla pubblicazione delle discussioni; alcuni fogli manoscritti sono stati decifrati con molto sforzo ed il Comitato si scusa di eventuali inesattezze perchè, ad evitare notevoli ritardi della stampa, non è stato possibile inviare le bozze agli oratori intervenuti nelle discussioni.

Gli Atti del Congresso sono stati riuniti in 7 volumi, raggruppando in ciascuno di essi le Sezioni nella forma più razionale, a giudizio del Comitato di redazione, ed obbedendo ad esigenze editoriali.

V. PUNTTONI, Presidente

E. BIOPCA, Segretario Gen.

A T T I
DEL
VI CONGRESSO INTERNAZIONALE
DI MICROBIOLOGIA

SEZIONE XIII

SPIROCHETE

SPIROCHETES

PRESIDENTE: J. W. WOLFF (Amsterdam)

VICE PRESIDENTI: B. BABUDIERI (Roma)

G. E. DAVIS (Hamilton, Montana)

E. D. DE LAMATER (Philadelphia)

Segretario: F. C. BROOME (London)

I.

INFEZIONE SPERIMENTALE NELLA CAVIA CON *LEPTOSPIRA AUSTRALIS* B (ceppo Zanoni)

E. BAJOCCHI - E. BUSSINELLO

(*Istituto di Clinica Medica Generale e Terapia Medica dell'Università di Modena, Italia*)

Gli AA. hanno condotto lo studio su 50 animali infettati per via intraperitoneale con cc 2,5 di una cultura di leptospira Australis B (ceppo Zanoni) cresciuta in terreno di Korthof.

L'avvenuta infezione veniva controllata mediante emocultura praticata in 2. giornata e la sierodiagnosi di Petit-Martin dopo la 12. giornata.

Gli animali sicuramente infettati venivano sottoposti ai seguenti esami: termometrico, emocromocitometrico, prove di labilità colloidale, azoto ureico, glicemia, ricerca delle agglutinine da freddo; è stato altresì studiato il comportamento di alcune espressioni immunitarie naturali di fronte all'infezione.

La temperatura, controllata giornalmente, mostrava un modico rialzo termico durante la prima giornata con acme in corrispondenza della 10. e 15. giornata e ritorno ai livelli iniziali dalla 20. in poi, mantenendo un carattere subcontinuo.

L'esame emocromocitometrico, praticato ogni 5. giornata, ha fatto rilevare una discreta anemia con diminuzione del numero dei globuli rossi e del tasso emoglobinico fino alla 10. giornata e con ritorno ai valori di partenza verso la 20. giornata. A carico della serie bianca gli AA. hanno riscontrato fin dalla prima giornata una modesta leucocitosi neutrofila con linfocitopenia relativa, che diveniva spiccata in 15. giornata con percentuale di neutrofili e linfociti in parti uguali. Il ritorno alla norma è stato osservato dopo la 20. giornata.

L'esame del midollo osseo, prelevato dall'epifisi superiore del femore, ha confermato dopo la 15. giornata dall'infezione, il quadro ematico periferico con una diminuzione sensibile degli elementi mieloidi della serie rossa e bianca e aumento degli istiociti e dei linfociti.

La eucolloidità del siero saggiata con la reazione di Takata Dohmoto e con la reazione di Wunderly e Wuhrmann sono state per la prima costantemente negative e per la seconda positive dalla 15. giornata dall'infezione diminuendo d'intensità dopo la 18. L'azoto ureico e il tasso glicemico sono sempre rimasti entro la norma.

La ricerca delle agglutinine da freddo è risultata costantemente negativa.

Lo stato immunitario naturale saggiato con il potere battericida sul sangue in tota, con il potere opsonico e con il dosaggio del lisozima serico ha dimostrato che: 1º) il potere battericida è presente fino alla 12. giornata cadendo decisamente in 16. per innalzarsi modicamente verso la 41. giornata; 2º) i valori dell'indice opsonico sono aumentati fino all'8. giornata, abbassati dalla 16. alla 24. e con ritorno alla norma alla 28. giornata; 3º) il lisozima del siero tende a diminuire dalla 16. alla 32. giornata, ritornando ai livelli di norma dopo la 41.

I vari organi esaminati macroscopicamente e microscopicamente delle cavie sacrificate ogni 4º giorno dimostravano una partecipazione dell'intero organismo alla malattia. Le lesioni più marcate sono state riscontrate a carico del fegato e della milza.

2.

NUTRITIONAL STUDIES ON *LEPTOSPIRA CANICOLA*

MERIDIAN GREENE BALL, ALLAN SCHNEIDERMAN and MAX S. DUNN

(Departments of Bacteriology and Chemistry, University of California, Los Angeles, U.S.A.)

Thiamine hydrochloride has been shown to be essential to the growth of *Leptospira canicola* in a chemically-defined basal medium of salts and asparagine supplemented with rabbit serum albumin.

Experiments are described attempting to replace asparagine in the above medium by arginine, aspartic acid, glutamic acid or proline.

3.

OSSERVAZIONI SPERIMENTALI NELLA CAVIA INFETTATA
CON *LEPTOSPIRA ICTERO-HAEMORRHAGIAE* (ceppo Zaan)

E. BUSSINELLO - E. BAJOCCHI

(*Istituto di Clinica Medica Generale e Terapia Medica dell'Università di Modena, Italia*)

Gli AA. hanno studiato in 50 cavie l'infezione da leptospira ictero-haemorrhagiae (l.i.h.), riproducendo la malattia in forma attenuta. Gli animali in esperimento venivano infettati per via intraperitoneale con cc 2,5 di una cultura di l.i.h. (ceppo Zaan) coltivato su terreno di Korthof; l'infezione veniva controllata mediante l'emocultura in seconda giornata e con la sierodiagnosi di Petit-Martin a partire dalla 12. giornata.

Ogni animale è stato sottoposto ad una serie di esami atti a cogliere eventuali quadri patologici indotti dalla malattia. Venivano controllati: la temperatura, l'esame emocromocitometrico, alcune prove di labilità colloidale, l'azotemia, la glicemia, le agglutinine da freddo e veniva inoltre studiato il comportamento di alcune espressioni dell'immunità naturale.

In tutti gli animali gli AA. hanno accertato l'avvenuta infezione con la positività della emocultura e della siero-diagnosi.

La temperatura, controllata giornalmente, era elevata fin dall'inizio assumendo un andamento irregolare e ritornando gradualmente per lisi alla norma dalla 40. giornata dall'infezione.

Dall'esame emocromocitometrico gli AA. hanno rilevato una modesta modificazione a carico della serie rossa, mentre a carico della serie bianca hanno riscontrato fin dalle prime giornate una spiccata leucocitosi neutrofila con linfocitopenia relativa ad eosinofilia, tendenti verso la 10. giornata ai valori di partenza; per poi osservare nuovamente leucocitosi alla 20. giornata, e quindi ritorno alla norma solo verso la 40. giornata.

L'esame del midollo osseo, prelevato dall'epifisi superiore del femore, eseguito sugli animali sacrificati ha mostrato dopo la 20. giornata dall'infezione un aumento della componente reticoloistiocitaria e una modica inibizione maturativa mieloide specie a carico della componente eosinofila.

Le reazioni di labilità colloidale saggiate con le prove di Takata Dohmoto e con la reazione al cadmio di Wunderly e Wuhrmann hanno dato per la prima risultato costantemente negativo, mentre per la seconda è stata constatata una positività in tutti gli animali a partire dalla 4. giornata.

L'azoto ureico dosato con il metodo microuretometrico di Dall'Aira è risultato decisamente aumentato.

Non sono state constatate modificazioni del tasso glicemico durante il periodo di osservazione.

La ricerca delle agglutinine da freddo è risultata negativa.

Per il comportamento delle espressioni immunitarie gli AA. hanno studiato: 1^o) il potere battericida del sangue in toto che è presente come di norma fino alla 12. giornata, decrescendo poi con l'evoluzione della malattia; 2^o) il potere opsonico subisce una graduale diminuzione dalla 4. giornata e riscontrabile fino al sacrificio degli animali (50. giornata); 3^o) il tasso lisozimico serico diminuisce nettamente dalla 28. giornata.

Il quadro macroscopico e microscopico delle cavie sacrificate ogni 4^o giorno evidenziava delle alterazioni che investivano più o meno tutti gli organi; le lesioni più marcate sono state riscontrate a carico dei polmoni, del fegato, della milza e dei surreni.

4.

LEPTOSPIROSIS POR L. BALLUM EN LOS TRABAJADORES DE ARROZAL
DE LA REGION DE CAMARLES (DELTA DEL EBRO)

J. COVALEDA, A. PUMAROLA y I. CANTARELL

(Cátedra de Microbiología e Higiene de la Facultad de Medicina de Barcelona, España)

En estos últimos años se ha podido demostrar que las leptospirosis son enfermedades frecuentes en nuestro país, con prevalencia en el medio rural, sobre todo después de la aplicación de los métodos serológicos, que han permitido conocer la importancia de las formas anictéricas que antes pasaban desapercibidas.

Estas infecciones van ligadas fundamentalmente a determinadas profesiones que condicionan el contacto con aguas contaminadas por el resevorio y según la mayor o menor oportunidad de contacto con dichas aguas, puede establecerse una gradación que nos explique la distinta morbilidad según el tipo de trabajo profesional realizado.

Sin ningún género de duda, el principal foco de leptospirosis en nuestro país, lo constituyen las regiones dedicadas al cultivo del arroz.

Las características especiales del cultivo, que obliga a trabajar en aguas contaminadas y durante un tiempo limitado, a grandes contingentes de trabajadores, tanto de la localidad como procedentes de otras regiones, hace que se presenten todos los años brotes epidémicos que afectan a una gran proporción de trabajadores, principalmente en el momento de la siega. Esta elevada proporción de casos y el plazo de recuperación de la enfermedad en relación con el trabajo que realizan, crea un importante problema sanitario, social y económico.

La resolución de estos problemas y la adopción de las medidas profilácticas adecuadas, sólo se podrá acometer cuando se tenga un conocimiento de las características epidemiológicas de estas infecciones, en especial de las especies o tipos serológicos de leptospires que intervienen y de los principales animales reservorios.

Por este motivo, desde 1951, hemos emprendido el estudio de las leptospirosis de los arrozales, dedicando especial atención a los brotes ocurridos en el Delta del Ebro y en especial en la población de Camarles, cuyos habitantes se dedican exclusivamente al cultivo del arroz, y que todos ellos en la época de la siega se ponen en contacto con aguas contaminadas.

En un trabajo anterior, hemos descrito las características clínicas fundamentales que presenta esta infección en los trabajadores de arrozal, sentando la mayor frecuencia de las formas anictéricas que hasta el presente pasaban desapercibidas con el diagnóstico de gripe, paratifoidea, paludismo, reumatismo, cólicos, etc.

Los trabajos de Babudieri, sobre la leptospirosis de los arrozales en Italia, demostaron que aun cuando estas infecciones respondían en líneas generales a un esquema clínico unitario, desde el punto de vista etiológico, podían ser producidas por diversos tipos de leptospirosis, en especial por *L. bataviae*, que es la responsable de la mayoría de los casos y en orden decreciente de frecuencia por *L. icterohaemorrhagiae*, *L. sejroe*, *L. grippotyphosa*, *L. saxkoebing* y *L. pyrogenes*.

Los trabajos realizados en los arrozales de nuestro país hasta el presente, sólo han permitido demostrar la existencia de infecciones por *L. icterohaemorrhagiae* (1).

En esta nota, demostramos la existencia de leptospirosis por *L. ballum*, que hasta el presente no se concepía como tipo causal de infecciones en los arrozales, y de la que apenas se han descrito casos humanos.

En el verano y otoño de 1952 y coincidiendo fundamentalmente con la época de la siega del arroz, hubo un pequeño brote del leptospirosis en la población de Camarles.

Se estudiaron en total los sueros de 31 enfermos por medio de la reacción de aglutinación lisis, con los tipos de leptospirosis frecuentes en los arrozales. De ellos, 22 fueron positivos a *L. icterohaemorrhagiae* a títulos elevados; los títulos de aglutininas para las demás cepas fueron muy bajos, lo que nos permitió establecer el diagnóstico con seguridad.

De los restantes sueros, encontramos dos positivos a *L. sejroe* y uno a *L. poï*. Los títulos de aglutinación no eran lo suficientemente elevados para establecer el diagnóstico de certeza, lo que nos obligó a obtener nuevas muestras de sangre de los enfermos al objeto de practicar nuevas reacciones.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

CASO: ARE.

	Días a partir del comienzo de la enfermedad	5	12	23
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>		—	100 (1)	5.000
<i>L. sejroe</i>		—	500	100

(1) Los títulos de aglutinación vienen expresados por el denominador de la máxima dilución del suero que da una aglutinación neta.

CASO: ALC.

	Días a partir del comienzo de la enfermedad	15 d.	2 m.	5 m.
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>		100	50.000	10.000
<i>L. sejroe</i>		500	1.000	100
<i>L. poï</i>		100	500	100

(1) Nuestra Sección de Leptospirosis y de Diagnóstico Serológico ha prestado ayuda técnica a distinguidos investigadores que han emprendido el estudio de las leptospirosis en otras zonas arroceras.

	CASO: ROY.	Dias a partir del comienzo de la enfermedad
		15 d. 2 m.
L. icterohaemorrhagiae	50	10.000
L. sejroe	50	100
L. poï	100	500

Después de una elevación inicial del título de aglutininas frente a *L. sejroe* y *L. poï*, éste decrece en la siguiente muestra y por el contrario el título frente a *L. icterohaemorrhagiae*, que era discreto, se eleva considerablemente, no dejando lugar a dudas de que se trata de una infección por esta especie.

Estos fenómenos que ya habían sido advertidos por algunos autores, constituyen una importante causa de error en el diagnóstico de una leptospirosis al tomar por aglutinaciones específicas, coaglutinaciones que en los primeros estadios de la enfermedad pueden presentar un título igual o superior al obtenido frente a la cepa específica.

Nos quedaban por estudiar seis sueros correspondientes a enfermos que presentando el cuadro clínico típico de la leptospirosis de arrozal, el título de aglutinación obtenido frente a las cepas anteriores era demasiado bajo para ser convincente. Para llegar al diagnóstico de estos casos, determinamos obtener muestras de sangre en los que fuera posible, enfrentando estos sueros con toda las cepas de nuestra colección.

Utilizamos un tipo de reacción de aglutinación reducida, practicando posteriormente la aglutinación al límite con las cepas seleccionadas por el método anterior. Los resultados fueron los detallados en la página siguiente.

La prueba de aglutinación lisis fué negativa frente a las restantes cepas (*L. grippotyphosa*, *L. pomona*, *L. mitis*, *L. australis A*, *L. australis B*, *L. saxkoebing*, *L. bataiae* y *L. hebdomadis*).

Los títulos de aglutinación y la curva de aglutininas demuestra que se trata de casos de leptospirosis por *L. ballum*.

Clinica.

Las características clínicas de los casos estudiados fueron las siguientes:

A.F.R., de 39 años de edad. El 12-7-52, después de varias semanas de trabajo en el arrozal, aqueja quebrantamiento, cefalalgia, escalofríos y fiebre. Por la noche presenta sed, vómitos, sudores, fuerte cefalalgia frontal y mialgias en región lumbar y piernas. El 13-7 intenta reintegrarse al trabajo, pero pronto se presentan mialgias generalizadas, artralgias, fuerte inyección conjuntival, vómitos y anorexia absoluta que le obligan a encamarse.

A la exploración se observa: temperatura 40°, pulsaciones 110, hipotensas y rítmicas; lengua saburral y profunda postración. Masas musculares dolorosas a la presión y movimientos.

CASO: A.R.F.

Tipo serológico	Cepa	15 d.	2 m.	5 m.
L. ballum	S-102	1.000	50.000	10.000
L. ballum	Camarles	1.000	50.000	5.000
L. canicola	C ₇	100	5.000	500
L. poi	Poi	100	1.000	50
L. sejroe	M-84	100	500	50
L. icterohaemorrhagiae . .	A B	100	500	50

CASO: A.C.S.

Tipo serológico	Cepa	15 d.	2 m.	5 m.
L. ballum	S-102	5.000	100.000	5.000
L. ballum	Camarles	10.000	100.000	5.000
L. canicola	C ₇	1.000	5.000	100
L. poi	Poi	100	500	100
L. sejroe	M-84	100	1.000	100
L. icterohaemorrhagiae . .	A B	100	1.000	100

CASO: J.P.B.

Tipo serológico	Cepa	15 d.	2 m.
L. ballum	S-102	1.000	10.000
L. ballum	Camarles	1.000	50.000
L. canicola	C ₇	100	1.000
L. icterohaemorrhagiae . .	A B	100	500

Tipo serológico	Cepa	R. M.	2 m.	J. S. A.	J. M. G.
L. ballum	S-102	10.000	10.000	50.000	
L. ballum	Camarles	10.000	10.000	50.000	
L. canicola	C ₇	500	1.000	1.000	
L. poi	Poi	50			
L. sejroe	M-84	50			
L. icterohaemorrhagiae . .	A B	100			
L. pyrogenes	Salinen	100			

Kernig y Lasségue positivos. Infartos glanglionares en región inguinal derecha, dolorosos a la presión duros y rodaderos. Orina: albúmina positiva.

Se administran 200.000 U. de penicilina, que hace descender la temperatura a 35'6°, con pulso pequeño taquicárdico y filiforme, sensación de frío intenso, temblor y sudoración. Este estado cede al cabo de una hora. Se continúa la administración de 200.000 U. de penicilina diarias y a los tres días desaparece la fiebre y remiten

los síntomas. El enfermo quedó con una fuerte astenia residual de recuperación muy lenta.

A.C.S., de 25 años. El 14-X-52, aqueja súbitamente fuertecefalalgie y dolores musculares en brazos y piernas que le obligan a encamarse. Fiebre alta, sudores.

El 15-X, se generalizan las mialgias, aparecen vómitos, lengua saburral, fetidez de aliento, inyección conjuntival y anorexia. Temperatura 39,5°, pulso 100, hipotensión y rítmico, Signos meníngeos positivos. Dolores musculares a la presión generalizados. Ganglios inguinales infartados. Inyección conjuntival. Algias de los músculos abdominales. Albuminuria. Estreñimiento.

Se administran 400.000 U. de penicilina, que alas dos horas provocan fuerte descenso de la temperatura, temblor, sensación de frío intenso y palidez acentuada. Este cuadro cede al cabo de una hora. Se continúa adminisntrando penicilina, remitiendo los síntomas al cabo de pocos días, quedando el enfermo con una astenia muy marcada. A los diez días y en plena convalecencia aparece febrícula, que cede espontáneamente.

Los restantes casos reproducen con ligeras variaciones estos cuadros que corresponden a la forma típica anictérica que describimos en un trabajo anterior y que constituye la forma clínica que se presenta en la mayoría de leptospirosis en los trabajadores de arrozal.

Reservorio.

Simultáneamente realizamos una encuesta epidemiológica sobre el reservorio murino en esta zona, de un total de 46 ratas grises (*Epymis norvegicus*), pudimos aislar 27 cepas de leptospirosis, en su casi totalidad *L. icterohaemorrhagiae*.

De una rata gris se aisló una cepa que desde un principio no pudimos indentificar, debido a su escaso crecimiento. Una vez adaptada, se obtuvieron crecimientos abundantes que permitieron efectuar un estudio serológico completo.

Las pruebas de aglutinación cruzadas con las cepas y sueros inmunes de nuestra colección, dieron los siguientes resultados:

	Suero inmune	
	L. ballum S - 102	L. Camarles
L. ictero A B (1) Wijnberg	50	50
L. ictero A Kantorowicz	10	10
L. ictero Verdun	50	50
L. ictero Camarles	50	50
L. ictero Valencia	50	50
L. canicola C ₇	500	1.000
L. grippo-typosa Adaman	0	0
L. ballum S-102	10.000	10.000
L. pomona Gsell	0	0

(1) Las cepas que se citan en este trabajo han sido recibidas de B. Kolochine Erber y de C. Borg-Petersen, a quienes nos complacemos en expresar nuestro agradecimiento.