

NECROSIS BACILAR EN LOS ANIMALES Y DIFTERIA EN LOS TERNEROS

Por R. CAICEDO AGUILAR, M. V. D.

Jefe de la Sección Veterinaria del Instituto "Behring"

En el año de 1939, en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Veterinaria, iniciamos el estudio de la necrosis nodular del hígado y pulmones de los bovinos; en ese mismo año, logramos el aislamiento y cultivo puro del *Bacterium Necrophorum* (Flügge). germen descrito por Löffler en 1884, como el agente de la Difteria Vitular, y estudiado después por Bang (7) y Schmorl (8), quienes demostraron sus propiedades necrosantes y lo llamaron *Streptotrix Cuniculi*.

Fue tomado de materiales de investigación llegados al Laboratorio y de algunos casos llevados a la clínica de la Facultad, procedentes de algunas haciendas de la Sabana

Los materiales a que nos referimos eran pulmones e hígado de bovinos; los primeros pertenecían a animales jóvenes y los segundos a jóvenes y adultos indistintamente; los casos clínicos fueron animales jóvenes, terneros afectados de procesos difteroides de la mucosa bucal y de las vías respiratorias altas

Posteriormente hubo la oportunidad de continuar las observaciones en muchos materiales de investigación llegados durante los últimos tres años a la Sección de Investigación del Instituto "Behring".

CLASIFICACION Y MORFOLOGIA

El *Bacterium Necrophorum* es un Protofito Esquizomiceto, perteneciente a las bacteriáceas por carecer de esporos; se agrupa entre las *Corynebacte-*

rias (Flügge) o sea bacterias en forma de masa o clava; como todos los gérmenes patógenos, es "mesófilo", que necesita para su desarrollo una temperatura de 37° c.

Aunque bastante polimorfo, se presenta en los tejidos frescos y en los cultivos en forma de filamentos delgados continuos, muy largos; correspondiendo esta descripción a la consignada por H Dahmen (1); S. H. Caiger y C. O. Davies (1 y 2) y Besson (4). Esta presentación es bastante regular especialmente en los cultivos jóvenes, en medios líquidos, en los tejidos de los animales infectados naturalmente y en los inoculados experimentalmente no son muy frecuentes esas formas tan largas pero sí las formas en bastoncitos delgados de 2 a 4 micras de largo por 1 a 1.5 de ancho; (H. Dahmen (1); estas formas de bastoncitos siempre es posible encontrarlas en todos los períodos de evolución del germen en los medios de cultivos artificiales, y predominan en los cultivos artificiales viejos, observación de acuerdo con William Arthur (9).

En los cultivos contaminados el germen presenta un mayor polimorfismo observándose al lado de las filamentosas, individuos aislados que dan la sensación de poca densidad protoplasmática, esponjosos; en estas condiciones el *Bacterium Necrophorum* desaparece pronto del cultivo, tal vez es refractario a la convivencia con otros gérmenes; se puede pensar que lo mismo sucede en la infección natural, en la cual es difícil conseguirlo en las placas diftéricas en estado avanzado en

que hay abundante proliferación de otros gérmenes; en los cuales "se le encuentra con dificultad" según S. H. Gaiger y G. O. Davies (2).

En los cultivos puros degenera y pierde presto la vitalidad, motivo por el cual se nos ha dificultado conservar las cepas mucho tiempo, y para los estudios bacteriológicos y las pruebas de vacunoterapia, hubo necesidad de tomar cepas frescas procedentes de materiales nuevos o cepas conservadas mediante pases sucesivos por conejo. El *Bacterium Necrophorum* es muy sensible al oxígeno y sólo es posible su desarrollo en buenas condiciones de anaerobiosis. (Beveridge (10)).

Tenemos la creencia, muy fundada, que las toxinas y venenos producidas por el germen en el medio de cultivo, ya desde las 24 horas, pueden ser perjudiciales para él mismo e inhiben su desarrollo posterior y longevidad; la producción de toxinas y venenos del *Bacterium Necrophorum*, en los medios de cultivo líquidos, ha sido ya anunciada por Besson (4), y Ach. Urbain et Guillot (?). El primero informa sobre una toxina necrosante a la cual es muy sensible el curí, los segundos hablan de "una toxina soluble", patógena para el curí, con lesiones escarificantes. "Hoy día se cree más en una endotoxina" de acuerdo con Hagan (9).

La bacteria de la necrosis es inmóvil; se tiñe débilmente por los colores de anilina tomando el colorante de manera irregular, particularidad que la hace aparecer como escalera o caña de bambú; con giemsa presenta gránulos metacromáticos; es gran negativa. Esta particularidad de coloración, se debe de acuerdo con Hagan (9), a la distribución irregular del citoplasma en las formas filamentosas.

PROCEDIMIENTOS DE INVESTIGACION

S. H. Gaiger y G. O. Davies (2), hablan de la dificultad para aislar, en cultivo, el germen de la necrosis, "me-

jores resultados se obtienen, dicen, mediante la inoculación subcutánea al conejo con una emulsión de tejido enfermo".

Partiendo de las placas diftéricas de la mucosa bucal y de las vías respiratorias, es posible obtener la cepa, con relativa facilidad cuando el proceso está en comienzo y aún no hay proliferación abundante de otros microorganismos.

De los focos de necrosis hepática y pulmonar, es más fácil obtenerla, aunque el órgano tenga tiempo de haber sido retirado del animal.

El proceso seguido para el aislamiento del germen ha sido el siguiente: partiendo de las placas difteroides, se ha tomado una membrana necrótica espesa con una pinza y sumergido rápidamente en alcohol, inmediatamente se la ha pasado por una llama para destruir los gérmenes exteriores; una vez eliminado el alcohol, se introduce todo el material en un tubo de ensayo que contiene caldo-hígado para anaerobios, según Tarotzi; esta operación es preciso hacerla con varias placas.

Partiendo de los focos necróticos del hígado y pulmón, escogiendo los más voluminosos y los que no hayan sufrido desintegración, basta flamear bien la superficie, hacer una incisión profunda y tomar el material con una asa de platino.

En la incubadora a 37° c. se obtiene un desarrollo que es apreciable a las 24 horas; el cultivo se caracteriza por producción de algunos gases ("descomposición de los albuminoides que originan gases de putrefacción". H. Dahmen), el olor del cultivo es característico, a queso; en los días siguientes se forma un sedimento gris, sucio, abundante y la porción superior del medio del cultivo se aclara y toman color carmelita.

Para garantizar la pureza del cultivo, hay necesidad de sembrar un asa del cultivo anterior en superficie sobre agar-sangre; se utilizan las placas de agar-sangre en cajas de petri, de no-

más de 1 cm. de altura, según el método de Fortner o el de Schop (agar-sangre glucosado); para hacer la siembra se toma una asa y se pasa sobre la mitad de la primera caja, se limpia la misma asa, sin cargarla de nuevo, en la mitad de una segunda caja, así se consigue en la segunda escaso material y colonias aisladas; en la otra mitad de las cajas, se siembra densamente *Bacterium Prodigiosum*; por medio de una placa de vidrio y un poco de plastilina, se cierra herméticamente cada caja; el *Bacterium Prodigiosum* agota pronto el oxígeno y se produce anaerobiosis completa en el interior.

En superficie, sobre el medio anterior, a los dos o tres días, el *Bacterium Necrophorum* da colonias incoloras claras, de bordes lisos y netos, como gotas de rocío y rodeadas de una pequeña zona de hemólisis (1), (colonias tipo S); en cultivos viejos, algunas de esas colonias aparecen con los bordes deshilachados (colonias tipo R).

PRUEBAS DE VIRULENCIA EN ANIMALES

Las inoculaciones experimentales se han practicado con todas las cepas puras, en conejos adultos, utilizando siempre la vía subcutánea abdominal; se han hecho también aplicaciones en ratones blancos, por las vías subcutáneas e intraperitoneal, los animales han muerto.

PERIODO DE INCUBACION Y LESIONES EN EL CONEJO

Los conejos han recibido 0,5 cc. de caldo-hígado y los ratones 0,2 cc., cultivo de 24 horas, puro.

Los conejos han muerto entre el 7º y el 9º día siguientes, las lesiones de autopsia han sido en todos notablemente uniformes, lo cual su descripción es corta.

(1) Zona de hemólisis más fuerte cuando se usa sangre de caballo.

Músculos abdominales:—Necrosis que en algunos puntos atraviesa la pared abdominal, produce adherencias con los órganos internos y ulceraciones y necrosis peritoneales e intestinales.

Hígado: Placas de tejido necrótico caseoso sobre la superficie diafragmática y bordes inferiores; focos putiformes de necrosis en el parenquima hepático.

Pulmones: Edematosos y con láminas de hepatización en los bordes inferiores.

Vejiga urinaria: Plena y en suspensión en la orina, una sustancia harinosa, como queso desmenuado; en esos fragmentos se encuentra el germen.

Tejido conjuntivo subcutáneo: Necrosis difusa, de color blanco crema, de consistencia firme con ausencia casi completa de supuración.

La cepa se ha recuperado siempre, por cultivos de la sustancia necrosada subcutánea y hepática. La virulencia de la Bacteria de la Necrosis es muy grande si se tiene en cuenta la violencia de las lesiones en el conejo, la bacteria aparentemente no se generaliza, pero sí llega por intermedio de la sangre a los órganos electivos produciendo metástasis.

ENSAYOS DE VACUNACION

Desde el año de 1939 el autor (5), inició el estudio de una vacuna, primero se aplicó en la clínica de la Facultad y después se suministró a los ganaderos que la necesitaban de acuerdo con las investigaciones de Laboratorio: en el Instituto Behring continúa su elaboración con ese mismo fin.

La vacuna se prepara partiendo de cultivos puros, en matraces de caldo-hígado de Taratzi, convenientemente estandarizado de manera de obtener siempre un desarrollo abundante; por procedimientos químicos se desvitaliza y desintoxica para obtener un anaerobio; la dosificación se hace por los procedimientos ordinarios; el número de

dosis preparadas es aproximadamente de 1.500 que se han aplicado en su totalidad en calidad de vacunas específicas para aquellas haciendas y lugares en donde se ha diagnosticado la infección; los resultados registrados hasta ahora son aceptables.

Hemos comprobado que la infección es hasta ahora, enzoótica en algunas zonas, en donde los animales se infectan y reinfectan de manera continua, contribuyendo a mantener la vitalidad y virulencia del agente, tales los casos, por ejemplo de la Hacienda "Veraguas", "La Fragua", "Tilatá" y "Chucua" en Cundinamarca; en esas condiciones, sólo el empleo permanente y metódico de la vacunación específica ha logrado controlar la enfermedad.

Sin embargo, la inmunidad que se ha logrado conseguir hasta ahora con los anacultivos no ha sido muy sólida ni homogénea; en las haciendas nombradas y en otros lugares, se ha regis-

trado un porcentaje de enfermos, animales jóvenes especialmente, que habían recibido la vacuna 6 meses antes; algunos de esos casos murieron y se pudo comprobar la infección por el bacilo de la Necrosis en el Laboratorio. La Vacunoterapia curativa ha tenido un resultado muy variable, es posible que la vacuna sea benéfica como antígeno estimulante específico; pero los propietarios interesados siempre la piden con mucha vehemencia.

Velásquez (11) cree que la llamada "Mazamorra" de los caballos en Colombia, es producida por el bacilo de la necrosis; pero hasta ahora faltan comprobaciones bacteriológicas en tal sentido. Según Hagan (9) el bacilo de la Necrosis puede producir neumonías necróticas en el caballo; y Daham (1), informa habersele encontrado en el arestín gangrenoso y gabarro cartilaginoso de los équidos, en el panadizo y necrosis hepática múltiple de los bovinos.

CONCLUSIONES

- I—Se ha comprobado en Colombia, por cultivos, la existencia del agente de la Difteria Vitular de Löffler y de los procesos necrosantes de Bang y Schmorl.
- II—Es posible encontrarlo en estado de pureza en los focos de necrosis caseosa del hígado y pulmones de los bovinos.
- III—Es un germen que hasta ahora, sólo produce enzootias en el país,

es decir, enfermedad infecciosa que sólo produce sus efectos en un lugar circunscrito.

- IV—La vacunoterapia con anacultivos, se justifica en esos lugares.

V—En los muchos hatos y lugares infectados de Cundinamarca, el germen produce varias pérdidas y es necesaria una investigación de Laboratorio minuciosa.

BIBLIOGRAFIA

- 1—H. Dehmen. Microbiología Veterinaria, 1943; 199, 191.
- 2—S. H. Gaiger, G. O. Davies. Veterinary Pathology and Bacteriology. 1938: 337, 339.
- 3—Ach. Urbain et G. Guillot-Dictionnaire des Bacteries Pathogenes.
- 4—Besson-Tecnique Microbiologique et Serotherapique.

- 5—Caicedo Aguilar Reinaldo. Sesumen de los trabajos realizados en el Laboratorio de Investigación Bacteriológica de la Escuela de Veterinaria en 1939. Rev. de Med. Vet. de enero, febrero, marzo y abril de 1940.

- 6—Caicedo Aguilar Reinaldo, Reseña

de los trabajos realizados en el Laboratorio de Investigación Bacteriológica de la Escuela de Medicina Veterinaria en 1940. Informe rendido a la Dirección de la Escuela en marzo de 1941.

7—Bang. Abstract, Central. f. Back 1893, 13, 201.

8—Schmold. Deutsch. Zeitschr f. Thiermed. 1891 18, 375.

9—William Arthur Hagan. The Infectious Diseases of Domestic Animals 1943, 307, 311.

10—Beveridge. Jour. Path. and Bact. 1934, 38-467.

11—Velásquez Q. José. "Mazamorra". Rev. de Med. Vet. 1929. N° 1, pág. 3.