

IICA
L73
28



IICA





UNIVERSIDAD VERACRUZANA

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DR. FRANCISCO AYALA LAGOS
Director de la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia

SECRETARIA DE AGRICULTURA Y RECURSOS HIDRAULICOS
DIRECCION GENERAL DE SANIDAD Y PROTECCION AGROPECUARIA Y FORESTAL

DIRECCION DE SALUD ANIMAL

M.V.Z. JOSE TRAPAGA BARRIENTOS
Director de Salud Animal

M.V.Z. CELSO PEÑA NAVA
Jefe del Departamento de Diagnóstico Veterinario

M.V.Z. OTILIO FRANYUTTI MALPICA
Jefe Unidad Salud Animal
Estado de Veracruz

M.V.Z. EFRAIN ACOSTA
Coordinador Unidad de Salud Animal
Estado de Veracruz

INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

DR. HECTOR MORALES JARA
Representante del IICA en México

M.V.Z. RAUL ALCOCER BENITEZ
Especialista en Salud Animal IICA/México

11CA

00007245

L73

28

Editado por:
Instituto Interamericano de
Cooperación para la Agricultura

MEMORIAS DEL
SEMINARIO DE ACTUALIZACION DE
CLOSTRIDIASIS

DIRECCION GENERAL DE SANIDAD Y PROTECCION AGROPECUARIA Y
FORESTAL
INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA
UNIVERSIDAD VERACRUZANA

Instructor: Dr. Ricardo Flores Castro

Septiembre 5 y 6 de 1988.
Sede: Escuela de Medicina
Veterinaria y Zootecnia.
Universidad Veracruzana
Veracruz, Ver.

273

BV-131:7



C O N T E N I D O

	Pág.
Enfermedades producidas por los clostridios en bovinos.....	1
a) Tetanos.....	1
b) Botulismo.....	3
c) Hemoglobinuria bacilar.....	5
d) Enterotoxemia.....	8
Carbón sintomático y otras miositis de origen clostridial..	13
Edema maligno.....	17
Otras miositis de origen clostridial.....	19
Propiedades bacteriológicas de los clostridios y otros agentes esporulados.....	21
- Género Bacillus.....	21
- Género Clostridium.....	23
Características de cultivo de los principales clostridios..	26



ENFERMEDADES CAUSADAS POR LOS CLOSTRIDIOS EN LOS BOVINOS.

Las clostridiasis ocurren como consecuencia de dos efectos: a) la presencia de toxinas clostridiales y b) la capacidad invasiva de los clostridios. Bajo estas condiciones encontramos que algunas enfermedades pueden ocurrir en ausencia de los microorganismos, pero en presencia de fuertes dosis de toxina, como es el caso del Tétanos y el Botulismo. En otras clostridiasis se pueden observar grados variables de toxigenicidad e invasividad. A continuación se describen las principales enfermedades ocasionadas por miembros del género clostridium al ganado bovino.

TETANOS.

Es una enfermedad distribuida en todo el mundo. Las esporas de Cl. tetani se han encontrado en la mayoría de países en los que se ha investigado. Al parecer son contaminantes del suelo e incluso se cree que son comunes en el intestino de los ruminantes.

Etiología. Clostridium tetani es un clostridio con espora terminal, lo que le da una apariencia de palillo de tambor. Posee movimiento e hidroliza la gelatina.

Toxinas: a) Tetanolisina, es una hemolisina.
b) Tétanos pasmina, es una neurotoxina letal.
c) Toxina no espasmogénica.

La tetanospasmina es una proteína altamente tóxica por vía parenteral, pero inocua por vía oral. Los equinos y seres humanos son los más sensibles, mientras que aves y felinos son más resistentes. Actúa bloqueando sinapsis nerviosas.

Patogénesis.- Las esporas germinan en heridas sucias en donde hay cierta necrosis que produce el potencial de oxidación-reducción. Al germinar la bacteria genera toxina y se manifiesta el cuadro clínico de la enfermedad. La castración, descorne y el corte de cola, son procesos frecuentemente asociados con tetanos, lo mismo que las infecciones umbilicales e infecciones postparto (tétanos purpural).

Cuadro Clínico.- La incubación varía de una semana hasta 3 ó 4 meses. Al inicio de la enfermedad hay dolor de la región donde ocurrió la herida, poco después se producen contracciones musculares en maseteros y en el tren posterior. En 24 horas los signos se generalizan, con espasmos tóxicos. El animal se muestra hiperexcitado. Orejas erectas, prolapso del tercer párpado, especialmente en equinos; hay extensión del cuello y ar-



)

queamiento del curso, rigidez en articulaciones de los miembros anteriores. Puede haber fiebre.

Tratamiento.- Se debe tratar adecuadamente la herida, para eliminar la infección. Se recomienda la aplicación de penicilina y antitoxina (suero antitetánico). Es recomendable el empleo de algún sedante.

Prevención.- Se puede aplicar toxoide tetánico.

BOTULISMO.

Son agentes que habitan en el suelo. Este padecimiento es debido a la presencia de toxina, sin que se requiera el factor de invasividad.

Etiología.- Clostridium botulinum. Posee espora subterminal y es capaz de hidrolizar gelatina. Sus toxinas son proteínas termolábiles (se destruyen a 100°C durante 10 minutos). Se han identificado 7 tipos de neurotoxinas, a las que se les identifica como A, B, C, D, E, F y G. Se considera que estas son las sustancias tóxicas más potentes que hay en la naturaleza. Un miligramo de neurotoxina contiene más de 20 millones de dosis mortales para ratón. Además estas toxinas resisten la digestión peptídica y triptídica del tracto gastrointestinal, por lo que son absorbidas en el intestino, pasar a la sangre y alcanzar así a las neuronas sensibles. Su acción está enfocada hacia nervios periféricos. Su presencia bloquea el paso de los impulsos nerviosos a los músculos, al parecer inhibiendo la liberación de acetilcolina. Se produce parálisis ascendente y sobreviene la muerte por paro respiratorio.

Patogénesis

El Cl. botulinum se puede reproducir en cadáveres de diferentes especies animales. También es frecuente la replicación del microorganismo en alimentos descompuestos. Las moscas pueden contaminar al estar en contacto con cadáveres descompuestos y diseminar la infección. Los alimentos enlatados son una fuente común de enfermedad en humanos. Al replicarse el clostridio libera las toxinas que al ser ingeridas causan la enfermedad. La deficiencia del fósforo puede asociarse con este padecimiento.

Cuadro Clínico

Los signos aparecen por lo general entre las 12 y 36 horas siguientes a la ingestión de los alimentos contaminados con la toxina, pero pueden hacerse evidentes desde las 6 horas después o bien hasta una semana después del consumo de alimento. A mayor dosis de toxina menor tiempo de incubación.



Los signos son evidentemente nerviosos; debilidad, dificultades para deglutir y masticar, parálisis progresiva y muerte por parálisis respiratoria.

Diagnóstico.

Sólo se puede establecer demostrando la presencia de toxina en el alimento o en el tracto gastrointestinal de los animales afectados. Se hacen filtrados de estos materiales y se inoculan ratones. Se puede hacer la prueba de suero-neutralización para determinar el tipo de toxina.

Control.

Evitar el consumo de alimentos en descomposición. Suplementar fósforo en áreas deficientes en ese animal.

En humanos es factible el uso de antitoxina, lo cual no ha mostrado su efectividad en animales.

Existen antecedentes de inmunización de Minks con toxoides elaborados con los tipos A, B y C de toxina botulínica.

HEMOGLOBINURIA BACILAR (AGUAS ROJAS)

Este padecimiento es común en zonas muy húmedas puesto que es una enfermedad asociada con la existencia de fasciola hepática. Es probable que en México predomine en la zona del Golfo de México. Existen portadores sanos que eliminan clostridios en las deyecciones intestinales, contaminando el suelo y alimentos. La enfermedad se caracteriza por producir infartos hepáticos y abundante hemoglobina en la orina, producto de una potente toxina hemolítica.

Etiología.- *Clostridium naemolyticum* (Cl. Novyi tipo d). Posee espora subterminal. Produce varias toxinas sin embargo solamente una de ellas, llamada **lecitinasa C**, la cual es severamente hemolítica y letal. Esta toxina causa necrosis del tejido hepático.

Patogénesis.

Este microorganismo sólo afecta bovinos y ovinos causando la enfermedad clásica de las aguas rojas. Al ingerir alimento contaminado, el ovino se infecta; la bacteria pasa a la sangre y vía hematogena, llega al hígado en donde se multiplica y produce sus toxinas. Es importante la presencia de la fasciola hepática puesto que causa infarto de las ramas de la vena porta y favorece así la germinación del clostridio, que encuentra un medio carente de oxígeno. Los infartos suelen ser de 5 a 20 cm. de diámetro.



Es importante reiterar que esta enfermedad no existe en áreas en donde no hay fasciolas.

La hemólisis causada por la toxina produce anoxia y por ende la muerte.

Cuadro Clínico.

Pérdida de apetito y se suspende la rumia; la respiración es agitada. Hay aumento de temperatura, pero ésta cae súbitamente pocas horas antes de la muerte. Es probable que se presente un cuadro diarreico asociado con sangre en las heces y la aparición de orina de color rojo oscuro. Los animales sufren de anemia y deshidratación y pronto ocurre la muerte. El cuadro suele seguir un curso de 1 a 3 días. La orina tiende a formar espuma.

A la necropsia se evidencia la anemia, que frecuentemente se asocia con ictericia y ocasionalmente edema subcutáneo. Hay hemorragias en mucosas de abomaso y del intestino.

En el rigado deben estar los infartos anémicos que son signos patognomónicos de esta enfermedad. Son elevados sobre la superficie, de color pálido y rodeados de una zona azulosa de congestión.

Diagnóstico.

Suele efectuarse en base al cuadro clínico, la orina roja es muy sugestiva de la enfermedad. El recuento de glóbulos rojos permite identificar la caída notoria en el número de ellos, causado por la acción hemolítica de la toxina. La presencia de fasciolas es importante para sospechar de este padecimiento. El bazo no sufre alteración.

Tratamiento.

Al inicio de la enfermedad se puede obtener buenos resultados con la aplicación de oxitetraciclina o penicilina. Es muy útil la aplicación de antitoxina pero ésta no se encuentra disponible en México en forma comercial. Es adecuado aplicar transfusiones para contrarrestar la anemia.

Prevención.

En áreas en donde la enfermedad es enzootica es indispensable aplicar bacterinas conteniendo Ci. haemolyticum. La inmunización debe efectuarse cada 6 meses.

ALL INFORMATION CONTAINED
HEREIN IS UNCLASSIFIED
DATE 08-14-2013 BY 60322 UCBAW/STP

ENTEROTOXEMIA.

La enterotoxemia es una enfermedad que por lo general sigue un curso agudo o subagudo, producto de la acción de las potentes exotoxinas liberadas por el Ci. perfringens (Ci. Welchii). Este clostridio es la bacteria más ampliamente difundida en el mundo. Se encuentra en el suelo, aire, agua de lagos arroyos y ríos, en el polvo. Se ha cultivado a través de vegetales, leche, quesos, carne fresca, pescados y moluscos. Es común su presencia en contenido intestinal de animales y humanos.

La enfermedad que causan estos clostridios suele ser más común en animales jóvenes como corderos, cabritos, lechones y becerros. La enterotoxemia en bovinos adultos son poco frecuente.

Etiología.

El agente causal es el Ci. perfringens, del cual se conocen 5 biotipos, clasificados en base al tipo de toxina que poseen; se les identifica con letras mayúsculas A, B, C, D y E. El tipo A es el más ampliamente difundido, pero es el menos toxigénico. Este agente es más común en problemas de tipo gangrenoso y ocasionalmente producen intoxicaciones en humanos que consumen alimentos infectados, causando un cuadro diarreico leve.

El tipo B, causa enterotoxemia en corderos; el cuadro diarreico presenta sangre en las heces, por lo que se denomina Disenteria de los corderos.

El tipo C, es el serotipo responsable de una enteritis hemorrágica en becerros recién nacidos. Este tipo causa también enterotoxemia en corderos y lechones, e incluso produce enteritis necrótica en humanos, la cual es grave.

El tipo D, causa la enfermedad conocida como riñón pulposo en borregos, pero existen algunas publicaciones referentes a casos de enterotoxemia en bovinos adultos, causados por este serotipo.

El tipo E, se han demostrado algunos casos de enterotoxemia en becerros y corderos.

Clostridium perfringens produce 6 diferentes toxinas, las cuales se describen a continuación:

Alfa: es producida por todos los biotipos de Ci. perfringens; es hemolítica y necrosante.

Beta: es producida por los tipos B y C. Es responsable de la inflamación del intestino, causando además la pérdida parcial de la mucosa. Es esta la causa de enteritis en bovinos y ovinos.



Epsilon: es necrosante y altamente letal. Se produce como protoxina pero es activado por enzimas como la tripsina.

Teta: es letal, hemolítica y necrosante, común en los tipos A, B, C y D.

Iota: la produce el tipo E. También se genera como protoxina poco tóxica y es activada por algunas enzimas proteolíticas.

Kappa: es una toxina con actividad proteolítica, que desdobra el colágeno. Es la causa del ablandamiento de los músculos afectados.

Lambda: también posee acción proteolítica pero no daña al colágeno, sino que ataca a la caseína, gelatina y hemoglobina.

Patogénesis

Los animales se infectan al ingerir las esporas del clostridio, las cuales germinan en el intestino liberando sus potentes toxinas, las cuales desencadenan el proceso diarréico. Generalmente las becerros afectados son menores de 2 semanas de edad.

Cuadro Clínico

La enfermedad sigue un cuadro agudo o subagudo que por lo general tiene una duración de 2 a 24 horas. La mortalidad es elevada. Algunos animales mueren aun sin que los signos clínicos se hayan manifestado. Cuando se llegan a presentar alteraciones clínicas evidentes, estas son: pérdida de apetito, muestra de dolor abdominal; el cólico puede identificarse durante la exploración. Puede haber diarrea hemorrágica. Hay postración y pronto ocurre la muerte.

En casos leves los animales llegan a reponerse pero no alcanzan buenas ganancias de peso.

Lesiones

Enterocolitis hemorrágica, con áreas de necrosis a lo largo de la mucosa intestinal. El contenido intestinal es acuoso y hemorrágico.

Diagnóstico

Es necesario demostrar la presencia de la toxina tipo C en el contenido intestinal, mediante pruebas de suero-neutralización en ratón. También puede efectuarse mediante el aislamiento de C. perfringens tipo C en muestras de intestino.



Tratamiento

Se debe aplicar antitoxina tipo C a las becerras enfermas. No hay disponible en México.

Prevención y control

Inmunizar al hato con toxoide o con bacterina toxoide tipo C. Este proceso confiere protección de 6 a 12 meses. La inmunización de hembras gestantes propicia la transferencia de inmunidad pasiva a las crías, la cual les dura hasta 5 semanas.

CARBON SINTOMATICO Y OTRAS MIOSITIS DE ORIGEN CLOSTRIDIAL.

Esta enfermedad se conoce también con los nombres del mal de paleta o como pierna negra. También se ha descrito como gangrena enfisematosa de los bovinos. Se trata de una enfermedad enzoótica, que se hace evidente durante el inicio de la época de lluvia y durante la fase más severa de las secas. La pierna negra se ha diagnosticado casi en todo el mundo. En México está ampliamente distribuida, predominando en zonas tropicales y subtropicales. Generalmente afecta a bovinos cuya edad fluctúa entre 6 meses y 2 años.

Si bien el carbón sintomático es una enfermedad que afecta principalmente al ganado bovino, este padecimiento puede producirse también en ovinos, con elevado porcentaje de morbilidad y mortalidad.

Etiología.- La causa de esta enfermedad es el clostridium.

Chauvoei.- Este agente se conocía con el nombre de Cl. feseri; se encuentra en el contenido intestinal de bovinos sanos y es también un contaminante del suelo y pasturas. Posee espora subterminal y forma bacilos de 3 a 8 m. de longitud y 0.6 a 0.8 um de ancho. Las esporas son ovoides.

Patogénesis.

Los bovinos ingieren el microorganismo, por lo general en su fase de esporulado. El agente puede permanecer en el intestino del animal durante mucho tiempo sin llegar a causar enfermedad, sin embargo bajo circunstancias aún no definidas con claridad, pasan del intestino a la sangre y vasos linfáticos y por estos conductos son depositados en las grandes masas musculares en donde suelen permanecer durante periodos variables en forma latente, hasta que se presentan condiciones favorables para su germinación y multiplicación. Se cree que en casos en que ocurra un desgarre muscular a consecuencia de un traumatismo se propicia la multiplicación del microbio, sin embargo esto no explicaría la aparición de brotes con alta morbilidad.



Experimentalmente se ha demostrado que al causar irritación del músculo con cloruro de calcio se favorece la multiplicación del clostridio y la producción de toxina. Aún falta por demostrarse la causa desencadenante del proceso natural.

Al activarse el microorganismo empieza a producir gas y toxinas, causando necrosis muscular. El proceso se asocia con la producción de gas a partir de la fermentación de carbohidratos. Este gas separa a las fibras musculares y forma espacios en la región subcutánea.

Durante el metabolismo bacteriano se genera ac. butírico que confiere un olor a rancio a la lesión. Hay lisis de globulos rojos por efecto de la toxina motivo por el que las áreas afectadas adquiere un aspecto hemorrágico que progresivamente se torna obscuro y finalmente negro. La toxemia afecta al riñón, corazón e hígado. Se produce bacteremia y finalmente la muerte.

Esta enfermedad se considera de curso endógeno pues no se requiere que haya lesiones externas para que se produzca.

Cuadro Clínico

Como se ha mencionado, la enfermedad se presenta en animales mayores de 6 meses y hasta los dos años. Es muy raro que se enfermen bovinos de 3 años o mayores. La incubación dura de 1 a 5 días. Los primeros signos son cojera muy severa, acompañada de inflamación de la parte superior del miembro afectado. Es común que esta fase del padecimiento se asocie con depresión, anorexia y fiebre. La zona afectada presenta enfisema, que puede detectarse a la palpación, pues es factible percibir la crepitación causada por el mismo. Generalmente se afectan los músculos de la espalda o de la cadera, pero también puede afectarse la lengua, músculo cardíaco, el psoas, diafragma y ubre. El cuello y el pecho son áreas en donde puede haber lesión.

La palpación revela dolor intenso. Hay postración y disnea. La muerte se produce entre las 12 y 48 horas siguientes a la aparición de los primeros signos.

Lesiones

A la necropsia permite identificar necrosis muscular, asociada con enfisema subcutánea y hemorragias en la zona afectada. El color obscuro de los músculos y la presencia del olor rancio son característicos. Es posible encontrar exceso de líquido en las cavidades corporales, con abundante fibrina.

Diagnóstico



La aparición de un cuadro clínico de curso agudo, asociado con fiebre, cojera y enfisema crepitante, afectando animales de 6 meses a 2 años es información suficiente para diagnosticar clínicamente "carbón sintomático". Sin embargo es factible la asociación con otros clostridios que inducirían algunas manifestaciones clínicas que pueden causar confusión diagnóstica, de manera que se requiere del apoyo del laboratorio.

El diagnóstico diferencial recomienda considerar otras miositis clostridiales, principalmente Edema maligno.

Es importante el aislamiento e identificación del clostridio o bien la demostración del mismo mediante pruebas de inmunofluorescencia.

Tratamiento

El Ci. chauvoei es muy sensible a la penicilina por lo que al inicio de la enfermedad se recomienda administrar este antibiótico en dosis de 10,000 U.I. por kg. de peso. Es muy favorable debridar las áreas lesionadas y lavarlas con agua oxigenada. El empleo de antisuero contra el Ci. chauvoei tiene muy poco valor terapéutico.

Prevención

En aquellas zonas en las que la enfermedad es enzoótica, se recomienda la inmunización periódica de los animales de 6 a 24 meses de edad. Una segunda aplicación a los 20 ó 30 días siguiente a la primera aumentan considerablemente el índice de protección. Se recomienda revacunaciones periódicas dos veces al año.

La inmunidad se desarrolla hasta los 10 a 14 días siguientes a la vacunación, por lo que en los casos en que se inmuniza a los animales durante un brote, las muertes continúan por unos días.

Es importante utilizar bacterinas que incluyan más de un serotipo o bien que cubran al mosaico antigénico de los tipos de Ci. chauvoei presentes en las regiones en donde se pretende inmunizar.

Se recomienda incinerar los cadáveres o bien enterrarlos a suficiente profundidad y con algún desinfectante.

EDEMA MALIGNO

El término edema gaseoso se ha utilizado como sinónimo para describir esta enfermedad.

Es un padecimiento de distribución mundial. En contraste



con el carbón sintomático que es de carácter endógeno, el edema maligno se considera como enfermedad exógena, es decir se requiere que se produzca una herida, a través de la cual se introduce el clostridio a los tejidos en los que crecerá y se multiplicará, ocasionando la enfermedad.

El agente causal está contaminando el suelo y es común encontrarlo en el tracto intestinal de los bovinos. Es esta una enfermedad común en vacas cuyos genitales se lesionaron durante el parto, así como en bovinos que al ser inyectados la aguja introduce las esporas del clostridio.

Etiología

El agente responsable es el Cl. septicum; posee forma de bastón con aspecto y tamaño variables, y posee una espora ovalada, que puede estar en posición terminal o subterminal.

Patogénesis

Es necesaria una herida para que penetre el microorganismo y se origine la enfermedad.

Cuadro Clínico.

Los signos aparecen en 12 a 48 hrs. siguientes a la infección. El sitio por donde ocurrió la entrada del clostridio presenta inflamación ligera con enrojecimiento de la zona. Anorexia, fiebre y cojera. La inflamación local se extiende rápidamente.

A la palpación se puede demostrar la presencia de edema. debido a una enorme cantidad de exudado gelatinoso que se infiltra entre el tejido subcutáneo y entre el tejido conectivo intramuscular. A diferencia con el carbón sintomático, hay poco gas en la zona afectada. Los signos clínicos sin embargo son muy similares a los de pierna negra y resulta prácticamente imposible establecer el diagnóstico de ambos con precisión, sin contar con el apoyo de un laboratorio.

Lesiones

Al hacer una incisión en la región afectada, se observa edema subcutáneo, hemorragias y color obscuro de las masas musculares. Hay una marcada miositis, que al hacer estudios histológicos revela necrosis.

Diagnóstico

Se ha demostrado que el Cl. septicum que está presente en el intestino de los bovinos, suele diseminarse en los músculos cuando han transcurrido más de 8 horas desde que se produce la



muerte del animal. Por esta razón el diagnóstico de laboratorio requiere de muestras que hayan sido colectadas en las primeras horas siguientes al fallecimiento de lo contrario la presencia de Cl. septicum carece de significado diagnóstico.

Se requiere el aislamiento del agente o bien demostrar su presencia mediante el empleo de anticuerpos fluorescentes.

Tratamiento

Es posible el uso de antibióticos en las primeras etapas de la enfermedad y debridar quirúrgicamente la zona, lavando con agua oxigenada. Los resultados en procesos avanzados son de pronóstico reservado.

Prevención

Es común el empleo de bacterinas. Se sugiere de preferencia la combinación bacterina-toxoide.

Sin embargo algunos trabajos experimentales publicados en el extranjero sugieren que la inmunidad conferida por bacterinas e incluso por toxoides elaborados con Cl. septicum, sólo persiste por unas cuantas semanas.

Es una práctica común el uso de bacterinas múltiples, que incluyen Cl. chacuvoei y Cl. septicum, e incluso otras especies de clostridios. Vale la pena considerar los pros y contras de esta práctica, al establecer los programas de prevención y control.

Otras causas de Miositis Clostridial.

En la literatura se han publicado trabajos que describen enfermedades clínicamente muy parecidas al Carbón Sintomático y el Edema Maligno con lesiones caracterizadas por miositis y necrosis de las áreas afectadas. Entre los microorganismos involucrados los autores han incluido a Cl. Novyi tipo A y al Cl. sordelli. A ambos se les considera agentes causantes de casos esporádicos de gangrena gaseosa, de origen exógeno, asociado con lesiones cutáneas que facilitan la entrada del agente. A continuación se presenta en el Cuadro 1 las características de las lesiones musculares causadas por los diferentes clostridios en los bovinos.



**RELACION ENTRE CARACTERISTICAS DE LA LESION MUSCULAR
Y ESPECIE DE CLOSTRIDIO INVOLUCRADO.**

----- Agente Etiológico -----	----- Característica de la lesión -----
<u>Cl. Chauvoei</u> ó <u>Cl. Chauvoe + Cl. Septicum</u>	Músculos color rojo obscuro o negro. Crepitación. Olor rancio, aspecto - seco esponjoso. No hay herida. En asociación con el <u>Cl. septicum</u> hay líquido amarillo que se hace sangui- nolento.
<u>Cl. Septicum</u>	Edema gelatinoso, teñido con san- gre. Hay burbujas de gas. Músculo con inflamación, necrosis y color oscuro.
<u>Cl. Novyi</u> Tipo A sólo ó asociado con <u>Cl. Septicum</u>	Edema gelatinoso de tejido subcutá- neo, muy pronunciado. Al principio es claro y después rojizo obscuro. Necrosis muscular.
<u>Cl. Sordelli</u>	Muy parecido al anterior pero el exudado edematoso está más hemo- rrágico.



PROPIEDADES BACTERIOLÓGICAS DE LOS CLOSTRIDIOS Y OTROS AGENTES ESPORULADOS.

Son dos los géneros de bacterias gram positivos capaces de formar bacilos esporulados: Un género aerobio llamado Bacillus y uno anaerobio denominado Clostridium.

Género Bacillus

El primero agrupa a numerosas especies de bacterias en forma de bacilos alargados, gram positivos, que por lo general forman cadenas, producen esporas de apariencias y posición variables, son termoresistentes y son aerobios o facultativos. Todos ellos resultan positivos a la catalasa. Algunos forma cápsula y la mayoría posee movimiento, lo cual se debe a la presencia de flagelos prerítricos.

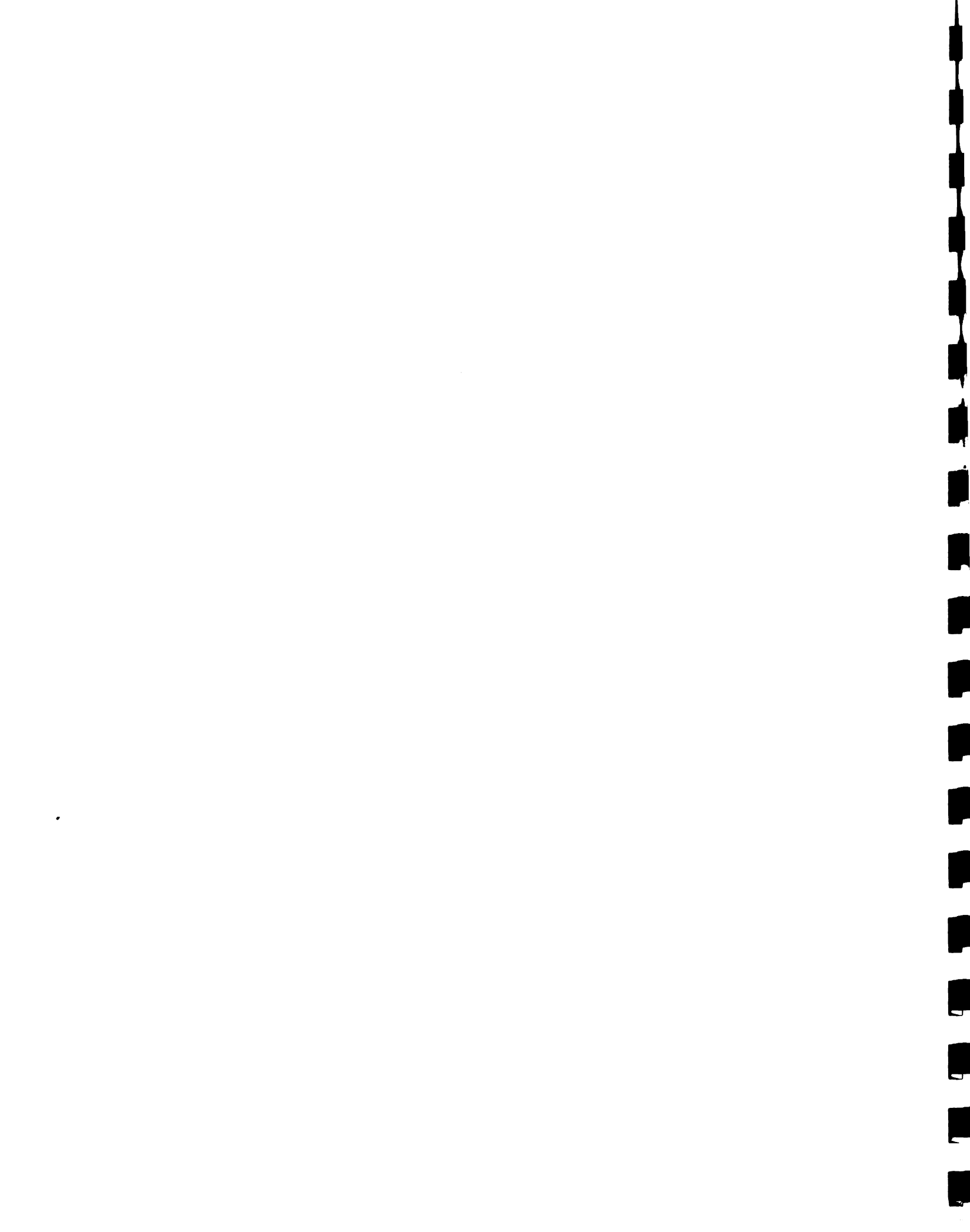
Los miembros del género Bacillus están ampliamente distribuidos en la naturaleza, así los podemos encontrar en el suelo, aire, agua, e incluso en el intestino de animales. La mayoría de las especies son saprófitas siendo patógeno solamente el Bacillus anthracis, capaces de producir el "Carbunco" o "Fiebre carbonosa" en animales y en el hombre. Es probable que otros Bacillus se pueden asociar con enfermedades de animales, como es el caso de B. Cereus y B. Licheniformis a los que se les ha aislado en ocasiones a partir de muestras de mastitis bovina y en procesos supurativos.

Los otros miembros del género Bacillus se han utilizado con muchas finalidades, como lo es la producción de antibióticos o para controlar la esterilidad en autoclaves o la esterilidad inducida por el óxido de etileno.

Características de cultivo.

Crece bien en medios simples, pero pueden cultivarse satisfactoriamente en medios de agar sangre. Después de incubar a 37° C en aerobiosis se produce el crecimiento de colonias rugosas, planas, grises. En el caso de B. anthracis las colonias por lo general no son hemolíticas y se les denomina colonias en forma de "cabeza de medusa". Poseen bordes ondulados que dan la apariencia de pelo enchinado. Puede haber colonias de Bacillus saprófitos de apariencia lisa y brillante.

La mayoría de las especies del género son positivas al movimiento mientras que B. anthracis es negativa. La especie más parecida al B. anthracis es el B. cereus por lo que es importante establecer las diferencias entre ambos:



CUADRO 1
DIFERENCIAS ENTRE B. ANTHRACIS Y B. CEREUS

P R U E B A	<u>B. ANTHRACIS</u>	<u>B. CEREUS</u>
Motilidad	Negativo	Positivo
Salicina	Lento o negativo	Positivo rápid.
Reduc.del azul de met.	Lenta	Rápida
Licuefacción de gelat.	Lenta	Rápida
Hemólisis	Leve o ausente	Evidente hemol
Penicilina	Sensible	Resistente
Virulencia	Poseen cápsula	Sin cápsula

GENERO CLOSTRIDIUM

Son bacilos largos, grampositivos, con movimiento (excepto el Cl. perfringens), son anaerobios estrictos, lo que permite diferenciarlos de los miembros del género Bacillus, pues resultan negativos a la prueba de la catalasa. Son fermentativos.

El manual de Bergey agrupa a los clostridios en 3 grupos como sigue:

I. Con espora subterminal:

- A. No hidrolizan gelatina. Saprófitos.
- B. Si hidrolizan gelatina: Cl. Sordelli, Cl. botulinum, Cl. bivyi, Cl. perfringens, Cl. haemolyticum, Cl. chauvoei y Cl. septicum.

II. Con espora terminal:

- A. No hidrolizan gelatina.- Ninguno se asocia con enfermedades de animales.
- B. Si hidrolizan gelatina: Cl. tetani.

III. Clostridios con requerimientos especiales.- Ninguno se asocia con enfermedades de animales.

Los clostridios productores de enfermedad poseen movimiento, excepto perfringens y no poseen cápsula, presentan bordes redondeados y generalmente se encuentran aislados o en pequeñas



cadena. Las esporas son de forma y distribución variable.

Características de cultivo.

Crece bien en agar sangre, en medios a base de carne cocida y en tioglicolato. Esta última llega a resultar tóxico para Cl. chauvoei. Las colonias en agar sangre son pequeñas, llegan a tener un diámetro de 1 a 3 mm., son redondas y ligeramente irregulares, forma convexa y apariencia granular. Son translúcidas, con márgenes finamente filamentosos. Se pueden cultivar en medio a base de yema de huevo, en donde se puede identificar crecimiento perlado.

Hay que hacer notar que el cultivo en medios sólidos requiere que las placas se incuben en una jarra en la que se pueda ofrecer a la bacteria una atmósfera anaeróbica, ya sea mediante el uso de procesos químicos, como el "gas-pack" de importación o bien en una jarra en la que se crea la anaerobiasis al hacer vacío y añadiendo Nitrógeno, Hidrógeno y CO₂, en proporción aproximada de 80, 10 y 10% respectivamente. El cultivo en medios líquidos es menos complicado y no exige la incubación en atmósfera anaeróbica, pues el medio contiene sustancias reductoras.

Reacciones diferenciales.

Estas reacciones se basan en la utilización de medios de cultivo tales como tioglicolato, medio de carne cocida, a los que se agrega 10% de azúcares con glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa y salicina. Los azúcares deben esterilizarse por filtración y nunca por calor. Una vez que se han incubado se pueden coleccionar unos mililitros de cada tubo y agregar a éstos unas gotas de azul de Bromotimol. En el Cuadro 14-2 se presentan las diferencias bioquímicas de los principales Clostridios. El uso de salicina y sacarosa permiten diferenciar entre Cl. chauvoei y Cl. septicum. El Cl. sordelli se diferencia de los dos anteriores en el hecho de que es capaz de producir indol. Por otra parte los dos anteriores son positivos a lactosa, mientras que Cl. sordelli no utiliza este azúcar.

El empleo de anticuerpos fluorescentes, empleando conjugados teñidos con colorantes distintos, por ejemplo: conjugados anti-Cl. chauvoei teñidos con isotiocinato de fluoresceína y naranja de acridina o con auramina, permiten identificar a ambos agentes mediante frotis directos preparados con tejidos afectados.

Inoculación de animales.

Los conejos son sensibles a la inoculación con el Cl. septicum, pero son resistentes al Cl. chauvoei, mientras que los cuyes son sumamente susceptibles a Cl. chauvoei pero ligeramente resistentes a Cl. septicum.



CARACTERISTICAS DE CULTIVO DE LOS PRINCIPALES CLOSTRIDIOS

Clostridium Chauvoei; es anaerobio estricto, no crece fácilmente en medios simples, su crecimiento mejora adicionando sangre, músculo, infusión de hígado o glucosa. Las colonias en agar sangre, generalmente miden de 2-4 mm. de diámetro y pueden estar o no rodeadas de zonas de hemólisis, dependiendo de la cepa o la fuente de glóbulos rojos usada en el medio. Las células rojas de bovinos, borregos, cerdos, conejos y perros; son fácilmente hemolizadas por la bacteria, en tanto que las de humano, caballo, cobayo y pollo son más resistentes. La temperatura óptima de crecimiento es de 37° C., no desarrolla arriba de 41° C. En medio de carne cocida desarrolla lentamente y las bacterias muestran marcado pleomorfismo, la carne cambia de su color original a rosa y el cultivo presenta un olor ácido. El Cl. chauvoei fermenta glucosa, lactosa, sacarosa y maltosa, con producción de ácido y gas. Muchas cepas no fermentan salicina. Requieren para su crecimiento aproximadamente de 0.05% de cisteína.

Resistencia a agentes físicos y químicos:

Las esporas resisten la temperatura de ebullición por 1 min., sin embargo mueren con vapor en 40 a 50 minutos o bien cuando se autoclavean a 120° C., durante 20 mins. Desinfectantes ordinarios como el fenol o las sales cuaternarias de amonio, carecen de actividad sobre Cl. chauvoei, oxidantes como peróxido de hidrógeno, Iodo o cloro son más efectivos. La formalina al 3% mata esporas en 15 min.

Antígeno y Toxinas:

Las cepas de Cl. chauvoei tienen antígenos flagelares, representados por letras minúsculas; somáticos por números arábigos y esporales designados con letras mayúsculas, la mayoría de las cepas poseen los mismos antígenos esporales, somáticos y flagelares; el antígeno esporal es el mismo para C. septicum. Cl. chauvoei; puede dividirse en 2 grupos por sus antígenos flagelares, A:3:g y A:3:f. En el Cuadro 2 se observan los antígenos de Cl. chauvoei, incluyendo el antígeno termolábil presente en la pared celular de la bacteria, con algunas características físico químicas que éstas presentan.

En el Cuadro 3 se presentan las toxinas producidas por estos microorganismos con sus características. El sobrenadante del caldo de cultivo de Cl. chauvoei contiene toxinas, particularmente después del crecimiento en caldo glucosado, adicionado de carbonato de calcio, para neutralizar el ácido producido. Las propiedades de los componentes tóxicos incluyen una hemolisina



termolábil, alfa toxina, con peso molecular de 27,000 daltones, activa para eritrocitos de bovinos, borregos y cerdos, sin embargo mucho menos activa para eritrocitos de caballo. Esta toxina además es neurotóxica y causa dermonecrosis y fibrinolisis. La alfa toxina se considera como parte del componente soluble inmunizante, cuando ésta se disocia, el componente soluble inmunizante cuyo peso molecular es de 53,000 (en el Cuadro 3, aparece el contenido de aminoácidos de ambas), es antigénico, en tanto que la alfa toxina no. El componente soluble inmunizante no es el único antígeno protector ubicado en la pared celular de la bacteria, el cual es termolábil sensible a valores extremos de ph, no se detecta mediante reacciones de aglutinación y proporciona más del 75% de protección contra el Cl. chauvoei.

Otros componentes tóxicos; beta toxina es una desoxirribonucleasa termo-estable; gama toxina, es una hialuronidasa y delta toxina, es una hemolisina, sensible al oxígeno, serológicamente relacionada aunque no idéntica a la estreptolisina O y otras toxinas producidas por diferentes especies de Clostridium spp.

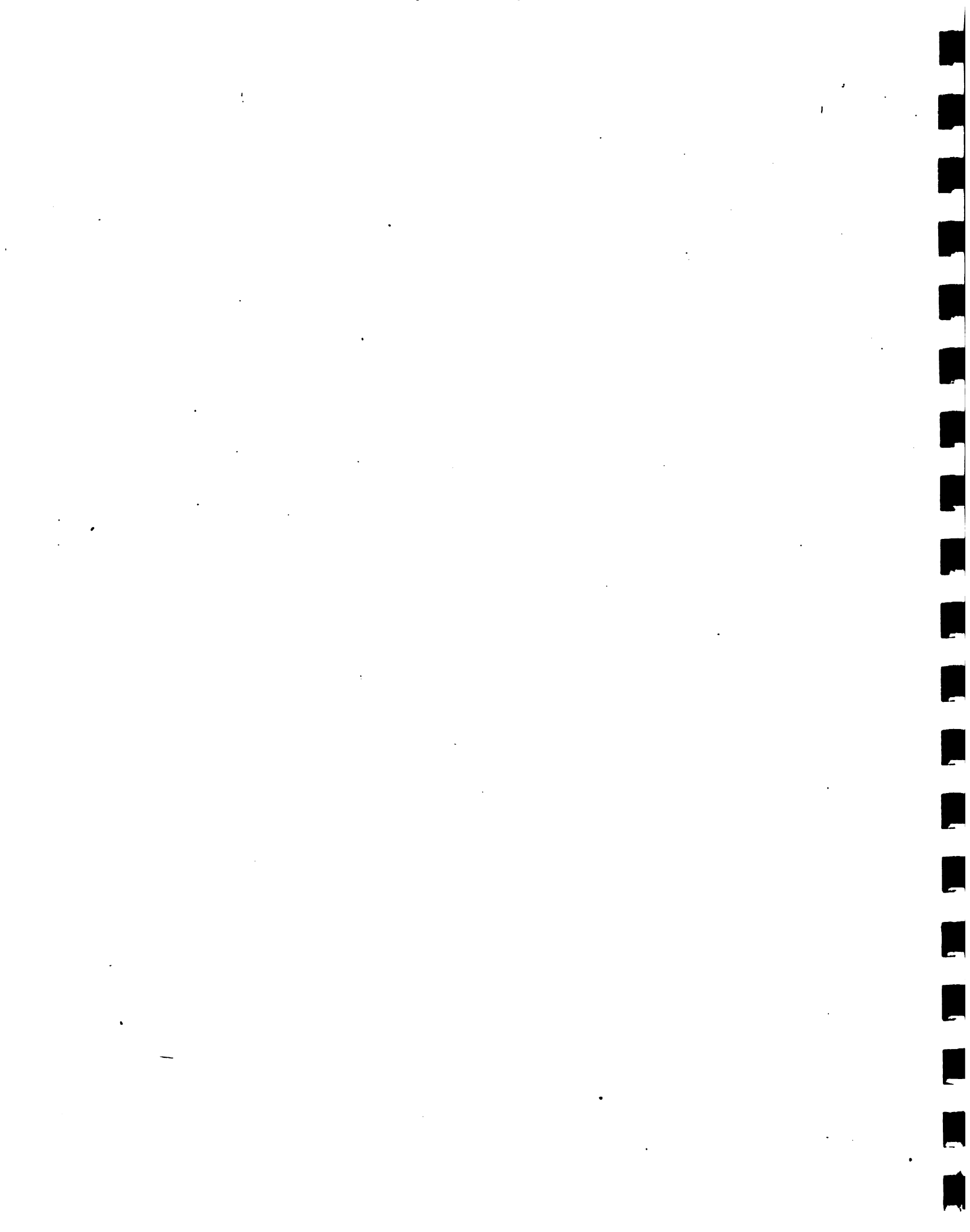
Varias cepas de Cl.chauvoei difieren gradualmente en su habilidad para producir toxinas y antígenos. Muchas no producen cantidades detectables de alfa toxina, algunas producen toxinas que resultan letales cuando se administran por vía I.V., en ratones y cobayos en dosis suficientemente grandes.

Diagnóstico de Laboratorio:

La toma de muestra es muy importante para el Diagnóstico Bacteriológico, Epizootiología y Control de la enfermedad.

Las muestras se deben tomar durante las primeras 8 hrs., después de la muerte del animal, ésta será del tejido afectado, en la parte más profunda de la lesión, y no deberá mostrar evidencia visible de putrefacción, pues después de muerto el animal, se presenta una invasión de varios Clostridium spp., entre ellos Cl.septicum o Cl.perfringens, que desarrollan más rápido e inhiben el crecimiento de Cl.chauvoei en los medios convencionales para su aislamiento, lo que ocasiona un diagnóstico erróneo, y medidas epizootiológicas equivocadas.

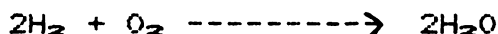
Las muestras a elección serán hígado, bazo, pulmón y en ocasiones cerebro. Las muestras, se congelan, cuando esto es posible e inmediatamente se envían al laboratorio más cercano. De ser posible se inoculan placas en el sitio donde se encuentra el animal afectado, éstas se colocan en jarras anaeróbicas y se transportan al laboratorio en donde se incuban a 37° C., durante 24 a 48 hrs.. también pueden sembrarse tubos contenidos de medio de carne cocida, adicionados al 1% de glucosa, teniendo la precaución de evitar al máximo la contaminación con bacterias



aerobias, es decir tomar la muestra asépticamente de la parte más profunda de la lesión, pues Bacillus cereus, un contaminante común, inhibe el desarrollo y la virulencia de Cl. chauvoei, in vivo e in vitro. Se realiza frotis para detectar la presencia de microorganismos, la tinción de Gram, es de ayuda en la observación de características morfológicas o bien se realizan pruebas de inmunofluorescencia directa, las cuales dan una idea mayor de la etiología de la enfermedad, junto con la historia clínica y el aislamiento de la bacteria involucrada.

Pueden realizarse subcultivos en: medio de Robertson's medio de carne cocida (Cooked Meat medium), adicionados de 1% de glucosa estéril y agar sangre (usando 5% de sangre desfibrinada de bovino y/o borrego).

Los tubos y las cajas de agar se incuban a 37° C., durante 24 a 48 hrs., estas últimas en jarras de anaerobiosis, existen varios tipos de Jarra de Brewer, de Blaird-Tlatlock, Gas Pak, McIntosh-Fildes y de Torbal. La de Gas Pak, es la de uso más común, en Estados Unidos de Norteamérica y México entre otros países. El principio de estas jarras es el mismo, se basa principalmente en la eliminación de oxígeno, (O₂) de la cámara, mediante reacción con el hidrógeno en presencia de un catalizador. El oxígeno es reducido a agua como sigue:

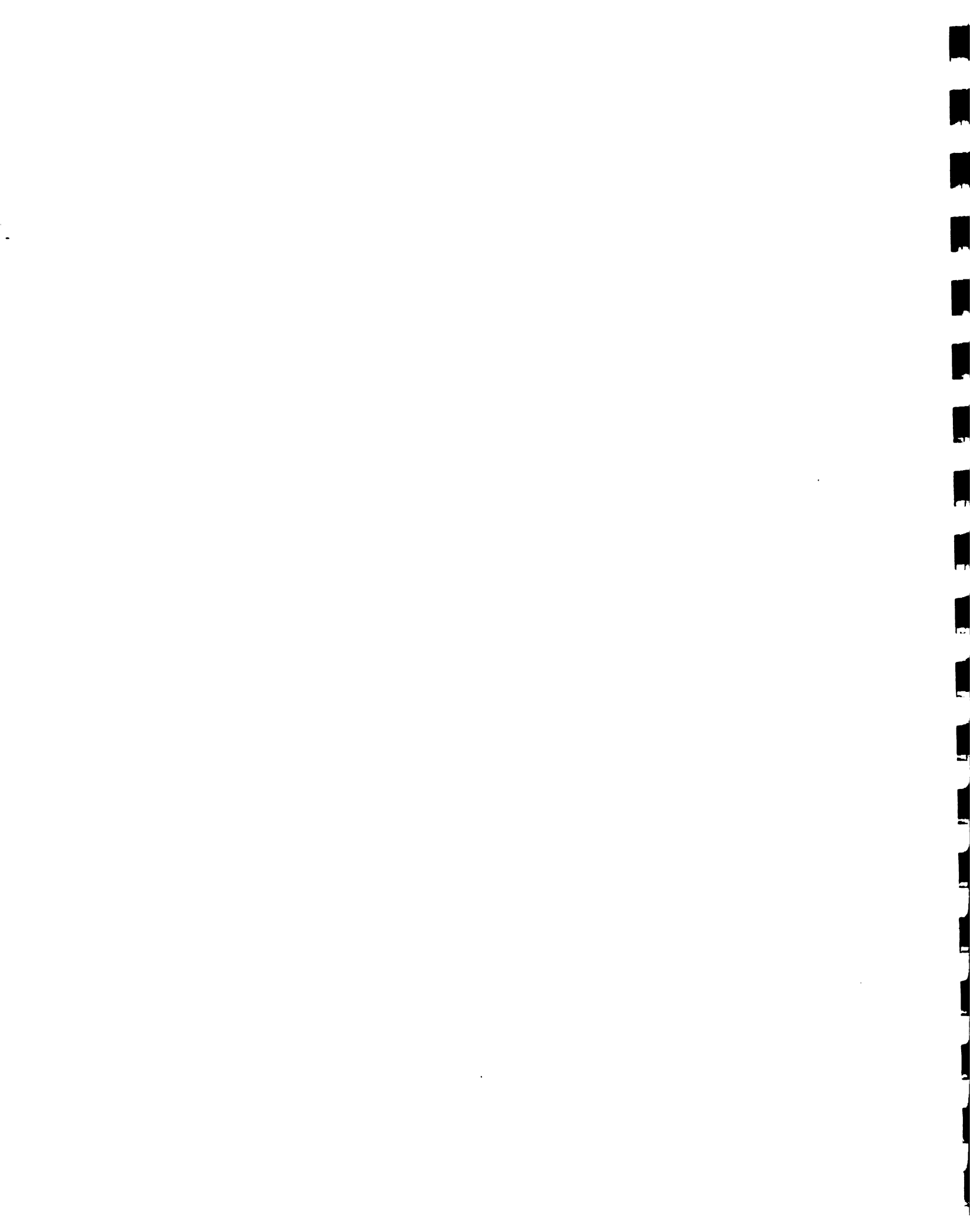


Otro sistema de anaerobiosis más económico, es el uso de una mezcla de los siguientes gases: nitrógeno (N₂) 85% hidrógeno (H₂) 10% y dióxido de carbono (CO₂) 5%, el cual se puede realizar en jarras de Gas Pak, Brewer, torbal o cualquier otra que tengan salida para vacío e inyección de los gases mencionados.

A partir de colonias aisladas en medio sólido, característica de Cl. Chauvoei, se realizan pruebas de fermentación de azúcares, pudiendo usar como medio base, medio de carne cocida o medio de Smith y Holdeman's, usando como indicador ácido base azul de bromotimol al 0.001%.

Los azúcares recomendados: glucosa, lactosa, sacarosa y salicina, a una concentración de 0.5%.

Cl. chauvoei fermenta; glucosa, lactosa y sacarosa, sin embargo no fermenta salicina, lo cual puede emplearse para diferenciarlo de Cl. septicum, que fermenta la salicina y no la sacarosa. Otras formas de diferenciar a Clostridium chauvoei, de Cl. septicum aparecen en el Cuadro 4, sin usar métodos de inmunofluorescencia.



CLOSTRIDIUM SEPTICUM:

Características de Cultivo:

La temperatura óptima de crecimiento de Clostridium septicum es alrededor de 40°C. Algunas cepas crecen por arriba de 44°C., sin embargo no a temperaturas mayores de 46°C. Esta característica puede emplearse para diferenciarlo de Cl.chauvoei, ver Cuadro 4.

En agar sangre la superficie de las colonias es irregular, de 1-5 mm de diámetro, ligeramente abultados semi-translúcidos, grises, superficie brillante, frecuentemente festonado (márgenes rizoides). Las colonias son rodeadas por una zona de hemólisis completa. En agar simple o húmedo puede presentarse "swarming", por lo que se recomienda para aislamientos el uso de 3% de agar.

Crece moderadamente en caldo nutritivo o medio de carne cocida sin carbohidratos fermentables, pero crece abundantemente cuando éstos son adicionados al medio, el pH óptimo de crecimiento es de 7.5. En el Cuadro 6 se observan las propiedades bioquímicas de Cl. septicum.

Resistencia a Agentes físicos y químicos:

Probablemente similares a Cl. chauvoei, sin embargo los detalles no han sido considerados.

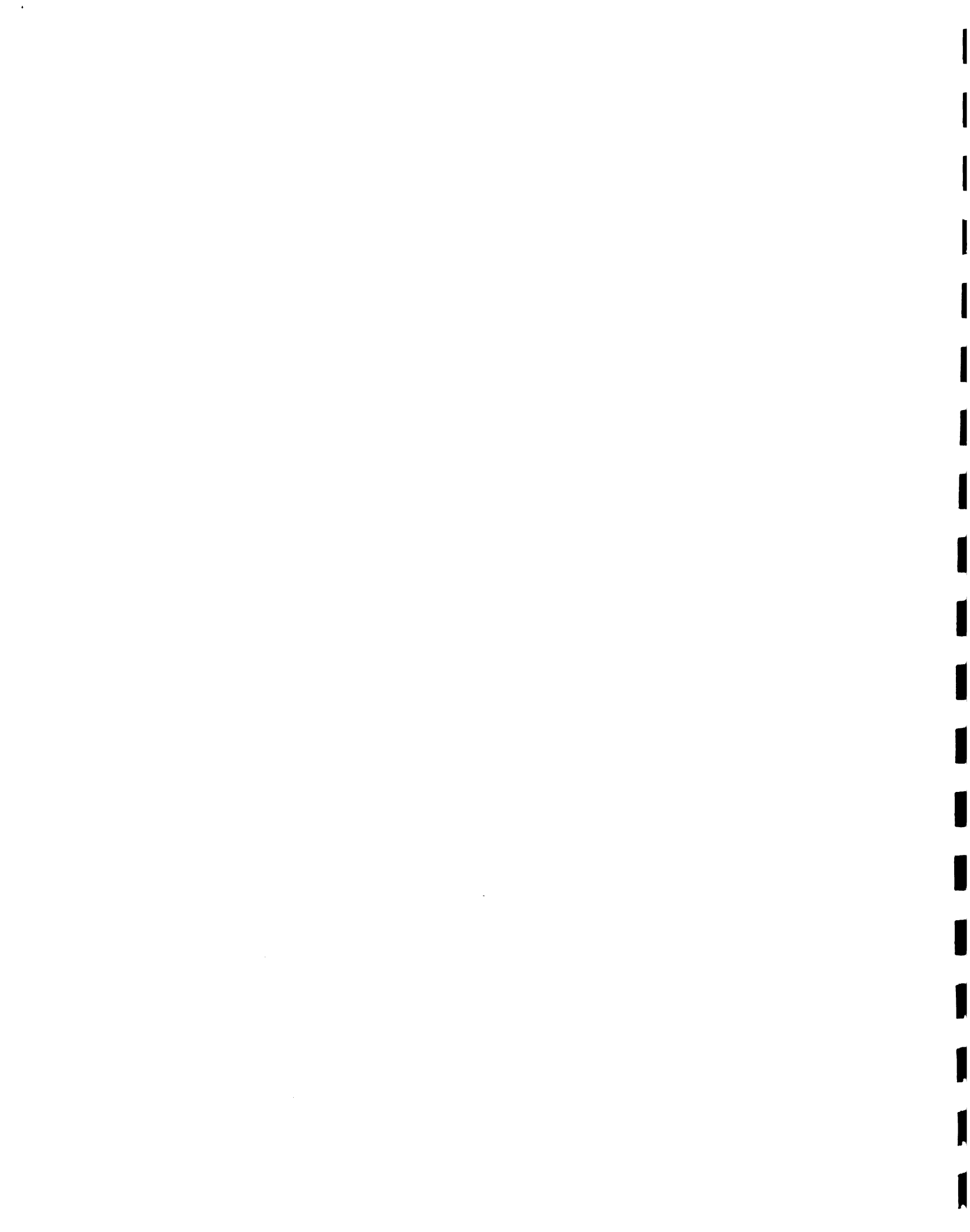
Antígenos y Toxinas:

Todas las cepas comparten un antígeno esporal común (A), tienen 2 antígenos somáticos (1 y 2) y 5 antígenos flagelares (a,b,c,d y e), Moussa, (1959) diferenció 6 grupos antigénicos en 39 cepas estudiadas, ver Cuadro, la única letal, es la alfa toxina, que también es hemolítica, es producida dentro de las primeras 24 hrs. de crecimiento, es una toxina sensible y puede ser inactivada espontáneamente.

Clostridium novyi

Distribución en la naturaleza:

Es de distribución cosmopolita, habitante normal del suelo, sedimentos marinos y cuerpo animal. Produce hepatitis necrótica en el borneo (enfermedad negra); gangrena gaseosa como consecuencia de heridas infectadas; además como resultado de peleas entre ovinos adultos se presenta la enfermedad de cabeza grande (Cabeza hinchada). Clostridium novyi tipo D, también conocido como Clostridium hemolyticum, causa hemoglobinuria bacilar o enfermedad de "agua roja" en bovinos y borregos.



Morfología y Tinción:

Cl. novyi, es un bacilo muy largo que mide de 5 a 10 micras por 1 a 1.5 micras. Algunas cepas de los tipos B y C son tan largos que llegan a medir entre 15 a 20 micras. Las esporas son ovales, situadas al centro o subterminales, dilatan al cuerpo bacilar. Los microorganismos son móviles mediante flagelos peritricos, en condiciones anaerobias. Carecen de cápsula. En cultivos jóvenes aparecen como Gram positivos, después de períodos largos de incubación tiende a ser Gram negativos.

Características de Cultivo:

Cl. novyi es anaerobio estricto en el amplio sentido de la palabra y es difícil que crezca en cultivo primario especialmente cuando el inóculo es pequeño.

Apariencia colonial en cajas de Petri contenidas de agar sangre, usando 5-10% de glóbulos rojos de borrego:

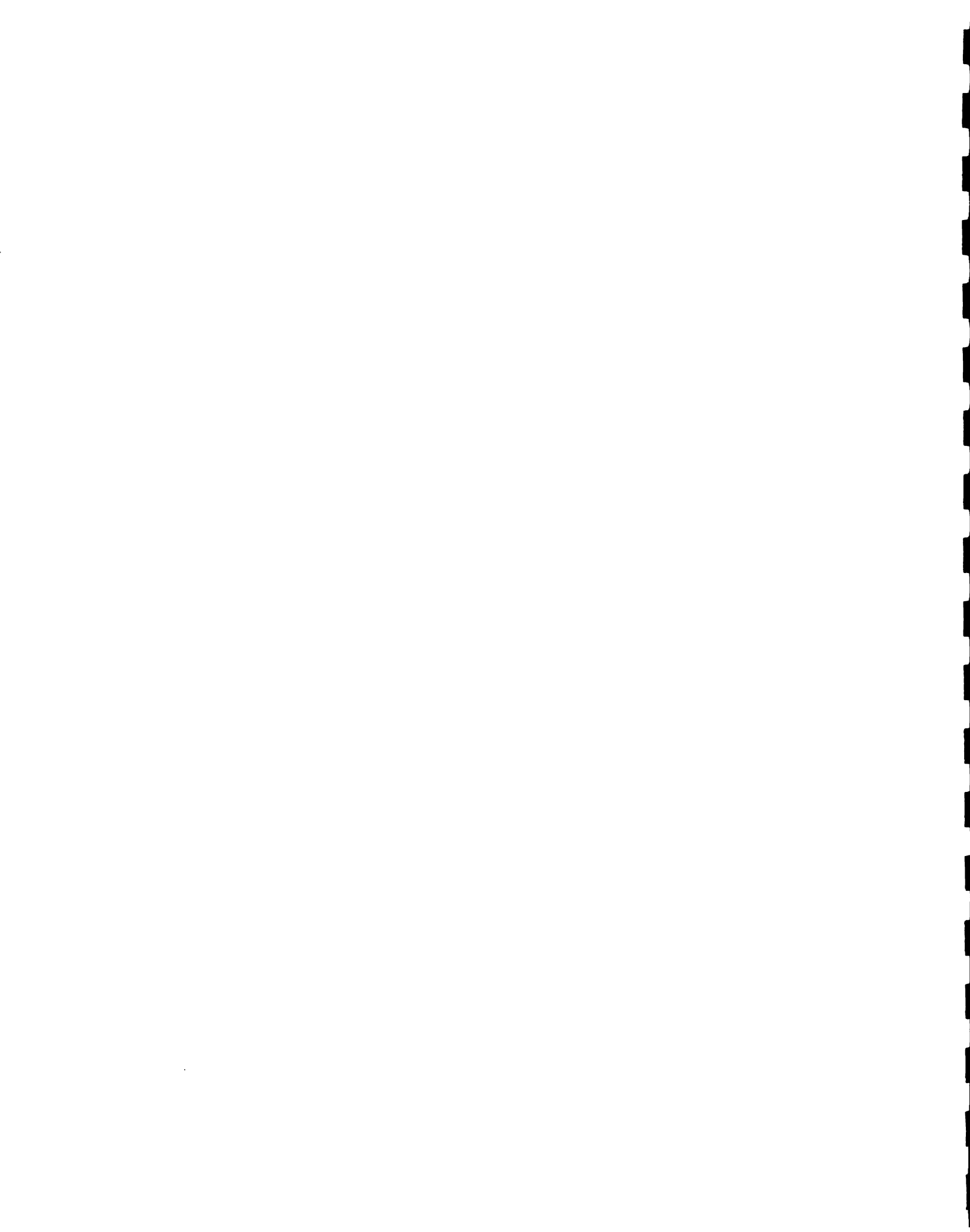
Cl. novyi tipo A: Las colonias tienen un diámetro de 3 a 8 mm. son redondas o elipsoidales con márgenes lobulares irregularmente, las colonias jóvenes pueden ser convexas, las colonias viejas son planas, translúcidas y color azul gris, la inmovilidad puede presentarse.

Cl. novyi tipo B: Estas colonias poseen un diámetro de 2-6 mm., son más planas y pequeñas que las del tipo A, tienden a formar "swarming" si el medio no es totalmente seco. Algunas colonias son muy planas y difíciles de observar, su presencia es descubierta por la marcada hemólisis bajo una fina película. La hemólisis es característica, es totalmente clara bajo la colonia de 1-2 mm, alrededor de ésta. Sobre esta zona de hemólisis aparecen otras de 4 mm de diámetro de un rojo cereza intenso.

Cl. novyi tipo D (Cl. hemolyticum):

Colonias de 2-4 mm de diámetro, translúcidas, con centro elevado, finamente dentada y márgenes irregulares, la superficie es rugosa, sin brillo y gris. Las colonias están rodeadas por una zona parcial de hemólisis, mayor a 1 cm. de ancho.

La apariencia de las colonias tipo B y D es muy variable presumiblemente a causa de las dificultades para asegurar que el cultivo tenga las condiciones consistentemente adecuadas para todas las cepas. En los medios de agar sangre se recomienda el uso de agentes reductores, como ácido tioglicólico o cisteína. Debido a la alta producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por Cl. novyi tipo B las colonias desarrolladas en agar chocolate, son rodeadas por zonas color verde.



Se puede cultivar Cl. novyi en medio de carne cocida, adicionado de agentes reductores a 37° C., durante 48 horas. También puede usarse medio de infusión cerebro, corazón, en tubo rolado, las condiciones de anaerobiosis, tanto en resiembras como en los cultivos siempre deben mantener, pues Cl. novyi no tolera el oxígeno ni por unos minutos.

Resistencia a Agentes Físicos y Químicos:

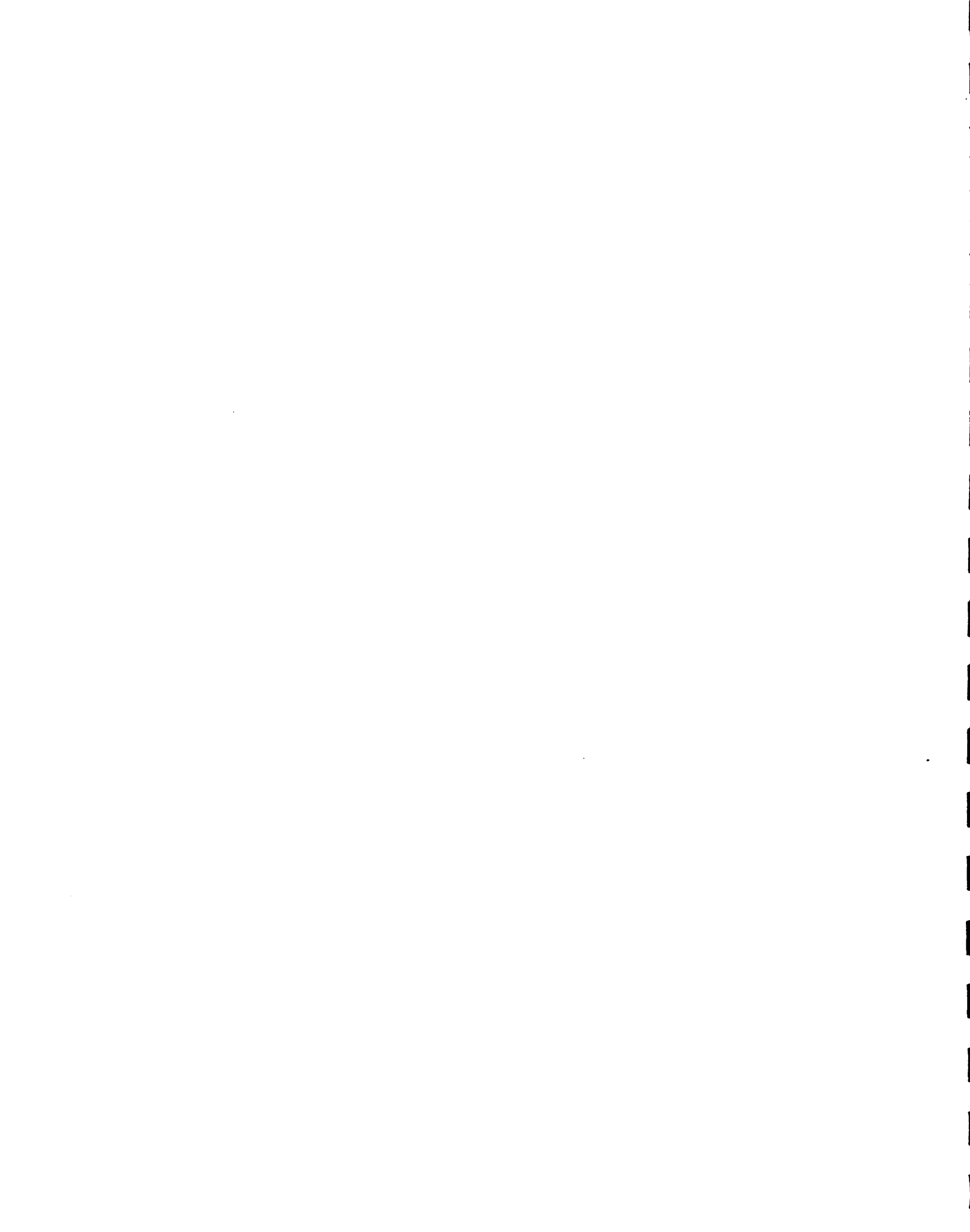
Las esporas resisten el calentamiento a 95° C. durante 15 minutos, sin embargo son destruidas por calor húmedo a 120°C., durante 5 minutos, ellas son altamente sensibles a los hipocloritos y resistentes a la exposición del fenol al 5%, formalina 10% o timerosal a 0.1% durante 60 min. Las esporas pueden permanecer viables durante años en el suelo o en los huesos de animales muertos.

Antígenos y Toxinas:

Los antígenos somáticos y flagelares no han sido ampliamente estudiados y no se emplean para identificación de cepas de Cl. novyi. Las especies se dividen en 4 tipos: A, B, C y D, en base a antígenos solubles o toxinas producidas. Los componentes tóxicos más importantes de éstos en relación a la etiología de la enfermedad son Alfa, Beta y Gama toxinas. Su distribución en los 4 tipos se muestra en la tabla 10. Cl. novyi tipo C no es toxigénico aún cuando se le ha aislado en casos de osteomielitis en búfalos, se discute si realmente es la causa de la enfermedad. La Alfa Toxina, tiene un P.M. de 132,000 daltones, un coeficiente de sedimentación de 7.5, no contiene ni cisteína ni ácido cisteico. La acción de Alfa Toxina, está relacionada al daño del endotelio capilar y al aumento de la permeabilidad capilar, que produce. Se piensa que también aumenta la permeabilidad capilar en el cerebro, en forma análoga a la acción de la toxina epsilon de Clostridium perfringens tipo D.

La beta toxina, es una fosfolipasa C, principalmente producida por Cl. hemolyticum (Cl. novyi, tipo d), la cual rompe la lecitina en fosforil colina y diglicéridos. También hidroliza esfingomielina. Esta fosfolipasa C es diferente serológicamente a las producidas por Cl. perfringens, Cl. bifementas o Cl. serdelli. A diferencia de otras fosfolipasas C, no es buen antígeno, y cuando se convierte a toxoide es muy débil o carece de antigenicidad. Esto es importante, pues la protección contra la enfermedad es contra las células de la bacteria y no antitóxica.

La gama toxina es también una fosfolipasa C, no relacionada serológicamente con la producida por Cl. hemolyticum, hidroliza lecitina con formación de glicéridos y fosforil colina, actúa



principalmente contra glóbulos rojos de caballo y poco contra eritrocitos de carneros.

Clostridium perfringens.

Sinónimos: Este microorganismo es también conocido como Clostridium welchii.

Distribución en la naturaleza:

Es la causa común de gangrena gaseosa en el hombre y de infecciones enterotoxémicas en borregos y otras especies animales. Las cepas de esta bacteria producen varias toxinas las cuales pueden ser identificadas individualmente mediante pruebas de neutralización. En base a la producción de toxinas este microorganismo puede clasificarse en los siguientes tipos A, B, C, D, E. (Ver Cuadro 11).

Existe información de cepas tipo F, sin embargo como éstas se diferencian del tipo C, por algunas toxinas menores, se han integrado a este tipo.

Clostridium perfringens, esta presente en el suelo y en el intestino del hombre y animales sanos.

La enfermedad se presenta cuando estos microorganismos en el intestino se multiplican rápidamente y producen sus toxinas, se conoce poco acerca de los mecanismos que provocan un micro medio ambiente adecuado, para que ésto se realice.

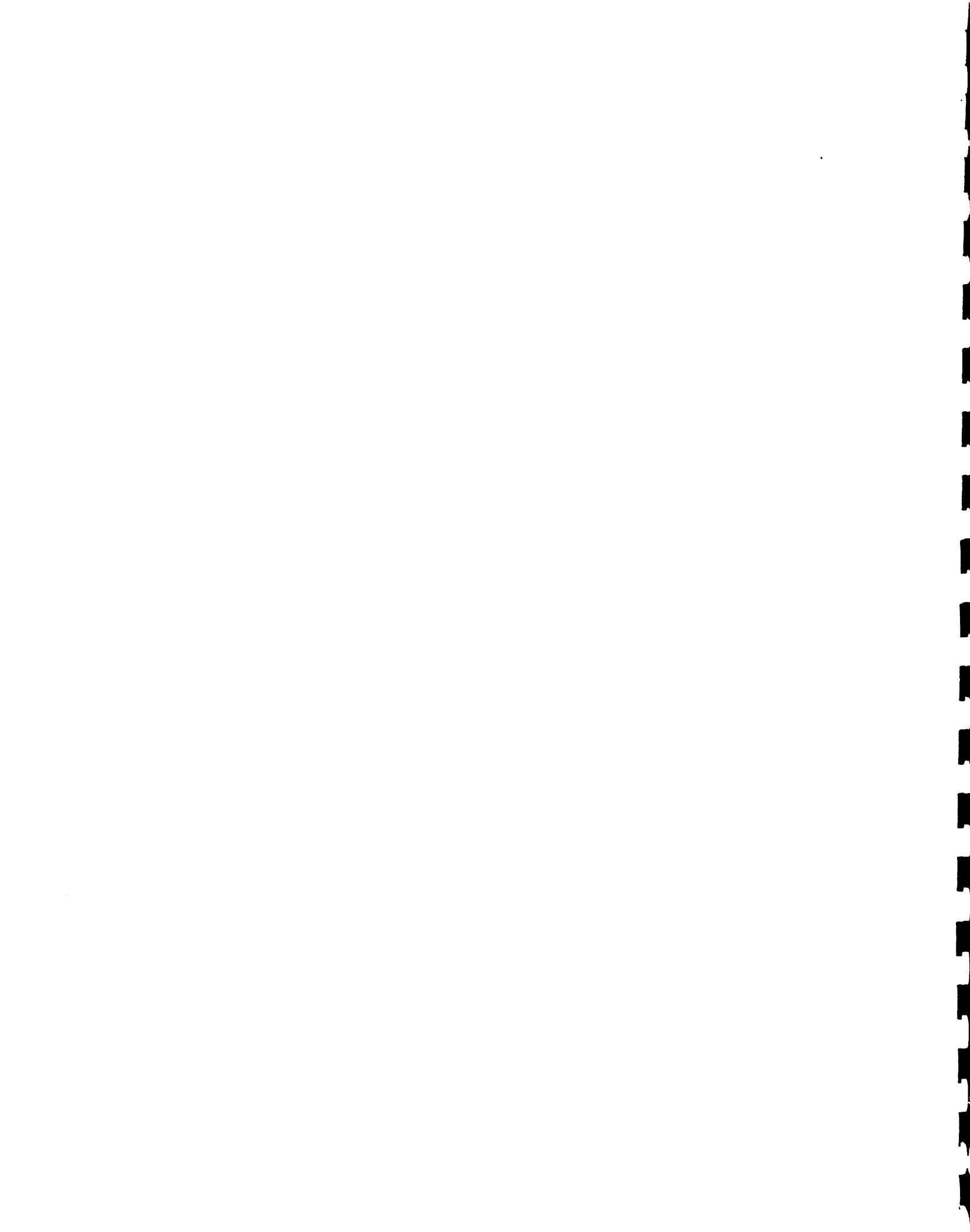
Morfología y tinción:

Clostridium perfringens, es un bacilo Gram positivo, grueso de longitud variable, inmóvil, se presenta aislado, o en cadenas cortas. Las cápsulas son observadas en preparaciones de tejidos o fluidos del cuerpo. Las esporas son formadas ocasionalmente y únicamente en ausencia de carbohidratos fermentables, son ovales, centrales o subterminales y generalmente no dilatan el cuerpo del bacilo.

Características del cultivo:

Aun cuando Cl. perfringens, es anaerobio, no requiere de condiciones anaerobias estrictas, pues puede desarrollarse en ambientes microaerofílicos. Crece rápidamente en medio de carne cocida a 37°C, siendo la temperatura óptima de crecimiento de 45°C. El desarrollo puede ser mejorado por la presencia de glucosa o sangre.

En la superficie de medios sólidos, de cultivos jóvenes, las colonias aparecen, redondas de 2-3 mm de diámetro, lisas, convexas y opacas. Ocasionalmente ocurren variantes mucoides. En



agar sangre, las colonias están rodeadas de una pequeña zona de hemólisis completa y otra de diámetro mucho mayor de hemólisis parcial, dicho fenómeno se conoce como doble hemólisis. Las zonas de hemólisis dependen de la cantidad de toxina producida y de la especie de glóbulos rojos usados. Los más indicados son los de bovinos y borregos. Las zonas de hemólisis pueden mejorar si después de la incubación se mantiene a 4° C durante la noche. En medio de carne cocida, la carne no es digerida y se torna rosa. La gelatina es licuada, en tanto que el suero coagulado no. Cuando crece en medio que contiene suero humano o yema de huevo filtrado, Cl. perfringens, muestra una marcada opalescencia, causada por la alfa toxina (lecitinasa), la cual es conocida como reacción de Nagler o Lecitinasa.

Clostridium perfringens, es esencialmente sacarolítico y medianamente proteolítico, sin embargo varias enzimas son capaces de desdoblar materiales de membranas celular y tejido conectivo, así como colágena en tejidos animales. Fermenta: Glucosa, Lactosa, Sacarosa y Maltosa, con formación de ácido y gas. En la leche tornasolada produce ácido y coagulo, con gran cantidad de gas, el cual rompe el coagulo y ocasiona lo que se conoce como "fermentación tormentosa", lo que es característico de muchas, aunque no de todas las cepas de Cl. perfringens.

Resistencia a Agentes Físicos y Químicos:

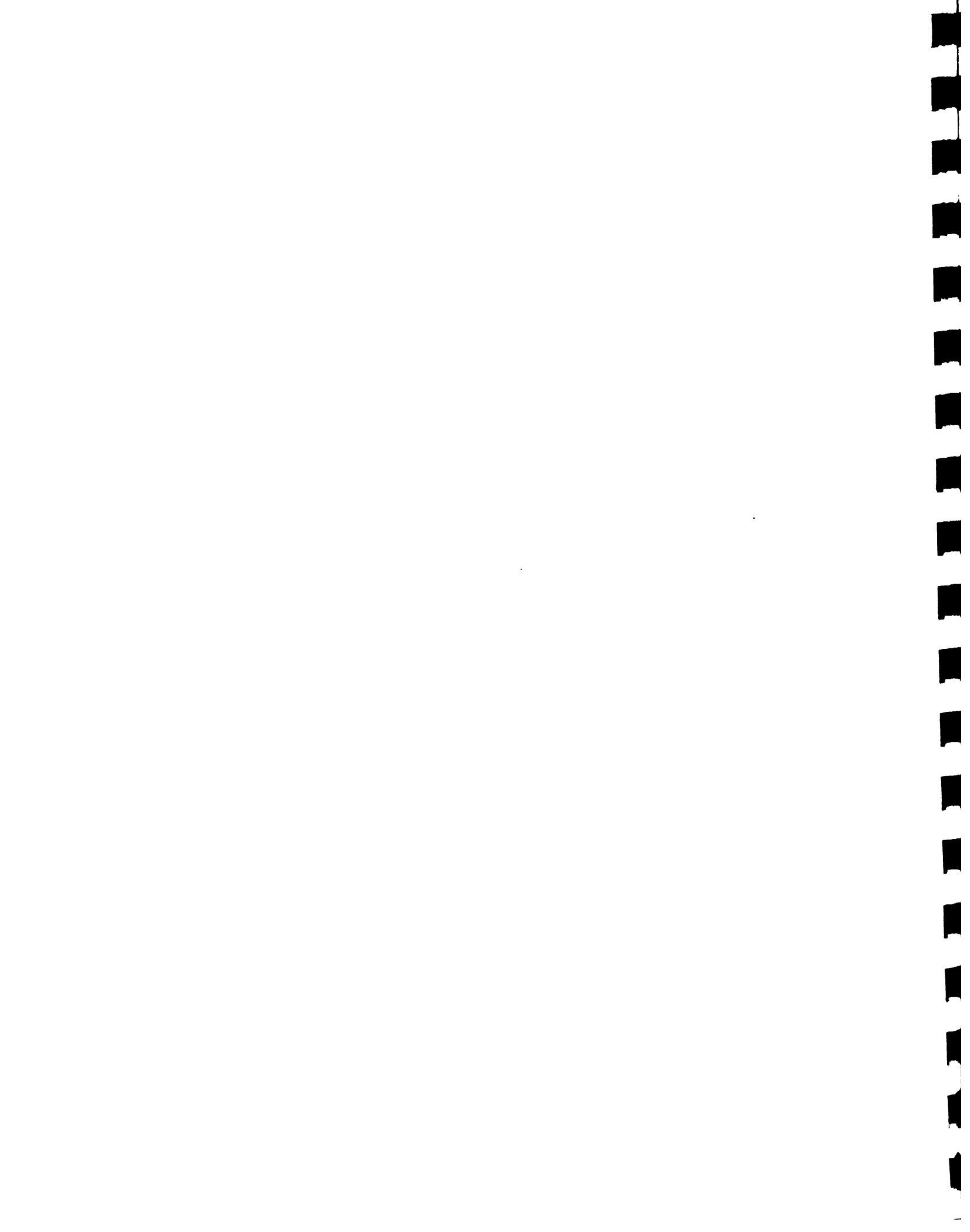
Las esporas de varias cepas de Cl. perfringens no son muy resistentes y mueren por calentamiento a ebullición en 5 min.

Por otro lado esporas de algunas cepas de tipo A, asociadas a envenenamiento por alimentos, en humanos y algunas especies animales como el equino, así como algunas cepas de tipo C, son altamente resistentes al calentamiento, ya que sobreviven a 100°C, durante más de 60 minutos.

Antígenos y Toxinas

Clostridium perfringens, posee antígenos somáticos y un antígeno capsular, el cual no tiene mucha importancia en la identificación de diferentes cepas, así mismo en cuanto a los antígenos somáticos, éstos son muy heterogeneos y dificultan el diagnóstico por lo cual estas bacterias se dividen en base a las toxinas que producen tanto, para fines diagnósticos como para la patogénesis de la misma enfermedad.

Alfa toxina: Esta toxina es una fosfolipasa C, que desdobla la lecitina en fosforil colina y diglicéridos, iones divalentes como Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, y Zn⁺⁺, juegan un papel importante en la acción de esta toxina. La acción de Alfa toxina puede ser inhibida irreversiblemente por agentes reductores y quelantes. Esta toxina es marcadamente hemolítica para glóbulos rojos de bovino y ratón, moderadamente para los de conejos, borregos y humanos; resisten



su acción de glóbulos rojos de caballo y cabra. Eritrocitos de muchas especies, presentan el fenómeno de "Caliente frío" ("Hot'cold"). La hemólisis aparece después que se mantienen los glóbulos cierto tiempo a 4°C, parece ser una respuesta de los eritrocitos a los agentes que alteran o desprenden grupos N^+ $(CH_2)_3$ de los lípidos de la membrana, por ejemplo; la separación de grupos de fosforil colina de la lecitina enlazada a la membrana. No es fácil producir toxoides a partir de Alfa toxina, a menos que ésta se purifique previamente.

Beta toxina: Producida en el intestino es probablemente responsable de la inflamación de éste y la pérdida total de la mucosa. Posiblemente tiene un efecto en el Sistema Nervioso Central aún cuando no existe una evidencia directa de que esto sucede. La Beta toxina, es una proteína altamente sensible a la acción de la tripsina. Cuando se aplica intradérmicamente, en cobayos produce una necrosis característica de color púrpura en el sitio de la inoculación.

Delta toxina: es marcadamente hemolítica para globulos rojos de bovino, borregos, cabras y cerdos. Es letal y no produce necrosis después de aplicación intradérmica, es altamente antigénica. Su acción al organismo no ha sido investigada. Las cepas de tipo C que producen severa necrosis intestinal, pueden o no producir Delta toxina, así mismo no hay evidencia de la actividad de esta toxina sobre glóbulos rojos in vivo. No se inactiva por la acción de la lecitina, como sucede con la Alfa y Theta toxina.

Epsilon toxina: es producida como prototoxina, durante la fase logarítmica de crecimiento y activada por la acción de la tripsina, según la siguiente reacción:

PROTOTOXINA + TRIPSINA ----- TOXINA ACTIVADA

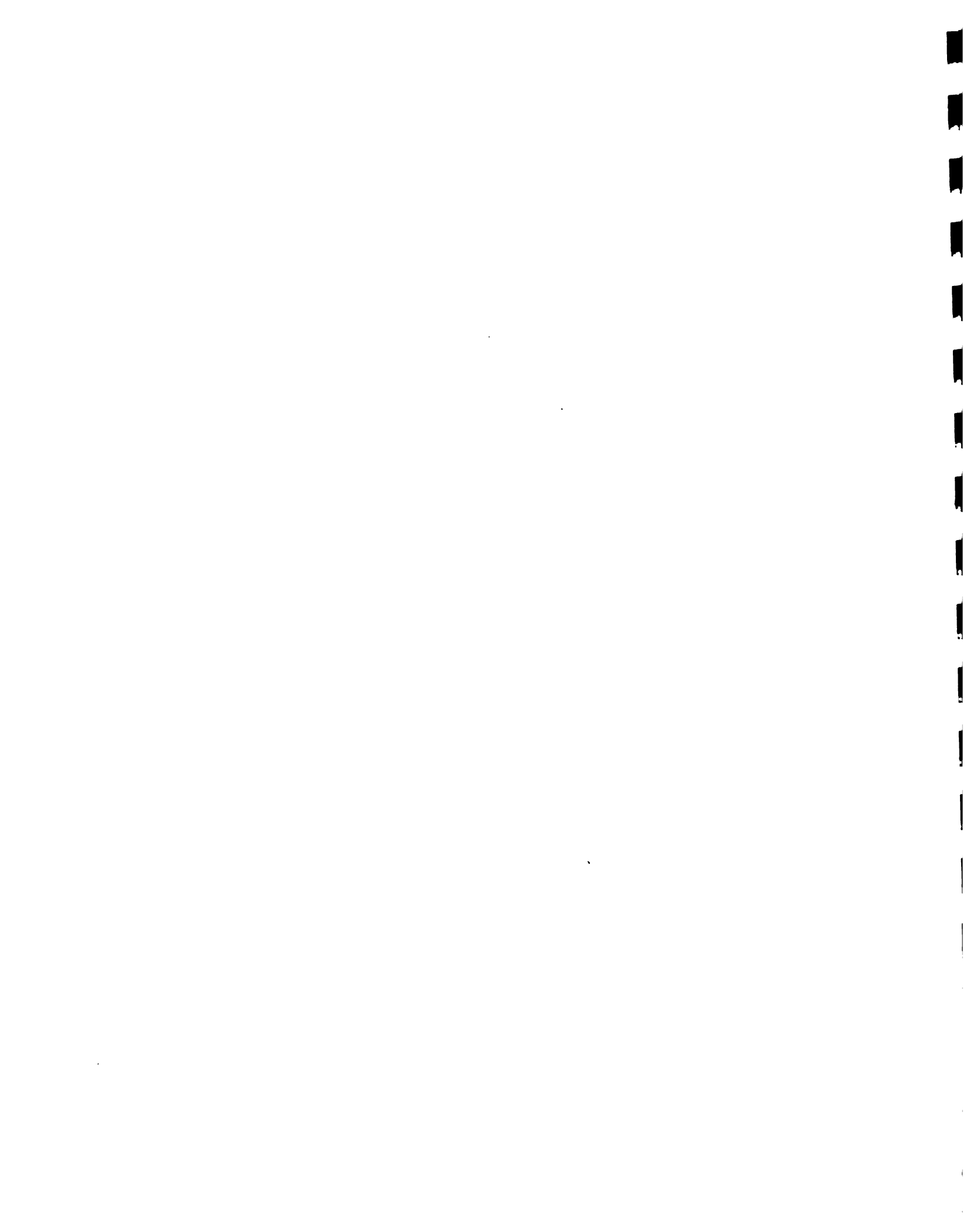
R = DLM Material Activado/DLM Material no activado.

R = Relación del incremento de activación.

DLM = Dosis Letal Mínima.

Una DLM de prototoxina tarda días en matar animales del laboratorio en tanto que 1 DLM de toxina activada, lo hace en corto tiempo, desde unas cuantas horas, después de su aplicación, hasta 24 hrs. La toxina Epsilon tiene un F. M. promedio de 40,500; los principales aminoácidos en su composición son: Ac. aspártico, lisina y treonina. Otras enzimas que pueden activarla son la Kappa y Lambda, producida por Cl. perfringens tipo D en el medio de cultivo, por lo que en cultivos de varias horas de incubación, podrá encontrarse la toxina Epsilon activada.

Theta toxina: Es una toxina letal, necrozante, hemolítica y termolabil: producida por varios tipos de Cl. perfringens. La hemolisina es sensible al oxígeno y actúa sobre eritrocitos de



caballo, bovinos, borregos y conejos. Tiene un peso molecular de 74,000, contiene grupos SH, esenciales para su actividad hemolítica, los cuales pueden ser oxidados a grupos S - S, inactivando la toxina, que se reactiva usando agentes reductores, como la cisteína, sulfito de sodio, etc. Estimula la liberación de histamina en células mastoides.

Iota toxina: producida únicamente por cepas tipo E, es una prototoxina, activada por tripsina y otras enzimas proteolíticas a pH alcalino, al parecer aumenta su poder de combinación. Es termolábil, antigénica, letal, necrosante y aumenta marcadamente la permeabilidad capilar.

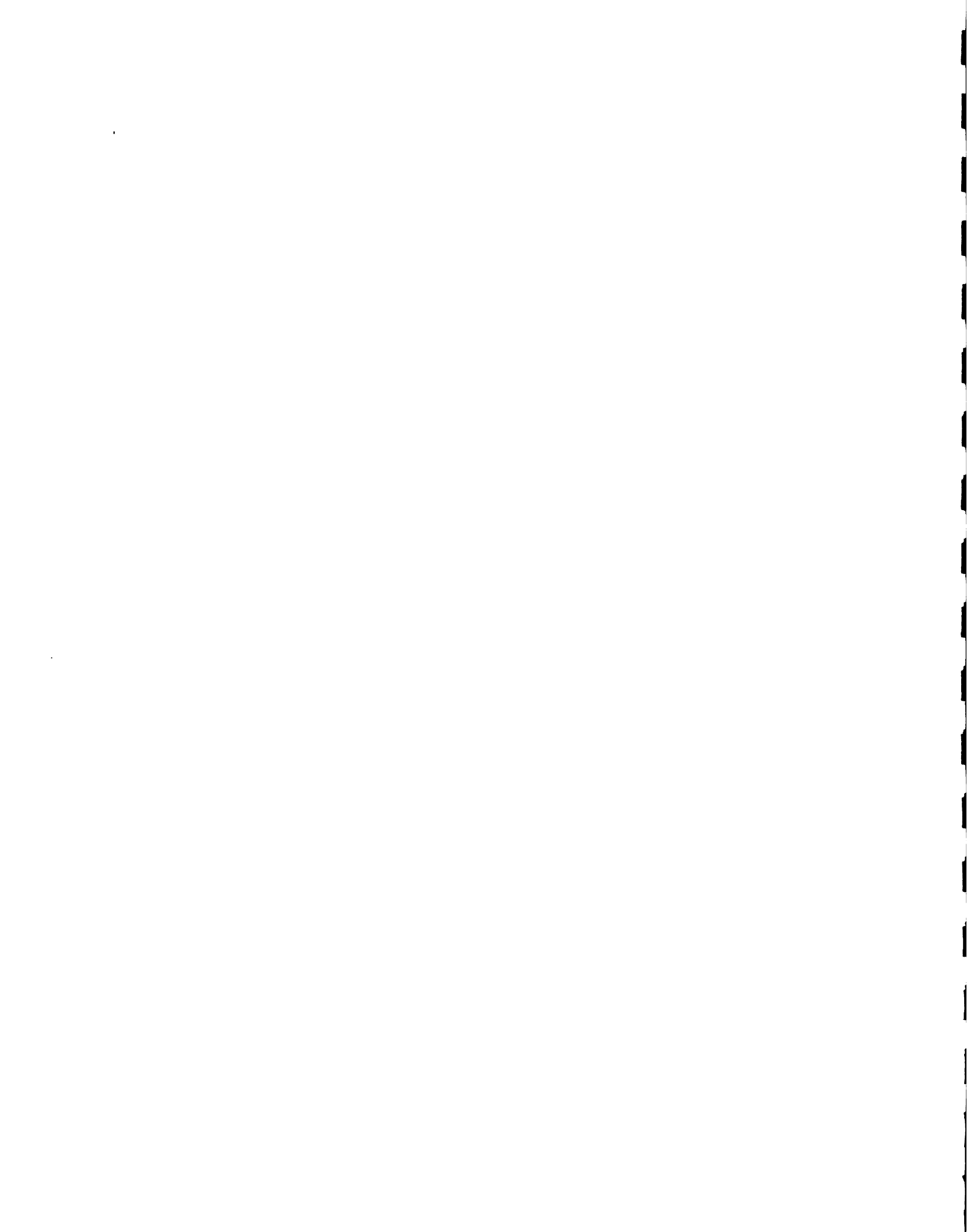
Kappa toxina: es una colagenasa, producida por los tipos A, D y E, así como algunas cepas de B y C. Tiene un P. M. de 80,000 daltones, actúa sobre las fibras de colágena en el músculo y no produce efectos en miofibrilas. Es letal para el ratón por vía endovenosa, ocasionando un edema hemorrágico en pulmón.

Lambda toxina: es producida por varias cepas de los tipos B y E y pocas del D. Es una enzima proteolítica que hidroliza varias proteínas, como gelatina, hemoglobina, caseína, entre otras. No actúa sobre colágena. Parece tener importancia en la activación de la toxina Epsilon en Enterotoxemias.

Toxina Mu: es una hialuronidasa, producida por varias cepas de los tipos A y B así como algunas del tipo D y muy pocas del C. En el tipo B, se asocia con disenteria de los corderos. Juega un papel importante en la infección mejorando la diseminación de otras toxinas. Carece de importancia en gangrena gaseosa de cobayas.

Nu toxina: es una desoxirribonucleasa, producida por cepas de todos los tipos, no tiene actividad letal, hemolítica o necrosante, sin embargo, parece tener propiedades leucocidas.

Enterotoxina: Presente en casos de envenenamiento por alimentos en humanos y enterotoxemia en caballos, tiene un P. M. de 36,000 daltones, y su formación está relacionada a la habilidad de esporulación de la bacteria. Es una proteína termolábil, que actúa aumentando la permeabilidad capilar y movilidad intestinal. Aún cuando es antigénica no confiere protección.



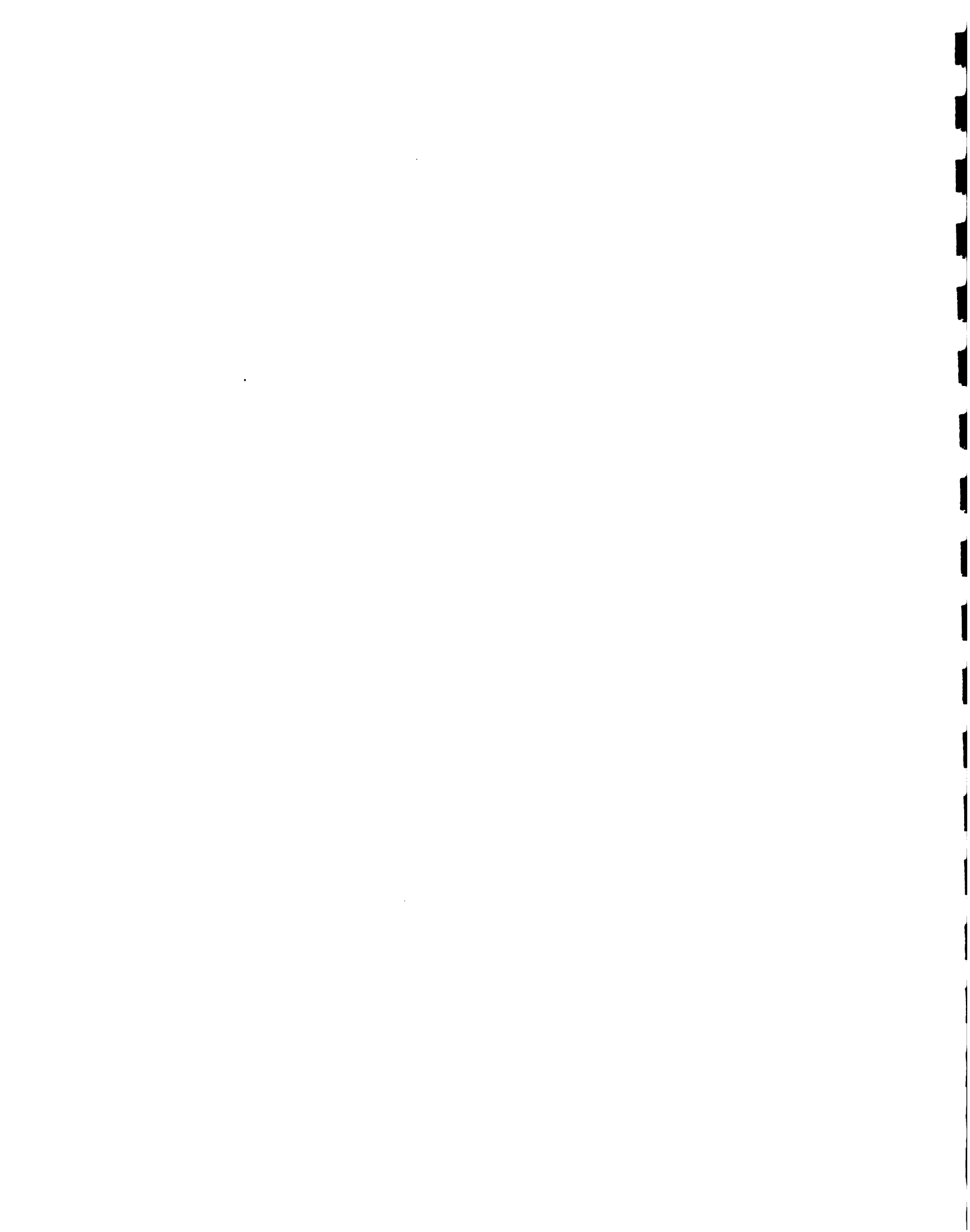
ANTIGENOS DE CLOSTRIDUM CHAUVOEI

- ANTIGENOS SOMATICOS:	AGLUTINANTE	PROTECTOR	PROPIEDADES FISICOQUIMICAS
DE ESPECIE	+	?	TERMORRESISTENTE
"PROTECTOR"	-	+	TERMOLABIL

- ANTIGENOS FLAGELARES(1).

BOVINO	+	(+) (2)	TERMOLABIL
OVINO			

(1) MOUSSA (1955): DESCRIBIO OTROS DOS ANTIGENOS FLAGELARES.
 (2) (+): CONFIERE CIERTA PROTECCION.



TOXINAS DE CLOSTRIDIUM CHAUVOEI

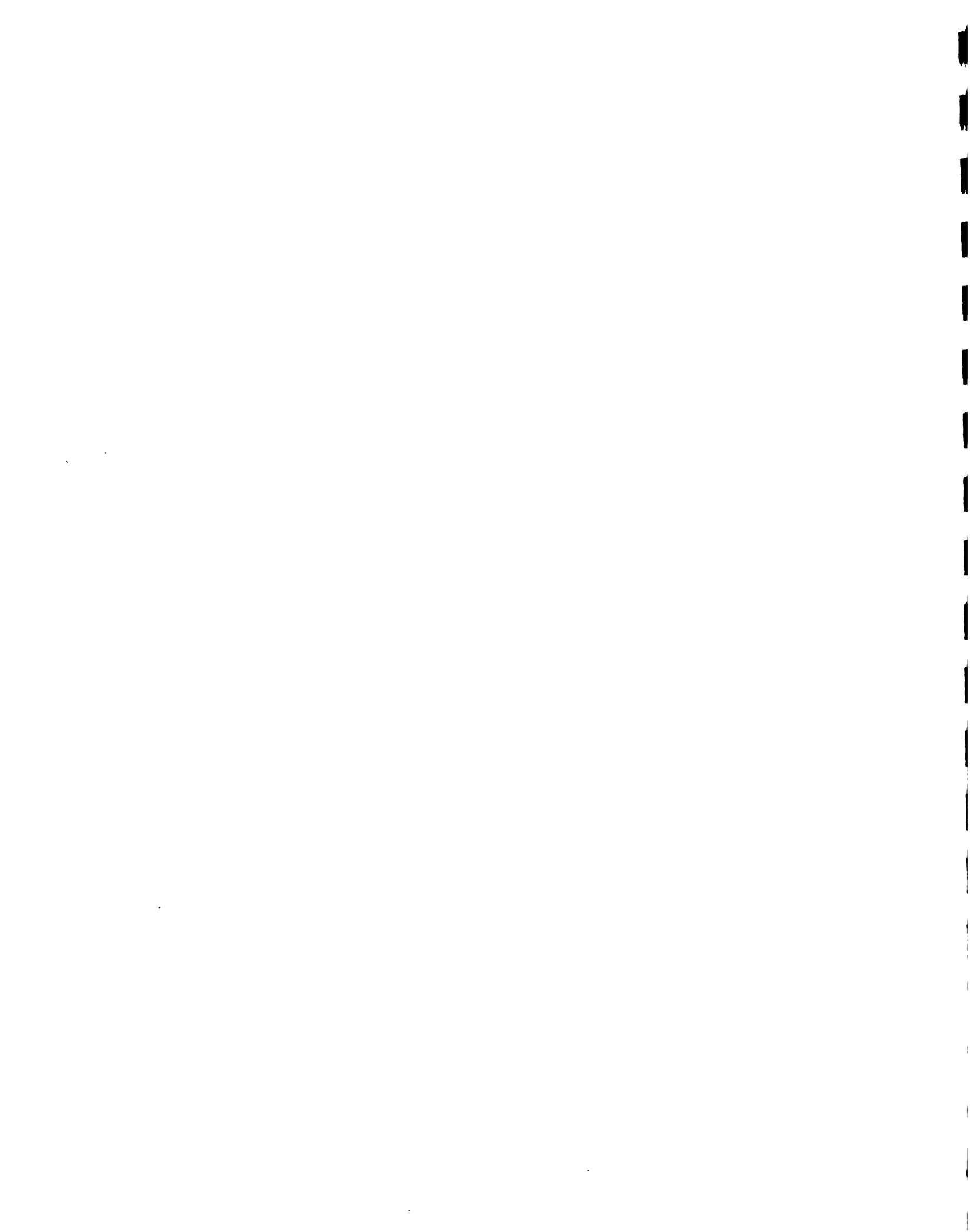
- ALFA TOXINA: HEMOLISINA OXIGENO
ESTABLE. NECROTOXINA. (1)

- BETA TOXINA: DESOXIRRIBONUCLEASA.

- GAMA TOXINA: HIALURONIDASA.

- DELTA TOXINA: HEMOLISINA OXIGENO SENSIBLE

(1) SIN ACTIVIDAD HEMOLITICA EN ERITROCITOS DE: CABALLO Y CUYO.



Diferenciación de clostridios importantes

Especies	Leche tornasol*	Movimiento	Nitrato	Indol	Glucosa	Lactosa	Salicín	Sacrosa	Ureasa	Otras
<i>Cl. perfringens</i> (<i>Cl. welchii</i>)	A C G S	-	+	-	+	+	V	+	-	Esporas infrecuentes
<i>Cl. septicum</i>	A (C) (G)	+	(+)	-	+	+	+	-	-	Los conejos son sensibles
<i>Cl. chauvoei</i>	A C G	+	(+)	-	+	+	-	(+)	-	Los conejos son resistentes
<i>Cl. novyi</i> , tipo A <i>Cl. novyi</i> , tipo B	(C) (G) A (D)	+	(-)	-	+	-	-	-	-	La identificación específica requiere pruebas de neutralización de toxinas
<i>Cl. haemolyticum</i>	--	+	-	+	+	-	-	-	-	Caprichosos
<i>Cl. sordellii</i>	C D	+	-	+	+	-	-	-	+	Ureasa positivos
<i>Cl. bifermens</i>	C D	+	-	+	+	-	V	-	-	Ureasa negativos
<i>Cl. botulinum</i> (no-ovolítico) Tipos: B, C, D y E	A	+	-	-	+	-	V	(-)	-	Variable a carbohidratos
<i>Cl. botulinum</i> (ovolítico) Tipos: A y B	A D	+	-	-	+	-	V	-	-	Microaerófilos
<i>Cl. tetani</i>	--	+	-	V	-	-	-	-	-	Crecimiento abundante, transparente y filamentoso en agar sangre
<i>Cl. sporogenes</i>	C D	+	-	-	+	-	V	-	-	
<i>Cl. histolyticum</i>	C D	+	-	-	-	-	-	-	-	Microaerófilos

* Leche tornasol: A= ácido; C= coágulo; D= digestión; G= gas; S= fermentación intensa; - significa sin cambios; ()= la mayor parte; V= reacciones variables.

Modificado de *Bacterial and Mycotic Infections of Man*, 4a. ed., Editores R. Dubos y J. Hirsch, J. B. Lippincott Co., Filadelfia, 1965.







