

ALGUNOS ASPECTOS DEL DIAGNOSTICO Y CONTROL DE LAS ENFERMEDADES POR CLOSTRIDIOS

Conferencia dictada ante la Sociedad de Buiatría del Uruguay el 29.11.77.

STERNE, M.

D.V. Sc. Dip. Bact. (London) F.R.C.V.S.

RESUMEN

Se afirma la mayor importancia de la inmunización, en comparación con la higiene, en el control de las enfermedades producidas por clostridios. Un buen control se logra mediante un diagnóstico correcto y por la correcta utilización de una vacuna bien fabricada. Se discute el esquema de inoculaciones a seguirse, de

manera de lograr una alta protección en las madres e hijos.

En todas las vacunas contra clostridiosis, es necesaria una doble inoculación inicial, separadas por un plazo de por lo menos 6 semanas. Es la segunda dosis la que nos da el nivel de protección necesario.

Veterinaria -XV-70-73

INTRODUCCION

Quiero agradecer a vuestro Presidente y a Uds., miembros de esta Asociación, por el privilegio de hablar en esta reunión. Mi gran pesar es no poder hacerlo en Español. Espero que puedan perdonar la necesidad de la traducción.

El tema de la conferencia es el uso de vacunas para controlar las enfermedades producidas por clostridios. Este tema tan amplio realmente requiere una serie de conferencias, por lo cual mi tratamiento va a ser necesariamente superficial. Espero que los presentes traigan luego a discusión, cualquier punto que tengan la sensación de que fue tratado en forma simple.

En el hombre, la higiene ha jugado un papel más importante que la inmunización en el control de las enfermedades. La gran reducción en la incidencia de enfermedades como el cólera, la escarlatina, la fiebre tifoidea y el tífus, poco le debe a la inmunización y casi todo a los cambios en el ambiente humano. Más aún, la disminución de la incidencia de un gran número de enfermedades que usualmente son atribuidas a la vacunación generalmente comenzó antes de las campañas de vacunación: por ejemplo, con la tos convulsa, tema sobre el cual existe una gran discusión actualmente.

En los animales, por otra parte, la inmunización jugó un rol decisivo en el control de las enfermedades infecciosas.

La higiene no ha tenido la importancia que en el caso del hombre. La razón es simple. Los animales no pueden ser separados de las fuentes de infección en la forma que es posible con el hombre. Los animales defecan, orinan, dan nacimiento, mueren y se descomponen en el lugar donde comen y viven. Ellos están continuamente e íntimamente expuestos a los microorganismos del suelo y de sus propias excretas. Usualmente no es práctico separar a los animales de esas fuentes de infección y, hasta que la inmunización no fue desarrollada, fueron aceptadas como inevitables grandes pérdidas producidas por enfermedades infecciosas, hasta Pasteur.

Pasteur, en una vida marcada por innumerables descubrimientos, fue capaz de preparar una vacuna contra Carbunco unos años 100 años atrás. Se ha dicho que este descubrimiento fue tan importante que pagó las pérdidas por indemnizaciones de la guerra Franco-Prusiana en 1870. En los siguientes 80 años se desarrollaron muchas. Algunas eran buenas, otras indiferentes y no pocas inútiles. Entre las vacunas que se desarrollaron están las vacunas contra las enfermedades producidas por clostridios: contra la Mancha, Edema maligno, Hepatitis necrótica, Enteritis necróticas, causadas por *Clostridium welchii* Tipos B y C, Enterotoxemia causada por *Clostridium welchii* Tipo D y vacunas contra Tétanos y Botulismo.

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR CLOSTRIDIOS

Esta charla se va a restringir a la vacunación contra las infecciones causadas por clostridios. Las vacunas mencionadas aquí tienen algo en común, no compartido por ningún otro grupo similar de vacunas, como por ejemplo, las vacunas contra Salmonelosis. Todas las vacunas contra clostridios, si son bien fabricadas, van a proteger sólidamente. Estoy preparado para aseverar, con confianza, que si una vacuna contra clostridios es fabricada

correctamente, usada concientemente y falla en detener un brote infeccioso, entonces el diagnóstico ha sido incorrecto. Ello califica mi casi dogmática aseveración anterior, de que todas las enfermedades por clostridios pueden ser completamente controladas por vacunación. Claramente, el suceso del control va a depender primero, de un diagnóstico correcto y luego, de la utilización correcta de una vacuna bien fabricada.

DIAGNOSTICO

La corrección o el error de un diagnóstico va a influir cualquier medida posterior tendiente a controlar un brote de una enfermedad. Quiero, entonces, hacer algunas sugerencias que puedan mejorar la cooperación entre el veterinario en el campo y el técnico en el laboratorio. Por lo tanto, si les toca a Uds, ser el veterinario en el campo, traten de actuar como si fueran los ojos y oídos del técnico de laboratorio. Sin Uds. él está ciego y sordo.

Informen extensamente acerca de lo que conocen del brote. Describan el cuadro clínico lo más completo posible. No omitan mencionar lo que les parece trivial a Uds. . Un detalle trivial puede ser una indicación importante. Por ejemplo, el dato de que un animal con un paso bamboleante tenga sialorrea puede sugerir Botulismo.

Cuando informen el resultado de una autopsia, describan lo que ven de manera que la persona que lea el informe reciba un cuadro de lo que Uds. vieron. Eviten decir que este o aquel órgano estaban normales, descríbanlos y dejen que el lector decida si él piensa que estaban normales.

Sean concientes al elegir las muestras que van a mandar. Antes que nada manden un frotis de sangre. Si el cadáver ha sido abierto, manden un frotis de bazo. Me han informado que los veterinarios de campo raramente usan un microscopio. Ello es sorprendente en un país donde un gran número de enferme-

dades pueden ser reconocidas por el exámen de un frotis de sangre. En especial Carbunco, Anaplasmosis o Babesiosis. Envíen además del frotis de sangre o de bazo, un frotis de cualquier lesión en un músculo, hígado o intestino, especialmente si ustedes saben que el laboratorio posee un arma tan útil como un microscopio de inmunofluorescencia. Este permite que enfermedades como Mancha, Edema maligno, Hepatitis necrótica y Hemoglobinuria bacilar sean reconocidas rápidamente. No se olviden de etiquetar los frotis correctamente.

Cuando manden tejidos, traten de mantenerlos refrigerados. Pequeñas porciones de músculos u órganos pueden ser enviados en glicerol al 60 % . Si envían trozos de intestino, escurran el contenido en un frasco estéril. Jámás envíen el contenido en un ansa ligada. Si envían muestras de líquido peritoneal o pleural, manden unos 30 cc. Es posible detectar antígenos característicos de *Clostridium oedematiens* o *Clostridium welchii* en ellos.

Debo repetir que una historia extensa, un cuidadoso informe del cuadro clínico y del resultado de la autopsia va a ser de gran ayuda. Puede ahorrar días de trabajo al indicar qué técnicas deben usarse primero. En vuestra última reunión, el Dr. Pérez Riera dio una muy buena descripción de un brote de muertes súbitas en corderos. El mandó un riñón con toda la apariencia de descomposición pero enfatizó que el animal había muerto sólo unas cuatro horas antes. Ello claramente indicaba una Enterotoxemia. De manera que los riñones fueron procesados y examinados a la mañana siguiente y la toxina épsilon de *Clostridium welchii* Tipo D fue indentificada. De esa forma, un diagnóstico de enfermedad del riñón pulposo pudo ser hecho, con confianza, a las 18 horas de recibir el material.

Las enfermedades por clostridios que afectan a los bovinos son: Mancha, Hemoglobinuria bacilar, Hepatitis necrótica, Enteritis necrótica producida por *Clostridium welchii* Tipo C, más

raramente por el Tipo B, Botulismo, Tétanos y pueden darse cuadros de Edema maligno esporádicos por *Clostridium septicum*. Hay poca evidencia de que las infecciones por *Clostridium welchii* Tipos A y D estén presentes. Mancha es común en Uruguay. Hemoglobinuria bacilar no ha sido diagnosticada aquí pero sí en Argentina. No sería extraño encontrarla en Uruguay. *Clostridium welchii* Tipo B no ha sido encontrado en las Américas y el Tipo C no ha sido reconocido en el Uruguay. Tétanos y Botulismo son esporádicos pero Botulismo puede ser un problema por su conocida asociación con deficiencias nutricionales. *Clostridium welchii* Tipo D ha sido incriminado por algunos autores, especialmente americanos, como causante de mortandad en ganado. Hay poca evidencia para esto. Este microorganismo es, sin embargo, responsable de grandes pérdidas en los ovinos.

La Mancha es fácilmente diagnosticada en un cadáver fresco. Sin embargo, la putrefacción ha sido diagnosticada erróneamente como Mancha. Los organismos pueden ser fácilmente reconocidos en frotis teñidos con anticuerpos fluorescentes. Si no se cuenta con este equipo entonces tenemos que pasar por el trabajo de hacer cultivos y de aislar y tipificar el organismo. Los diagnósticos basados en la inoculación de animales de laboratorio son, más a menudo, erróneos que correctos. Los organismos que causan la Hepatitis necrótica y la Hemoglobinuria bacilar pueden ser detectados por inmunofluorescencia a partir de los infartos de hígado. Puede ser muy útil recoger muestras de exudados pleurales o peritoneales y mandarlos al laboratorio rápidamente. Un diagnóstico rápido puede hacerse buscando las lecitinasas específicas.

El diagnóstico de Botulismo es, generalmente, clínico. El exámen post-mortem y los exámenes de laboratorio son importantes para excluir otras entidades morbosas. El Tétanos muestra un cuadro clínico característico. Organismos similares a *Clostridium tetanii*

pueden apreciarse a partir del exámen microscópico de la lesión y su identidad confirmada por la técnica de inmunofluorescencia. El diagnóstico clínico de Botulismo es más complicado, debido a que los síntomas varían de acuerdo con la cantidad ingerida de la toxina. Grandes cantidades de toxina producen muertes agudas. Antes de la misma hay un corto período de paso espástico y marcha rígida. La salivación puede ser prominente. Animales que ingieren menor cantidad de toxina muestran pocos síntomas por 2 ó 3 días; luego muestran debilidad de los cuartos posteriores y una marcha bamboleante. El colapso y la muerte se dan rápidamente. El cuadro típico de Botulismo se da con la ingestión de dosis pequeñas de la toxina. El animal desarrolla una debilidad progresiva y, generalmente, tiene salivación. Tiene cada vez mayor dificultad en levantarse y, finalmente, queda en la posición de decúbito esternal con la cabeza apoyada en el flanco izquierdo. La apariencia es la de hipocalcemia. Permanece conciente pero la alimentación y la ingestión de líquidos son difíciles dada la paresia o parálisis de los músculos de la deglución. La muerte sigue a la parálisis de los músculos respiratorios o a la inanición. Los animales que se recuperan lo hacen lentamente y puede llevarles meses recuperar sus funciones.

El diagnóstico clínico puede ser confirmado por la demostración de la toxina en la comida. Sin embargo, en los casos característicos, la ingestión de la toxina pudo haber ocurrido varios días antes, por lo que la comida raramente se encuentra. En los casos muy agudos que han ingerido grandes cantidades de toxina se puede inyectar suero a ratones. Si tenemos éxito, la toxina es fácilmente tipificada. En general, es tan poca la cantidad de toxinas C ó D necesarias para producir parálisis en un bovino que es difícil obtener una concentración en suero capaz de matar un ratón.

En algunas partes de Sud Africa cada carcasa dejada en el campo se convierte

en tóxica. La toxina también se va a desarrollar en pedazos de carne colgadas y protegidas de las moscas. Es usual que un gramo de carcasa pueda contener hasta un millón de unidades letales para ratones.

CALIDAD DE LAS VACUNAS

He dicho anteriormente, y muy énfaticamente, que todas las enfermedades producidas por clostridios pueden ser completamente controladas con una vacuna bien hecha y propiamente usada. Desafortunadamente, no todas las vacunas en el mundo son fabricadas correctamente. Muchas, en verdad, son inútiles y algunas son peligrosas. En Inglaterra, donde los productores mismos tomaron la iniciativa de imponer los niveles de aceptación, las vacunas utilizadas son de alta calidad. Yo no sé la situación en el Uruguay, donde su Gobierno está considerando la posibilidad de controlar la calidad de las vacunas contra Clostridiosis. Es útil tener presente que es más caro producir, una vacuna buena que una mala. De manera que si Uds. están satisfechos con una marca, no se timenten para cambiarla por otra más barata. El ahorro puede ser caro.

USO DE LAS VACUNAS

Finalmente, una buena vacuna puede fracasar si no es utilizada correctamente. La inmunidad contra las toxinas de clostridios toma tiempo en desarrollarse y, generalmente, se requieren dos inyecciones a intervalos convenientes. La primera da muy poca protección, si da alguna. La segunda dosis va a potenciar la primera en unas cien veces o más. Usualmente, el pico de la inmunidad se alcanza unos 5 días luego de la segunda inyección. Cuanto mayor es el intervalo entre las dos inyecciones mayor va a ser la respuesta. En general, se utiliza un intervalo de 6 semanas. En una emergencia este período puede ser restringido a dos semanas. En ese caso, una tercera

inoculación debe hacerse 3 ó 4 semanas después.

Si se ha utilizado una vacuna que saben es de buena calidad y las muertes continúan una semana después de la segunda inyección, entonces consideren la posibilidad de que su diagnóstico haya sido equivocado.

Las vacunas contra Mancha, de buena calidad, pueden dar una protección apreciable luego de la primera inoculación. Sin embargo, es aconsejable repetir esa inoculación y luego reinocular anualmente. Con las otras enfermedades mencionadas debe seguirse un programa inicial con dos inoculaciones.

Puede ser interesante describir un esquema de inoculación, extensamente utilizado en Gran Bretaña para proteger a los corderos contra el riñón pulposo. El problema era cómo proteger los corderos desde el nacimiento hasta las 13 semanas cuando eran embarcados como corderos gordos, sin someterlos a una vacunación que pudiera dañar la carne. Evidentemente, la protección debería ser transmi-

tida a partir del calostro. Está bien establecido que un título de 0.15 unidades en suero de antitoxina épsilon de *Clostridium welchii* es suficiente para proteger contra el riñón pulposo. La vida media en la sangre de un cordero en crecimiento, de una antitoxina recibida pasivamente, es de cerca de 10 días. Por lo tanto, si un cordero debe llegar a las 13 semanas con un título de 0.15 unidades, entonces, debe recibir unas 50 a 70 unidades al nacimiento. Para ello la oveja debe estar muy bien inmunizada.

Esto lo logramos sometiendo las borregas de reemplazo a dos inoculaciones cuando corderos y una tercera cuando tienen un año. Son entonces reinoculados cuando se les da un "flushing", otra vez cuando se ponen los carneros y una última, dos semanas antes del parto. Este programa, con una buena vacuna, va a resultar en una muy buena inmunidad transmitida en el calostro y que va a proteger al cordero por 13 semanas. Los títulos en las madres van a ser superiores en las preñeces sucesivas, con una mayor protección al cordero.

SUMMARY:

The importance of immunization, as compared to hygiene, for the control of clostridial diseases is stressed. A good control is achieved only by a correct diagnosis and the use of a properly made vaccine. An inoculation scheme that

allows a good protection to be developed in mothers and sons is discussed.

With clostridial vaccines an initial double inoculation is needed. This should be given 6 weeks apart. Is the second inoculation the ones that protects.

Veterinaria XV - 70 - 73

PREGUNTA (Dr. Salkind): Dado que los tipos de Welchi C y B no han sido diagnosticados en el país, no sería conveniente eliminarlos de las vacunas comerciales en el Uruguay?

RESPUESTA (Dr. Sterne): No estoy de acuerdo pues, aunque no hay diagnósticos del Tipo B acá ni en Norteamérica, el Tipo C sí se ha diagnosticado en Norteamérica. Por lo tanto, creo que el Tipo C puede estar acá si Uds. le llaman

a una vacuna mezcla C y D con Tipo B no hay diferencia. La única razón para poner Tipo B en Inglaterra en vez de una mezcla de C y D es que hay evidencia de que la antitoxina anti B es mejor para proteger a los corderos contra la Disenteria que una mezcla de C y D. El Tipo B puede quedar afuera.

PREGUNTA (Dr. Ugarte): El sistema de vacunación para corderos gordos, en base a una buena protección

de las madres, se puede tomar como método para ser utilizado en Uruguay?

RESPUESTA (Dr. Sterne): No creo que pueda ser aplicable. Los corderos en Uruguay son comercializados varias semanas después y sería impracticable lograr una inmunización suficiente de las ovejas. Por ejemplo, si 70 unidades al nacimiento son necesarias para proteger al cordero por 90 días (13 semanas), se necesitarían 140 unidades para protegerlo por 100 días.

PREGUNTA (Dr. Scelza): Cuál es la ventaja de las vacunas polivalentes o monovalentes?

RESPUESTA (Dr. Sterne): La única razón para utilizar vacunas polivalentes es la de ahorrar trabajo y disminuir costos. No es porque sean mejores vacunas. Las vacunas monovalentes son más fáciles de hacer y más eficientes. Sin embargo, es posible hacer buenas vacunas polivalentes pero ello requiere la producción de una toxina más potente para transformarla en toxoide lo cual puede lograrse por métodos bioquímicos, obteniendo alta producción de toxina en los cultivos, o bien por concentraciones químicas. Todos estos refinamientos no son necesarios para las vacunas monovalentes.

PREGUNTA (Dr. Scelza): El sistema de precipitación con alumbre no inferiría en la obtención de altos niveles de toxoide?

RESPUESTA (Dr. Sterne): A qué tipo de alumbre se refiere Ud.?

(Dr. Scelza): A los utilizados en las vacunas comerciales.

(Dr. Sterne): Las distintas vacunas comerciales utilizan tratamientos diferentes de alumbre. Estos pueden ser de hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio u otros. Todos tienen sus problemas y es posible utilizar un método de precipitación y no obtener un resultado esperado. Esto puede suceder con el hidróxido de aluminio, donde debemos utilizar el tipo que esté más de acuerdo con el antígeno.

La pregunta fue mal interpretada. En

efecto, una mayor producción de toxina permite obtener una mejor adsorción al aluminio. El toxoide puede ser diluido de manera que exista menor competencia con las proteínas no específicas. Por ejemplo, si 100 unidades de toxoide B se necesitan por mililitro de vacuna y obtenemos 1000 unidades en los cultivos, podemos diluirlo en 1/10. Logramos así una disminución de las proteínas no específicas. Ello da una mejor adsorción al aluminio.

PREGUNTA (Dr. Queirolo): Los conceptos para las vacunas polivalentes también se aplican para la combinación de Mancha y Carunco?

RESPUESTA (Dr. Sterne): Es una pregunta difícil pues existen problemas en la combinación de la vacuna contra Mancha y Carunco. Las vacunas tienden a ser antagónicas y si se aumenta demasiado el componente de Carunco, disminuye el componente de Mancha y viceversa. Si bien una vacuna satisfactoria puede ser fabricada, estamos en la cuerda floja. De manera que los fabricantes tienen que controlar cada partida y descartar las insatisfactorias.

PREGUNTA (Dr. Castrillón): Podría aclarar un poco más el concepto en que se basa el sistema de vacunación de corderos y cómo se afecta la vida media de la antitoxina?

RESPUESTA (Dr. Sterne): Si un animal es inoculado pasivamente con antitoxina ésta desaparece en un tiempo dado, siendo la caída del título en forma exponencial. Se mide, entonces, el tiempo que lleva al título de la antitoxina caer a la mitad de su nivel anterior. Se puede medir el índice de caída y medir la vida media. De manera que si un cordero tiene 100 unidades al nacimiento, 10 días después va a tener 50 unidades, a los 20 días tendrá 25 y así sucesivamente.

PREGUNTA (Dr. Prando): Si por cualquier motivo no podemos hacer la segunda vacunación inicial en el plazo de seis semanas, debe recomenzarse la vacunación o puede darse la segunda dosis después de largo tiempo?

RESPUESTA (Dr. Sterne): En realidad no está definido. Una vez tuvimos una vaca que se sospechaba había sido vacunada siete años antes contra Botulismo y, para confirmarlo, la vacunamos otra vez, obteniendo una subida sensacional de los anticuerpos. En general, cuanto más tiempo pasa entre las dosis mayor es la respuesta. La inmunidad por la primera inoculación es muy baja y tiende a desaparecer con la excepción de aquellos animales que son expuestos a dosis pequeñas de infección natural. Estos pueden actuar como respuesta anamnésica y el animal se hace cada vez más resistente. Ello ocurre en Welchii Tipo D, en ovejas, y en la Mancha.

PREGUNTA (Dr. Prando): Qué relación existe entre Meteorismo y vacunación contra Clostridiosis?

RESPUESTA (Dr. Sterne): No conozco nada de la relación entre Meteorismo y Clostridiosis. Sin embargo, me gustaría dar una opinión. Las muertes por Enterotoxemia se dan en animales

puestos en buenas pasturas, en pasturas que pueden producir Meteorismo. Estaríamos aquí tratando con dos factores, Meteorismo y Enterotoxemia.

PREGUNTA (Dr. Fostel): Aparentemente, hay cuadros clínicos de Botulismo en Uruguay sin haber sido diagnosticados en laboratorio; sería sensato sospecharlo?

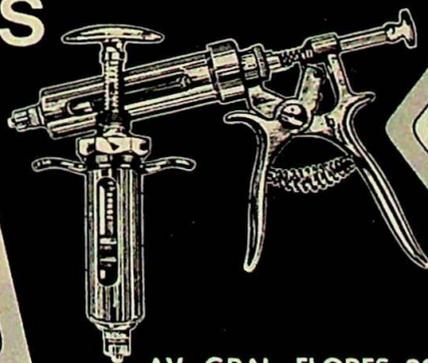
RESPUESTA (Dr. Sterne): No sé si ha sido diagnosticado en el Uruguay. Pero sería extraordinario si no hubiesen ocurrido casos esporádicos de Botulismo, porque el Tipo C ocurre en todo el mundo.

PREGUNTA (Dr. Pérez Riera): Podría describir el tipo de lesión producida por la vacunación?

RESPUESTA (Dr. Sterne): Se produce una reacción inflamatoria al aluminio que no tiene tiempo de desaparecer completamente en los 90 días, de manera que una cierta cantidad de tejido debe sacarse para la inspección, lo cual es demasiado oneroso.

JERINGAS

COMUNES
TIPO PISTOLA
AUTOMATICAS
DOSIFICADORES
AUTOVACUNADOR W-66



Walmur

AV. GRAL. FLORES 2206 TEL. 236013 20 80 40