

DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO DE LA PERINEUMONÍA BOVINA

EMPLEO Y VALOR DE LA REACCIÓN DE FIJACIÓN

por

C. LÓPEZ, E. TRULL Y M. CIGA

(NOTA PREVIA)

La perineumonía bovina, enfermedad gravísima que está poniendo en situación alarmante nuestras explotaciones lecheras, prescindiendo del diagnóstico sintomático, contaba, hasta nuestros trabajos, con los siguientes medios para diferenciarla: filtración de serosidad y cultivo; cultivo directo sin necesidad de filtrar; inoculación; precipitación y aglutinación. En lo sucesivo, y teniendo en cuenta el valor relativo que puede concederse a esta nota previa, nos parece podrá contar con la fijación del complemento.

1.º *Filtración de serosidad y cultivo.* El germen específico de la perineumonía bovina, *Asterococcus mycoides* de Borrel, es un virus filtrable, capaz de atravesar el filtro de Berkefeld y la bujía F. de Chamberland (1). Es, además, cultivable y visible, lo cual excluye por completo la concepción de que los virus filtrables son invisibles. Recogiendo serosidad del pulmón infiltrado y diluyéndola en 60 a 80 veces en caldo Martín para filtración por

(1) Hoy nosotros nos atreveríamos a afirmar que atraviesa la bujía de alúmina. (López y Pagés.)

una de las bujías precitadas, obtenemos un filtrado, el cual se siembra en caldo Martín y, mejor, en caldo Martín con un cinco por ciento de suero sanguíneo estéril de conejo o de buey, como medio líquido, y en agar con caldo Martín suero como sólido. El caldo sembrado se enturbia muy ligeramente a los dos o tres días y el agar denunciará la aparición de colonias finas, transparentes, que se hacen de centro opaco con el tiempo y muy adherente al medio. Con estos datos y, mucho mejor, si se acompañan del examen microscópico a grandes aumentos, hay suficiente para el diagnóstico, siempre y cuando el examen microscópico no revele la presencia de otras bacterias.

2.º *Cultivo directo sin necesidad de filtrar.* Nocard recomendó la técnica siguiente para la siembra de los saquitos de colodión, técnica que es recomendable, además, para sembrar directamente en el caldo Martín-suero: punción de la pleura. Es necesario procurarse un pulmón en el primer estado de la forma aguda de la enfermedad. Se impone precisar la región que indica la consolidación y colección del líquido detrás de la pleura y, una vez conseguido, se cauteriza ésta con el bisturí o con espátula de acero. Se introduce, por la parte cauterizada, la punta afilada estéril de un pipeta, hasta el fondo del tejido próximo a ella y por este procedimiento se obtienen unas cinco décimas de líquido amarillento, con el que se siembran los sacos de colodión que contienen el caldo estéril o el caldo Martín-suero.

3.º *Inoculación.* La inoculación subcutánea de serosidad a la ternera, va seguida de un abultamiento o tumor local, que alcanza su máximo hacia los doce días, sin que sea constante la elevación de temperatura. Los cultivos pueden reproducirse con serosidad del animal inoculado. Para Poppe (1913) puede confirmarse el diagnóstico si se cumplen las tres condiciones siguientes:

Primera. Cultivo al cabo de cinco a siete días en caldo Martín del exudado filtrado, según técnica ordinaria.

Segunda. Aparición (cuatro a cinco días después de la inyección subcutánea de linfa pulmonar a una ternera), de un abultamiento regional, aunque, sin elevación de temperatura para unos, mientras que otros presentan fiebre, alcanzando su máximum el 11.º día.

Tercera. Reproducción de un cultivo partiendo del animal inoculado.

Aunque por estos métodos sea posible hacer un diagnóstico seguro, lo cual no puede admitirse sin reparos, la lentitud hace de ellos procedimientos de escasa o ninguna aplicación práctica.

Precipitación y aglutinación. Según Dujardín-Beaumontz, sometiendo un caballo a inoculaciones repetidas y masivas de cultivos, en caldo, de este microbio, se consigue un suero con propiedades precipitantes cuando se le pone en contacto con un filtrado de esos mismos cultivos. La acción precipitante se manifestaría igualmente con el suero de animales naturalmente atacados.

La aglutinación se obtendría con el suero de caballo hiperinmunizado y sería manifiesta en la proporción de 1 : 50.

El valor práctico de ambos procedimientos sería muy limitado. Se necesitaría, de un lado, filtrar los cultivos para retener las nebulosidades que forma el microbio al multiplicarse en el caldo y que dificultarían ambas pruebas; por otra parte, la aglutinación tan sólo parece conseguirse con sueros de caballos sometidos a inyecciones constantes y masivas, no con el suero de individuos enfermos naturalmente. Y aunque así fuese, tratándose de un microbio de dimensiones tan reducidas y de cultivo muy exigente, no podrían emplearse dichos métodos más que en ciertos laboratorios y con personal adiestrado.

De este somero examen crítico se deduce con claridad

la conveniencia de un procedimiento que, con los mismos o mejores resultados, solvente las dificultades de la aplicación práctica.

Las primeras experiencias se encaminaron a las inoculaciones reveladoras, con jugo pulmonar esterilizado, pretendiendo un método de diagnóstico como con la maleína y tuberculina en el muermo y tuberculosis, respectivamente. La reacción térmica de los enfermos se obtuvo (1.º y 2.º), pero su inconstancia, aun en los bóvidos clínicamente reconocidos perineumónicos, fué la causa del abandono de este método, sobre el cual, y con las variantes necesarias, convendría insistir, sin embargo.

Fijación del complemento. — Haremos un resumen de los casos que nosotros hemos examinado, haciendo esta aplicación antes que nadie, según nuestra información bibliográfica.

Reacción núm. 1. Vaca sacrificada y comprobada y positiva por la autopsia.

Antígeno: extracto alcohólico de pulmón típico, con titulación 1 + 3 (un cc. a una dilución al 1 + 3).

Suero deractivado al 20 por 100. Tiempo en la estufa a 37°, 56 minutos. — *Positiva.*

Reacción núm. 2. — El mismo suero con antígeno al 1 : 3 y 1 : 4. Tiempo en la estufa 110 minutos. *Positiva.* El resultado interpretado a las 24 horas.

Reacción núm. 3. — Antígeno al 1 + 3: una hora a 37°. Resultado: débilmente positiva en las primeras horas es *negativa* al fin. Comprobada perineumónica en la autopsia; tres días enferma.

Reacción núm. 4. — Antígeno al 1 + 3 y 1 + 4: 50 minutos a 37°. *Negativa.* Sin comprobación en el cadáver.

Reacción núm. 5. — Vaca, 12 días enferma, mejor dicho, con síntomas: antígeno al 1 + 3 y 1 + 4. Tiempo a 37° 90 minutos. *Positiva.*

Reacción núm. 6. — La misma, 70 minutos a 37° con *vacuna anti-perineumónica* como antígeno ($1/2$ y $3/4$ de cc.) *Positiva*.

— Cuando se emplea vacuna como antígeno es fácil obtener una fijación por el antígeno si se emplea $3/4$, por lo cual creemos que la cantidad de vacuna que debe emplearse como antígeno, está próxima de ordinario a $1/2$ cc.

Reacción núm. 7. — Vaca sin poder precisar los días que lleva enferma. Antígeno; extracto alcohólico de pulmón: 70 minutos a la estufa. *Positiva*.

De estas primeras experiencias no pueden deducirse conclusiones definitivas, salvo la posibilidad de diagnosticar un tanto por ciento, al parecer elevado.

Sin embargo hay enseñanzas que aprovechar:

Primera. Como antígeno puede emplearse extracto alcohólico de pulmón típico y vacuna, esto es, cultivo del microbio en caldo Martín.

Segunda. Parece conveniente prolongar la permanencia a 37° cuando menos 70 minutos, pues se observa que las dos pruebas negativas (reacciones números 3 y 4) corresponden a una estancia de 50 a 60° minutos, con la particularidad de que la núm. 3, de sesenta minutos, al principio muestra una débil hemolisis, que sólo es completa después de varias horas. Es cierto que la núm. 1 tan sólo permanece 56 minutos, pero diluyendo más el antígeno (reacción núm. 2) y teniéndola hasta 110 minutos, se obtiene igualmente resultado.

La necesidad de resolver este extremo, y, por otra parte, aquel otro que es el que puede hacer de este medio de diagnóstico un método utilizable en la práctica, esto es, saber cuándo se puede obtener reacción positiva en un animal con síntomas de enfermedad y si la reacción sirve para denunciar los enfermos crónicos, nos hicieron pensar en un trabajo basado, como primera condición, en el examen de

sangre de animal que supiésemos cuántos días llevaba con manifestaciones sintomáticas.

Las dos únicas reacciones que hasta hoy hemos practicado para resolver este asunto, lo han sido con sangre remitida desde Bilbao a Barcelona. He aquí los resultados:

Vaca núm. 1. — Diagnosticada clínicamente de perineumonía por Ciga y que tan sólo hace dos días que el propietario nota síntomas alarmantes. Trátase de un caso típico, brutal, de los que son raros. Desde el día de recoger la sangre hasta el de la reacción, transcurren cuatro.

Antígenos: extracto y vacuna. Tiempo a 37° cinco cuartos de hora. *Positiva*.

Vaca núm. 2. — Veinte días enferma. Se recibe la sangre hemolizada y en principio de putrefacción. Los mismos antígenos y tiempo de contacto a la estufa. Resultado: *positiva*, tanto con dos como con una décima de suero.

No concediendo valor a esta reacción, nos encontramos con que a las 48 horas de apreciarse síntomas de enfermedad, en un caso, se ha podido diagnosticar por la fijación del complemento.

Este resultado estaría en pugna con el de la núm. 3 de la serie anterior, tres días enferma, pero no siendo iguales las condiciones de experimentación (hay quince minutos de diferencia en la duración del período de fijación o digestión) tampoco pueden equipararse los resultados.

Como nos proponemos insistir, no establecemos conclusiones que, por otra parte, estarían expuestas a rectificación.

Laboratorio Bacteriológico Municipal. Barcelona.