

Colegio Oficial de Veterinarios de Barcelona

Contribución experimental a la patogenia de la mamitis gangrenosa de la oveja

por

JOSÉ VIDAL MUNNÉ

Veterinario

Trabajo galardonado con el "Premio Turró", 1947,
en el Concurso organizado por el Colegio
Oficial de Veterinarios de Barcelona

Universitat Autònoma de Barcelona
Servei de Biblioteques



1500624257

BARCELONA

1948

Colegio Oficial de Veterinarios de Barcelona

Facultat de Veterinària
Biblioteca

Contribución experimental a la patogenia de la mamitis gangrenosa de la oveja

por

JOSÉ VIDAL MUNNÉ

Veterinario

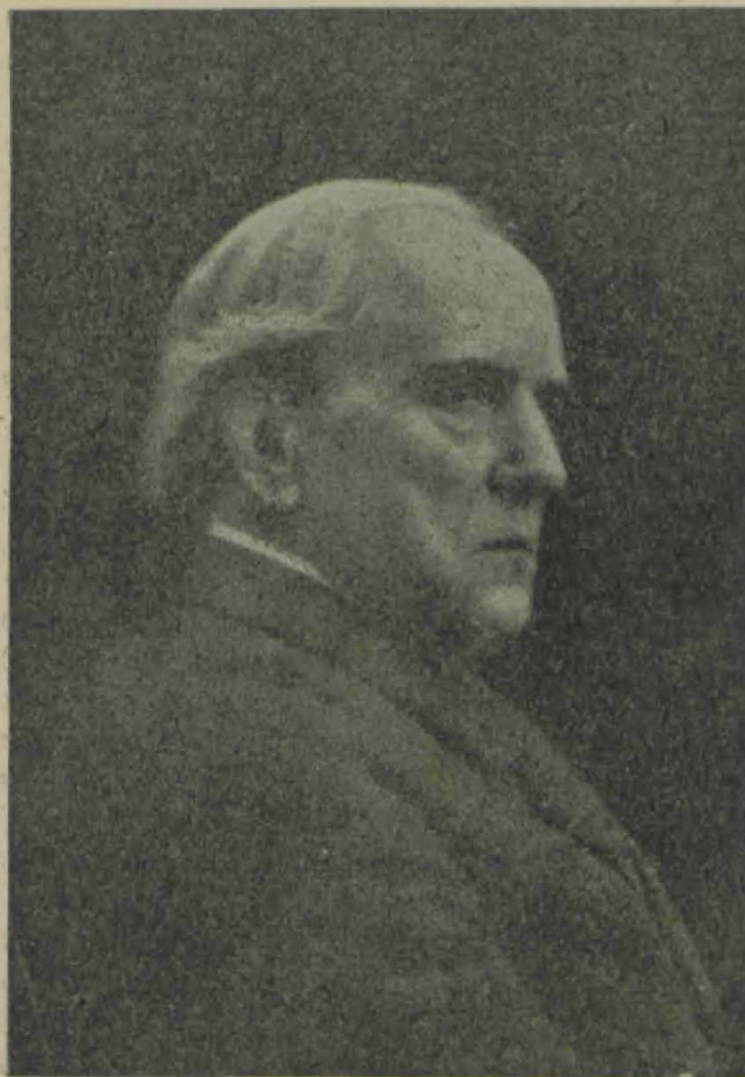


Trabajo galardonado con el "Premio Turró", 1947,
en el Concurso organizado por el Colegio
Oficial de Veterinarios de Barcelona

BARCELONA
1948

R. 311.

LIBRARY OF THE
UNIVERSITY OF BARCELONA



RAMÓN TURRÓ DARDER

* 1854 - † 1926

Ramón Turró

Pocos hombres dejan de su paso por la vida una huella profunda. Entre estos pocos podemos contar a Turró.

Yo le conocí en los últimos años de su vida, y he de confesar que despertaba en todos los que le trataban, una sincera admiración.

Era la ofrenda justa a un hombre de polifacéticas actividades y que en todas ellas marcó el criterio de su genial entendimiento:

Su juventud se desarrolló en las horas de crisis y de superación de finales del ochocientos. Por aquellos días la ciencia experimental luchaba por derrumbar los castillos de la rutina y de la pedantería oratoria. En aquellas horas, era preciso la conciencia de la razón y la energía de los hombres superiores para encararse con los prestigios oficiales. Y Turró dejó oír su voz en polémicas científicas, con su fuerte filosofía, que en sus años maduros constituyó su preocupación fundamental.

Hombre inquieto, observador y de fina intuición, no podía pasar como espectador indiferente, en la época gloriosa de la génesis de la microbiología.

Su aportación documentada y genial sobre "Los mecanismos de la inmunidad", constituye una obra que en su tiempo fué comentada y elogiada extensamente. El correr vertiginoso de los días y la novedad de nuevas teorías, han hecho olvidar la magistral lección de Turró. Creo que ha llegado el momento de mirar un poco hacia el pasado, para reivindicar en gran parte la visión de Turró, ya que los modernos conocimientos de la bacteriostasia y los antibióticos parecen darle cumplida razón.

Este es el mérito de los hombres superiores. Adelantarse al porvenir, y hacer que lo que suponemos una novedad ya fué dicho o adivinado por un espíritu genial.

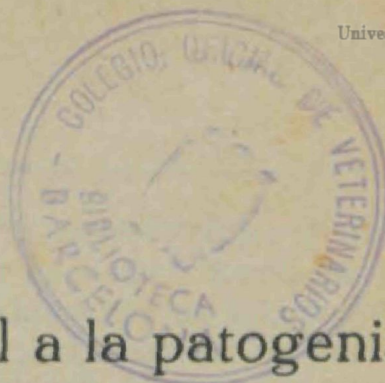
Hombre sensible a los estímulos de su tiempo, terció en el pleito que apasionó a Barcelona, en torno a la vida de Mosén Jacinto Verdagner, en su afán de vindicarlo.

En sus últimos tiempos, dedicó sus actividades a la filosofía, publicando obras de mérito extraordinario, entre las cuales destacan su "Origen del conocimiento. El hambre", "Los orígenes de las representaciones del Espacio táctil" y su "Filosofía Crítica".

Pero, por encima de todas estas producciones, para mi gusto, su "Disciplina mental" es la obra mejor lograda, de la cual se ha dicho "que no se puede leer sin experimentar el escalofrío que producen las cosas verdaderamente geniales".

Este fué el Primer Presidente del Colegio de Veterinarios de Barcelona.

J. V. M.



Contribución experimental a la patogenia de la mamitis gangrenosa de la oveja

PROLOGO

La mayor parte de los trabajos de investigación son realizados basándose en una hipótesis previa, que sirve de guía y de punto de orientación. Las experiencias que se describen en esta pequeña monografía, surgieron de una hipótesis de trabajo, pero no íntegramente imaginativa.

Nuestra hipótesis de que la mamitis gangrenosa de la oveja y de la cabra, es un proceso achacable a la función toxigenésica del estafilococo, se fundamentaba en tres experiencias diversas, y algunas un poco antiguas ya.

1.^a En un foco de mamitis estudiado el año 1932, en colaboración con el compañero José Vilanova, de Agramunt, habíamos observado entre otras cosas, que la inoculación de cultivo vivo, fuera de la glándula mamaria, sólo provoca la lesión normal de un estafilo virulento. Investigaciones de numerosos técnicos, entre ellos el propio Nocard, habían puesto de relieve que sólo la inoculación en la mama en período de actividad, desarrolla el síndrome típico de la mamitis gangrenosa.

2.^a En nuestra labor rutinaria de análisis de productos patológicos, habíamos observado reiteradamente, que la inoculación de cultivos aislados de mamitis de esta naturaleza al palomo, le mata en menos de 24 horas, sin conseguir de las siembras de sangre del corazón la aparición de los cultivos que esperábamos. Solamente se recupera el germen, utilizando como material de siembra una pequeña porción del nódulo necrótico que se encuentra en el sitio de la inoculación (músculos pectorales). Por tanto, no es mucha fantasía pensar que los palomos no mueren de septicemia estafilocócica.

3.^a Durante algunos años nos venimos dedicando a la preparación de toxinas estafilocócicas con destino terapéutico. En este tiempo se nos ocurrió probar si los gérmenes procedentes de mamitis de oveja y cabra eran aptos para obtener buenas toxinas como las que dan las cepas de prestigio internacional como son la Wood, Nelis 72 y otras. Tal como habíamos previsto o sospechado, casi todas las muestras de estafilo de mamitis dan hemotoxina, y especialmente la M-2, cuyos títulos son algunas veces superiores a los alcanzados por las cepas antes citadas.

No teníamos, pues, ninguna duda de que el estafilo de estas mamitis desarrolla una evidente actividad tóxica, que podría explicar el mecanismo de su patogenia.

Nuestra imaginación, por tanto, tiene una parte muy exigua en el desarrollo de este trabajo, ya que se ha limitado a idear un grupo de experiencias que creemos suficientemente demostrativas y que no han podido alcanzar mayor amplitud a causa de las dificultades que las actuales circunstancias presentan a todo trabajo de investigación que requiere gran cantidad de material vivo.

UN POCO DE HISTORIA

Las etapas de la caracterización de la mamitis gangrenosa de la oveja no parecen muy alejadas de nuestros tiempos.

Todos los trabajos que hemos podido consultar, coinciden en atribuir a Arboval, 1823, la primera descripción definitiva de esta morbois. La mejor descripción clínica sería la de Kotelmann, 1836, como asimismo no se puede olvidar un estudio interesante de Rivolta en 1875.

Era preciso la aparición luminosa de los trabajos de Pasteur, para aclarar definitivamente su etiología microbiana. Y así fué. Nocard, uno de los colaboradores más selectos del Maestro, descubre en 1887 el micrococo que fué bautizado con su nombre. Describe su aislamiento, su cultivo y sus características morfológicas. Reproduce la enfermedad inoculando cultivos en la mama. Utiliza como animales de laboratorio y para ensayo de su poder patógeno, el caballo, el buey, el cerdo, el perro, el gato, la gallina, los cobayos y el conejo. Excepto el conejo los demás animales no parecen sufrir mucho a consecuencia de su inoculación.

Más tarde, 1908, Pfeiler comprueba en todos sus puntos las investigaciones de Nocard. Bridé ensaya con éxito la profilaxis a base de emulsiones microbianas.

En nuestro país, García Izcara demostró la existencia de la mamitis en nuestros ganados sin añadir observaciones personales de interés.

Recientemente, Rafael Caldevilla, en un trabajo de divulgación, confirma el criterio sustentado por Nocard, Bridé y Pfeiler, de que la mamitis gangrenosa sólo aparece cuando un traumatismo en el parénquima mamario facilita la colonización del germen específico. Observa además, que las ovejas que crían a sus hijos no enferman en la proporción que lo hacen las sometidas a un ordeño metódico. Supone con lógica, que las manos no siempre acariciantes del pastor, son la causa indirecta de la manifestación gangrenosa.

Y más recientemente, un interesantísimo trabajo de Blanco Loize-

lier perfila la característica hemotóxica de estos microbios. Este trabajo experimental, realizado paralelamente a la mayor parte de nuestra investigación, esfuma aparentemente lo poco que pudiera existir de originalidad en nuestra tarea, pero tiene por otra parte el inapreciable valor de constituir una confirmación de nuestros puntos de vista esenciales. Es un azar nada raro entre los que nos dedicamos a esta clase de actividades.

Para terminar este bosquejo histórico, y por no creer merezca capítulo independiente, nos interesa insinuar que la mamitis gangrenosa de las ovejas y cabras, debe ser una enfermedad que no se conoce o tiene una importancia muy escasa en la mayor parte del mundo. A juzgar por la bibliografía que conocemos, su existencia se acusa en España, Portugal, Francia, Italia, Grecia, Turquía, Egipto y algunas islas del Mediterráneo. Diríase una afección mediterránea. Obras de tanta categoría como el Hutyra y Marek y el Fröhner, no hacen mención de ella. Esto demuestra que no ofrece un interés especial para los técnicos de Centro Europa. Por otra parte, tampoco la literatura americana e inglesa es muy pródiga en trabajos que se relacionen con ella.

No tenemos datos sobre su extensión y pérdidas que ocasiona en nuestro país. Es esta una cuestión de estadística correcta, y sería engañarnos si supusiéramos que las nuestras reflejan la verdad. De todos modos no debe ser despreciable la cifra de perjuicios que ocasiona si tenemos en cuenta la cantidad importante de cepas de este germen que se han aislado en los diferentes laboratorios oficiales y particulares que funcionan en España. Por otra parte, es una enfermedad bien conocida por la mayoría de los veterinarios que actúan en nuestro medio rural.

ETIOLOGÍA

Después del descubrimiento de Nocard, es muy difícil andar con divagaciones acerca de la causa de la mamitis gangrenosa. En todo caso puede discutirse la personalidad del germen y negar se trate de un germen específico. Parece que nos debatimos con un vulgar estafilococo, como ya decía Oreste en su magnífico tratado de enfermedades infecciosas.

¿El síndrome gangrenoso de las mamitis es causado siempre por un estafilococo? De ninguna manera. Nosotros hemos aislado en cultivo puro el *Clostridium histolyticus* y Basset afirma haber encontrado *Clostridium Welchii* (1). Pero esto no tiene valor alguno para negar que el estafilococo, en su función tóxica, sea el causante habitual de las mamitis gangrenosas.

(1) Recientemente, P. Bermejo ha identificado una pasterela como causa exclusiva de un foco de mamitis de este tipo.

Cualquier germen con actividad necrosante puede crear una lesión parecida, y producir una sintomatología semejante.

Lo común en nuestro caso, es que la mamitis gangrenosa de las ovejas y cabras, sea producida por el estafilococo aislado y descrito por Nocard. Todo lo demás son excepciones. Aquí no definimos la enfermedad por el germen causante como en el caso de la tuberculosis sino por la sintomatología y las lesiones, y éstas hemos visto que el 99 por 100 de las veces son ocasionadas exclusivamente por un estafilococo.

Además, este germen cumple el clásico postulado de Koch. Se aísla el germen, se reproduce la enfermedad y de la enfermedad experimental se aísla constantemente el germen inoculado. No creemos se pueda pedir más.

ALGO SOBRE IDENTIFICACIÓN MICROBIANA

Los procedimientos y los métodos para identificar gérmenes patógenos han mejorado profundamente en estos últimos años. De la primitiva orientación morfológica y de las reacciones bioquímicas, hemos pasado al estudio de otras propiedades y funciones, que en el fondo, son las que dan a los microbios su auténtica personalidad.

La microbiología, es todavía una ciencia joven y no contiene doctrinas y dogmas abundantes, con la categoría de hechos clásicos. Es ciencia en período de formación, y por lo tanto no debe asombrar a nadie la comprobación de mudanzas y variación de opiniones.

Y los micrococcos, constituyen el grupo microbiano de identificación más fluctuante. No hay duda que el criterio actual es más lógico, sobre todo si hemos de referirnos a microbios patógenos. Porque nadie puede poner objeciones al procedimiento que para identificar un ser patógeno, estudie sus actividades agresivas en vez de contentarse con averiguar cuáles son los hidratos de carbono que más le apetecen.

En el caso concreto de los estafilococos se han identificado por distintos procedimientos biológicos o químicos, un numeroso grupo de sustancias, que por orden aproximado de antigüedad son las siguientes:

Leucocidina						
Coagulasa						
Fibrinolisisina						
Exotoxinas	<table> <tbody> <tr> <td rowspan="4">}</td> <td>Toxina letal</td> </tr> <tr> <td>Hemotoxina</td> </tr> <tr> <td>Dermonecrottoxina</td> </tr> <tr> <td>Enterotoxina</td> </tr> </tbody> </table>	}	Toxina letal	Hemotoxina	Dermonecrottoxina	Enterotoxina
}	Toxina letal					
	Hemotoxina					
	Dermonecrottoxina					
	Enterotoxina					
Hialuronidasa						
Anticoagulante						
Inactivador de la penicilina						
Inactivador de la sulfonamida						

Estas actividades agresivas y defensivas que ejercen los estafilococos, (y que posiblemente no son todas las que poseen), tienen sin ningún género de duda, mayor importancia que sus propiedades fermentativas.

Ante estos hechos, se han derrumbado las bases de clasificación de estos gérmenes, y volvemos a vivir una era de anarquía en la identificación de los estafilos.

Cada investigador pretende haber encontrado un *test* definitivo para catalogar estos microbios en dos bandos bien diferenciados: los estafilococos patógenos y los estafilococos saprófitos.

Para unos sería, su virulencia para ciertos animales de laboratorio; para otros su agrupación serológica; para otros sus toxinas, y finalmente Burnham S. Walker espera que por la determinación de las coagulasas se podrán clasificar. En este laberinto ya casi nadie se acuerda de los preciosos pigmentos, ni tan siquiera de si la gelatina se licúa o no. Esto no son más que caracteres secundarios de simple valor de curiosidad sistemática.

Imaginamos que lo prudente consiste en huir de dogmatismos y de polarizaciones, y aceptar que los estafilococos patógenos son todos parientes más o menos cercanos, que ejercen esta o aquella función a tenor del ambiente que les rodea y de las dificultades que los organismos parasitados les ofrecen a su metabolismo, clave de su función vital.

Consecuentes con este criterio, nosotros creemos que la identificación de un estafilo debería fundamentarse en un grupo de funciones biológicas que pueden variar en número y en intensidad, según la lesión de donde proceden en virtud de actividades que se verán forzados a desarrollar.

Para nosotros es un caso típico de lo que acabamos de proponer, el hecho de la existencia de tipos de hemolisina que podrían explicarse sin gran repugnancia, teniendo en cuenta el huésped que habitualmente parasitan. Así, los estafilococos procedentes de afecciones animales lisan una especie de glóbulos rojos mientras que los de origen humano producen la lisis de otra especie.

NUESTROS ENSAYOS DE CLASIFICACIÓN

Después de las anteriores consideraciones no es de extrañar que no hayamos sentido un gran entusiasmo por los hidratos de carbono y en consecuencia nos hemos limitado a las pruebas de aquellas actividades microbianas que parecen íntimamente ligadas a las propiedades patógenas de los gérmenes que pretendíamos estudiar.

Hemos trabajado con 17 muestras de estafilos procedentes de mastitis estafilocócicas de cabras y oveja y 15 de origen humano diverso.

N.º	Origen	Pigmento	Gela- tina	Hemolisina		Leche	Bacte- riófago	Reduc- ción metileno	Penici- lina	Coagu- laza	Patogenidad	
				A	B						Palomo	Rata
1	ma	gris	+	+	++	AC	L	++	40	+	+	+
2	ma	amarillo	+	++	++	AC	L	++	43	+	+	+
3	ma	amarillo		+	+	A	L	+	40	+	+	+
4	ma	blanco		+	+	AC	L	+	36	+	+	+
5	ma	amarillo	+	++	++	AC	L	++	38	+	+	+
6	ma	gris		+	+	A	L	++	40	+	+	+
7	ma	gris		+	+	A	L	++	41	+	+	+
8	ma	blanco			+		0	+	35	0		0
9	ma	blanco	+	++	+	AC	L	++	39	+	+	+
10	ma	amarillo	+	+			L	++	44	+	+	+
11	ma	blanco		+		A	L	+	37	+	+	+
12	ma	amarillo	++	+		AC	L	++	40	+	+	+
13	ma	amarillo					0	+	40	+		0
14	ma	amarillo	+	++		AC	L	++	40	+	+	+
15	ma	amarillo					0	+	38	0		0
16	ma	gris	+	++	+	AC	L	+	44	+	+	+
17	Hu	amarillo	+	++		AC	L	++	38	+		+
18	Hu	amarillo	+	++		A	L	++	36	+		+
19	Hu	amarillo	+	++		AC	L	++	40	+		+
20	Hu	amarillo	+	++		AC	L	++	37	+		+
21	Hu	amarillo	0	0		0	0	++	40	0		0
22	Hu	blanco	0	++		A	L	++	38	+		+
23	Hu	amarillo	+	0		0	0	+	36	0		0
24	Hu	amarillo	+	0		0	0	+	42	0		0
25	Hu	amarillo	+	0		0	0	+	36	0		0
26	Hu	blanco	0	0		0	0	+	39	0		0
27	Hu	amarillo	+	0		0	0	0	41	0		0
28	Hu	amarillo	+	0		0	0	+	40	0		0
29	Hu	amarillo	+	++		0	L	++	38	+		+
30	Hu	amarillo	+	++		AC	L	+	40	+		+

Nos interesa hacer constar que varias de las cepas de mamitis gangrenosa son de reciente aislamiento y otras llevan ya bastante tiempo de vida en medios artificiales. Esta observación tiene por objeto salvar las posibles objeciones que puedan hacerse a su actividad inconstante. De todos modos nos consta que recién aisladas eran normalmente patógenas para el palomo. No conocemos más características de su juventud, ya que no eran corrientes las determinaciones actuales. En cambio, es muy posible una degeneración o una contaminación por estafilos banales, por ser este germen extraordinariamente habitual en la flora del aire. En cuanto a la posible degeneración, recuérdese que no es un fenómeno excepcional, ya que se observa frecuentemente en éste y otros gérmenes en su vida en los medios artificiales de cultivo, donde no es preciso desarrollar grandes actividades funcionales para vivir con holgura y sin sobresaltos de factores que puedan inhibir su metabolismo.

Hemos anotado el color del pigmento, que como se ve no es un carácter constante, aunque es indudable una gran mayoría para el dorado gris.

La licuación de la gelatina también es voluble. En cambio, con el bacteriófago que nosotros hemos utilizado, en todas las cepas que se pueden considerar de patogenidad activa, se ha producido una lisis total y permanente en medio líquido.

La hemolisis en placa, ha sido casi constante, predominando en las cepas de origen animal el tipo beta como ha observado también Blanco. La coagulasa ha coincidido sensiblemente con la hemolisina.

La coagulación y acidificación de la leche con púrpura de bromocresol, ha sido ciertamente inconstante.

No tiene valor alguno la reducción del azul de metileno.

Quisimos observar la posible presencia de sustancias inhibidoras de la penicilina, y al efecto hemos determinado el halo negativo, trabajando con cantidad arbitraria de U. O., pero constante para todas las muestras ensayadas. Como puede verse en el cuadro resumen, la sensibilidad de las cepas es completamente variable, pero siempre efectivo el poder inhibidor de la penicilina.

El poder patógeno ha sido ensayado uniformemente en el ratón, único animal del que disponíamos en cantidad suficiente para los numerosos ensayos que hemos tenido que realizar. La muerte del palomo está referida siempre a la fecha de su aislamiento.

CÓMO MATA EL ESTAFILOCOCO

Téngase presente que únicamente nos referimos al ratón, ya que éste ha sido nuestro animal de experiencia.

Los ratones nuevos mueren por dos mecanismos claramente delimitados: por toxina o por septicemia.

Cuando el germen es hipertóxico, le mata en un intervalo de 9 a 24 horas. En este caso suponemos que ha sido por acción de toxina, puesto que la siembra de sangre del corazón da un promedio de 10 gérmenes por c. c.

Por lo común se recogen dos gotas de sangre que sembradas en agar y caldo, corrientemente sólo cultiva uno de los tubos, y cuando éste es el agar, se observa una sola colonia. Esta cifra de gérmenes circulantes es notoriamente escasa y ni tan siquiera corresponde al número inoculado, que sobrepasa los 200 millones, por siembras seriadas sobre placa de Petri.

Cabía sospechar que la muerte fuera ocasionada por la acción tóxica ejercida por los propios gérmenes ante la posibilidad de su lisis brutal por los mecanismos normales de defensa. Algunos investigadores admiten la existencia de endotoxinas letales. Para eliminar esta duda, se realizaron estas experiencias:

1. — Se exaltó una cepa (m-2) hasta conseguir que matara en menos de 24 horas a la dosis de 0'02 c. c. de cultivo en caldo, con lo que el número de gérmenes quedaba realmente disminuído. Conseguida esta exaltación, inoculamos un lote de 6 ratones en estas condiciones, muriendo todos antes de 24 horas y dando las siembras el número habitual de gérmenes citado.

2. — Conocida la eficacia de la penicilina en el tratamiento de las estafilococias, comprobamos previamente la sensibilidad de la cepa m-2, para proceder luego a estas experiencias:

a) Un lote de 10 ratones más 4 testigos, se inoculan así: ratones de reacción; 0'1 c. c. cultivo y cada 3 horas una inyección de 0'1 c. c. de penicilina conteniendo 400 U. O. La dosis de penicilina se repite cinco veces. Es decir, reciben en total 2.000 U. O. Los testigos con 0'1 c. c. del mismo cultivo.

Resultados: Los testigos mueren todos entre las 9 y las 48 horas. Los tratados con penicilina viven a los 15 días, excepto uno que muere a las 24 horas.

b) 6 ratones son inoculados con 0'1 c. c. cultivo m-2 y al mismo tiempo reciben 4.000 U. O. de penicilina en una sola inyección.

c) 6 ratones son inoculados con 0'1 c. c. del mismo cultivo y al mismo tiempo reciben 4.000 U. O. de penicilina emulsionada con excipiente retardador.

d) 4 ratones, testigos, con 0'1 c. c. cultivo.

Resultados: Los testigos son encontrados muertos a las 24 horas. Los restantes, vivos más allá de los 20 días.

Por estas experiencias se demuestra que el número de gérmenes no es un factor esencial en la muerte por acción tóxica, y que la pe-

nicilina es de extraordinaria actividad especialmente en las condiciones de nuestro experimento, y que el tiempo que tarda el organismo en liquidar definitivamente el foco de inoculación no es superior a 4 horas, pues pasado este tiempo ya no existía antibiótico en uno de los lotes de nuestros experimentos citados.

Todos los animales que mueren hasta las 36 horas, como ya hemos dicho, presentan las características de una muerte por la acción tóxica. Blanco dice haber encontrado siempre, como lesión característica, una congestión de las arterrenales. Nosotros hemos visto esta lesión, pero no en todos los casos autopsiados.

En cambio, cuando la vida se prolonga un poco más, los ratones mueren con un cuadro septicémico y las siembras de la sangre del corazón proporcionan incontables colonias.

MÁS PRUEBAS DE ACCIÓN LETAL, POSIBLEMENTE TÓXICA

En nuestros ensayos tipo inmunológico, que más adelante analizaremos, hemos inoculado un grupo de ratones con gérmenes y suero antitóxico. La mayoría sobreviven, pero a los pocos días presentan un absceso subcutáneo en el sitio de la inoculación, que acaba necrosando la piel y produciendo una úlcera de considerable extensión. Por tanto, en aquellos individuos que pudieron neutralizar inmediatamente la función tóxica, el estafilococo sólo produjo la acción necrosante y proteolítica de un ántrax, sin lograr transponer las barreras del foco de inoculación.

Por otra parte, es un concepto indiscutido en los actuales conocimientos de la biología de este germen, que *in vitro* pueden obtenerse sustancias de su cultivo, que inoculadas por vía intravenosa al ratón, cobayo y conejo, producen la muerte en el espacio de tiempo de pocas horas.

En otra experiencia utilizando ratones tratados previamente con anatoxina obtenida con gérmenes de origen humano, hemos registrado estos resultados:

Los 4 ratones testigos mueren antes de las 24 horas, con siembras difícilmente positivas.

Los ratones vacunados con anatoxina, se comportan así:

2 mueren a las 24 horas.

2 mueren a las 60 horas, con evidente cuadro septicémico. Siembras con abundantes colonias.

2 resisten sin la menor perturbación aparente.

En este caso, la inmunidad poco brillante ciertamente, demuestra no obstante que en no despreciable proporción, se había creado una discreta cantidad de antitoxina suficiente para detener la acción letal de los productos tóxicos.

Estos resultados mediocres de inmunidad, no nos han sorprendido, pues coinciden con los obtenidos por todos los investigadores que han trabajado con estafilos.

ENSAYOS DE BACTERIOSTASIA

Hemos realizado pruebas con la penicilina y con diversas sulfonamidas, cuyos resultados resumiremos en este capítulo.

En cuanto a la penicilina, hemos visto ya que no respeta ninguna de las cepas estudiadas. Tanto los ensayos sobre placa buscando el diámetro de su halo de inhibición, como por diluciones en tubos de caldo, la penicilina ha demostrado una actividad manifiestamente grande.

Se ha observado, no obstante, que no todas las cepas han ofrecido la misma sensibilidad, como puede verse por las cifras anotadas en nuestro cuadro resumen. Este hecho lo teníamos por descontado, ya que otros investigadores habían tropezado con él, y la valoración estandard de la penicilina se realiza con una cepa uniforme.

Con relación a los compuestos de sulfonamidas, hemos tenido posibilidad de obtener la sulfonamida base, el sulfothiazol, la sulfoguanidina y la sulfotalidina.

Los ensayos *in vitro*, no han sido discretamente demostrativos, dadas las dificultades de su actuación en medios orgánicos y a la poca difusibilidad que presentan las soluciones colocadas en los cilindros de agar.

Por tanto, y en este aspecto, hemos de confesar nuestro fracaso, y el poco tesón que hemos tenido en profundizar en estos métodos de valoración de sulfonamidas.

En cambio, intentamos comprobar su acción *in vivo*, acuciados por el éxito brillante obtenido con la penicilina y habida cuenta de la pretendida actividad semejante que dicen tienen estas substancias.

Tuvimos que empezar por determinar con exactitud la dosis de tolerancia de estos productos para el ratón.

Como dato inicial, solamente encontramos los proporcionados por Domak, que no alcanzan a la sulfaguanidina ni a la sulfotalidina.

Después de determinar en varios lotes de ratones la dosis de tolerancia, se realizaron ensayos de prevención utilizando como siempre nuestro cultivo m-2, y a la dosis habitual de 0'1 c. c. de cultivo en caldo de 24 horas.

Cada sulfonamida constituyó un lote de 8 ratones con sus respectivos testimonios.

Todos los testigos mueren en su tiempo habitual.

Únicamente se observa una ligera supervivencia en el lote tratado con sulfothiazol. Se salvan 3 de los 8 ratones inoculados.

Es necesario advertir que la inoculación de sulfonamidas ha sido única, en razón de comparar sus efectos con los obtenidos con la penicilina, y porque sabemos que la eliminación de las sulfonamidas es con mucho, considerablemente más lenta que la de la penicilina. Por otra parte, es justo hacer constar que las dosis de penicilina fueron enormes, en consideración al peso del animal, límite al cual no es posible llegar con las sulfonamidas.

UN POCO SOBRE TOXINAS ESTAFILOCÓCICAS

La acción patógena de estos gérmenes, desde hace unos años ha sufrido una casi revolución, con motivo de descubrirse sin el menor titubeo, que son capaces de producir en condiciones apropiadas, un grupo complejo de sustancias tóxicas de sorprendente actividad.

Antes de continuar, creemos interesante la formulación y respuesta a esta pregunta: La toxina estafilocócica, ¿es exotoxina o endotoxina? El hecho de haberse tardado tanto en poner en claro la existencia real y definitiva de toxina estafilocócica, ha sido motivo de discusiones y suspicacias, que parecen totalmente superadas.

En primer término, tenemos unas condiciones de tipo químico y biológicas que caracterizan las exotoxinas. Estas crean anticuerpos, y por la acción del formol pierden su grupo tóxico, conservando sus propiedades antigénicas en su casi totalidad.

Las toxinas que elabora el estafilococo en los medios de cultivo artificiales, reúnen las condiciones que acabamos de exponer.

En esta faceta del metabolismo del estafilococo, podemos ofrecer una sencilla investigación comprobatoria, indirectamente, que hemos realizado con los siguientes elementos:

- A. Toxina obtenida por el método de Nélis.
- B. Lisis producida por el bacteriófago.
- C. Autólisis del germen conseguida introduciendo una emulsión de cultivos en agar, diluidos en suero fisiológico y caldo a partes iguales.

Todos los elementos del ensayo son filtrados por bujía y proceden de la misma cepa del estafilococo, el S. 15 de nuestra colección.

En el primer caso tenemos toxina producida por los procedimientos especiales que luego esquematizaremos.

En B, tenemos una disolución del protoplasma microbiano, obtenido por medio del virus Twort-D'Herelle.

En C, una parecida solución de protoplasma que se produce en algunas cepas, con la emulsión citada y puesta a la estufa durante varios días en tubos cerrados a la lámpara procurando que la capa de aire sea lo más reducida posible.

Por tanto, una toxina y dos hipotéticas soluciones de endotoxina.

La prueba se hace con glóbulos rojos de conejo diluídos, y se mantienen los tubos una hora a 37° y se leen los resultados después de dos horas de permanecer en la nevera:

Dilución	Toxina A.	Toxina (?) B.	Toxina (?) C.
1/10	+ + +	0	+
1/50	+ + +	0	0
1/100	+ + +	0	0
1/200	+ + +	0	0
1/300	+ + +	0	0
1/400	+ +	0	0
1/500	+ +	0	0
1/600	+ +	0	0
1/700	+	0	0

De esta prueba se deduce con claridad que la toxina es un producto de secreción de los estafilococos durante su germinación en medios apropiados. De ser una endotoxina los lisados lógicamente deberían contener substancias hemotóxicas, puesto que están constituidas por la disgregación del protoplasma microbiano y como se ve, su poder en este sentido es prácticamente nulo.

Queda pues bien claro que el estafilococo produce una auténtica exotoxina, cuyas características son las siguientes:

- 1 Es hemotóxica o hemolítica
- 2 Es dermonecrótica
- 3 Es letal.

Pero estas tres funciones de la toxina estafilocócica no parecen individualidades con personalidad independiente. Son más bien manifestaciones diversas de una misma actividad.

Demuestra esta aseveración el hecho de poderse valorar por cualquiera de las técnicas al uso para una de estas funciones.

Hay más pruebas. Saturando una porción de toxina estafilocócica en su función hemolítica, pierde casi todo su poder dermonecrótico y letal. La prueba inversa, como es obvio, no es prácticamente realizable.

La función hemolítica de la toxina, tampoco es única, ya que se conocen bien estudiadas, dos, claramente diferenciadas. En este caso sí que pueden estudiarse separadamente, sin interferencias. La hemolisina alfa, actúa selectivamente sobre glóbulos rojos humanos o de conejo, mientras que la beta, muestra su actividad frente a los glóbulos de cordero.

Recientemente, Ipsen y Rostock han preparado una antitoxina B, como patrón provisional para estudios experimentales, ya que reconocen su poca importancia práctica. Esta visión acaso sea fundada

en la consideración parcial del problema, puesto que si para la inmunología humana su valor es puramente especulativo, no tendría nada de particular que en un futuro no muy lejano, sea preciso concederle la importancia debida a su significación en la terapéutica biológica veterinaria.

LA VALORACIÓN DE LA TOXINA ESTAFILOCÓCICA

Para los investigadores que tienen toda clase de facilidades, es un problema relativamente sencillo: Se maneja según instrucciones detalladas la antitoxina patrón que elabora y reparte el Comité de Higiene de la S. D. N. y todo está resuelto.

Para los que nos desenvolvemos en ciertas latitudes, no siempre es posible obtener sueros patrones. Pero en este mundo, bien o mal, todo se suple con un poco de esfuerzo. Y en nuestro caso nos hemos preparado un suero antitóxico, inoculando un caballo con toxinas preferentemente alfa, y ajustando todas nuestras determinaciones a esta definición internacional, que se utilizó en los momentos de máxima confusión en estos estudios que han revolucionado completamente la biología de los estafilococos, y han impuesto como lógica consecuencia, una revisión total de la sistemática que catalogaba estos gérmenes.

He aquí los postulados fundamentales:

U. M. H. (unidad mínima hemolítica) = a la más pequeña cantidad de toxina que da hemólisis en una hora a 37, utilizando 0'1 c. c. de glóbulos rojos de conejo al 20 por 100, y considerando como hemólisis positiva hasta donde llega el 25 por 100.

La U. M. N. (unidad mínima necrosante) tendría un valor equivalente.

U. A. (unidad antitóxica) = a la más pequeña cantidad de suero que neutraliza 200 U. M. H.

Todo esto, como es natural, y referido a la función hemotóxica, corresponde a hemolisina alfa.

He aquí un esquema de valoración de nuestro suero antitóxico:

Toxina en c. c.	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Suero en c. c.	0'05	0'1	0'15	0'20	0'25	0'30	0'35	0'40	0'45	0'50
				F						

La toxina contiene por c. c. 1.000 U. M. H. El suero tiene pues por c. c. 50 U. A. No es ciertamente un título muy elevado, pero sirve perfectamente para nuestras valoraciones, y constituye una base constante para referir y unificar todas las determinaciones, que si no se ajustan exactamente al patrón internacional, no se apartan de ella en cifras inconstantes.

Valorada una toxina procedente de cepas exclusivas de mamitis

gangrenosa, proporciona resultados del todo concordantes referidos a la hemolisis en glóbulos de conejo.

Toxina en c. c.	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
Suero en c. c.	0'05	0'10	0'15	0'20	0'25	0'30	0'35	0'40	0'45	0'50
			F							

La toxina contiene 800 U. M. H. por c. c. Por la floculación tenemos que corresponde a 7'5 U. cuando el cálculo teórico son 8 U.

Salta con facilidad una objeción a esta prueba: Se trata en ambos casos de neutralización de hemotoxina alfa, o sea en función de glóbulos de conejo, y ya sabemos que la hemolisina beta tiene su anticuerpo específico.

Como esta valoración no nos convence completamente, en cuanto a nuestro propósito de demostrar la identidad antigénica de todos los estafilococos patógenos, he aquí otras pruebas que satisfacen un poco más:

Siguiendo el método preconizado por Hartley y Llewellyn, hemos determinado la dosis test dermo-necrótica. Esta se define así: Es la cantidad de toxina que mezclada con 0'1 unidad antitóxica determina sobre el conejo una necrosis ligera pero perceptible claramente

$$\left(\frac{\text{Lr}}{10} \right)$$

Poseyendo nuestro suero 50 U. A., se diluye al 1/50 y en 0'1 c. c. tenemos precisamente la $\frac{\text{U. A.}}{10}$

Las toxinas utilizadas para esta prueba las llamaremos C y D. C proviene de germen humano y D es elaborada por un germen de mamitis gangrenosa.

Con el fin de unificar las cantidades puestas en reacción, diluyendo la más activa, se han igualado los títulos hemolíticos alfa de ambas toxinas.

Suero al 1/50	0'1	0'1	0'1	0'1	0'1	0'1
Toxina C.	0'025	0'030	0'035	0'040	0'045	0'050
	0	0	0	tr	N	N

$$\text{Dosis test } \frac{\text{Lr}}{10} = 0'040$$

Suero al 1/50	0'1	0'1	0'1	0'1	0'1	0'1
Toxina D.	0'025	0'030	0'035	0'040	0'045	0'050
	0	0	0	tr	N	N

$$\text{Dosis test } \frac{\text{Lr}}{10} = 0'040$$

De estas pruebas se desprende que las toxinas C y D, tienen una

cantidad de necrotoxina equivalente, puesto que la antitoxina retiene y neutraliza volúmenes iguales.

Hemos realizado pruebas semejantes utilizando la dosis *test* hemolítica, pero sus resultados perfectamente lógicos en razón a su valor hemolítico inicial, no aportan argumento alguno para nuestra tesis de la identidad de los estafilococos patógenos.

En cambio, en el caso de la dermatoxina, no ofrece dudas la semejanza funcional de la toxina de origen humano con la de procedencia de la oveja.

La determinación de la dosis letal para el ratón, no ha ofrecido variaciones de importancia en las distintas toxinas ensayadas. En cambio ofrece un cierto interés la prueba de atoxicidad de las mezclas suero y toxina, en las reacciones de floculación.

La inoculación intraperitoneal al ratón, de 0.5 c. c. de los tubos teóricamente neutros por haber aparecido en ellos la floculación inicial, no provoca trastornos de aparente gravedad.

La inoculación de la misma dosis, procedente de tubos hiposaturados o en argot de laboratorio, de tubos de la izquierda, llega a matar si la diferencia entre toxina más antitoxina es notable. En definitiva esto constituye un *test letal*.

Pero no es esto lo que deseamos destacar. Partimos de una antitoxina teóricamente humana y probablemente anti alfa, y si el complejo tóxico de procedencia mamitis gangrenosa no fuera antigénicamente igual, no obtendríamos mezclas neutras con suero más toxina, que por otra parte se ajustan a los valores previamente obtenidos con el método de la determinación hemotóxica.

LA ENTEROTOXINA

Como no tenemos experiencia personal de la biología de la enterotoxina estafilocócica, nos limitaremos a reproducir lo que escribe en una publicación reciente, S. Walker

“La enterotoxina se distingue de las otras exotoxinas por su estabilidad al calor: No se destruye por la exposición a 100° durante treinta minutos, pero se destruye a 100° en dos horas. Su acción tóxica no es destruída por el formol en la concentración y tiempo usados en la preparación del toxoide estafilocócico. Comparada con las otras toxinas tiene menos tendencia a ser absorbida en los filtros. No es antigénica. El mecanismo por el que la enterotoxina estafilocócica produce vómitos, ha sido estudiado por Bayliss, quien coloca su principal sitio de acción en estructuras sensoriales periféricas, particularmente en el intestino delgado. No parece actuar directamente sobre el centro del vómito”.

Después de meditar con un poco de atención sobre este párrafo, se nos ocurren dos consideraciones:

1.^a La enterotoxina, más bien puede clasificarse entre las endotoxinas, ya que se ha establecido entre los inmunólogos que estas sustancias se caracterizan precisamente por su función antigénica y por la propiedad de hacerse atóxicas, por el formaldehído, cuando son exotoxinas. Si admitimos esta especie de dogmatismo, hay que colocar la enterotoxina en el grupo de las endotoxinas.

2.^a Con alguna frecuencia se ha acusado a los quesos de oveja y cabra, de producir intoxicaciones, que se han atribuido a otros microbios, entre ellos el coli.

Conociendo la existencia de un veneno de actividad sobre las "estructuras sensoriales periféricas del intestino delgado", que elabora el estafilococo, no creemos sea una suposición temeraria pensar que las leches procedentes de ovejas con mamitis incipiente, podrían ser la causa de las intoxicaciones registradas por el consumo de queso de oveja y cabra.

Esta suposición sugiere también el señor Blanco Loizelier.

LA OBTENCIÓN DE TOXINA ESTAFILOCÓCICA

En el curso de este trabajo se ha puesto en evidencia, en distintas ocasiones, que todo lo que se ha modificado en los conceptos imperantes sobre la biología de los estafilos, se debe al descubrimiento de la toxina.

Por tanto, bien merece que le dediquemos unas pocas cuartillas.

Hasta que se dió con el CO_2 como elemento fundamental para obtener del estafilo que secretara su toxina, todo eran suposiciones y balbuceos. Ahora ya se trabaja con el estafilo, en busca de su toxina, con la misma sencillez que obtenemos regulares toxinas diftéricas.

Todo consiste en crear una atmósfera apropiada a los cultivos, cuyo óptimo parece ser 20 por 100 de CO_2 y 80 por 100 de O.

Para ello, cada investigador utiliza su dispositivo especial, en relación con los medios de que dispone. El nuestro es de suma sencillez: Consiste en dos tubos, uno de CO_2 y otro de O, comunicando con un frasco con agua hasta la mitad. La entrada de los gases se hace debajo de la superficie del agua, con el fin de contar las burbujas que se desprenden. Se regula la salida de forma que por cada burbuja de CO_2 , salgan 5 de O. Por otro tubo se pasa esta mezcla a los frascos de Fernbach estableciendo una corriente permanente, que se controla a la salida haciendo pasar el tubo final por otro frasco con agua.

Si lo fundamental radica en la atmósfera de carbónico, no es menos cierto que tiene una gran importancia el medio de cultivo.

Se puede utilizar el cultivo en superficie con agar semi sólido de Burnet, que da buenas toxinas con abundante leucocidina, pero lo más corriente para obtener grandes cantidades es el uso de medios líquidos que contengan diversos aminoácidos.

Gladstone, Ramón y colaboradores, recomiendan un medio constituido por los siguientes elementos:

Hidrolizado de gelatina, tirosina, cistina, triptófano, fosfato bi-potásico, citrato sódico, glucosa, sulfato de magnesia, ácido nicotínico y aneurina.

Este hecho de la composición que el estafilo demanda para desarrollar su actividad toxigenésica, apoya nuestro criterio de selección especial de la mama, en función lactógena, para crear el foco de gangrena.

Véase la composición de aminoácidos contenidos en la caseína, según Porcher:

Glicina, alanina, valina, leucina, isileucina, prolina, fenilalanina, tirosina, ácido glutámico, ácido aspártico, ácido hidroxidoglutámico, serina, hidroxiprolina, triptófano, cistina, arginina, histidina, lisina, ácido diaminotrihidroxidodecanoico, ácido aminado conteniendo azufre, amoniaco, fósforo y azufre.

Además, la leche contiene, entre otras vitaminas, la aneurina del complejo B.

Y para que no le falte nada, tiene una discreta cantidad de CO₂ con todo lo cual vemos que en este medio encuentra el estafilococo patógeno todo aquello que necesita para producir sus substancias agresivas de primer orden.

Estos datos creemos son suficientes para explicar que únicamente colonizando en el tejido mamario en actividad, produce su función tóxica y consiguientemente necrosante.

Hemos visto ya, que la inoculación de cultivos virulentos de este germen en otras zonas que no sean la mama, no produce una lesión de carácter hipertóxico. Es decir, no se reproduce el síndrome de gangrena, limitándose a un absceso corriente.

Para terminar este ligero bosquejo de la producción de toxina, réstanos decir que estos cultivos, convenientemente valorados, se convierten en anatoxinas de gran aplicación en la terapéutica biológica de las estafilococias humanas.

Se pueden valorar también, una vez formulados y comprobada su inocuidad por métodos rigurosos, valiéndose de un suero patrón o de uno arbitrario como el nuestro, por la técnica de la floculación, como se hace corrientemente con las anatoxinas diftéricas.

Desde luego las toxinas frescas floculan mejor y más rápidamente que las anatoxinas o toxinas viejas.

DIVAGACIÓN INMUNOLÓGICA

Como postulado previo, nos interesa hacer constar que las investigaciones que hemos realizado en torno al estafilo de la mamitis gangrenosa de la oveja no han tenido el menor propósito de demostrar una tesis de inmunidad.

Como ya dijimos en el prólogo, nuestro intento se limita a explicarnos un mecanismo patogénico.

Pero no obstante esta salvedad, en el curso de nuestros trabajos hemos pensado repetidas veces en los fenómenos inmunológicos, que cada día ofrecen nuevas perspectivas a la luz de los pequeños detalles que se van conociendo con relación a la biología microbiana.

Ante una enfermedad de origen microbiano lo primero que se plantea el inmunólogo es el comportamiento *in vivo* del germen ante el cual se enfrenta.

Existen casos de fácil solución, porque la experiencia ha puesto a los hechos una claridad meridiana. Ante la toxi-infección por el bacilo de Klebs-Löeffer, ya no tenemos dudas. Sabemos que neutralizando la toxina cerramos el paso al mecanismo patogénico y sentimos una casi despreocupación por la placa diftérica, porque confiamos que el organismo, libre de la agresión tóxica, se liberará fácilmente del foco inicial.

Una cosa semejante nos ocurre con relación al tétanos. Inmediatamente luchamos contra la toxina, para luego con más calma, dedicarnos a limpiar el foco productor.

En el mal rojo, sabemos también que podemos disponer de un magnífico suero bactericida que aplicado oportunamente devolverá a su normalidad el organismo seriamente perturbado.

Pero, en el caso de las infecciones estafilocócicas, el problema es de una complejidad que asusta, y deja un poco malparadas todas las teorías de inmunidad que pretenden demostraciones globales y con pretensión de dogma.

Si analizamos las estafilococias humanas, sin prejuicios de escuela, tendremos de confesar que sabemos muy poco de cómo ataca el germen y cómo se defiende el organismo.

Existen individuos en los cuales fracasa toda técnica inmunológica; vacunas, autovacunas, anatoxinas, suero-anti, bacteriófago, auto-hemoterapia, etc.

Y lo curioso del caso, es que mirando el problema de una manera simplista, parece que creando algo que destruya sencillamente el germen, o mejor, no permitiendo su colonización, el proceso debería vencerse, puesto que todas las funciones agresivas del estafilococo no son más que consecuencias de su metabolismo. No hay duda de que este razonamiento es una pura perogrullada. Pero lo triste es que no se

cumple en la práctica con la facilidad que el técnico espera en sus intervenciones con los productos biológicos.

Ha sido preciso el descubrimiento de un antibiótico tan maravilloso como la penicilina, para darnos cuenta de que efectivamente el organismo es capaz de depurarse de estafilos si se le proporciona un arma que anule o inhiba el metabolismo del germen, sin crearle otras complicaciones en algún grupo de células con misiones delicadas.

Esta es la verdad actual con relación al hombre y el estafilococo.

Pero, las cosas no pasan exactamente igual en la oveja y el estafilococo cultivado en su glándula mamaria en plena actividad funcional. Por lo menos una dilatada experiencia clínica en nuestro país y en Francia, han demostrado que la vacunación preventiva de las ovejas antes del parto, produce éxitos indudables y satisfactorios.

Estos hechos de la práctica en el campo, parecen en aparente contradicción con nuestros trabajos experimentales realizados en el ratón.

En este animal las cosas han ocurrido exactamente como en el hombre. La penicilina es el único elemento que actuó con definitiva brillantez.

Pero si meditamos las cosas con un poco de espíritu crítico, veremos que los hechos no pueden superponerse en absoluto, por lo menos en lo tocante a los resultados de inmunidad.

Efectivamente, si tenemos en cuenta la contaminación masiva que constituye la inoculación experimental, nos daremos cuenta de que difícilmente en la práctica se dará el caso de que un magullamiento del parénquima mamario sea invadido de súbito por una cifra de microbios equivalente a los 200 millones.

En la oveja, la infección se realiza por un pequeño número de gérmenes y en un medio de cultivo óptimo para realizar sus complejas actividades, y si no encuentra anticuerpos específicos desarrolla su característica perturbación gangrenosa.

Pero si se trata de una oveja previamente vacunada, tropieza con anticuerpos sobrados para inhibir su reproducción y anular su posible función necrosante. No se olvide que por la leche se eliminan con facilidad la mayoría de anticuerpos. Este es a nuestro entender el argumento que apoya la eficacia de la vacunación.

Por otra parte, hemos visto en las experiencias que hemos descrito anteriormente, que la vacunación con gérmenes muertos por el calor ha dado resultados mejores que la anatoxina y el suero-anti, a pesar de la brutal cifra de gérmenes inoculados.

A este respecto de cosas inmunológicas, creemos interesante reseñar que los ratones inoculados con 0'1 de cultivo y tratados con penicilina, que lo soportan sin el menor trastorno aparente, no quedan vacunados.

Todos los ratones supervivientes de nuestras pruebas con penicilina, han sido inoculados nuevamente con la misma dosis mortal a los 15 días, y el 90 por 100 han muerto entre las 12 y 48 horas. Esta comprobación no constituye en buena lógica una sorpresa desconcertante. Sabemos o por lo menos creemos saber, que para conseguir una respuesta inmunitaria, es preciso el aporte de una buena cantidad de antígeno o bien necesitamos crear un proceso morboso sub-clínico, que en ambos casos no son más que formas diversas de proporcionar al organismo materiales con los que elaborar los anticuerpos específicos.

Y en el caso concreto de nuestras experiencias, es probable que la cantidad de antígeno inoculado sea insuficiente o bien la penicilina le modifica de forma que no sea apto para constituir un buen antígeno. Pero, de lo que no puede dudarse, es de que no produce trastorno alguno que haga pensar en enfermedad inaparente creadora de ulterior estado de resistencia.

Y ya en plan de teorizar, séanos permitido plantear más incógnitas en la biología de los estafilococos.

¿No podría atribuirse la facilidad de inmunización de la oveja con emulsiones muertas, en comparación de lo que ocurre en el hombre, a factores de orden constitucional? Porque lo cierto es que en el hombre, las lesiones atribuidas al estafilo raramente llegan a tipos de gangrena alarmante, y sólo se hacen temibles por su posibilidad de producir septicemias.

Tampoco es demasiado ilógico pensar que la localización, en el caso de la mamitis de la oveja, condiciona la patogenia con indiscutible personalidad, gracias a su medio ambiente.

INTERPRETACIÓN PATOGENICA

Después de las consideraciones que acompañan a los trabajos que hemos realizado, con el fin de poner un poco de orden en la biología del estafilococo, no presenta grandes dificultades establecer una proposición de patogenia.

Hemos visto que el estafilococo que ordinariamente se aísla en la mamitis gangrenosa y que reproduce la enfermedad, es un germen cuya característica más destacada consiste en la formación de toxinas de compleja actividad agresiva.

Hemos visto que el estafilococo, requiere para producir sus venenos, unas condiciones físicas y químicas en su medio, que se encuentran inmejorables en la leche.

Por tanto, el estafilococo al establecerse en el tejido mamario, crea un foco de producción de activas toxinas. ¿Qué pruebas tenemos de ello? A nuestro entender varias. Desde que Nocard describió magistralmente la afección, se sabe que el germen sólo se aísla con se-

guridad de siembras de tejido mamario. Es decir, se trata de una infección estrictamente localizada, y que no obstante produce la muerte en una proporción considerable, sin crear estados septicémicos que podrían justificar este desenlace.

Luego hay que admitir que en la mama convertida en cultivo de estafilococos, se elabora algo que al pasar a la sangre puede matar.

Cuando se describió la mamitis gangrenosa, podía opinarse que la muerte obedecía a la absorción de las ptomaínas y de otras sustancias procedentes de los tejidos mortificados. Hoy esta suposición no puede sostenerse porque, entre otros, Nélis ha demostrado que la toxina estafilocócica provoca la degeneración del miocardio, trastorno suficiente para ocasionar la muerte.

Y como ya no se puede poner en duda la actividad tóxica de los estafilococos procedentes de la mamitis gangrenosa de la oveja, puede afirmarse que en este proceso, la muerte es consecuencia de los venenos que se elaboran en el tejido mamario.

La mamitis gangrenosa de la oveja, mata por toxemia.

Es verdad que, para una demostración al abrigo de toda duda, se debiera comprobar que los filtrados de mama enferma son tóxicos para los animales de experimentación.

Pero si no poseemos pruebas absolutamente directas, tenemos sin embargo, argumentos indirectos de peso considerable.

Observando cortes histológicos de mama con el síndrome que analizamos, se ve que la estructura normal del tejido glandular ha desaparecido casi completamente. Es difícil encontrar una zona con alvéolos intactos. En todos los campos domina una invasión de células histiocitarias, leucocitos, gran proliferación conjuntiva y sobre todo gran cantidad de células en distintas fases de necrosis. La imagen, según dicen los histo-patólogos, coincide con un proceso tóxico, y si sabemos que el estafilo sabe elaborar toxinas, ¿por qué no admitir que éste sea el causante?

La sospecha de acción fundamentalmente tóxica, también se deduce de los casos de necrosis estricta, o dicho más claramente, de aquellos en que la enfermedad se resuelve con el desprendimiento de la mama que fué presa del estafilococo.

Para matar, la mamitis gangrenosa necesita que sus venenos pasen a la circulación general en proporciones considerables para provocar, entre otros trastornos, la degeneración del miocardio. Pero puede darse el caso que el propio proceso de necrosis obstruya el paso de la toxina por anular la permeabilidad de los endotelios de los capilares venosos. Es una imagen gráfica de esta suposición, la caída de una glándula por *gangrena seca*, quedando a la vista, en forma de colgajos, una red casi normal del sistema circulatorio. No es arries-

gado pensar que los endotelios capilares pueden ser heridos y tapo- narse, cuando todavía no pasó cantidad suficiente de toxina para oca- sionar la muerte.

Nos parece tan lógica esta suposición, que creemos podría inten- tarse un sencillo tratamiento quirúrgico para resolver la vida de las ovejas enfermas, a base de dejarlas sin ubres, naturalmente.

Queremos referirnos a la ligadura de la arteria mamaria, en cuan- to se confirme la gangrena de la glándula. Con ello evitaríamos el paso de toxinas a la sangre y se aceleraría la necrosis por falta de riego, localizando de una manera bien simple la lesión.

Por último, tenemos otro argumento para pensar en la toxemia, que nos lo proporciona la mamitis estafilocócica de la vaca. En estos animales, las mamitis son bastante bien conocidas, en razón a las pérdidas económicas que suponen, y se sabe que los estreptococos (que parecen más fieros), prácticamente, jamás producen trastornos que puedan comprometer la vida de la vaca.

Y no obstante las mamitis, cuya causa es un estafilococo, son ex- traordinariamente graves y los casos de muerte llegan a porcentajes de consideración. ¿Septicemia? ¿Toxemia? Desde luego no conocemos trabajos confirmatorios de lo que ocurre, pero en un caso que hemos tenido ocasión de estudiar, las siembras de diversos órganos no han dado cultivos positivos, y sí se obtuvieron claramente de la leche y de porciones de glándula mamaria... Y los estafilos aislados presen- tan las mismas características de toxicidad que los de mamitis gan- grenosa de la oveja.

¿Constituyen los estafilos de la mamitis de la oveja una variedad dentro del grupo de los estafilococos patógenos? En principio nosotros nos inclinamos a creer que en todo caso no serían más que adapta- ciones a un medio, exaltando en él sus propiedades tóxicas. Abonan este criterio, dos hechos de un valor no despreciable. Uno de ellos es la realidad de que los estafilos de mamitis poseen mayor aptitud que los humanos para producir hemolisina beta. El otro, más significati- vo acaso, está representado por la dificultad de reproducir en la cabra, con gérmenes de oveja, la gangrena clásica, pues se reduce a un foco discreto que se esfacela sin mayores consecuencias.

Para aclarar este detalle, podría hacerse una experiencia que nos hace mucha ilusión, pero que hoy por hoy, no está al alcance de nuestras posibilidades. Inocular un grupo de ovejas con estafilococos toxígenos de origen humano y ver si se reproducía la enfermedad, al primer intento o bien después de pasos sucesivos con miras a una exaltación de especie.

Con esto quedaría el problema sin resquicios, donde apalancar con suspicacias, respecto a la unidad de virulencia. Todos los demás elementos de diferenciación que podemos manejar, son de una mani-

fiesta endeblez, para intentar una separación neta, como puede verse en el cuadro resumen que acompañamos.

Y en cuanto a la especificidad serológica intentada por Julianelle, Weighard, Peragallo y Blanco, entre otros, tampoco es definitiva. Con este procedimiento se separan claramente dos grandes grupos: los patógenos y los saprófitos. Pero querer afinar a base de matices de unidad reaccional, con el propósito de nuevas agrupaciones, nos parece excesiva filigrana, que por otra parte no se presta a muchos optimismos, puesto que se observan resultados de paradoja que ayudan muy poco para sostener un criterio tajante.

De todos modos, como no somos aficionados a conclusiones categóricas en cuestiones de biología, consignamos estos hechos, con todas las reservas que merece un problema que bien puede sufrir modificaciones a la luz de posibles descubrimientos que aclaren definitivamente el comportamiento de este germen, que cada día vamos conociendo mejor.

Como final de este capítulo, debemos exponer una duda que no hemos podido desentrañar. ¿Por qué la mamitis gangrenosa de la oveja no se presenta con aires de enfermedad contagiosa?

Todos estamos conformes en que se trata de una afección microbiana, como también lo estamos en que el contagio es prácticamente desconocido.

Parece necesario la inoculación masiva experimental, o bien ha de producirse una pequeña zona de mortificación en el tejido mamario, para que la infección se desarrolle. Y esto es un poco obscuro porque hemos visto que la glándula mamaria en plena actividad funcional, ofrece un magnífico medio de cultivo para que el estafilo desarrolle su poder tóxico.

Y sin embargo no ocurre así. Acaso las pequeñas contaminaciones naturales sean neutralizadas por el poder ligeramente bactericida que tiene la leche natural, y posiblemente sea preciso un poco de mortificación mecánica para implantarse el germen con posibilidades de no ser desalojado. La experiencia clínica abona este punto de vista que desde luego no formulamos más que como sugestión sin compromiso.

SINTOMATOLOGÍA

Si aceptamos nuestra hipótesis patogénica, los síntomas no pueden ser más claros ni más fáciles de interpretar.

La enfermedad comienza con una mamitis aguda que congestiona el órgano de una manera alarmante. Este se vuelve azulado y edematoso, extendiéndose el edema por las regiones vecinas.

El animal acusa fiebre alta, inapetencia y debilidad que se acen-

túa rápidamente cuando la muerte será su fin. Esta acontece, en los casos sobreagudos a las 24 horas.

Cuando la intoxicación obstruye la circulación de retorno, y por tanto cesa la absorción de venenos, el animal se puede salvar, perdiendo por gangrena la región afectada. Este final se puede pronosticar cuando la mama se endurece considerablemente y el edema se limita, ya que en este caso, es casi seguro que el foco queda sin riego sanguíneo, con lo cual se agota el medio de cultivo y también la posibilidad de transmitir nuevas cantidades de toxina a la circulación general con el riesgo consiguiente para la integridad del miocardio.

PROFILAXIS Y TRATAMIENTO

En nuestro país y en Francia, gozan de indiscutible prestigio las vacunaciones preventivas a base de emulsiones específicas muertas por el calor o por el formol.

Se tratarán las ovejas amenazadas, dos meses antes de la paridera. La inoculación debe practicarse todos los años.

Bridé aconseja preparar vacunas sensibilizadas, que producen menos reacción, y magníficos resultados.

En cuanto al tratamiento curativo, nos parece que poca cosa puede hacerse, si exceptuamos nuestra idea puramente teórica de proceder a la ligadura de la arteria mamaria.

Es una enfermedad de curso tan rápido que posiblemente no conseguiríamos nada con un buen suero antitóxico.

Es probable que la penicilina, aplicada en los primeros momentos, diera buenos resultados, dada su actividad en los ensayos experimentales que hemos reseñado.

De todos modos creemos que lo importante y más barato, consistirá siempre en prevenir, sin esperar un tratamiento curativo que no siempre puede llegar oportunamente.

CONCLUSIONES

1.ª La mamitis gangrenosa de la oveja es una morbilidad provocada por un estafilococo tóxico.

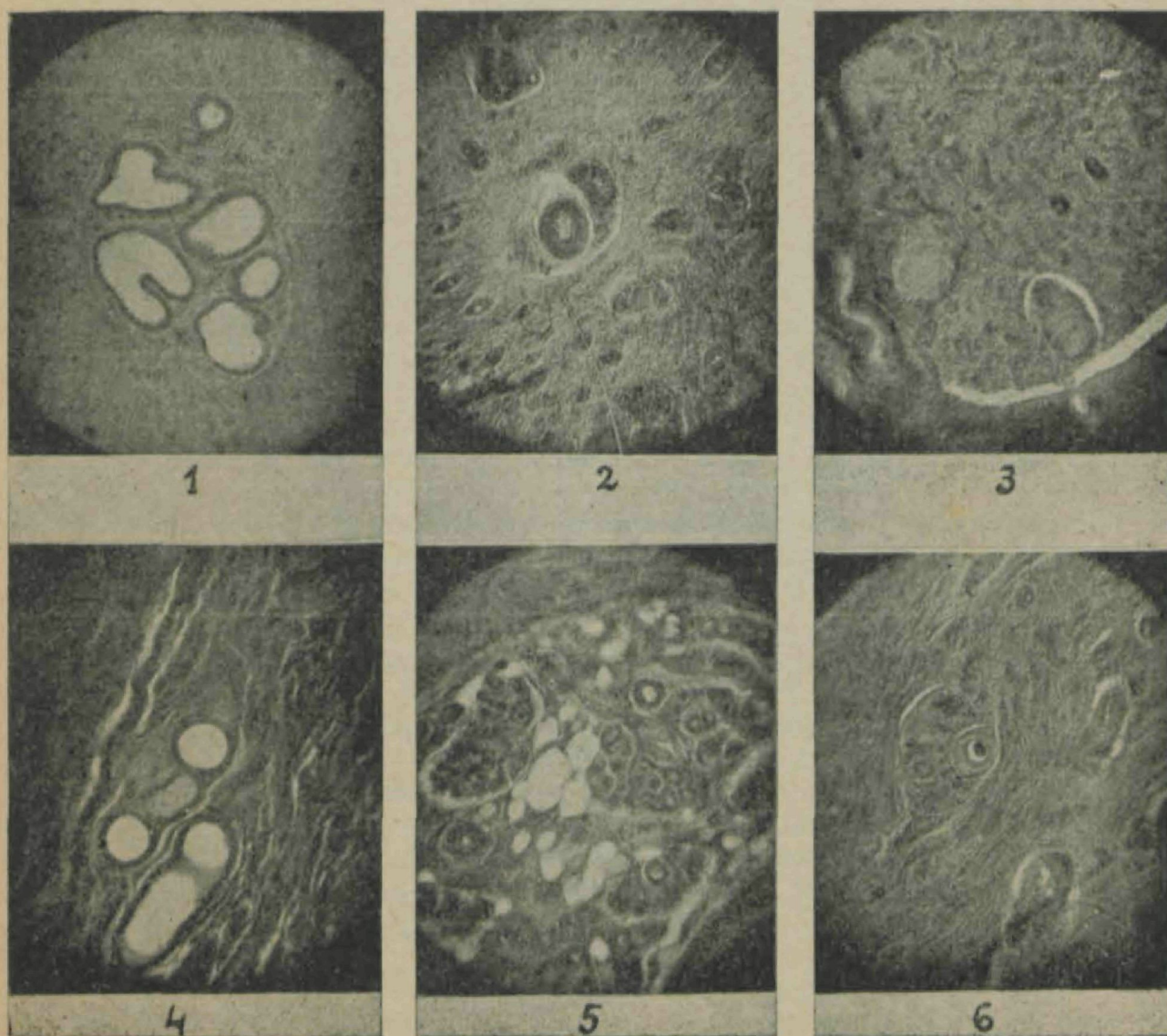
2.ª Constituye una enfermedad infecciosa no contagiosa.

3.ª Toda la sintomatología parece se puede atribuir a la función tóxica del germen.

4.^a Los animales mueren a consecuencia del paso de esta toxina al torrente circulatorio, sin provocar la septicemia.

5.^a No existen pruebas definitivas para poder afirmar que el germen aislado y descubierto por Nocard, constituye un microbio específico de la gangrena de las ovejas.

6.^a La caracterización del germen debe realizarse utilizando diversas pruebas de función agresiva, especialmente sus propiedades tóxicas y sus reacciones serológicas.



Imágenes histológicas de una mama atacada de gangrena por estafilocócico toxígeno.

1. Porción de tejido normal. 2, 3, 4, 5 y 6. Diversos aspectos de la destrucción y neoformación provocada por la tóxico-infección.

BIBLIOGRAFIA

- M. Nocard.* — Sociedad central de Medicina Veterinaria, mayo 1887.
- Willy Pfeiler.* — Uber die gangranose Enterentzündung bei Schafen. "Zeits. fur. Infek. paras. Kras. und Hygiene der Haustiere". 1908, p. 132.
- Basset.* — Quelques maladies infectieuses. Paris, 1946.
- Bride.* — Sobre la vacunación de la oveja y cabra contra la mamitis gangrenosa. "Rev. de H. y S. P.", 1913, p. 242.
- Julicelle & Weighord.* — The immunological specificity of staphylococci. The occurrence of serological types. "Jour. of Exp. Med.", 1935, 62-II-21.
- López.* — Estudio de un micrococo patógeno para la cabra y el cabrito. "Rev. de H. y S. P.", 1917, p. 180.
- Forgot.* — Traité des maladies infectieuses et contagieuses d'origine microbienne des animaux domestiques. Paris 1935.
- R. Caldevilla Carnicero.* — Mamitis gangrenosa de las ovejas. "Boletin de divulgación Ganadera", 1945. N.º 5.
- P. N. Panton & F. C. O. Valentine.* — Staphylococcal toxin. "Lancet", 5 marzo 1932, p. 506.
- H. J. Parish & W. H. M. Clark.* — Staphylococcal toxin and antitoxin. "Journ. of Pat. & Bact". T. XXXV, marzo, 1932, p. 251.
- J. Schwartz.* — Variations du pH dans les milieux de culture destinés a la production de toxine staphylococcique. "C. R. Soc. Biol". t. CXX, 1935, p. 1085.
- G. Ramon.* — Sur la production de la toxine et de l'anatoxine staphylococciques. "C. R. Soc. Biol", t. CXXI, p. 375, 1936.
- G. Romon & R. Richow.* — Sur le dosage de la toxine staphylococcique. "C. R. Soc. Biol", t. CXXI, p. 379, 1936.
- F. C. O. Valentine.* — Further observation on the role of the toxin in staphylococcal infection. "The Lancet". N.º 5871, 1936.
- P. Nelis.* — Contribution à l'étude de la toxine staphylococcique. "C. R. Soc. Biol", t. CXIII, p. 7, 1933.
- P. Nelis.* — Nouveau milieu de culture pour la production de la toxine staphylococcique. "C. R. Soc. Biol", t. CXXI, N.º 8, p. 725, 1936.
- G. F. Leonard & A. Holin.* — A Method for the production of staphylococcus toxin and toxoid. "The Jour. of Immun", septiembre, 1935.
- John Ipsen & O. Rostock.* — Un étalon provisoire d'antitoxine staphylococcique B. "Bulletin de l'organisation d'Hygiene", Vol. XII.
- Italo Peragallo.* — Técnica Microbiológica. Milano, 1945.
- P. Hartley & Margaret Llewellyn Smith.* — Etalon international proposé pour le sérum antistaphylococcique. "Bull. trim. de l'Organisation D'Hygiène", Genève, 1935, pp. 67.
- A. Zironi.* — Sur la pathogénie des infections staphylococciques. "Rev. d'Immunologie", 1938, T. IV. p. 130.
- A. Delaunay.* — L'immunité antistaphylococcique conférée par l'anatoxine spécifique et son mécanisme. "Rev. d'Immunologie", 1938, t. IV, p. 65.
- P. Mercier.* — L'anatoxine staphylococcique et le traitement des affections a staphylocoques. Vigot Frères, Paris.

- B. S. Walker.* — Estafilocagulasa y sustancias afines. "Bull. of the New England Medical Center", V. VIII, N.º 2, p. 54.
- Renzo Davoli.* — Tossine, Anatossine, Antitossine. Firenze 1946.
- T. V. Simitch & S. Mrchevitch.* — L'immunité locale et la vaccination antistaphylococcique par voie cutané. "Rev. d'Immunologie", t. III, p. 463, 1937.
- C. Gernes & G. Panneguin.* — L'intradermoreaction a la toxine et a l'anatoxine staphylococciques, comme test de l'immunité et de l'allergie antistaphylococciques chez l'homme. "Rev. d'Imm.", t. III, p. 97, 1937.
- G. Ramon, R. Richow & M. Djourichitch.* — Sur le mecanisme de l'immunité conferé par l'anatoxine staphylococcique a l'égard de l'infection par le staphylococque virulent. Demonstration experimentale. "Rev. d'Imm.", t. II, 1936.
- G. Ramon, R. Richow & M. Djourichitch.* — Sur l'immunité antistaphylococcique naturelle chez le lapin et chez le cobaye. Etude experimentale. "Rev. d'Imm.", t. II, p. 375, 1936.
- G. Ramon, A. Bocage, R. Richow & P. Mercier.* — Etude serologique et clinique de l'immunité dans l'anatoxitherapie staphylococcique. Resultés, Consequences. "Rev. d'Imm.", t. II, p. 551, 1936.
- P. Nelis.* — L'immunité antitoxique staphylococcique (etude préliminaire). "Rev. d'Imm.", t. I, p. 152, 1935.
- P. Hartley & M. Llewellyn Smith.* — Appendice: Memorandum sur un étalon international de sèrum antistaphylococcique. "Bull. trim. de l'organisation d'Hygiene". Genève, 1935. N.º spécial, p. 110.
- G. Ramon, R. Richow & J. Descaseaux.* — L'antitoxine staphylococcique d'origine naturelle, chez l'home et chez différentes espèces animales. "Revue d'immunologie", 1935, t. 1, p. 401.
- P. Nelis.* — Action cardiaque de la toxine staphylococcique. "C. R. Soc. Biol", 113-7, 1933.
- Burnet.* — The exotoxins of staphylococcal Toxin. "Jour. Pat. Bact.", 32-717, 1929.
- Rochaix & Tapernoux.* — Le lait et ses derivés. Paris, 1942.
- Maurice Defrance.* — L'anatoxine staphylococcique purifié. Paris 1938.
- Topley & Wilson.* — Bacteriologia e Inmunidad. 1942.
- Blanco Loizelier.* — Contribución al estudio de los estafilococos de origen animal y en particular del germen de la mamitis gangrenosa de la oveja. "Ciencia Veterinaria", enero, 1947.
- C. Diaz Ungria.* — Estafilococias en los animales domésticos. "Ciencia Veterinaria", N.º 34, 1946.
- Juan Talavera.* — Bacteriología de los procesos estafilocócicos. "Ciencia Veterinaria", N.º 6, 1941.
- R. Debrá, H. Bonnet & S. Thiefry.* — Toxine, antitoxine, anatoxine staphylococciques. "Annales de Médecine", T. 42, octubre, 1937.





Universitat Autònoma de Barcelona
UAB
Facultat de Veterinària
Biblioteca
Servei de Biblioteques

Reg. 1500624257
Sig. CHM/34

Ref. 12500

