

Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

Año XIX

BOGOTÁ, 1950

Nº 100

Diagnóstico Bacteriológico de la Brucella Abortus

Por

José Joaquín Bohórquez C. - D. M. V. *

Objeto del trabajo:

Teniendo en cuenta la creciente propagación del aborto infeccioso en los bovinos, y el diagnóstico del mismo hecho siempre por la prueba de seroaglutinación, fué nuestro propósito hacerlo igualmente de manera bacteriológica, por el aislamiento y clasificación de la Brucella. A la vez ver la posible diferencia por título de aglutinación en el suero sanguíneo de curies inoculados con una cepa de Br. abortus (virulenta) y con la Cepa 19 (avirulenta), y otras que en un momento dado, pudieran prestarse para la identificación de las cepas de Br. abortus.

Movidos por este interés, llevamos a cabo el presente trabajo, teniendo en cuenta los puntos vistos anteriormente.

Historia:

La Brucellosis en el ganado bovino, es una enfermedad que viene presentándose en Colombia desde hace varios años, y se ha propagado paulatinamente de la Sabana de Bogotá, donde originalmente se diagnosticó, a otras secciones del país,

* Director del Instituto de Investigación y Diagnóstico Veterinaria, del Ministerio de Agricultura y Ganadería. — Trabajo llevado a cabo en el Instituto en 1949.

hasta tal punto que hoy tan sólo se encuentran libres de la infección, los departamentos de Antioquia, Atlántico, Bolívar, Chocó, Huila y Magdalena y las Intendencias y Comisarias, si excluimos el Meta y el Putumayo.

Ultimamente parece igualmente haberse presentado un pequeño foco, en el Departamento de Bolívar.

Por los datos encontrados en los libros del Instituto de Investigación y Diagnóstico, vemos que el primer diagnóstico de la enfermedad se hizo en 1928 (junio 10), (1) en el entonces Laboratorio de Enfermedades Infecciosas, dependencia que era de la Facultad de Veterinaria. Este diagnóstico fué hecho por medio de la prueba serológica, o sea por la aglutinación de Bang, sistema que se ha venido empleando desde entonces. Encontramos sin embargo, según otras fuentes, que el aislamiento y clasificación de su agente causal, la Brucella abortus, se había hecho ya en el año anterior, y al respecto el Dr. José J. Escobar, (2), dice: "En el año de 1927 se habla en Colombia, por primera vez, de la presencia del aborto epizoótico. En el Instituto Nacional de Higiene "Samper Martínez", siendo su Director el doctor César Uribe Piedrahita, me toca intervenir como ayudante suyo, para hacer en Colombia, los primeros cultivos de Brucella abortus o bacilo de Bang, partiendo para aislarlo, de placentas procedentes de vaças que habían abortado".

Según datos personales del Dr. Roberto Plata Guerrero, (3) él aisló igualmente la Brucella, en su Laboratorio "Prógán",

en dos ocasiones, en 1944 y 1945. En cuanto al aislamiento de la *Brucella abortus*, en la especie animal, estos son los únicos datos de que disponemos. Es posible que haya sido obtenida por otros investigadores, pero al respecto no se conoce ninguna publicación.

En la especie humana, el germen ha sido aislado mediante hemocultivo, por el Dr. Escobar (2) sobre 260 hemocultivos, en 28 de ellos y según el mismo autor, dos de esas cepas fueron de *Brucella suis*, siendo el primer dato que sobre aislamiento de esta especie del género, se tiene en el país.

En cuanto a casos de Brucellosis en lo humano, tenemos entre otros los citados por Cléves (4) que sobre 58 obreros del Matadero Municipal de Bogotá, examina-

dos, encontró 18 positivos, y 5 casos más citados por el profesor Patiño Camargo, (5) diagnósticos basados siempre en la prueba de seroaglutinación.

Con el objeto de aislar y clasificar la *Brucella abortus*, se habían llevado a cabo en años anteriores algunos trabajos, tanto en el antiguo laboratorio de Enfermedades Infecciosas, de la entonces Escuela de Veterinaria, como en el actual Instituto de Investigación y Diagnóstico, dependencia de la División Nacional de Ganadería, en distintas épocas y sobre diversos materiales, de acuerdo con la relación expuesta a continuación, tomada de los libros de registro de entrada de materiales, (6) pero siempre con resultados negativos.

CUADRO I

Fecha de recibo	Nº de orden	Nº de Reg.	Clase de material.	Procedencia	Resultado
Nov. 16/28	1	?	Feto bovino	El Salitre	Negativo
Mar. 12/30	2	?	Sangre toro	Bogotá	Negativo
Abr. 20/32	3	?	Feto bovino	Bogotá	Negativo
Nov. 28/32	4	146	Feto bovino	?	Negativo
Mar. 18/33	5	146	Feto bovino	Madrid	Negativo
Mar. 29/33	6	169	Mat. de un feto	?	Mat. mu alterado
Nov. 2/33	7	608	Feto de Llama	Usme	Sin resultado
1934: No aparece registrado ningún material para búsqueda de Br abortus.					
1935: No aparece registrado ningún material para búsqueda de Br abortus.					
1936: No aparece registrado ningún material para búsqueda de Br abortus.					
Ag. 25/37	8	3941	Cuajar feto B.	Engativá	Bi de Bang?
Feb. 3/38	9	4183	Vénula sangre	Fontibón	Negativo
Feb. 3/38	10	4184	Vénula sangre Nº 2	Fontibón	Negativo
1939: No aparece registrado ningún material para búsqueda de Br abortus.					
1940: No aparece registrado ningún material para búsqueda de Br abortus.					
1941: No aparece registrado ningún material para búsqueda de Br abortus.					
May. 23/42	11	7883	Mat. purulento del útero de una vaca.	Bosa	Sin resultado
Oct. 19/43	12	255	Hueso bovino	Roncesvalles	Staphylococcus
1944: No aparece registrado ningún material para búsqueda de Br abortus.					
Enr. 24/45	13	24	Feto bovino	Sopó	Negativo
Feb. 15/45	14	224	Hueso Bov. (feto)	Usaquén	Negativo
Mar. 10/45	15	349	Feto bovino	Bogotá	Negativo

Fecha de recibo	Nº de orden	Nº de Reg.	Clase de material.	Procedencia	Resultado
May. 4/45	16	550	Higado ternero	Suba	Staph aureus
Jul. 6/45	17	799	Feto bovino	Mosquera	Negativo
Jul. 15/46	18	765	Vísceras bovino	Bogotá	Negativo. otros gérmenes.
Agt. 5/46	19	876	Hueso bovino	Rosario	Negativo. otros gérmenes.
Sep. 28/46	20	1085	Feto de oveja	Soacha	Negativo
Abr. 29/47	21	303	Feto bovino	Chía	Negativo
Jun. 27/47	22	504	Feto bovino	Chía	Sin resultado.
Dic. 18/47	23	1251	Secreción vaginal	Toluviejo	Psed. aeruginosa.
Dic 23/47	24	1260	Sangre bovino	Soacha	Sin resultado
Nov. 4/48	25	1277	Feto bovino	Chía	E. coli

Entre los materiales anteriores se verá que hay algunos impropios para el diagnóstico de la Brucella, como son los huesos, pero los transcribimos, pues fueron enviados para tal fin y seguramente trabajados con tal objeto. Los resultados se refieren naturalmente a los cultivos e inoculaciones, sin tener en cuenta para nada la prueba de aglutinación, por

ejemplo en el caso de las sangres.

Durante el año de 1949, han sido sometidos a examen varios materiales, con el objeto de diagnosticar en ellos la Brucellosis abortus, de los cuales damos a continuación su relación, con los resultados obtenidos en cada uno, tomados de los protocolos de trabajo del autor. (7)

CUADRO II

Fecha recibo	Nº de orden	Nº de Reg.	Clase de Material	Procedencia	Resultado
1949					
Feb. 15	1	422	Tapón cuello uterino vaca con metritis.	Madrid	Cor. pyogenes Strep. Staph.
Feb. 15	2	423	Tapón cuello uterino vaca con metritis.	Madrid	Cor. pyogenes Streptococcus.
Feb. 15	3	424	Tapón cuello uterino vaca con metritis.	Madrid	Corynebacterium Strep. - E. coli.
Feb. 15	4	425	Leche bovino Nº 1 Tít. aglt. 1:400	Bogotá	Negativo a Br.
Feb. 15	5	426	Leche bovino Nº 2 Tít. Aglt. 1:400	Bogotá	Negativo a Br.
Feb. 15	6	427	Leche bovino Nº 3 Tít. aglt. 1:400	Bogotá	Negativo a Br.
Feb. 15	7	428	Leche bovino Nº 4 Tít. aglt. 1:400	Bogotá	Negativo a Br.
Feb. 15	8	429	Leche bovino Nº 5 Tít. aglt. 1:400	Bogotá	Negativo a Br.
Feb. 16	9	450	Feto bovino (*)	Bogotá	Negativo a Br.

(*) Los frotis originales de este feto revelaron gérmenes que morfológicamente corresponden a *Vibrio foetus*.

Fecha recibo 1949	Nº de orden	Nº de Reg.	Clase de Material	Procedencia	Resultado
Feb. 22	10	510	Feto bovino	Usaquén	Brucella Abortus
Abr. 21	11	816	Placenta bovino	Usaquén	Negativo a Br.
Jul. 8	12	1376	Fragmento feto B.	Cali	Negativo a Br.
Jul. 27	13	1639	Feto bovino N ^o 1.	Usaquén	Negativo a Br.
Jul. 27	14	1640	Feto bovino N ^o 2	Usaquén	Brucella Abortus
Sep. 2	15	1895	Feto bovino	Bogotá	Brucella Abortus

Según el cuadro anterior, vemos que sobre un total de 15 materiales sometidos a examen, durante el año de 1949, para la búsqueda de *Brucella abortus*, ésta fué aislada en tres casos, de fetos bovinos, con un resultado negativo en el resto, teniendo por tanto un porcentaje del 20%.

Materiales y Métodos seguidos

El procedimiento seguido para el aislamiento y luego clasificación de la *Brucella*, fué en general el mismo para todos los casos y por tanto nos concretaremos a referir el primero de ellos, en que se obtuvo un diagnóstico bacteriológico positivo, o sea el material consignado con el número de registro, 510.

El 22 de febrero de 1949, se recibió en el Instituto un feto bovino, de unos 6 meses de gestación, procedente de Usaquén, "Tibabitá", remitido por el doctor Francisco Virviescas, con el objeto de investigar *Brucella abortus*.

Antecedentes

La vaca que tuvo este aborto, "Española", fué vacunada cuando novilla, con vacuna *Brucella abortus* Cepa 19, contra el aborto infeccioso. La reacción de aglutinación de dicha vaca, después del aborto fué marcadamente positiva (1 x 400), quedando el interrogante en este caso, si tal título de aglutinación correspondía a reacción vacunal o a una infección por *Brucella abortus* virulenta, interrogante absuelto a través de este trabajo y que veremos claramente en las conclusiones.

Autopsia del feto

El feto estaba parcialmente pelisado, a la autopsia tan sólo reveló ligera enteritis del delgado, con un contenido estomacal de consistencia mucosa y color amarillento. Los riñones con hemorragias difuentes y los pulmones congestionados. Los demás órganos aparentemente normales. Revelaba unos 6 meses de gestación.

Cultivos e Inoculaciones

En primer lugar se hizo un frotis del contenido estomacal (cuajar) del feto, que fué coloreado con Gram y reveló bacilos finos, cortos, en general aislados, que no toman el Gram (Gram negativos), al parecer se trata de un germen en estado puro.

Por otra parte se procedió a hacer cultivos, de manera especial del contenido del cuajar, en caldo triptosado, preparado de acuerdo con la fórmula descrita por Huddleson, (8) gelosa cristal-violeta (1 x 1.000.000), gelosa hígado, gelosa papa y gelosa simple, lo mismo que en caldo dextrosado con indicador de Andrade y campana fermentómetro (Durham). Los medios así sembrados se pusieron dentro de un desecador, al cual una vez sellado se extrajo el aire por medio de bomba de vacío y luego se reemplazó el mismo por CO₂, en tal forma que quedara una tensión final del 10% de dicho gas, y se llevó a la estufa a 37.5°C.

Se hicieron igualmente cultivos en aerobiosis, del mismo contenido estomacal y sangre del corazón, en caldo simple, caldo dextrosado, caldo Tarozzi y gelosa sangre, los cuales fueron negati-

vos a gérmenes patógenos, al cabo de una semana de observación.

Finalmente, teniendo en cuenta que "el curí es el animal más satisfactorio para determinar la patogenicidad de cepas de *Brucella* y descubrir la presencia de *Brucella* en tejidos animales, excreciones y secreciones", se procedió a inocular dos de estos animales, a los cuales se tomó previamente sangre e hizo la prueba de aglutinación con resultado negativo. Se inoculó al N° 1 con 1 cc. del contenido del cuajar, por vía subcutánea y al N° 2 con 1 cc. del mismo contenido, por vía intraperitoneal.

Resultado de los cultivos

En los cultivos originales en atmósfera de CO₂, no se observa crecimiento bien manifiesto hasta el quinto día, que se aprecia así; en gelosa simple: barniz muy tenue, apenas visible, transparente, más o menos brillante, incoloro.

En gelosa cristal violeta: barniz muy tenue formado por colonias puntiformes, brillantes, más o menos transparentes, incoloras, apreciables únicamente donde el inóculo estuvo más concentrado, al comienzo de la estría, cultivo en general muy pobre. Al cabo de ocho días, tal barniz va tomando una coloración violeta, al principio ligera, que se hace oscura con el tiempo, pero sin aumentar la cantidad de cultivo.

En gelosa papa: barniz semejante al de la gelosa simple, pero más abundante y con un ligero tinte amarillento.

En caldo dextrosado: enturbiamiento uniforme ligero, sin ningún sedimento apreciable, velo o anillo, sin producción de ácido ni gas.

Hecho un frotis a cada uno de los medios anteriores, en todos ellos se encontró el mismo germen: bacilos cortos, Gram negativos, de morfología muy uniforme, sin tendencia a agruparse y que entre lámina y laminilla revelan ser inmóviles.

En el caldo triptosado: enturbiamiento uniforme, muy ligero, sin sedimento, velo o película.

Del cultivo original en el caldo triptosado, se procedió a pasar a medios sólidos de clasificación, siempre en atmósfera de CO₂, con una tensión del 10%. Se sembró al efecto en Gelosa-cristal-violeta, Gelosa-fushina y Gelosa-thionina. A los cuatro días se observaron las cajas sembradas notándose cultivo tan solo en la gelosa-fuschina: colonias pequeñas brillantes, transparentes, incoloras, circulares, lisas. Con el tiempo, seis días, aumentan de tamaño, son ligeramente convexas, continúan con la superficie lisa y toman una coloración rosada, tornándose semitransparentes hacia el centro, con los bordes incoloros y transparentes, su diámetro es de 1 a 2 mm.

El frotis de una de estas colonias coloreado con Gram, muestra bacilos finos de una micra en promedio, muy uniformes en cuanto a tamaño y tinción, Gram negativos e inmóviles.

Resultado de las inoculaciones

El 3 de marzo, o sea 9 días después de la inoculación, se practicó una sangría a los curies para llevar a cabo la prueba de la aglutinación con el suero sanguíneo, habiéndose obtenido un resultado positivo en los dos animales (Curí N° 1: 1 x 200, Curí N° 2: 1 x 400).

El 14 de marzo, se quiso practicar una nueva sangría, en el Curí N° 1, antes de llegar la aguja al corazón, yendo en la dirección de este órgano, al aspirar con la jeringa se obtuvo un líquido claro, seroso, incoloro, en cantidad de 1 cc. más o menos, con el cual se decidió practicar directamente la prueba de aglutinación, sin recurrir a la sangre del corazón. El resultado con dicho líquido pleural fué positivo al 1 x 400.

Viendo la gran positividad de la reacción a este título, se procedió a hacer diluciones con suero negativo, en proporción del 1 x 15, según lo recomendado por el Bureau of Animal Industry, (10) para buscar el título más alto de aglutinación, con un resultado de 1 x 1.600. En vista de estos resultados, y a pesar de no haber observado ningún síntoma o

lesión especial en los curies, se procedió al sacrificio de uno de ellos, el N^o 2, tres semanas después de la inoculación.

Autopsia

Las lesiones que más llamaron la atención fueron: bazo considerablemente hipertrofiado (longitud 3,8 cts. y anchura máxima 1,6 cts., siendo lo normal en animales del mismo peso —350 gramos— de 2,5 x 1,4 cts. El peso del bazo fué de 1,700 grs., siendo lo normal 0,800 grs.), en su superficie se apreciaron varios puntos pequeños blanquecinos (¿focos supurativos?). Las glándulas suprarrenales están aumentadas de tamaño y con algunas petequias. El hígado con una que otra manchita blancuzca, muy pequeñas y especialmente sobre su cara visceral. Pulmones enfisematosos, con abundantes petequias. Ligera cantidad de líquido seroso-claro-incoloro en las cavidades abdominal y torácica. Los demás órganos se encuentran aparentemente normales, lo mismo que las articulaciones.

Se hacen frotis del bazo, pulmones y sangre del corazón, que se colorean por el método de Gram. El del bazo muestra gérmenes Gram negativos, bacilares, pequeños, aislados, mas o menos abundantes; en el pulmón gérmenes muy semejantes a los hallados en el bazo, pero muy escasos. En el frotis de sangre del corazón no se aprecia germen alguno.

Se hacen cultivos del bazo, pulmón y sangre del corazón, en gelosa-cristal-violeta (1 x 1.000.000), gelosa-thionina (1 x 100.000) y gelosa-fuschina (1 x 100.000), lo mismo que en caldo dextrosado, en atmósfera de CO₂ al 10%.

A los cuatro días se observan los cultivos con el siguiente resultado. Cultivos de sangre del corazón, negativos en todos los medios sembrados. Del pulmón no hay cultivo en el agar-thionina, ni la gelosa-cristal-violeta y muy contadas colonias en la gelosa-fuschina (12 colonias en una caja de Petri). Para el bazo: en gelosa-fuschina, colonias circulares, pequeñas, más o menos de 1 mm. de diámetro, de bordes netos, superficie lisa,

ligeramente convexas, brillantes, transparentes e incoloras. Dichas colonias se van tornando rosadas con el tiempo. Se encuentran repartidas en toda la superficie de la caja. Al frotis de una de estas colonias, se aprecian bacilos cococides, de alrededor de una micra de longitud, Gram negativos, rectos, de extremos ligeramente redondeados, aislados, de una uniformidad absolutamente semejante a los frotis de *Brucella abortus* Cepa 19, en estado liso (S), una colonia emulsionada en agua destilada, entre lámina y laminilla y observada con objetivo a seco, revela que tales gérmenes son inmóviles.

En gelosa-thionina, no se aprecia cultivo, y en gelosa-cristal-violeta, es apenas perceptible. En el caldo dextrosado muy ligero enturbiamiento, uniforme, sin sedimento, velo o collarate y sin producción de ácido o gas.

En cuanto al Curí N^o 1, se le practicó otra sangría el 24 de marzo, o sea un mes después de la inoculación, llevando la aglutinación hasta el título final, el cual fué de 1 x 3.200; este animal murió al día siguiente de la sangría, a consecuencia de la misma. Practicada la autopsia se hallaron lesiones semejantes a las descritas para el N^o 2, especialmente del bazo e hígado. Se hicieron cultivos únicamente del bazo, en los medios vistos anteriormente con resultados iguales a los observados para los cultivos del bazo del Curí N^o 2.

Por los datos obtenidos hasta este punto, tanto por las inoculaciones con el material original, por los cultivos, título de aglutinación en el suero sanguíneo de los curies inoculados, y por los cultivos practicados a la autopsia de los mismos curies sacrificados, se puede pensar de manera bastante segura, que se trata de una cepa virulenta de *Br. abortus*.

Por otra parte vemos bien claro, confirmados los postulados de Koch, ya que aislamos un germen en cultivo puro, del contenido estomacal de un feto bovino que una vez clasificado correspondió a una *Br. abortus*, el cual inoculado a curí,

animal plenamente susceptible al gérmen, produce en él aglutininas, demostrables por la prueba de aglutinación y señal evidente de infección. A la utopsia de dichos curies, las lesiones halladas son propias de la Brucellosis en esta especie animal y finalmente tenemos que de su organismo, más concretamente del bazo, se recobra un gérmen que morfológicamente corresponde al microorganismo aislado del feto bovino, *Brucella abortus*.

Parte Experimental

En este punto del trabajo se procedió así, para continuar el mismo: a) **Inoculaciones:** Escogencia de 10 curies sanos, con reacción negativa a la prueba de aglutinación, fluctuando un peso de 320 a 360 gramos, divididos en dos grupos de a cinco cada uno. En el primer grupo se tomaron los Curies Nos. 1 y 3 y se inocularon con 1 cc. del cultivo en caldo triptosado, de la cepa recién aislada (Nº 510), por vía subcutánea. Los Nos. 6 y 8, se inocularon con el mismo cultivo, en la misma cantidad, pero por vía intraperitoneal. Al Nº 5, no se le practi-

có ninguna inoculación, se dejó en contacto con los anteriores, como testigo.

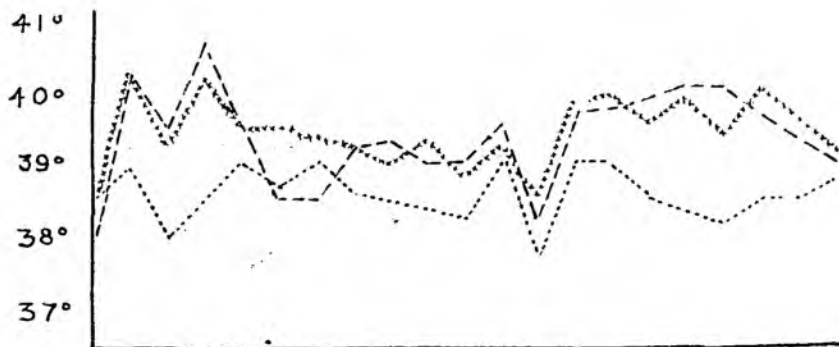
Con el segundo grupo, se procedió en la misma forma, pero reemplazando el inóculo, por un cultivo en caldo simple de 48 horas, de *Brucella abortus* Cepa 19 (BAI), por pase de gelosa papa, o sea una cepa reconocida como avirulenta, ya que es la empleada en la preparación de la vacuna Cepa 19. Se inocularon los curies Nos. 2 y 4 por vía subcutánea y los Nos. 7 y 9, por la intraperitoneal, el Nº 10 como testigo.

Desde el día siguiente a la inoculación se tomó temperatura a cada uno de los curies, por el término de tres semanas, de acuerdo con las gráficas adjuntas (I a IV), las cuales muestran claramente que no existe prácticamente ninguna diferencia apreciable en la temperatura de los animales inoculados con la cepa virulenta, de los inoculados con la Cepa 19, o los testigos, no inoculados, que permanecieron en contacto con los inoculados, y por tanto no dá ninguna ilustración que se preste para la diferenciación del *Br. abortus* virulenta y *Br. abortus* Cepa 19, por lo menos en este término de tiempo.

INSTITUTO DE INVESTIGACION Y DIAGNOSTICO

GRAFICA I

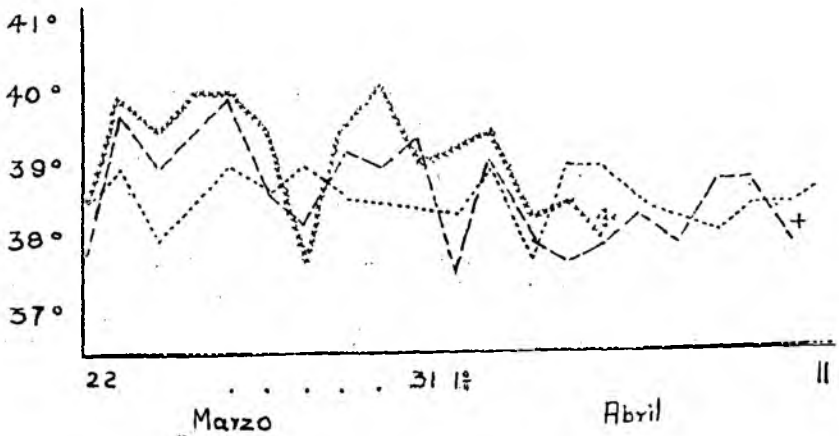
Curvas térmicas de Curies inoculados con Cepa virulenta de *Br. Abortus* Nº 510. — Curí Nº 1 x x x x x; *Br. abortus* Cepa 19. — Curí Nº 2: — — — —, inoculados por vía subcutánea y el testigo Nº 5 · · · · ·, sin ninguna inoculación.



INSTITUTO DE INVESTIGACION Y DIAGNOSTICO

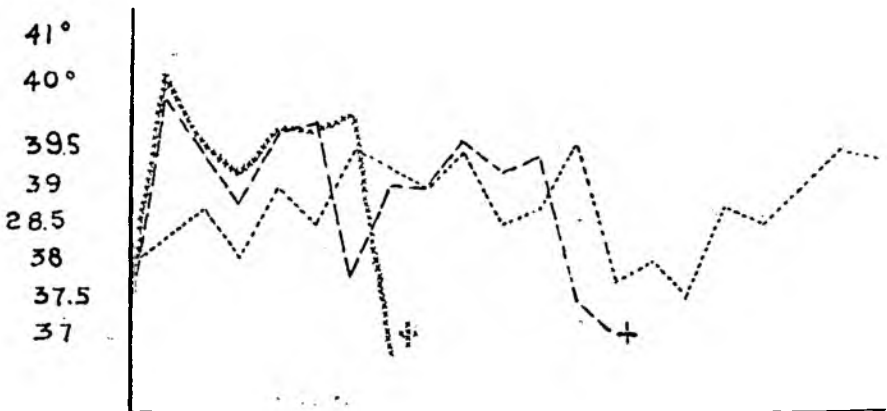
GRAFICA II

Curvas térmicas de Curies inoculados con Cepa virulenta de Br. abortus N° 510. Curí N° 3 x x x x x; Br. abortus Cepa 19. Curí N° 4 - - - - -, inoculados por *via subcutánea*, y el testigo Curí N° 5 - - - - -, sin ninguno inoculación.



GRAFICA III

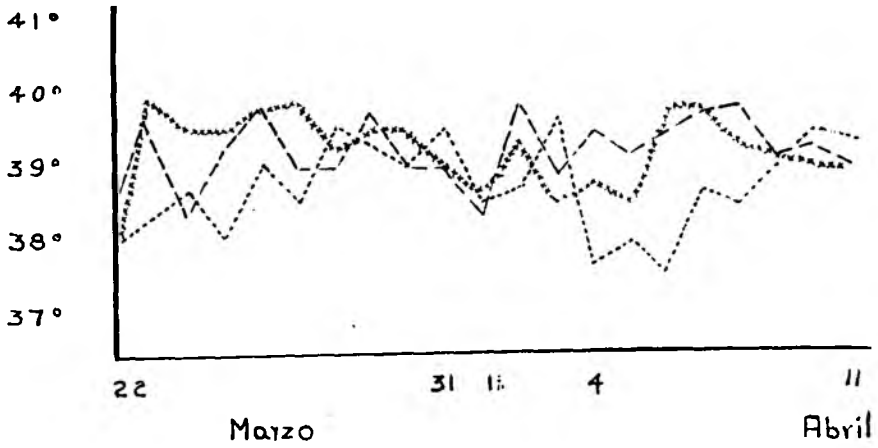
Curvas térmicas de curies inoculados con cepa virulenta de Br. abortus 510. Curí número 6 x x x x x; Brucella abortus Cepa 19. Curí 7 - - - - -, inoculados por *via intraperitoneal*, y el testigo N° 10 - - - - -, sin ninguno inoculación.



INSTITUTO DE INVESTIGACION Y DIAGNOSTICO

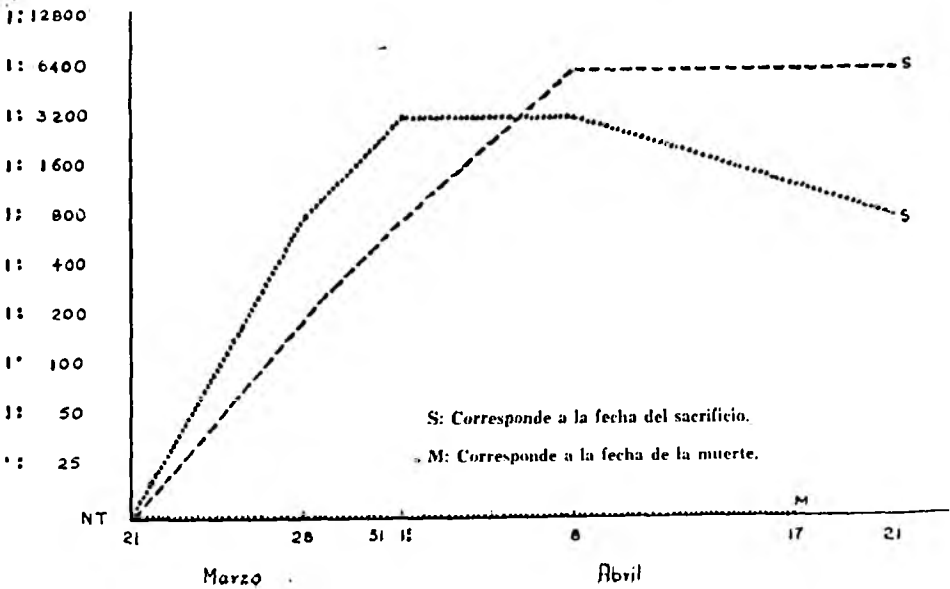
GRAFICA IV

Curvas térmicas de curies inoculados con cepa virulenta de Br. abortus 510. Curi Nº 8 x x x x x; Br. abortus Cepa 19, Curi Nº 9 - - - - -, inoculados por *via intraperitoneal*, y el testigo Nº 10 - - - - -, sin ninguna inoculación.



GRAFICA V

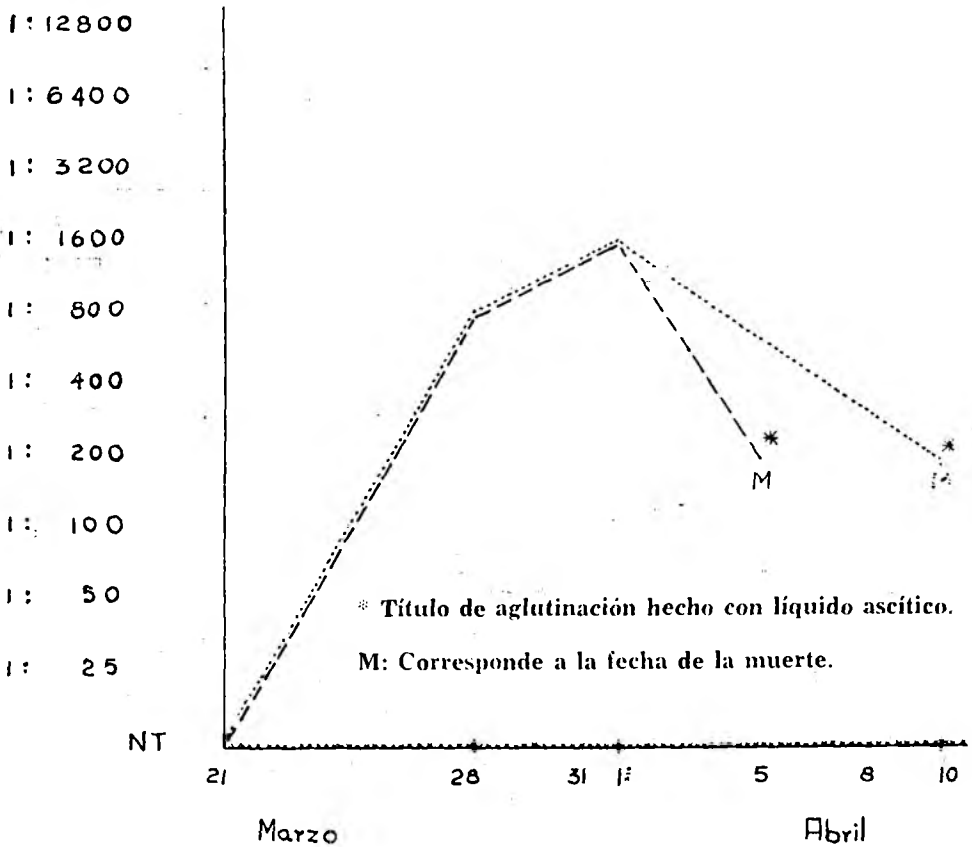
Título de aglutinación en el suero sanguíneo de Curies inoculados con Br. abortus Cepa Nº 510. Curi Nº 1 - - - - - y Br. abortus Cepa 19, Curi Nº 2 - - - - -, los dos por *via subcutánea*. Curi Nº 5 x x x x x testigo.



INSTITUTO DE INVESTIGACION Y DIAGNOSTICO

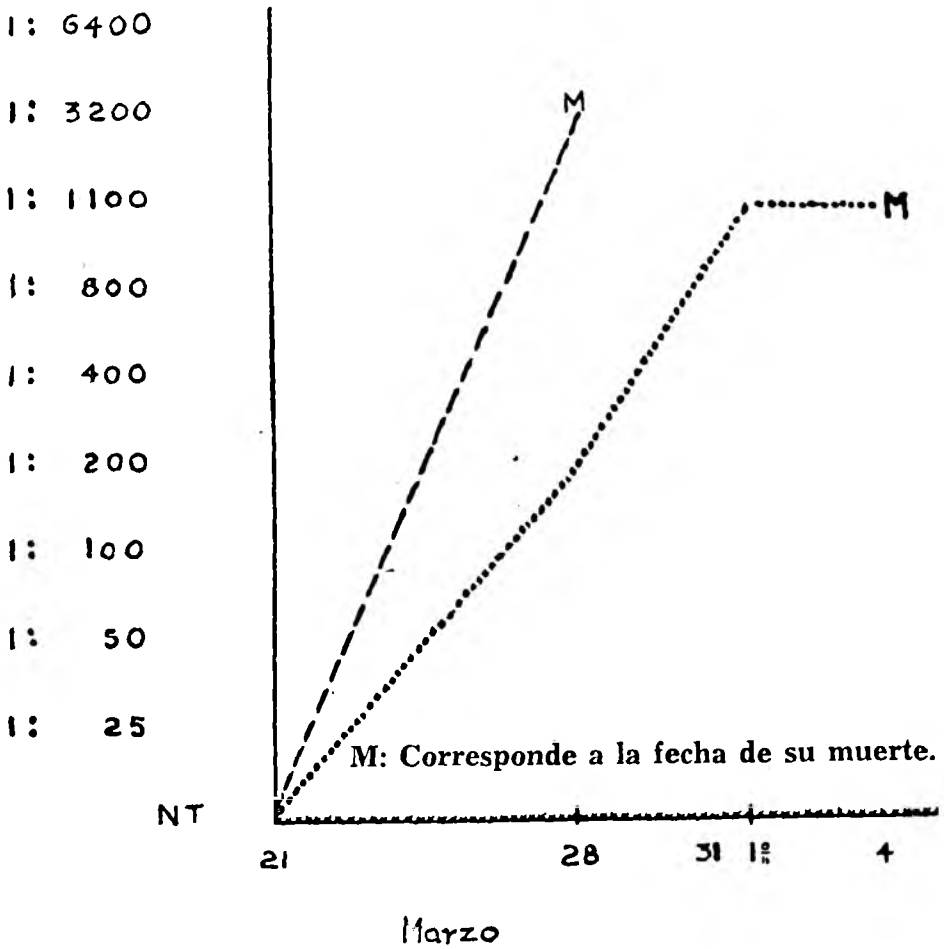
GRAFICA VI

Título de aglutinación en el suero sanguíneo de Curies inoculados con Br. abortus Cepa N. 510. Curí N° 3 - - - - - y Br. abortus Cepa 19. Curí N° 4 - - - - -, los dos por vía subcutánea. Curí N° 5 x x x x x testigo.



INSTITUTO DE INVESTIGACION Y DIAGNOSTICO
 GRAFICA VII

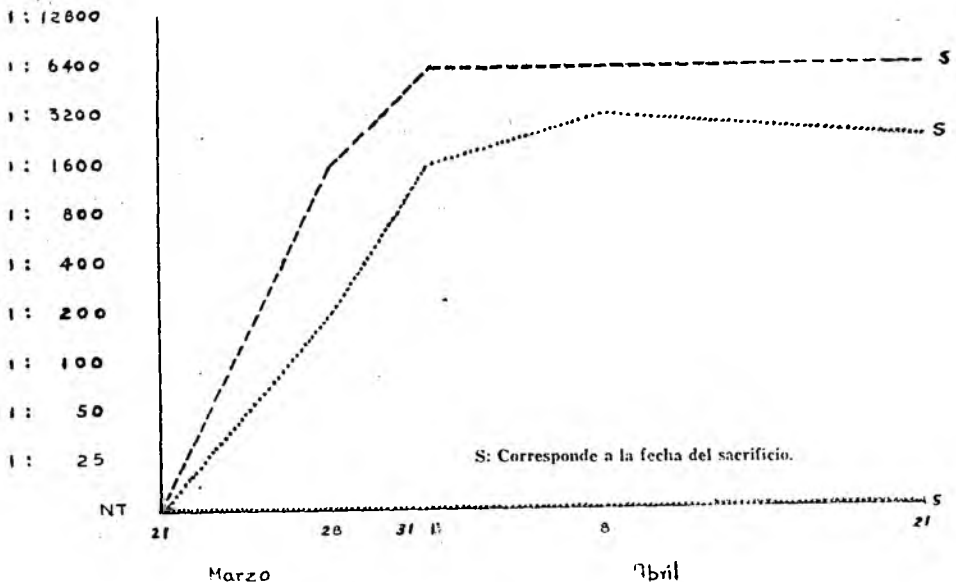
Título de aglutinación en el suero sanguíneo de Curis inoculados con Br. abortus Cepa N. 510. Curí N° 6 ----- y Br. abortus Cepa 19. Curí N° 7 , los dos por *via intraperitoneal*. Curí testigo x x x x x N° 10.



INSTITUTO DE INVESTIGACION Y DIAGNOSTICO

GRAFICA VIII

Título de aglutinación en el suero sanguíneo de Curies inoculados con Br. abortus Cepa N. 510. Curí N° 8 - - - - - y Br. abortus Cepa 19. Curí N° 9 los dos por vía intraperitoneal.



De acuerdo con esas mismas gráficas, vemos que a las 24 horas, después de la inoculación se aprecia una ligera alza térmica (40 - 40.5°C.), sensiblemente igual para los inoculados con la Cepa Br. N° 510, como los inoculados con la Cepa 19. De resto la temperatura es prácticamente normal y fluctúa entre 37.5 a 39°C.

b) **Aglutinaciones:** Por otra parte se procedió a practicar sangrías periódicas a dichos animales, para llevar a cabo la prueba de aglutinación, hasta el título final, en cada caso (Gráficas V a VIII), para una vez alcanzado el título más alto y que éste permaneciera estacionario por dos pruebas consecutivas, sacri-

ficio de los animales que estuvieran en tales condiciones, autopsia cuidadosa y cultivos del bazo en los medios electivos para la Brucella, en atmósfera de CO₂ y aerobiosis respectivamente.

c) **Cultivos:** Con el objeto de saber con toda seguridad si se trata de una cepa de Brucella abortus, se procede a hacer cultivos, teniendo en cuenta los siguientes hechos: Acción bacteriostática de ciertos colorantes, metabolismo del H₂S y cultivos en aerobiosis y atmósfera de CO₂, o sea la clasificación del germen de acuerdo con el Manual de Bergery, (9) procediendo siempre con una cepa testigo de Br. abortus Cepa 19. Los resultados obtenidos de tales cultivos, se pueden resumir en el siguiente cuadro:

CUADRO N° 3
Cultivos de la Cepa N° 510

Días	Aerobiosis				
	1	2	3	4	7
Gcv	—	—	—	—	—
Gf	—	—	—	—	—
Gt	—	—	—	—	—
Ct	—	—	—	—	+
H2S	—	—	—	—	—

Atmósfera de CO₂

Gcv	—	—	+	+	+
Gf	—	—	—	+	+
Gt	—	—	—	—	—
Ct	—	+	+	+	+
H2S	—	+	+	+	—

Cultivos de la Cepa 19

Aerobiosis

Gcv	—	+	+	+	+
Gf	—	+	+	+	+
Gt	—	—	—	—	—
Ct	—	+	+	+	+
H2S	—	+	+	—	—

Atmósfera de CO₂

Gcv	—	—	+	+	—
Gf	+	+	+	+	—
Gt	—	—	—	—	—
Ct	+	+	+	—	—
H2S	+	+	+	—	—

Gcv: Gelosa-cristal-violeta; Gf: Gelosa-fuschina; Gt: Gelosa-thionina; Ct: Caldo triptosado; H2S: producción de hidrógeno sulfurado.

El objeto de este modo de proceder fue:

1°—Establecer si hay diferencia entre la Br. cepa 19 y la aislada del material en estudio, por títulos de aglutinación y lesiones en los curies.

2°—Por cultivos en atmósfera de CO₂ y aerobiosis.

3°—Para ver si los animales testigos, no inoculados, en contacto con los inoculados, tanto con Cepa 19, como con el material en estudio, adquieren la infección.

Las respuestas a estas cuestiones se encuentran en el curso del trabajo y de manera más concreta en las conclusiones.

El modo de proceder, utilizado en el caso del material N° 510, del cual se aisló la primera cepa de *Brucella* y se clasificó como abortus, se empleó con el resto de materiales, llegados con el fin de investigar dicha *Brucella* y fue así como se logró el aislamiento de las otras capas, denominadas con el número que les correspondió en el protocolo, o sea Cepas Nos. 1640 y 1895; las cuales mostraron en general los mismos caracteres encontrados a la Cepa N° 510 y que según vimos queda plenamente diferenciada de la *Br. abortus* Cepa 19 (avirulenta, empleada en la preparación de la vacuna). Es interesante anotar el alto título de aglutinación obtenido en la cepa 1640, que llegó al 1 x 12.800, en el suero sanguíneo de un curi inyectado por vía subcutánea con cultivo de 72 horas, en caldo triptosado, título que se alcanzó a los 25 días de inoculado.

Para una mejor ilustración al respecto, pueden verse las gráficas adjuntas IX y X, que hacen relación al título de aglutinación en el suero sanguíneo de curies inoculados con las cepas Nos 1640 y 1895 respectivamente.

A continuación damos una reseña de los animales muertos o sacrificados durante la experiencia, inoculados tanto con *Brucella abortus* N° 510, como con Cepa 19.

Los curies fueron inoculados el 2 de marzo, después de haberles practicado la prueba de seroaglutinación, con resultado negativo. En cuanto a las fechas de las sangrías, estas pueden verse en las gráficas adjuntas. Las muertes fueron en algunos casos al parecer naturales, pero en general accidentales, como consecuencia de las mismas sangrías; finalmente otros fueron sacrificados con el objeto de practicar en ellos una cuidadosa autopsia.

INSTITUTO DE INVESTIGACION Y DIAGNOSTICO

GRAFICA IX

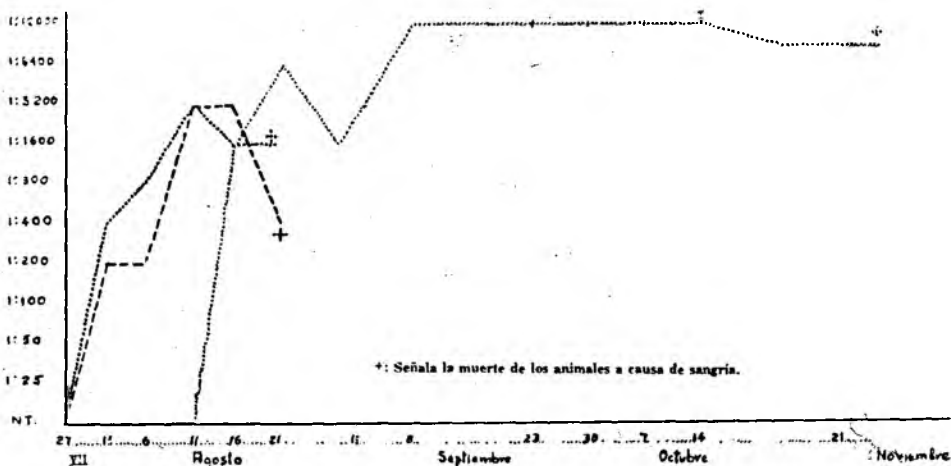
Título de aglutinación en el suero sanguíneo de curies inoculados con la Cepa N° 1640.

(Br. abortus).

Curí N° 1 - - - - - Mat. original (contenido estómago feto). 1 cc. Sbt.

Curí N° 2 - - - - - Mat. original. (Contenido estómago feto). 1 cc. Intpt.

Curí N° 3 x x x x x Inoculado con 1 cc. de cultivo de la Brucella.



GRAFICA X

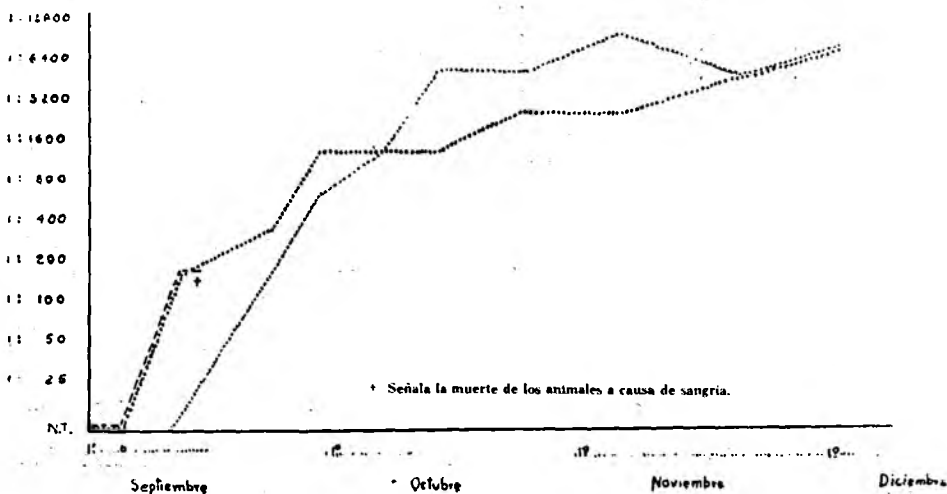
Título de aglutinación en el suero sanguíneo de curies inoculados con la Cepa N° 1895.

(Br. abortus).

Curí N° 1 - - - - - Mat. original (contenido estómago feto). 1 cc. Subt.

Curí N° 2 - - - - - Mat. original (contenido estómago feto). 1 cc. Intp.

Curí N° 3 x x x x x Cultivo - 1 cc. Subt.



El 28 de marzo se sacrifica in extremis el curí N° 6, inoculado por vía intraperitoneal con cepa N° 510. (Gráficas III y VII), con marcada hipotermia (360°C.). A la autopsia presenta una regular cantidad de líquido seroso, sanguinolento, en la cavidad abdominal; el bazo hipertrofiado, focos pneumónicos (en un principio se pensó que hubiera podido morir por una perforación del recto, por la toma de temperaturas, pero éste se halló normal). El título máximo de aglutinación a la autopsia fué de 1 x 3.200. Se hicieron cultivos del bazo en gelosa-fuschina, gelosa thionina y caldo dextrosado, con resultado positivo para Brucella.

El 4 de abril amanece muerto el curí N° 7, inoculado con Cepa 19, por vía intraperitoneal (gráficas III y VII), se encuentra abundante líquido seroso en la cavidad abdominal, el estómago perfectamente vacío, bazo y demás órganos normales. La prueba de aglutinación en este momento dió un título del 1 x 1.600; no se hicieron cultivos.

El 5 de abril se sacrifica in extremis el curí N° 3, inoculado por vía subcutánea con cepa 510 (Gráficas II y VI). Se encuentra abundante líquido en la cavidad abdominal, enteritis del delgado, vejiga y vesícula biliar muy llenas, estómago vacío. Bazo ligeramente hipertrofiado y mas bien decolorado. Congestión y edema pulmonar. Frotis del bazo revela gérmenes que morfológicamente corresponden a una Brucella, los cultivos de dicho órgano son igualmente positivos.

El 10 de abril muere el curí N° 4, inoculado con 1 cc. de Cepa 19, por vía subcutánea (Gráficas II y VI, se encuentra bastante flaco, no presenta ninguna lesión especial, salvo ligera cantidad de líquido en la cavidad abdominal, con el cual se practica la prueba de aglutinación, dando un título de 1 x 200. No se efectuaron cultivos, ni se encontró causa justificable de su muerte.

El 17 de abril muere uno de los testigos, curí N° 5. No presenta ninguna lesión especial a la autopsia, y practicada la prueba de aglutinación, esta es negati-

va. Los cultivos son negativos para Brucella.

El 21 de abril por completarse un mes de las inoculaciones, se procede al sacrificio de los curíes restantes, para constatar lesiones y practicar los cultivos respectivos, con los siguientes resultados:

Curí N° 2: inoculado con Cepa subcutánea (Gráficas I y V), bazo con muy ligera hipertrofia y de superficie un poco granulosa. Todos los órganos normales. Peso del bazo, 670 miligramos, dimensiones: 2,7 x 1,4 cts. El título de aglutinación en este momento fué de 1 x 800. No se practicaron cultivos.

Curí N° 9: inoculado con 1 cc. de Cepa 19, vía intraperitoneal (Gráficas IV y VIII), sin ninguna lesión aparente. Bazo, peso: 520 miligramos, dimensiones: 2,3 x 1,2 cts. El título de aglutinación antes del sacrificio fué de 1 x 1.600.

Curí N° 1: inoculado con Cepa 510, vía subcutánea (Gráficas I y V). Bazo muy hipertrofiado y granuloso, en el hígado pequeños puntos blanquecinos, pulmones congestionados. Demás órganos aparentemente normales. Bazo, peso: 1,670 gramos, dimensiones: 3,5 x 2 cts. El título de aglutinación antes del sacrificio fué de 1 x 6.400. Cultivos del bazo positivos a Brucella.

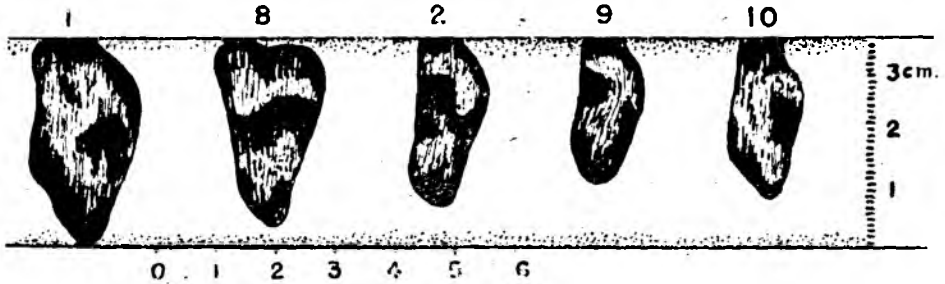
Curí N° 8: Inoculado con Cepa 510, vía intraperitoneal (Gráficas IV y VIII). Bazo hipertrofiado y granuloso, hígado con dos foquitos purulentos muy pequeños, algunas petequias en los pulmones. Demás organos aparentemente normales. Bazo, peso: 800 miligramos, dimensiones: 3,2 x 1,5 cts. El título de aglutinación antes del sacrificio fué de 1 x 6.400.

Curí N° 10. Testigo. No presenta ninguna lesión que llame la atención. Bazo, peso: 610 miligramos, dimensiones: 2,8 x 1,2 cts. Practicado el título de aglutinación, este fué negativo. Se hicieron cultivos que resultaron igualmente negativos.

INSTITUTO DE INVESTIGACION Y DIAGNOSTICO

GRAFICA XII

Dibrujo esquemático, tomado de una fotografía que muestra una vista dorsal de los bazos de los curies Nos. 1, 8, 2, 9, y 10; de izquierda a derecha. — Tamaño natural.



Curí N° 1: Inoculado con Cepa 510, vía subcutánea.

Curí N° 8: Inoculado con Cepa 510, vía intraperitoneal.

Curí N° 2: Inoculado con Cepa 19 vía subcutánea.

Curí N° 9: Inoculado con Cepa 19, vía intraperitoneal.

Curí N° 10: Testigo, no fué inoculado.

Nota: Todos los curies empleados en el presente trabajo, eran de un peso semejante, fluctuando entre 320 y 350 gramos. La gráfica XII, tomada de una fotografía hecha, muestra una vista dorsal, de los bazos colocados de izquierda a derecha en el siguiente orden, Curies Nos. 1, 8, 2, 9 y 10.

Discusión:

Con el objeto de aislar y clasificar el agente causal del aborto infeccioso en los bovinos, se habían hecho en el lapso de los últimos 20 años, varias tentativas en el Instituto de Investigación y Diagnóstico, con resultados siempre negativos.

En el presente año (1949), sobre un total de 15 materiales, trabajados con tal fin, se obtiene el aislamiento y clasificación de un germen que corresponde a la *Brucella abortus*; esto de tres fetos bovinos.

Se procede en cada caso, para una mayor seguridad en el diagnóstico, haciendo un frotis del material original, cultivos en medios electivos en atmósfera del 10% de CO₂, como en aerobiosis, e inoculación a curies, para buscar en los mismos aglutininas específicas, ver sus lesiones

y obtener cultivos a su autopsia.

Se describe en detalle uno de los aislamientos, habiendo operado en igual forma en los otros dos casos y en el resto de los materiales. Correspondiendo perfectamente en sus detalles los tres sistemas de diagnóstico empleados: Microscópico, cultural e inoculaciones.

Por otra parte se hace la diferenciación entre *Brucella virulenta* y *avirulenta*, como es la Cepa 19; por títulos de aglutinación, lesiones en los curies y cultivos en aerobiosis y atmósfera de CO₂, estableciéndose plenamente dicha diferencia.

Finalmente, en una parte experimental, se confirman los datos anteriores, se vé que por reacciones febriles en animales (curies), inoculados con cepa virulenta y Cepa 19, no se puede establecer ninguna diferencia entre las dos y finalmente que curies testigos no adquieren la infestación, en convivencia con los inoculados.

CONCLUSIONES

De lo expuesto anteriormente se deduce:

1º—Se aísla y clasifica por primera vez en el Instituto de Investigación y

Diagnóstico, de fetos bovinos, el agente etiológico del aborto infeccioso, o sea la **BRUCELLA ABORTUS**.

2º—Que el título de aglutinación, en el suero sanguíneo de los curíes inoculados con cultivo del material clasificado como *Brucella abortus*, sangrados a intervalos regulares, fué siempre más alto que el de aquellos inoculados, en igualdad de circunstancias con *Brucella abortus* Cepa 19 (BAI).

Las diferencias en los títulos máximos fueron: Cepa 19, 1 x 3,200; cultivos de **BRUCELLA ABORTUS** (Cepa 1640) 1 x 12.800.

3º—Las lesiones halladas a la autopsia de los curíes sacrificados a las cuatro semanas después de la inoculación, son bien marcadas, en los inoculados con la cepa *Brucella abortus* 510 y casi insignificantes o nulas, en los inoculados con la *Brucella abortus* Cepa 19. Lesiones manifestadas especialmente por hipertrofia del bazo, presencia de pequeños nódulos blanquecinos en éste y en el hígado, y por congestión pulmonar.

4º—No se logran cultivos en aerobiosis, ni al tercer pase de la *Br. abortus* (Cepas Nos. 510, 1640 y 1895), cuando se obtienen en cambio, en aerobiosis o atmósfera de CO₂ al 10%, de la Cepa 19.

5º—Curíes testigos dejados en contacto con los animales inoculados, tanto con la *Brucella virulenta*, como con la Cepa 19, por espacio de un mes, no adquieren la infección, ni muestran aglutinas en su sangre.

Nota: En 1950, después de varios pases, se ha obtenido cultivo en aerobiosis, con crecimiento abundante, de las tres Cepas de *Brucella*, Nos. 510, 1640 y 1895.

Agradecimiento

El autor presenta sus agradecimientos al señor Benjamín Cárdenas, quien llevó a cabo las aglutinaciones en el suero sanguíneo de los curíes.

Summary:

From the above it may be deduced:

1) That the etiological agent of Bang's disease (***Brucella abortus***) has been isolated and classified for the first in the "Instituto de Investigación y Diagnóstico", from cattle foetus.

2) That the agglutination rate, in blood serum from guinea-pigs inoculated with a culture of the material classified as ***Brucella abortus*** and bled at regular intervals, was always higher than that taken from those innoculated, under identical conditions, with *Brucella abortus*, Strain 19 (BAI). The differences in the maximum rates were: Strain 19: 1 x 3.200 cultures of ***Brucella abortus*** (Strain 1640), 1 x 12.800.

3) The lesions found in the necropsy of guinea-pigs killed four weeks after inoculation, are very appreciable in those innoculated with Strain 510 of ***Brucella abortus***, and insignificant or absent in those innoculated with ***Brucella abortus*** Strain 19. These lesions are particularly evident in the hypertrophied spleen, the presence of small whitish nodules in this organ and in the liver, and in the congestion of the lungs.

4) No culture was obtainable in aerobiosis, even on the third passage of ***Br. abortus*** (Strains 510, 1640 and 1895), the same being obtainable on the other hand, in aerobiosis or atmosphere of CO₂ at 10%, from Strain 19.

5) Control guinea-pigs left in contact with the animals innoculated both with ***Brucella virulents*** and with Strain 19 for a period of one month, did not acquire the infection, neither did they show agglutinins in their blood.

Note. — In 1950, after several passages, cultures have been obtained in aerobiosis, with abundant growth, of the three strains of *Brucella*, Nos. 510, 1640 and 1895.

BIBLIOGRAFIA

(1) "Apuntes de Laboratorio de Infecciosas" (Libro abierto el 1º de abril de 1928, en el entonces Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Escuela de Veterinaria).

(2) Doctor José J. Escobar. "Brucellosis en Colombia". Boletín Clínico, Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia. Vol. 9. Nº 3, Febrero de 1947.

(3) Doctor Roberto Plata Guerrero. Información personal. (Octubre 1949).

(4) Doctor Baldomero Cleves Ortíz. "El Aborto Epizootico". La presencia de aglutininas del bacilo de Bang en la sangre de los obreros del Matadero Municipal de Bogotá. Tesis de grado, 1935.

(5) Doctor Luis Patiño Camargo. "Estado actual de la Brucellosis en Colom-

bia". Nota informativa presentada a la V reunión para el estudio de la Brucellosis, octubre 28 - noviembre 2 de 1946. México, D. F.

(6) Libros de registro de entrada de materiales al Instituto de Investigación y Diagnóstico, Nos. 1 a 7 de 1928 a 1948.

(7) Protocolos de trabajos llevados a cabo por el autor, durante el año de 1949.

(8) I. Forest Huddleson "Brucellosis in man and animals". The Common Wealth Fun. 1944: 25.

(9) Bergey. "Manual of Determinative Bacteriology". Sixth edition 1948: 560.

(10) "Brucella abortus Diagnostic Antigen". Publicación del Bureau of Animal Industry. - Agricultural Research. U. S. Department of Agriculture (revised March I, 1945).

Droguería Veterinaria "EL HATO"

Calle 16, número 8-44.
Teléfono 25-651.

DR. GUSTAVO ROMAN
Médico Veterinario

Gustosamente ofrece al Honorable Cuerpo Médico
Veterinario y a los Ganaderos:

Hormonas gonadotrópicas para los casos de
esterilidad animal.

Cal Dextro Nº 2 Cooper para la fiebre de leche.
Renganol Byala para la tripanosomiasis.

Neoseptisán Om y Bionamid inyectable.
Toda clase de drogas y vacunas de los principales

laboratorios nacionales y extranjeros.
Instrumental Veterinario.

Jeringas y Agujas Hauptner.

CONSULTA PROFESIONAL