

# INTOXICACIÓN BOTULÍNICA EN PATOS \*

DRES. B. SZYFRES, HEBERT TRENCHI y D. ABARACÓN

Los antecedentes sobre botulismo en América del Sur son muy escasos. La bibliografía sobre esta enfermedad en la especie humana se reduce a una comunicación de Pedro J. Pando (1926), que describe un caso de intoxicación y muerte de siete personas, ocurrido en la Provincia de Buenos Aires, República Argentina, a consecuencia de la ingestión de una conserva de chauchas de la cual se aisló *Cl. botulinum*. El mismo autor hace referencia a otro caso que ocurrió en Mendoza, República Argentina, y que produjo la muerte de varias personas que habían consumido conservas de espárragos.

En cuanto a intoxicación botulínica en animales domésticos no hay hasta el presente ninguna referencia. Tampoco hay ninguna información sobre la distribución del *Cl. botulinum* en el suelo del continente sudamericano y sobre la predominancia de los diferentes tipos toxígenos.

## COMPROBACIÓN DE LA ENFERMEDAD EN EL URUGUAY

a) **Presentación clínica.**—Esta comunicación previa se refiere a un caso de intoxicación botulínica observado en patos domésticos. El dueño de un criadero de aves, sito en Melilla, Depto. de Montevideo, nos informó que desde hace dos años se le están muriendo patos, produciéndose las hajas sobre todo cuando el nivel del agua del lago bajaba con el tiempo caluroso. (Se trata —según nuestras averiguaciones— de un lago artificial, cuya agua no fué renovada desde hace por lo menos siete años.) En los diferentes estallidos —según su informe— ha perdido unos 170 patos, quedando actualmente sólo 25 de los casi 200 que tenía. La enfermedad fué observada exclusivamente en patos, no habiendo afectado en ningún momento a gallinas.

Los principales síntomas de la enfermedad consisten en paresia de los miembros y de las alas. Los enfermos muestran dificultad en la marcha y quedan la mayor parte del tiempo en decúbito esternoabdominal, muriendo en un estado de extrema debilidad. La enfermedad, no obstante, no es siempre fatal. La recuperación de animales enfermos fué observada en el establecimiento de origen y en nuestro Laboratorio, donde cuatro patos traídos enfermos se restablecieron después de pocos días. Las aves restablecidas son, sin embargo, susceptibles a enfermarse de nuevo, como lo pudimos comprobar en forma experimental.

---

\* Laboratorio de Biología Animal "Dr. Miguel C. Rubino" de la Dirección de Ganadería del Uruguay.

b) Aislamiento del germen. Reproducción experimental de la enfermedad. Dosis mínima letal de la toxina.—Debido a dificultades de transporte hemos recibido pocos animales muertos para nuestro estudio. En los primeros casos examinados de aves llegadas en buen estado de conservación, el examen anatomopatológico no reveló ninguna lesión significativa que pudiera orientar el diagnóstico. Las lesiones consistían generalmente en congestión del intestino delgado, observándose solamente en un pato una intensa enteritis hemorrágica. La investigación parasitológica daba invariablemente resultados negativos, como asimismo el examen bacteriológico, practicado en medios aerobios.

Con fecha 22-IV-48 recibimos un pato que en la necropsia muestra las siguientes alteraciones: bazo muy aumentado de volumen y congestivo; hígado con focos úlcronecróticos; estómago e intestinos sin contenido, excepto en la última porción del recto; intestino delgado ligeramente congestionado.



Fig. 1.—Cl. botulinum en una extensión de bazo de un pato, muerto de la enfermedad natural.

Una extensión hecha de la pulpa esplénica y coloreada por Giemsa, nos permitió comprobar la presencia de gérmenes, en forma de grandes bastoncitos de extremidades redondeadas, aislados y en cortas cadenas (fig. 1).

De la siembra de sangre del corazón se obtuvo en caldo Tarozzi, un ligero enturbiamiento de este medio y desprendimiento de burbujas de gas. El examen microscópico permitió observar grandes bastoneitos polimorfos gram positivos y gram negativos, algunos de ellos con esporos terminales o subterminales, que no deformaban el cuerpo microbiano.

Con 1 c.c. de cultivo de 48 horas a 37° en caldo Tarozzi, se inoculan dos patos, por vía intramuscular, notándose a las veinticuatro horas dificultad locomotora, que se acentúa en los días siguientes y empieza a regresar a los ocho días, desapareciendo luego por completo. En ningún momento se pudo observar reacción local en el punto de inoculación.

Con 0,2 c.c. del mismo cultivo inoculamos dos lauchas, por vía subcutánea, muriendo ambas antes de las veinticuatro horas, con lesiones congestivas de los pulmones, sin reacción local y con hemocultivo negativo.



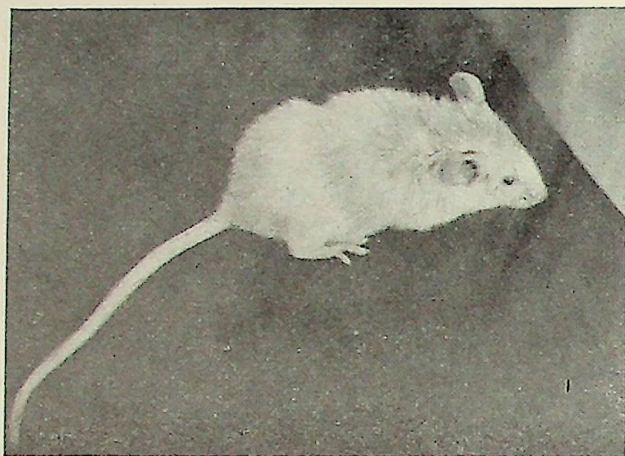


Fig. 2.—Ratón ino-  
culado con toxina  
botulínica por vía  
intraperitoneal.  
"Cintura de  
avispa."

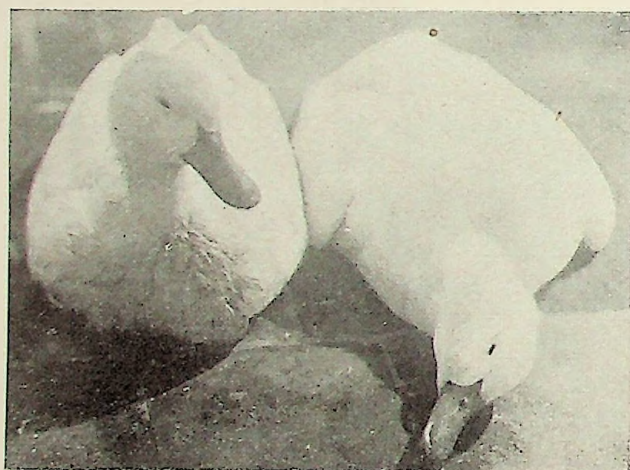


Fig. 3.— Reproduc-  
ción experimental  
de la intoxicación  
botulínica en patos.

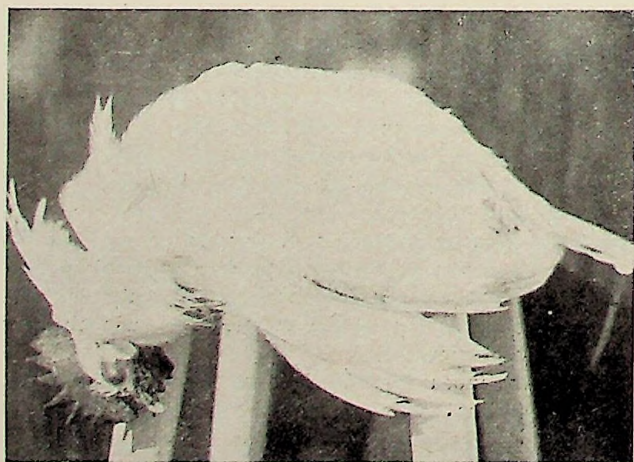


Fig. 4.— Reproduc-  
ción experimental  
de botulismo en po-  
llos. Flaccidez del  
cuello, alas y patas.

Sospechando se tratara de botulismo, se orienta la investigación en este sentido.

Siendo la botulínica la única toxina bacteriana que se conoce capaz de obrar "per os", se hace ingerir con pipeta, a un cobayo, unos 2 c.c. de cultivo de ocho días a 37° en caldo Tarozzi. El cobayo muere antes de las veinticuatro horas, encontrándose en la autopsia lesiones congestivas marcadas en los pulmones y menos pronunciadas en el intestino delgado.

Otro cobayo inoculado también por vía bucal, con una cantidad mayor de cultivo, muestra en la autopsia congestión y focos de neumonía en ambos pulmones, congestión duodenal y rotura del estómago.

Un tercer cobayo inoculado, por la misma vía, con cultivo calentado a 80°, durante media hora, con el fin de destruir la toxina, no manifiesta síntomas de enfermedad y sobrevive, a pesar de contener el inoculum gérmenes viables, como lo mostraron las siembras de control.

La enfermedad, por otra parte, puede ser reproducida también experimentalmente con esporos libres de toxina, si éstos son administrados en dosis masivas, como lo demuestra el ensayo con un cobayo inoculado por nosotros, por vía intraperitoneal con 2 c.c. de cultivo de 24 horas a 37°, calentado media hora a 80° y que muere a los ocho días de la inyección.

Los síntomas observados en ratones constituyen también un elemento diagnóstico de gran valor. Para observar la enfermedad en ratones y establecer la potencia toxígena de la cepa aislada, hemos filtrado por bujía Chamberland L3 un cultivo de catorce días a 37° en caldo Tarozzi. Con una dosis de 0,25 c.c. de la toxina diluida al 1/10.000, por vía intraperitoneal, los ratones inoculados mueren en 72 horas. Con 0,25 c.c. de toxina diluida al 1/100.000 los ratones no mueren. No hicimos hasta ahora inoculaciones con dosis intermedias a las enumeradas. Los síntomas observados consisten en una intensa disnea, respiración costal con hundimiento de los flancos, que da el aspecto de "cintura de avispa" (fig. 2). La dificultad respiratoria atribuida a la parálisis del diafragma la vimos establecerse según la dosis administrada a mayor o menor plazo después de la inoculación, siendo el periodo de incubación de pocos minutos cuando se inyecta toxina poco diluida.

La muerte de un ratón inoculado con dosis grandes sobreviene después de algunas horas. Un hallazgo de autopsia constante encontrado en estos animales es la congestión pulmonar.

En los cobayos inoculados, por vía subcutánea, las lesiones postmortem consisten sobre todo en congestión pulmonar y focos neumónicos, muchas veces hiperemia de los intestinos, repleción de la vejiga y de la vesícula biliar. La dosis mínima letal (dosis mínima por vía subcutánea que mata en 96 horas) de la toxina filtrada, en cobayos, resultó ser de 1 c.c. a la dilución de 1/10.000.

La enfermedad en patos la hemos reproducido con distintas dosis de toxina (cultivo de catorce días a 37° filtrado por bujía Chamberland L3). Un pato inoculado "per os" con 3 c.c., muestra síntomas característicos de la enfermedad antes de las 24 horas y muerte antes de las 48 horas.

En otro pato que recibe 1,5 c.c., por la misma vía, los primeros síntomas de paresia de los miembros se manifiestan a las 24 horas, se acentúan a las 48 horas, extendiéndose también a las alas y se mantienen en el mismo estado hasta el cuarto día, en que redactamos la presente comunicación.

Por vía parenteral la neurotoxina obra en dosis más pequeñas. Un pato inoculado con 0,25 c.c. manifiesta síntomas de incoordinación antes de las



24 horas y muere antes de las 48 horas. Dos patos inoculados con 0,1 c.c. de toxina mueren antes de las 72 horas, habiéndose establecido los síntomas más tardíamente que en el caso anterior.

Dos patos que hace cinco meses se habían recuperado de la enfermedad espontánea fueron inoculados, por vía intramuscular, con 1 c.c. de cultivo en caldo Tarozzi de ocho días a 37°. A las 24 horas, se observa en uno de ellos parálisis de las patas, alas, y cuello (fig. 3), y en el otro el efecto neurotóxico está limitado a los miembros. La muerte se produce en el primero a las 29 horas y en el segundo antes de las 48 horas. Las siembras de sangre y bazo de estos dos patos en medios anaerobios resultaron estériles.

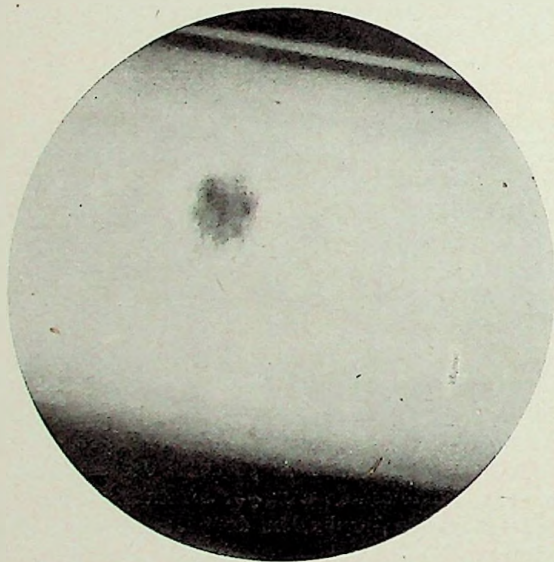


Fig. 5.— Colonia de *Cl. botulinum* en agar-gelatina-infusión de hígado. Aumento 45 veces.

Los hallazgos de autopsia consistían generalmente en congestión de los pulmones e intestino delgado, y dilatación del recto. Los patos usados para este ensayo tenían de 2 a 2,5 kgs. de peso.

La enfermedad fué reproducida también en pollos, con 2 y 5 c.c. de cultivo de nueve días, por vía subcutánea e intramuscular y con 10 c.c. por vía oral. En algunos de los inoculados por vía parenteral aparecen síntomas característicos de "Limberneck" a las 48 horas de la inoculación (fig. 4), muriendo todos los animales entre las 48 y las 96 horas. Con dosis menores a los 10 c.c. no pudimos reproducir la enfermedad en pollos, por vía oral. *Cl. botulinum* pudo ser recuperado en un caso del bazo y en otro del hígado, habiendo sido las siembras de sangre negativas.

c) Características morfológicas, culturales y bioquímicas de la cepa aislada.— Para hacer el estudio de las propiedades morfológicas, culturales y bioquímicas, hemos partido de una colonia aislada, por el método Liborius-Veillon, empleando un medio compuesto de gelatina, gelosa e infusión de hígado, en las proporciones de 50-10 y 1.000 respectivamente. Las colonias en este medio

son de tamaño chico, de 0,5 mm. más o menos, con un centro oscuro y periferia blanco gris con irradiaciones y deflecamientos (ver fig. 5).

El germen aislado es un bastoncito grande, móvil, polimorfo, presentándose aislado, en diplo o cortas cadenas de cuatro elementos. Se observan también formas con bandas, formas granulosas y "en sombra". En un cultivo de veinticuatro horas ya se observan esporos que son terminales o subterminales. Solamente en cultivos jóvenes se encuentran elementos que se tiñen por el Gram.

En medio de infusión de hígado más trozos de este órgano se observa un ligero enturbiamiento inicial, que a los pocos días desaparece, quedando el medio completamente claro. Por más de diez días se observa desprendimiento de gases en pequeña cantidad. No se observa modificación del color de los trozos de hígado, ni lisis de los mismos.

En agua peptonada con trozos de carne de corazón, el medio queda claro, habiendo desprendimiento de gases por más de diez días. No se observa tampoco cambio de color ni lisis de la carne del medio.

En medio de Hibbler se desarrolla bien, quedando los trozos de cerebro sin cambio de color.

En la leche sellada con aceite de vaselina y sembrada con la cepa de *Cl. botulinum* aislada por nosotros, no pudimos observar desarrollo microbiano.

En infusión de hígado con trozos de clara de huevo, el desarrollo es discreto, y sin ocasionar ovólisis. La falta de ovólisis fué comprobada también agregando trozos de clara de huevo a un medio de agua peptonada con trozos de carne de corazón, en el cual el desarrollo es más abundante.

Para estudiar el comportamiento de la cepa aislada frente a los hidratos de carbono, hemos usado como medio de cultivo agua peptonada al 0,5 %, más extracto de carne al 1 %, sellado con aceite de vaselina. El desarrollo del germen en este medio es pobre e inconstante, por lo que no podemos por ahora sacar conclusiones respecto a sus propiedades fermentativas. No obstante, interesa anotar que en los medios agregados de glucosa, levulosa, maltosa y dextrina y sembrados abundantemente, se observó viraje hacia la acidez con producción de gases en el tubo D.

La investigación de indol y de ácido sulfhídrico dió resultados negativos.

Los ensayos tóxico-inmunológicos, para la determinación del tipo toxicológico, no pudimos realizarlos hasta ahora, por carecer tanto de sueros específicos, como de las cepas tipo para elaborarlos.

## RESUMEN

Se describe un brote de botulismo en patos domésticos.

De la sangre de un pato se aisló una cepa no-proteolítica de *Cl. botulinum*.

Se estudian las características morfológicas, culturales y bioquímicas de la cepa aislada, como asimismo los ensayos de reproducción experimental de la enfermedad.

## SUMMARY

The authors describe an outbreak of botulism in ducks occurred in Uruguay. A non-proteolytic strain of *Clostridium botulinum* was isolated from the blood of one of the died ducks.

## BIBLIOGRAFÍA

- CURASSON, G. (1942).—*Traité de pathologie exotique veterinaire et comparée*. Cap. VII, pág. 73.
- GRAHAM, R. and LEVINE, N. D. (1944).—*Botulism. Diseases of Poultry*. Biester, H. E. and Devries, L. Cap. XV, pág. 328. The Collegiate Press, Inc.
- GUNNISON, J. B. and Meyer, K. F. (1929).—Cultural study of an international collection of *Cl. botulinum* and *parabotulinum*. *J. Inf. Dis.*, volumen XLV, pág. 117.
- GUNNISON, J. B. and COLEMAN, G. E. (1932).—*Clostridium Botulinum*, Type C, Associated with Western Duck Disease. *J. Inf. Dis.*, vol. LI, pág. 542.
- HOBMAIER, M. (1930).—Duck disease caused by the toxin of *Cl. botulinum* type C. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, vol. XXVIII, pág. 339.
- MEYER, K. F. (1928).—*Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*. Kelle, W.; Kraus, R. and Uhlenhuth, vol. IV, par. 2, cap. XVI, pág. 1269.
- PANDO J., P. (1926).—Botulismo. Sobre siete casos de muerte de miembros de la familia Schmidt, producidos en Puan. *Sem. Med. B. Aires*, volumen XXXIII, N° 4, pág. 1013.