

LA VIBRIOSIS OVINA EN COLOMBIA

Tesis de Grado

Por el Dr. MANUEL SALVADOR YEPES M.

INTRODUCCION

Con el ánimo de presentar un trabajo que sirviera no sólo para llenar los requisitos exigidos para optar al título de Doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia, sino que contribuyera a despejar una incógnita en el campo de nuestra patología animal, inicié investigaciones sobre la Vibriosis Ovina con el objeto de conocer si esta enfermedad afectaba los ovinos del país y cual era si en realidad existía, no sólo su incidencia en las principales zonas dedicadas a la cría de ovinos sino las pérdidas económicas que la enfermedad presentaba para los ovinocultores.

Como en todo trabajo, y más tratándose de uno de carácter científico, me ví abocado a un sinnúmero de problemas, que aunque no hicieran fracasar el fin primordial que perseguía, no me permitieron realizarlo en la forma que lo había concebido.

Creo que todos estos problemas se podrían englobar en uno sólo: Falta de cultura del pueblo. Esta falta de cultura trae consigo la desidia de los propietarios por conocer la naturaleza, el agente causal de los problemas que se presentan en sus animales. Aunque recibí promesas de muchos propietarios de enviarme el feto

o avisarme cuando los abortos se presentaran, solo como tales se quedaron y ni aún de la misma Granja Experimental de San Jorge recibí muestras que engrosaran mis datos estadísticos.

En mis correrías por diferentes fincas dedicadas a la cría de ovinos pude constatar que según las informaciones recogidas entre los propietarios y administradores, la mayor incidencia de abortos se presentaba en la zona de Zipaquirá y muchos de estos animales después de los abortos, se perdían para la reproducción.

Por considerar más factible la obtención de muestras y teniendo también presente que allí confluían animales no sólo de todas las zonas del Departamento de Cundinamarca sino de los departamentos limítrofes, hice del Matadero Municipal de Bogotá mi centro de operaciones y durante el período de un año examiné los úteros de las ovejas sacrificadas para tratar de aislar de ellos el *Vibrio fetus*. El número total de hembras sacrificadas, presentado en las tablas estadísticas de este trabajo, no concuerda con el número total de fetos examinados por cuanto los encargados del sacrificio así como los dueños de los animales se opusieron a la recolección de ellos por considerar que nuestra investiga-

ción no era con fin científico sino con fines lucrativos o con el propósito de hacer recaer sobre ellos algún impuesto o algo semejante.

Con el objeto de constatar la presencia del *Vibrio* en el tracto digestivo, realicé también el examen de algunas válvulas ileocecales pero los resultados de estas investigaciones fueron negativos.

El fin primordial que perseguí se vio coronado por el éxito de lograr aislar el *Vibrio* de dos de los úteros examinados, *Vibrios* que se clasificaron según técnicas de laboratorios especiales para ello y utilizando medios preparados en el I. Z. C.

Satisfecho de mi labor y orgulloso de haber podido colaborar en el esclarecimiento de esta entidad patológica en los ovinos del país, presento este trabajo ante el Honorable Consejo de Jueces de Tesis de la Facultad para que se sirva estudiarlo y le dé la aprobación necesaria que me acredita como doctor en Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Quiero aprovechar la ocasión para presentar al distinguido cuerpo de profesores de la Facultad mi profunda gratitud y mi sincero agradecimiento por todas las enseñanzas que desinteresadamente supieron comunicarme.

Las primeras descripciones de esta enfermedad en ovejas fueron hechas en 1909 y 1913 por Mc. Fadyean y Stockman⁴³ en Inglaterra; los autores reportaron que en los rebaños con infección por "*Vibrio*" se podía observar un 23.2% de abortos y un 10% de casos de esterilidad.

La enfermedad fue observada en los Estados Unidos, en 1920, por Carpenter¹¹.

Hoy se puede afirmar que abortos por *Vibrio fetus*, en ovinos, han sido descritos en todos los lugares en los cuales la cría de ovejas es intensiva.

Entre las varias causas que pueden determinar aborto en las ovejas, la vibriosis indudablemente ocupa el primer lugar.

Su importancia económica puede ser evaluada en base al número elevado de aborto que determina, presentando un porcentaje mucho más alto que en los bovinos.

Según datos reportados por varios autores, en los rebaños infectados pueden abortar el 20-70% de las hembras, en las cuales se puede observar también una mortalidad del 5%, en la mayoría de los casos debida a metritis sépticas por retención de fetos muertos.

A diferencia de los bovinos en los cuales la esterilidad temporánea o permanente, por *Vibrio fetus* es la regla (Sjollema y Col., 1949)⁶⁵, en los ovinos, tanto en condiciones naturales como experimentales, se ha observado raramente.

Según Firheammer y Col. (1956)⁶⁶ los casos de esterilidad observados en las ovejas pueden ser causados por una transitoria infección de los órganos genitales.

Hasta hace unos años, los conocimientos sobre los *Vibrio fetus* de origen bovino y ovino y sobre la patogénesis de la enfermedad de estas dos especies eran deficientes.

Hoy en día, como resultado de las numerosas observaciones de campo y experimentales, se puede decir que existen dos tipos de *Vibrio fetus*, los cuales, aunque sean muy parecidos, presentan características particulares

que permiten hacer una distinción entre ellos (Florent, 1960)²⁰.

Por lo tanto el *Vibrio fetus* se puede dividir en dos tipos: *Vibrio fetus* "venerealis" (Tipo I) y *Vibrio fetus* "intestinalis" (Tipo II).

El primero tiene su "habitat" natural en el prepucio de los toros y conductos genitales de las vacas y determina la esterilidad enzoótica y a veces abortos.

El segundo está generalmente localizado en los intestinos de los bovinos, ovinos y suinos y puede invadir el útero fecundado, produciendo abortos, especialmente en las primeras dos especies.

La infección por *Vibrio fetus* "venerealis" no se ha observado en condiciones naturales en otros animales distintos a los bovinos.

El contagio de bovinos a ovinos o viceversa es seguro sólo si se trata de *Vibrio fetus* "intestinalis" y por lo tanto las ovejas no tienen importancia epidemiológica para el *Vibrio fetus* "venerealis".

En la transmisión accidental del *Vibrio fetus* "intestinalis" a los bovinos y a las ovejas pueden intervenir también los cerdos. El *Vibrio fetus* (patógeno) y el *Vibrio bobulus* (apatógeno) son los que comúnmente se pueden aislar del aparato genital del macho (semen y lavados prepuciales) y del aparato genital de las hembras (material útero-vaginal, fetos y placenta de los ovinos).

Parece que no existen diferencias morfológicas evidentes entre los *Vibrio fetus* "intestinalis" y "venerealis", por lo tanto se pueden referir a las características descritas por Breed y Col. (1957)⁵ y Laing (1960)³⁴, los

cuales no hacen ninguna diferencia entre los dos tipos.

El *Vibrio fetus* "Smith y Taylor, 1919", pertenece a la familia Spirillaceae Migula, 1894 y al género *Vibrio* Müller, 1773 (Breed y Col. 1957)⁵.

Se presenta en forma de espirilos Gram negativos que, en los materiales procedentes de animales infectados o cultivos jóvenes, se encuentran en forma de coma o de S corta y más raramente en formas curvas alargadas. En los cultivos viejos se observan a menudo formas espirales muy largas. La longitud y anchura de este microorganismo varían entre 1.5 y 5 micras y entre 0.2, 0.3 micras. De ordinario es móvil, pero existen razas no móviles. Las móviles pueden convertirse en no móviles en los subcultivos (Laing, 1960)³⁴. La movilidad es debida a la presencia de un solo flagelo polar en las formas en coma, mientras que en las formas en S se puede observar un flagelo en cada uno de los polos. Por los prolongados períodos de incubación y en los cultivos en medios sólidos muy secos a veces se observan formas cocoides con uno o más flagelos. Ocasionalmente se nota la presencia de cápsulas y pueden presentarse gránulos en los cultivos viejos (Breed y Col., 1957)⁵.

El *Vibrio bobulus* descrito en los bovinos por Thouvenot y Florent (1954)⁶⁹ como *Vibrio bobulus* Florent, 1953, ha sido ampliamente estudiado en los ovinos por Firhammer y Lovelace (1961)¹⁷. Hasta el momento, aunque sus características parecen justificar la denominación de una nueva especie, su posición sistemática no ha sido todavía bien definida.

Como la morfología de los "Vibrio" varía mucho en relación a la compo-

sición y edad de los cultivos, Florent (1960)²⁰ afirma que entre el *Vibrio fetus* ("venerealis" e "intestinalis") y el *Vibrio bobulus*, independientemente de las diversas exigencias de cultivo (microaerófilo el primero y anaerobio el segundo) y de los distintos resultados que se obtienen con pruebas bioquímicas, se encuentran características que pueden ser usadas para diferenciarlos entre sí.

El autor encontró que mientras el *Vibrio fetus* ("venerealis" e "intestinalis") en los cultivos de primer aislamiento se desarrolla con una gran cantidad de formas alargadas espiraliformes, el *Vibrio bobulus* se presenta en forma de coma más delgada y móvil que las del *Vibrio fetus* y los espirilos son poco numerosos. También entre las formas espirilares del *Vibrio fetus* y el *Vibrio bobulus* existen diferencias, porque las espiras del primero son más estrechas y las del segundo más anchas.

Ristic y Col. (1958)²⁸, utilizando las mismas técnicas recomendadas para el control de las brucelas por Henry (1933)²³ y por Wilson y White (1951)⁷⁸ estudiaron: a) El aspecto morfológico al primer aislamiento de las colonias del *Vibrio fetus* ("venerealis" ? e "intestinalis" ?) y de las cepas saprófitas (*Vibrio bobulus* ?) encontradas en los bovinos y ovinos; b) La disociación de las formas originales en los sucesivos subcultivos.

Las cepas fueron divididas en 6 grupos y las de origen ovino se reunieron en los grupos I, III, V, y VI.

Grupo I: Las colonias provenían de fetos bovinos y ovinos y resultaron catalasa positivas, H₂S negativas y NaCl 3.5% negativas (*Vibrio fetus*

"venerealis" ? e "intestinalis" ?). Se aislaron inicialmente en formas lisas parecidas a gotas de rocío, translúcidas, con borde completo y de color azulado; los gérmenes se presentaron en forma de coma delgada o S incompleta (1-1.5 micras de longitud). En los subcultivos sucesivos se observó una desviación progresiva del tipo original y la dirección general de disociación hacia las formas no lisas fue: lisa granular, "vidrio cortante" ("cut-glass") mucoides y rugosa.

Grupo III: El primer aislamiento se hizo de fetos ovinos y las pruebas bioquímicas demostraron que los gérmenes eran catalasa positivos, H₂S negativos y NaCl 3.5% negativos (*Vibrio fetus* "intestinalis" ?). Se observaron colonias lisas, de borde completo, débilmente opacas y con una ligera granulación interna. La morfología celular era similar a la descrita para el grupo I. En las generaciones sucesivas se desarrollaron colonias mucoides, de color amarillo oscuro, que contenían en el centro una pequeña colonia hija ligeramente levantada y bien determinada; después de 3 días de incubación, al examen microscópico de estas colonias se observaron numerosas formas cocoides (formas L).

Grupo V: Estas colonias se encontraron después de la siembra de moco vaginal y lavado prepucial de ovinos y bioquímicamente resultaron catalasa negativas, H₂S positivas y NaCl 3.5% positivas (*Vibrio bobulus* ?). En el aislamiento inicial, el aspecto de las células y colonias fue similar a los cultivos del grupo III; sin embargo, en los trasplantes subsiguientes estos cultivos se disociaron en formas mucoides típicas.

Grupo VI: Las colonias provenían de moco vaginal ovino y eran catalasa positivas, H_2S negativas y NaCl 3.5% positivas ("Vibrio" patógeno por lo que se refiere a la prueba catalasa y H_2S y apatógeno por el desarrollo en medios con NaCl 3.5%). El aspecto de los gérmenes, como el de las colonias y las sucesivas disociaciones fueron iguales a los cultivos del grupo I.

Bryner y Frank (1955 b)⁴, Herzberg y Ristic (1955)²⁴, Ristic y Col. (1956)⁵⁴ con las cepas de *Vibrio fetus* de origen ovino y bovino conservadas por largo tiempo en medios semisólidos, cuando las trasplantaron a medio sólido encontraron 5 tipos de colonias: lisas (S) rugosas (R) "Vidrio cortante", mucosa (M) y fuertemente rugosas; el estudio de la disociación se hizo con las mismas técnicas usadas por Ristic y Col. (1958)⁵⁸.

Florent (1960)²⁰ sostiene que en los medios sólidos, preparados con "corazón bovino + sangre de cordero + verde brillante", se puede hacer una diferenciación macroscópica entre las colonias de *Vibrio fetus* y *Vibrio bobulus*.

Las colonias de *Vibrio fetus* "intestinalis" se desarrollan más abundantemente que las de *Vibrio fetus* "venerealis", pero una vez desarrolladas, ambas se presentan redondas, prominentes, lúcidas y de color gris-rosada; debajo de las colonias, la superficie del medio aparece decolorada. Las de *Vibrio* "bobulus" son más planas que las anteriores y son de color más oscuro o verdoso, mientras que alrededor y debajo de las mismas el medio toma una tonalidad ligeramente amarilla.

Bond (1957)⁴ reportó que las variantes mucosas de los vibrios catalasa positivos y H_2S negativos se comportaban similarmente a los "Vibrios" saprófitos, bioquímicamente hablando, pero Ristic y Col. (1958)⁵⁸ encontraron que en los cultivos prolongados de las colonias lisas y de las variantes, sobre medio sólido, sólo se podía observar una pérdida de su habilidad para producir catalasa, más después de un solo trasplante de estas células a un medio semisólido la habilidad para producir catalasa retornaba de nuevo; ningún cambio se observó con respecto a la producción de H_2S .

Mientras las colonias lisas y rugosas son por lo general activamente móviles, las mucosas muestran una pérdida de motilidad (Bond, 1957)⁴.

Ningún medio es capaz de estabilizar las colonias lisas; la disociación sin embargo es más frecuente en los medios semilíquidos que en los medios sólidos (Ristic y Col., 1958)⁵⁸ y la frecuencia de las disociaciones parece ser una característica de las cepas usadas (Bond, 1957)⁴.

Las colonias no en fase S son aglutinadas fácilmente con suero bovino normal a la dilución de 1:160, mientras que las colonias lisas no aglutinaron con el mismo suero diluido 1:10 (Ristic y Col., 1956)⁵⁶. Las colonias no lisas son inestables también en solución salina (0.85%) y acriflavina en diluciones superiores a 1:200 (Ristic y Col., 1956)⁵⁶; Bond, 1957)⁴.

Por todos los autores es admitido que entre los *Vibrios fetus* "venerealis" e "intestinalis" y el *Vibrio* "bobulus" no existen reacciones serológicas cruzadas.

Ambos poseen un antígeno termolábil "H" o flagelar y un antígeno termoestable "O" o somático.

Además para el *Vibrio fetus* ha sido descrito un antígeno "K" o capsular, termolábil (Wiidik y Hlidar, 1955)⁷⁷ y un antígeno termolábil, superficial, probablemente idéntico al antígeno "K" (Ristic y Col., 1957 y 1958)^{57, 58}.

Aunque desde tiempo atrás se comenzaron los trabajos sobre la composición antigénica de las varias cepas de *Vibrio fetus*, aisladas de bovinos y ovinos, es muy difícil resumir los datos tan contradictorios obtenidos por los diversos autores usando técnicas distintas, sin tener en cuenta, en muchos casos, la morfología de las colonias, la patogenicidad de las cepas y la distinción, entre el grupo del *Vibrio fetus*, del tipo "venerealis" del "intestinalis". Probablemente nos encontramos frente a razas de una cierta complejidad antigénica (Laing, 1960)³⁴.

Según los últimos trabajos, parece que las cepas de origen bovino y ovino poseen fracciones antigénicas comunes.

Mitacherilich y Liess (1958)⁴⁷ dividieron las cepas de *Vibrio fetus* "venerealis" e "intestinalis" en dos grupos netamente distintos; en el primer grupo clasificaron prevalentemente las cepas de *Vibrio fetus* de origen bovino y en el segundo las de origen ovino.

También Morgan (1959)⁴⁸ clasificó las cepas por él examinadas, en base al antígeno somático, en los grupos A y B; las cepas de origen bovino y ovino son repartidas en estos dos grupos, independientemente de su proveniencia.

Florent (1960)²⁰ usando cepas de *Vibrio fetus* "venerealis" y *Vibrio fetus* "intestinalis" comprobó que las cepas de tipo "venerealis" poseen un antígeno común con las "intestinalis", pero en las primeras este antígeno es incompleto.

Además, parece que existen también diferencias antigénicas entre los varios tipos de colonias.

Ristic y Col. (1956)⁵⁶ estudiando dos cepas, una aislada de feto bovino ("venerealis"?) y la otra proveniente de feto ovino ("intestinalis"?) encontraron que los antígenos preparados con las colonias lisas no eran aglutinados con los antisueros provenientes de las colonias lisas heterólogas, mientras que se observó un considerable grado de reacción cruzada cuando los antígenos, preparados con variantes no lisas, fueron controlados con los antisueros de las variantes homólogas y heterólogas. Las variantes mucosas de las dos cepas determinaron reacciones cruzadas más o menos del mismo nivel.

Bond (1957)⁴ en base a los trabajos con cepas bovinas y ovinas, llegó a las siguientes conclusiones: a) Los antígenos preparados con las colonias lisas son los más específicos; b) Antigénicamente las colonias mucosas son distintas de las formas lisas homólogas y las colonias mucosas, de las diferentes cepas, poseen un antígeno común; c) Aunque las colonias rugosas presentan aglutinación cruzada con las formas lisas homólogas, existen diferencias antigénicas entre las dos.

Según Firheammer y Lovalace (1961)¹⁷ parece que los *Vibrios bobulus*, de origen ovino, pueden ser di-

vididos en un elevado número de serotipos.

Todos los autores están de acuerdo en admitir que la baja vitalidad del *Vibrio fetus* es el principal obstáculo para empleo de los medios de cultivo en los diagnósticos rutinarios.

Generalmente se admite que las cepas ovinas son más resistentes que las de origen bovino.

Lerche (1927)³⁷, Ristic y Morse (1953)⁵² y Ristic y Col. (1954)⁴⁹ demostraron que los cobayos podían ser infectados experimentalmente por distintas vías. La vía endoperitoneal resultó ser la más efectiva y el *Vibrio fetus* se pudo aislar, en cultivo puro, de los úteros, membranas fetales y fetos de los animales que habían abortado y de los úteros y vesícula biliar de los animales que se infectaron cuando no estaban cargados.

Ristic y Col. (1954)⁵⁴ y Ristic y Col. (1955)⁵⁵ encontraron que también el hamster es sensible a la infección por *Vibrio fetus*.

Plastridge y Williams (1943)⁵⁰, Jansen y Kunst (1951)²⁶, Webster y Thorp (1953)⁷⁵ y White y Col. (1958)⁷⁹ comprobaron la patogenicidad del *Vibrio fetus* para los embriones de pollo.

Todas las tentativas para hacer desarrollar el *Vibrio fetus* en medios sintéticos no tuvieron resultados, aunque el germen se ha podido cultivar en una gran variedad de medios más o menos complejos (Kiggins y Plastridge, 1958)²⁸.

Para el aislamiento de las varias cepas de "*Vibrio*" se usan preferentemente los medios sólidos enriquecidos (sangre, líquido ascítico, contenido del estómago de fetos normales,

suelo, etc.) mientras que para los trasplantes y conservación se usan los medios semisólidos, con concentraciones de agar variable del 0.075% al 0.1% (Kuzdas y Morse, 1956 a)³⁰.

En los medios semisólidos, mientras las cepas catalasa positivas y H₂S negativas (*Vibrio fetus* "intestinalis" y "venerealis") se multiplican sólo en superficie, las cepas catalasa negativas y H₂S positivas (*Vibrio* "bobulus") se desarrollan a todo lo largo de los tubos.

Las cepas de *Vibrio fetus* de origen ovino son, en general, menos sensibles que las cepas bovinas a las variaciones de pH de los medios (Kuzdas y Morse, 1956 a)³⁰ y también se desarrollan más abundantemente que las de origen bovino en caldo simple (Di Liello y Col., 1959)¹³.

El *Vibrio fetus* ("venerealis e intestinalis") puede multiplicarse a temperaturas más bajas (15°) que el *Vibrio* "bobulus" (20° C) (Kuzdas y Morse, 1956 a)³⁰.

Para el aislamiento del *Vibrio fetus*, especialmente de los materiales muy contaminados, son aconsejados los medios sólidos con sustancias inhibentes de la contaminación, de las cuales las más usadas son el verde brillante 1:40.000 (Tesptra y Eisma⁶⁷, 1951)¹⁹, alquilarilsulfonato 1:1.000 y esculina 1:200 (Tesptra, 1954)⁶⁸, bilis bovina en concentración del 10% (Shneider y Morse, 1955)⁶⁴, estreptomycinina con poder bacteriostático disminuido (Rolle y Mundt, 1955)⁵⁹, "ethyl purple" 1:800.000, bacitracina 25 U/cc., polimixina B, sulfato 5 U/cc. y actidione 0.01% (Kuzadas y Morse, 1956 b)³¹. Verde brillante 1:333.000 y polimixina Sulfato 50.8 U/cc. (Power, 1958)⁵¹.

El período de vitalidad de las cepas varía de un medio a otro; generalmente se aconseja que los trasplantes sean frecuentes (cada semana).

Algunas propiedades bioquímicas son comunes para el *Vibrio bobulus* y el *Vibrio fetus* ("intestinalis" y "venerealis") mientras que otras son características para cada especie.

La producción de H_2S fue descrita por primera vez por Thoutvenot y Florent (1954)⁶⁹ como carácter diferenciativo entre el *Vibrio bobulus* y el *Vibrio fetus*.

También Bryner y Frank (1955 a)⁷ utilizaron esta prueba para diferenciar los "Vibrios" aislados del aparato genital de los bovinos como patógenos (H_2S —) y apatógenos (H_2S +).

Para el *Vibrio fetus* "intestinalis" la composición del medio juega un papel muy importante en la producción de H_2S .

Florent (1960)²⁰ usando dos medios, uno (medio 1) a base de caldo Martín, cubos de hígado de cobayo y 0.15% de agar y otro (medio 2) compuesto con los mismos elementos del anterior más el 0.02% de cistina, ha obtenido los siguientes resultados:

	Medio 1	Medio 2
V. Fetus "venerealis"	—	—
V. Fetus "intestinalis"	—	++
Vibrio bobulus	+++	+++

A diferencia del *Vibrio bobulus*, el *Vibrio fetus* "intestinalis" produce H_2S , solamente a condición de que en el medio esté presente la cistina.

Bryner y Frank (1955 a)⁷ demostraron que la producción de catalasa po-

día ser útil para diferenciar los "Vibrios" aislados de fetos y tracto genital, como patógenos (catalasa +) y apatógenos (catalasa —).

Las cepas de *Vibrio fetus* de origen bovino (catalasa positivas y H_2S negativas) se pueden cultivar en medios con concentraciones máximas de NaCl del 2.5%, mientras que las aisladas del tracto genital de los mismos animales, catalasa negativas y H_2S positivas (*Vibrio bobulus*) se cultivan fácilmente en concentraciones de NaCl del 3.5% o superiores (Kuzdas y Morse, 1956 a)³⁰.

Es indispensable recordar que del tracto genital de los ovinos han sido aisladas también cepas catalasa positivas y H_2S negativas que pueden desarrollarse en medios con concentraciones de NaCl del 3.5%; estas cepas tendrían las características de las patógenas por cuanto se refieren a la producción de catalasa y H_2S y las de las apatógenas por cuanto al desarrollo en medios hipertónicos.

Bryans y Col. (1959)⁶ aislaron de fetos ovinos cepas de *Vibrio fetus* catalasa positivas y H_2S positivas que no se desarrollaban en medios con más del 1.5% de NaCl; la producción

de H_2S ha sido controlada en medios en los cuales solo el *Vibrio bobulus* produce este gas y no en el medio descrito por Florent (1960)²⁰ en el cual también las cepas "intestinalis" produce H_2S .

En base a cuanto se ha dicho, el concepto según el cual una cepa de "Vibrio" para ser patógena debe ser catalasa positiva, H_2S negativas y no desarrollarse en medios fuertemente hipertónicos (3.5% de NaCl) no puede ser aplicado en todos los casos para las cepas de origen ovino.

Florent (1960)²⁰ continuando los trabajos empezados por Lecce (1958)²⁵ demostró que agregando a los varios medios el 1% de glicocola se observaba una inhibición de las cepas "venerealis", mientras que las cepas "intestinalis" se desarrollaban más o menos normalmente.

Mientras las cepas de *Vibrio fetus* "venerealis" tienden a multiplicarse en la vagina de las vacas, las de tipo intestinalis no lo realizan (Florent, 1960)²⁰.

Según los datos reportados por Laing (1960)²⁴ el *Vibrio fetus* "venerealis" se desarrolla con mayor rapidez y exuberancia en un ambiente de aumentada tensión de CO_2 y disminuída tensión de oxígeno, mientras que el *Vibrio fetus* "intestinalis" se desarrolla bien en una atmósfera en la cual solamente esté aumentada la tensión de CO_2 .

Las colonias lisas del *Vibrio fetus* ("intestinalis" y "venerealis") y del *Vibrio bobulus* no se desarrollan en aerobiosis.

La anaerobiosis es indispensable solo para el *Vibrio bobulus*; (Thouvenot y Florent, 1954)⁶⁹.

Bryner y Frank (1955 a)⁷ demostraron que por punción profunda las cepas de "Vibrio" se desarrollaban a todo lo largo de la línea de siembra si eran catalasa negativas y H_2S po-

sitivas (apatógenas) y sólo en la superficie si eran catalasa positivas y H_2S negativas (patógenas).

La reducción de nitratos, la fermentación de los azúcares, la actividad ureásica, la producción de indol, la producción de hidrogenasa, la multiplicación en medios con distintas concentraciones de dextrosa, la licuación de la gelatina, la acción sobre la leche tornasolada y la sensibilidad al azul de metileno no son consideradas de importancia para diferenciar el tipo "venerealis" del "intestinalis" y éstos del *Vibrio bobulus*.

El *Vibrio fetus* "intestinalis", en los rebaños infectados, se puede aislar de fetos, placentas, material útero-vaginal de los animales que han abortado y del moco vaginal de las hembras vírgenes; de los líquidos fetales de las hembras que dieron cría normalmente, del contenido estomacal de corderitos sanos, del semen y lavados prepuciales de los machos (Eide y Helle, 1957)¹⁴ y de los coprocultivos (Florent, 1960)²⁰.

Como el germen se pudo aislar de animales que dieron cría normalmente, se puede pensar que en todos los casos de infección se verifica aborto (Eide y Helle, 1957)¹⁴.

Los cultivos hechos del moco vaginal de ovejas que dieron a luz cordeiros a término, durante el período de una epizootia, demostraron que el *Vibrio fetus* de este material podía ser aislado solamente por un tiempo relativamente corto, ya que después era reemplazado por el *Vibrio bobulus*, el cual, por el contrario, podría permanecer en la vagina largos períodos de tiempo (Firhammer y Lovelace, 1951)¹⁶.

El *Vibrio bobulus* se puede aislar también de los machos (semen y lavados prepuciales) y hembras (moco vaginal) de rebaños en los cuales nunca se presentan abortos por *Vibrio fetus* (Firheammer y Lovelace, 1961)¹⁶.

En las ovejas la transmisión genital parece menos importante que en los bovinos (Stockman, 1919⁶⁶; Welch y March, 1924⁷⁶; Buxton, 1929 y 1930¹⁰; Lee y Scrivner, 1941³⁶; March y Col., 1954⁴¹; Tunnicliff y March (1954)⁷¹; Universidad Wyoming (1953)⁷⁴; Firheammer y Col. (1956)¹⁶; Jansen y Col. (1957)²⁷ y Eide y Helle (1957)¹⁴.

Jansen y Col. (1957)²⁷ no pudieron determinar abortos en 68 ovejas que aparearon con machos infectados natural y artificialmente.

La inseminación de ovejas con semen infectado ocasionó abortos (Firheammer y Col., 1956)¹⁶.

Como también en los rebaños infectados se pudo aislar *Vibrio fetus* de la vagina de ovejas vírgenes, esto, según Eide y Helle (1957)¹⁴, sería una prueba de que la infección no es puramente coital.

Otra prueba indirecta sería aquella de las medidas sanitarias, la cual produce notablemente el porcentaje de abortos (Eide y Helle, 1957)¹⁴.

Experimentalmente los abortos se pueden producir por medio de cultivos o membranas y tejidos fetales infectados, —especialmente cuando se usan las vías oral, endovenosa y endoperitoneal—.

Lindstruch y Col. (1949)⁴⁰, estudiando la relación que existe entre la susceptibilidad de las hembras cargadas y en período de gestación, pu-

dieron obtener abortos por vía oral e intraperitoneal al tercero, cuarto y quinto mes de preñez.

La inoculación endovenosa de ovejas en diferentes estadios de preñez demostró que éstas son muy resistentes durante el primer mes, pero son fácilmente infectadas en el segundo, tercero, cuarto y quinto mes (Firheammer y Col., 1956)¹⁶.

Tucker y Roberstad (1956)⁷⁰ reportaron que en las ovejas susceptibles la vía oral es una buena vía de transmisión, especialmente para los animales con más de 90 días de preñez.

El período de incubación, después de la infección oral, puede considerarse de 2-3 semanas (Tucker y Roberstad, 1956)⁷⁰.

Miller y Col. (1959)⁴⁵, en ovejas infectadas por vía oral al quinto mes de preñez, observaron bacteremia en el 46% de los animales infectados con tejidos de fetos abortados y en el 65.3% de los infectados con cultivos.

Los autores concluyeron que aunque la patogénesis de la vibriosis no está todavía bien determinada, la presencia de la bacteremia después de la infección por vía oral confirma la sospecha de que ésta sea una de las puertas de entrada del *Vibrio fetus*. La imposibilidad de demostrar bacteremia en todos los animales puede ser debido a la resistencia natural que algunos pueden presentar y también, a la recolección de las muestras en momentos inadecuados.

Después de la infección la bacteremia apareció en la mayoría de los casos en tiempos variables de tres días y en ocasiones hasta el décimo-cuarto día.

Los primeros en aislar el *Vibrio fetus* de la sangre fueron Miller y Jansen en 1955⁴⁴, de un cordero inoculado por vía oral con vísceras de feto.

Aunque puede ser evidente que la puerta primaria de entrada sea el tracto digestivo, el reservorio de la infección no ha sido aún bien determinado.

Según Ryff y Lee (1945)⁶², las ovejas portadoras serían el reservorio natural.

Mientras Firheammer y Col. (1956)¹⁶ afirman que la mayoría de las ovejas infectadas pierde su infección antes de dar una segunda cría, Eide y Heile (1958)¹⁵ han podido aislar *Vibrio fetus* del moco vaginal y de los materiales tomados de animales que dieron cría normalmente, después de un año y medio de haberse verificado la infección.

Tampoco se debe olvidar que Florent (1960)²⁰ obtuvo coprocultivos positivos, durante varias semanas, en animales infectados experimentalmente.

El *Vibrio fetus* es un germen angiotropo y acciona determinando una vascularitis. Los abortos se pueden explicar admitiendo que la vascularitis que se forma a nivel de los cotiledones determina zonas de necrosis, con consecuente reducción de nutrientes entre madre y feto, hasta el punto que los fetos mueren y son expulsados más o menos rápidamente.

Aunque se pueden observar abortos precoces al iniciarse la gestación (Mc. Fadyean y Stockman, 1913)⁴³, la mayoría se verifican especialmente al término de la misma.

Raramente se observan síntomas preclínicos, aunque en unos casos se puede anotar depresión, ligero ede-

ma de la vulva y una ligera descarga de la vagina, unos pocos días antes de ocurrir el aborto.

En la mayoría de los casos los fetos abortados presentan un aspecto normal.

El contenido de los estómagos tienen un color más o menos oscuro, con grumos de fibrina, mientras las cavidades torácicas y abdominales pueden estar llenas de un líquido rojizo.

Las membranas fetales casi siempre están edematosas y los líquidos turbios.

Aunque la lesión no es constante, en los hígados de los fetos a menudo se encuentran focos necróticos grisáceos.

El útero puede presentar lesiones de una endometritis catarral.

Los cotiledones están ligeramente aumentados de tamaño, congestionados y con áreas grisáceas de necrosis.

Unos corderitos pueden nacer prematuramente y morir en las primeras horas de vida.

El diagnóstico de la enfermedad se debe siempre hacer por el aislamiento del germen, especialmente de los materiales abortados, porque las pruebas serológicas son de poco valor para el diagnóstico.

En base a los últimos trabajos experimentales, se llegó a la conclusión de que la aglutinación sobre suero sanguíneo no tiene valor para el diagnóstico de la vibriosis en las ovejas, pues en los animales infectados natural y artificialmente se observó que, aunque los títulos aglutinantes están siempre presentes en el suero sanguíneo en el estado agudo

de la infección, después del aborto disminuyen rápidamente y el 95% de los animales que han abortado son negativos a la aglutinación al parto siguiente.

Es indispensable tener siempre presente que, por los imperfectos conocimientos que hasta el momento se tienen sobre la estructura antigénica de los *Vibrios* fetus de origen ovino, se deberá hacer la prueba con varios antígenos o mejor usando antígenos preparados con cepas aisladas de los brotes.

Anteriores investigaciones sobre la prueba de aglutinación fueron hechas por Mc. Fadyean y Stockman (1913)⁴³, Welch y March (1925)⁷⁶, Knuth y David (1928)²⁹, Buxton (1929-1930)¹⁰, Ryff (1940)⁶⁰, Lee y Scrivner (1941)³⁶, Blakemore y Gledhill (1946)³, Levi (1950)³⁸ y March y Tunnicliff (1955)⁴².

Baker y Stone (1939)¹, Riff (1941)⁶¹, Biswal y Col. (1953)², March y Col. (1954)⁴¹ demostraron que difícilmente los abortos en un rebaño se pueden observar por dos años seguidos.

Las ovejas que no abortaron o se quedaron estériles después de la infección natural, como también las que abortaron, generalmente en la preñez siguiente dan cría normalmente, sin mostrar evidencia de infección. (Firheammer y Col., 1956)¹⁶.

Jensen y Col. (1957)²⁷ demostraron que los animales que habían abortado eran resistentes a la infección experimental por vía oral con tejidos fetales; se observó también un aumento de la resistencia infectando las ovejas vírgenes mediante contacto con el *Vibrio* fetus. Hasta el momento no se conoce bien la duración del período de inmunidad.

Por lo que se refiere a la inmunización de ovinos mediante vacunas, no es mucho lo que se encuentra en la literatura.

Miller y Jensen (1961)⁴⁶ después de haber inoculado gérmenes vivos y gérmenes formolados por vía subcutánea antes del salto, infectaron los animales al inicio del quinto mes de gestación por vía oral y por cohabitación. Mientras no se observaron abortos en los animales inoculados con gérmenes vivos, en los inoculados con gérmenes formolados abortó el 28% cuando la infección se efectuó por vía oral y solamente el 4% cuando se hizo por cohabitación; de los controles abortó respectivamente el 48 y 38%.

Ryff y Breem (1956)⁶³ encontraron que las cepas de *Vibrio* fetus de origen ovino eran sensibles "in vitro" a varios antibióticos, pero no a la bacitracina.

Los mismos autores demostraron también que en condiciones naturales, cuando se interviene en un rebaño infectado y se tratan los animales con una sola dosis de polimixina B, estreptomycinina o terramicina, no se obtienen resultados satisfactorios, por su corta persistencia en la sangre en concentraciones terapéuticas.

Como sucesivamente ha sido demostrado por numerosos autores, para lograr buenos resultados se necesita que los antibióticos sean suministrados repetidamente.

Frank y Col. (1958)²¹ reportaron que con la clorotetraciclina suministrada en cantidad de 80 y 400 mg. diarios por oveja (empezando 11 días antes de la infección hasta el parto) reduce notablemente el porcentaje de abortos.

De acuerdo con los resultados obtenidos en 1958, Frank y Col. (1959)²² concluyeron que: a) Las ovejas, tratadas con antibióticos, que abortan, tienen un período de incubación más largo que los controles no tratados; b) Por el hecho de que el *Vibrio fetus* se ha podido aislar del moco vaginal, de ovejas infectadas y tratadas con antibióticos, que dieron cría normalmente, se puede pensar que los tratamientos no en todos los casos eliminan completamente la infección; c) La clorotetraciclina mezclada con los alimentos puede perder un poco de su potencia (1.0%); d) Con la clorotetraciclina en razón de 80 mg. diarios por cabeza, mezclada en los alimentos durante 27 días antes de la infección oral, hasta el momento de la cría, se observaron abortos en un 15% de los animales; e) Con dos inyecciones de penicilina y de hidroestreptomina, practicadas el quinto y sexto día después de la infección y la administración oral diaria (hasta el momento de la cría) de clorotetraciclina, también suministrada 5 días después de la infección, se observó un 12% de abortos; f) Por el hecho de que las ovejas que anteriormente se infectaron y trataron con el clorotetraciclina resistieron en el 87% de los casos a la infección practicada en la preñez siguiente, se puede pensar que el suministro de los antibióticos no interfiere sobre el desarrollo de la inmunidad; los autores no excluyen que los animales usados para esta prueba se hayan podido inmunizar por contacto con los animales infectados después del término del tratamiento; g) Los controles no tratados abortaron en proporción del 71%.

Hulet y Col. (1960)³², en un rebaño naturalmente infectado, observaron que suministrando clorotetraciclina mezclada con los alimentos (80 mg. diarios) aumentaba el porcentaje de las ovejas que daban cría normalmente, del 8 al 10% sobre los controles no tratados este porcentaje sube al 13 y 17% cuando por dos días seguidos se inocula también penicilina y estreptomina.

Como la infección se verifica por vía oral, las medidas profilácticas que inmediatamente se deberán tomar serán el aislamiento de las ovejas que han abortado y la cremación de los fetos y membranas fetales.

Serán aconsejables también las desinfecciones de los corrales y el control de los animales que se adquieran (ovejas portadoras).

Aunque en condiciones naturales la vibriosis es una enfermedad característica de las especies bovina y ovina, en estos últimos tiempos han sido descritas también localizaciones del *Vibrio fetus* y el *Vibrio bobulus* en el hombre; los gérmenes se aislaron de pústulas cutáneas, de hemocultivos hechos a enfermos que presentaban fiebre, lesiones del aparato respiratorio y cefalea y en casos de endocarditis y tromboflebitis.

En este trabajo, que en base a la literatura consultada se puede considerar el primero realizado en Colombia sobre vibriosis en ovinos, se describen los resultados de las investigaciones sobre *Vibrio fetus* en úteros y válvulas ileocecales de ovejas normales, sacrificadas en el Matadero Municipal de Bogotá.

PARTE II PRACTICA

Materiales y métodos

1º—Técnicas usadas para el aislamiento del *Vibrio fetus* de los úteros y válvulas ileocecales. (Tabla I).

Para la recolección de los úteros se ha tenido en cuenta la edad de los animales.

También se intentó el aislamiento del *Vibrio fetus* de las válvulas ileocecales de varias ovejas cuyos úteros se examinaron.

Los medios usados fueron el agar bovino + 10% de sangre de cordero (I. Z. C.)²⁵ y el medio "Thiol" (Difco)¹².

a) Agar bovino + 10% de sangre de cordero:

Infusión bovina	1.000 c. c.
Peptona	10 g.
Sodio cloruro	5 g.
Agar	20 g.
pH 7.2, 7.4.	

Disolver los varios elementos al 121° C por 1 hora, filtrar sobre gasa, controlar el pH y envasar. A la temperatura de 55°-60° C agregar la sangre de cordero y versar en cajas de petri de vidrio (100 x 10).

Para la preparación de la infusión bovina, por cada kg. de carne bovina molida agregar 2 litros de agua destilada; dejar la mezcla toda la noche en la nevera, cocerla 1 hora y filtrarla sobre gasa y algodón.

La sangre de cordero que se agregó al agar estaba conservada en Alsever (partes iguales), el cual se preparó según la fórmula recomendada por Bukantz y Col. (1946)⁹:

Glucosa	20.5 g.
Sodio citrato	8 g.
Sodio cloruro	4.2 g.
Acido cítrico	0.55 g.
H ₂ O destilada	1.000 c. c.
pH 6.1.	

Medio "Thiol".

b):

Proteosa peptona N° 3	10 g.
Extracto de levadura ..	5 g.
Dextrosa	1 g.
Sodio cloruro	5 g.
"Thiol complex"	8 g.
Agar	1 g.
Acido p. aminobenzóico	0.05 g.
H ₂ O destilada	1.000 c. c.
pH 7.2.	

Resuspender 30 g. de medio en 1.000 c. c. de agua destilada y hacer hervir; envasar en tubos de ensayo 16 x 150 (5 c. c. por tubo) o en tubos de serología 12 x 75 (2.5 c. c. por tubo) y esterilizar. En la mayoría de los casos se usaron tubos de serología.

Al agar bovino + 10% de sangre de cordero, para los exámenes de las válvulas ileocecales, se le agregó verde brillante 1:40.000 como lo recomienda Florent (1956)¹⁹.

Los cultivos en agar sangre siempre se incubaron en atmósfera con aumentada tensión de CO₂ (10%) y los en medio "Thiol" en aerobiosis, después de haber sustituido los tapones de algodón con tapones de caucho o corcho esterilizados en parafina.

Los primeros cultivos de todas las muestras siempre se hicieron en agar bovino + 10% de sangre de corde-ro y se eximanron a las 48 horas para eliminar las cajas contaminadas y a los cinco días para la lectura definitiva.

De las colonias sospechosas se hicieron frotis que se colorearon con el método de Gram y para el trasplante de las colonias postivas se utilizó medio "Thiol".

2º—Pruebas bioquímicas (Tabla II).

Las pruebas bioquímicas se hicieron comparándolas con cepas ya clasificadas, recibidas del exterior (*Vibrio fetus* "venerealis" e "intestinalis" y *Vibrio bobulus*) y con cepas aisladas en Colombia (*Vibrio fetus* "venerealis").

Se usaron las cepas colombianas aisladas de feto (354-C0; F. 394), de moco vaginal (333-C0. M. V. I.) y de lavados prepuciales (300-C0. T. 1, L. P. y 322-C). T. 26 L. P.)

De las cepas recibidas del exterior las pruebas se hicieron: a) *Vibrio fetus* "venerealis" = 356-E. 611 (Van Drimmelen)⁷², 314-E. 1, 315-E. 50 (Van Waveren)⁷³ y 312-E. 1.336 (Florent)¹⁸ b) *Vibrio fetus* "intestinalis" 311-E. 7.572, 313-E. 661 (Florent)¹⁸, 317-E. 110, 318-E. 177 y 319-E. 188 (Van Waveren)⁷³; c) *Vibrio bobulus* 310-E. *Vibrio bobulus* (Florent)¹⁸.

Para la clasificación, se hicieron primero las pruebas indispensables para diferenciar los "Vibrio" patógenos de los apatógenos y después, las aconsejadas para diferenciar el tipo "venerealis" del "intestinalis". Para todas las siembras se usó una ansada (ansa de 4 mm.) de un cultivo pro-

veniente de medio "Thiol" de 3-5 días y las lecturas se hicieron al ter-ter y sexto día de la siembra.

Pruebas bioquímicas

a) Actividad catalásica:

Se empleó técnica descrita por Bryner y Frank (1955 a)⁷ usando cultivos de 3 días en medio "Thiol".

Agregar H_2O_2 en la misma cantidad del medio: sustituir los taponés normales de caucho por otros con tubo capilar: señalar con lápiz de cera el punto al cual llega el H_2O_2 3% + medio y hacer la lectura después de 20 minutos (temperatura ambiente).

Considerar catalasa negativos los cultivos entre los cuales solo 5 mm. o menos del líquido han sido removidos por el gas y catalasa positivos aquellos que presenten una remoción mayor.

b) Producción de H_2S :

Se sembraron en medio "Ferric chloride gelatin" + el 0.1% de agar (I. Z. C.)²⁵ y en caldo Martín con y sin el 0.02% de cistina. (Florent, 1960²⁰; Laing, 1960)³⁴.

1—"Ferric chloride gelatin" + 0.1% de agar".

Extracto de carne	7.5 g.
Peptona	25 g.
NaCl	5 g.
Agar	1 g.
Gelatina	120 g.
FeCl (4H ₂ O) sol. 10%	5 g.
Agua destilada	1.000 c. c.
pH 6-7.2.	

Disolver los varios elementos a 121° C por 30 minutos y a temperatura de 70-80° C agregar la solución de FeCl₂ (4 H₂O).

Después de la siembra se pueden observar las siguientes modificaciones:

Gelatina + (licuefacción y H₂S + (ennegrecimiento del medio).

Gelatina + y H₂S —.

Gelatina — y H₂S +.

Gelatina — y H₂S —.

2—Caldo Martín con y sin el 0.02% de cistina.

Solución de peptona:

1—Lavar en agua corriente los estómagos de cerdo, quitar la grasa y picar finamente; 2) Tejido picado y 200 g., HCl puro 10 c. c., agua 1.000 c. c.; 3) Mantener la mezcla al baño maría por 24 horas y después ponerla en autoclave a 100° C por 30 minutos; 4) Filtrar, envasar y llevar al autoclave por 30 minutos a 115° C.

Infusión de carne:

1) Carne de vaca, magra y picada 500 gr., agua destilada 1.000 c. c.; 2) Dejar reposar la mezcla a temperatura de laboratorio por 24 horas; 3) Exprimir con un lienzo y añadir 15 g. de NaCl.

Composición final del medio: Caldo Martín:

Mezclar 500 c. c. de solución de peptona con 500 c. c. de infusión de carne y calentar a 70° C. Ajustar el pH a 7.2 y llevar al autoclave por 15 minutos, a 115° C. Filtrar, esterilizar a vapor fluente por 30 minutos, agre-

gar el 0.1% de agar previamente disuelto y, si es el caso el 0.02% de cistina. Envasar y controlar la esterilidad. Las tiras de papel de filtro se prepararon mojándolas en una solución de 10% de acetato de plomo, según la técnica aconsejada por el Laboratorio Veterinario de Weybridge (1954)³³ para investigar producción de H₂S en brucelas.

Las tiras de papel, impregnadas con la solución de acetato de plomo, se usaron solamente para el caldo Martín y no para el medio "Ferric chloride gelatin" porque, como se describió antes la producción de H₂S está caracterizada por el ennegrecimiento del mismo medio.

c) **Desarrollo en medios de cultivo con distintas concentraciones de NaCl:** 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, 3.5%, 4%, 4.5%, 5%.

Se utilizó medio "Thiol", al cual se habían agregado las concentraciones NaCl antes descritas: en los cálculos siempre se ha tenido presente que el medio normal contenía ya una concentración de NaCl de 0.5%.

d) **Desarrollo en medios de cultivo con el 1% de glicocola:**

Al medio "Thiol" agregar el 1% de glicocola y esterilizar a 121° C por 15 minutos.

e) **Características de desarrollo por punción profunda:**

También en este caso se usó la misma técnica descrita por Bryner y Frank (1955 a)⁷ sembrando por punción profunda las varias cepas en medio "Thiol", al cual se había agregado el 0.15% de agar.

TABLA I

Resultados de la investigación para el aislamiento del Vibrio fetus de los úteros de las ovejas sacrificadas en el matadero

Número total de ovinos sacrificados en los primeros 8 meses del año	4.482
Número total de machos sacrificados	3.684 (82.19%)
Número total de hembras sacrificadas	798 (17.81%)
Número total de úteros examinados y % frente al número de hembras sacrificadas	488 (61.15%)
Número total de los úteros examinados con fetos y % de estos frente a los úteros sin fetos	98 (20.08%)
Número de los úteros de los cuales se aisló el Vibrio fetus	2 (0.409%)
Número de válvulas ileocecales examinadas y % frente a los úteros	87 (17.82%)
Número de válvulas ileocecales positivas a Vibrio fetus	0 (0%)

TABLA II

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS

	Actividad Catalásica	Producción de H ₂ S			Desarrollo en medio hipertónico (3,5% de NaCl).	Desarrollo en medio alcohólico (0,1% de glicocola).	Desarrollo por punción profunda.
		"Ferrio ohl-ríde gelatin + 0,1% de agar.	Caldo				
			Sin el 0,02% de cistina.	Más el 0,02% de cistina.			
Cepas aisladas de los úteros de ovejas.							
344 -CO. -0.1	+	-	±	++++	-	+	-
333 -CO. -0.2	+	-	±	++++	-	+	-
Cepas de Vibrio fetus "intestinalis".							
311 -E. 7572	+	-	±	++++	-	+	-
313 -E. 661	+	-	±	++++	-	+	-
317 -E. 110	+	-	±	++++	-	+	-
318 -E. 177	+	-	±	++++	-	+	-
319 -E. 188	+	-	±	++++	-	+	-
Cepas de Vibrio fetus "veneralis".							
354 -CO. -F. 394	+	-	-	-	-	-	-
333 -CO. -M.V.1	+	-	-	-	-	-	-
300 -CO. -F.1.L.F.	+	-	-	-	-	-	-
322 -CO. -E.26 L.F.	+	-	-	-	-	-	-
356 - E. 61	+	-	-	-	-	-	-
358 - E. 611	+	-	-	-	-	-	-
314 - E. 1	+	-	-	-	-	-	-
315 - E. 50	+	-	-	-	-	-	-
312 - E. 1336	+	-	-	-	-	-	-
Vibrio bobulus							
310 - E. Vibrio bobulus	-	++++	++++	++++	+	+	+

Resultados

Sobre un total de 488 úteros examinados se aislaron gérmenes con morfología características de "Vibrio" en dos (Tabla I).

De los úteros examinados, 98 (20.8%) tenían fetos (Tabla II).

De las 87 válvulas ileocecales examinadas, cuyo porcentaje frente a los úteros fue del 17.82% ninguna resultó positiva (Tabla I).

Ambos gérmenes con las características morfológicas de "Vibrio" aislados en la presente investigación, cuando se les controló la actividad catalásica desplazaron más de 5 mm. del medio; 35 mm. la cepa 344-C0-0.1 y 29 mm. la cepa 353-C0-0.2 (Tabla II).

También todas las otras cepas de control (Vibrio fetus "venerealis" e "intestinalis"), a excepción del Vibrio bobulus demostraron actividad catalásica (Tabla II).

Solo el Vibrio bobulus produjo H_2S en el medio "Ferric chloride gelatin", mientras que en el caldo Martín + el 0.02% de cistina produjeron este gas solo las cepas clasificadas como Vibrio fetus "intestinalis", el Vibrio bobulus y las dos cepas aisladas de los úteros (Tabla II).

Todas estas cepas se desarrollaron también en el medio "Thiol" más el 1% de glicocola, (Tabla II).

En el caldo Martín sin el 0.02% de cistina, mientras la producción de H_2S por parte del Vibrio bobulus ha sido evidéntísima (ennegrecimiento de toda la tira del papel de filtro), con los "Vibrios" de tipo "intestinalis", como con los aislados de ovejas, al sexto día se observó un ligero en-

negrecimiento de la punta de las tiras; este ennegrecimiento no era visible al tercer día de la lectura.

Por punción profunda, a todo lo largo de la línea de siembra y en los medios con el 3.5% de NaCl, se desarrolló sólo el Vibrio bobulus.

Todos los Vibrios fetus "venerealis", dos cepas del tipo "intestinalis" (317-E. 110 y 319 E. 188) y una de las cepas aisladas en esta investigación (344-C0. 0.1) se multiplicaron en concentraciones máximas de NaCl del 1.5%, mientras que tres cepas del tipo "intestinalis" (311-E. 7.572, 313-E. 661 y 318 E. 177) y una aislada al Matadero (353-C0-0.2) se desarrollaron en concentraciones de NaCl del 2%.

Discusión

Del 0.409 de los úteros de ovejas normales, sacrificadas en el Matadero Municipal de Bogotá, se aislaron gérmenes en forma de coma y S incompleta, móviles y Gram-negativos que se clasificaron: a) Por sus características morfológicas, como gérmenes pertenecientes a la familia "Spirillaceae Migula, 1884 y al género Vibrio Müller, 1773"; b) Por la necesidad de una aumentada tensión de CO_2 al primer aislamiento, por la actividad catalásica, la ausencia de producción de H_2S y la falta de desarrollo a lo largo de la línea de siembra por punción y en los medios hipertónicos, como "Vibrio fetus Smith y Taylor, 1919"; c) Por la producción de H_2S en caldo Martín + 0.02% de cistina y por su desarrollo en medios + el 1% de glicocola, como Vibrio fetus Smith y Taylor 1919" tipo "intestinalis" (Florent, 1960)²⁰.

El agar sangre, más verde brillante 1:40.000, se demostró un buen medio para el aislamiento del *Vibrio fetus* de los materiales contaminados (válvulas ileocecales).

Macroscópicamente las colonias, se presentaron ligeramente rosadas, transparentes y de bordes bien definidos.

En los dos úteros que dieron resultado positivo se observaron como máximo 4 colonias por caja.

CONCLUSIONES

1ª—Por medio de investigación sobre úteros de ovejas normales, sacrificadas en el Matadero Municipal de Bogotá, queda comprobada por primera vez en Colombia la presencia en las ovejas del *Vibrio fetus* "Smith y Taylor, 1919", del tipo "intestinalis" (Florent, 1960)²⁰.

2ª—El porcentaje de positividad, 0.409% (2 úteros sobre 488 examinados), no puede dar una visión exacta de la enfermedad en el país, porque en las ovejas la vibriosis no se puede considerar como una infección venérea.

3ª—La enfermedad hasta el momento no ha sido diagnosticada en forma clínica, probablemente por el hecho de no existir grandes rebaños en Colombia y también porque en muchos casos de abortos no se llevan las muestras al laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

1. **Baker D. W. y Stone W. S.**—(1939). A study of *Spirillum ovis* infection in a group of ewes maintained under observation for two successive lambing seasons, *Cornel Vet.* 29, 32.
2. **Biswal G., Rhoades H. E., Barto P. B. y Morrill C. C.**—(1953). Observations of an outbreak of vibriosis in sheep, *J. A. V. M. A.*, 123, 410.
3. **Blakemore F. y Gledhill A. W.** (1946). Studies on vibrionic abortion of sheep; the agglutination test as a mean of diagnosis, *J. Comp. Path. and Therap.*, 56, 69.
4. **Bond M.**—(1957). Characteristics of colonial forms of *Vibrio fetus* *Am. J. Vet. Research*, 18, 449.
5. **Breed R. S. Murray E. D. G. y Smith N. R.**—(1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Seventh Edition, Baltimore, The Williams y Wilkins Company.
6. **Bryans J. T. Smith A. G. y Baker A. J.**—(1959). Ovine vibrionic abortion caused by a new variety of vibrio, *Cornell Vet.* 49, 54.
7. **Bryner F. H. y Frank A. H.**—(1955 a). A preliminary report on the identification of *Vibrio fetus*, *Am. J. Vet. Research*, 16, 76.
8. **Bryner F. H. y Frank A. H.**—(1955 b). Laboratory techniques for isolation and propagation of vibrio from cattle, *Am. J. Vet. Research*, 16, 634.
9. **Bukantz S. C., Rein C. R. y Kent J. F.**—(1946). Studies in complement fixation. Preservation of sheep's blood in citrate dextrose mixtures (modified Alsever's solution) for use in the complement fixation reaction, *J. Labor. Clin. Med.*, 31, 394.
10. **Buxton J. B.**—(1929, 1930). A note on *Vibrio fetus ovis* in the ram, *First Report Institute of Animal Pathology' University of Cambridge, England*, pág. 47.

11. **Carpenter G. M.**—(1929). Researches upon a spirillum associated by abortion in ewes, Report N. Y. State Vet. College, pág. 129.
12. **Difco Laboratories Incorporated.** Detroit 1, Michigan, E. U. A.
13. **Di Liello L. R., Poelma L. S. y Faber J. E.**—(1959). Biochemical and serological separations of some members of the genus vibrio, Am. J. Vet. Research, 20, 532.
14. **Eide G. W. y Helle O.**—(1957). Studies on genital vibriosis in sheep, Am. J. Vet. Research, 18, 868.
15. **Eide G. W. y Helle O.**—(1959). The persistence of genital vibrio infection in a herd of sheep after an outbreak of vibronic abortion, Am. J. Vet. Research, 19, 887.
16. **Firheammer B. D., March H. y Tunnicliff**—(1956). The role of the ram in vibriosis of sheep. Am. J. Vet. Research, 17, 573.
17. **Firheammer B. D., y Lovelace S. A.**—(1961). The isolation of *Vibrio bobulus* (Florent) from sheep, Am. J. Vet. Research, 22, 449.
18. **Florent A.**—(1956). Methode d'isolement de *Vibrio fetus* a partir d'échantillons polymicrobiens spécialement du liquide préputial Milieu selectif "coeur-sang gelose au vert brillant" en microaerobiose, C. R. Soc. Biol., 1, 059.
19. **Florent A.**—Ministere de l'Agriculture, Institut National de Recherches Veterinaires, Uccle-Bruxelles (Belgica).
20. **Florent A.**—(1960). Les deux vibrioses genitales: la vibriose due a *V. fetus venerealis*, et la vibriose d'origine intestinale due a *V. fetus intestinalis*, Institut National de Recherches Veterinaires, Uccle (Belgica).
21. **Frank F. W. (Meinershagen W. A., Scrivner L. H. y Bailey J. W.)** (1958). Chlorotetracycline as a preventive of vibronic abortion of sheep, J. A. V. M. A., 132, 24.
22. **Frank F. W., Meinershagen W. A., Scrivner L. H. y Bailey J. W.** (1959). Antibiotics in the control of vibriosis of ewes, Am. J. Vet. Research, 20, 973.
23. **Henry B.**—(1933). J. Infect. Dis, 52, 374; citado por Ristic y Col. (1956).
24. **Herzberg M. y Ristic M.**—(1955); citados por Bond (1957).
25. **Instituto Zooprofiláctico Colombiano**—Técnicas del Laboratorio. Medios de Cultivo. Bogotá, Colombia.
26. **Jansen J. y Kunst H.**—(1951). Dijdschr Diergeneesk., 76, 778; citados por Webster y Thorp (1953).
27. **Jensen R., Miller V. A., Hammarlund M. A. y Graham, W. R.** (1957). Vibronic abortion in sheep. Transmission and immunity, Am. J. Vet. Research, 18, 326.
28. **Kiggins E. M. y Plastridge W. N.** (1958). Some metabolic activities of *Vibrio fetus* of bovine origin, Journ. Bact. 75, 205.
29. **Knuth P. y David W.**—(1928). Beobachtungen und untersuchungen über spirillen als urseache ansteckenden varwefens beim rind und schaf, Zeitschr. f. Infektionskr., 33, 19.
30. **Kuzdas C. D. y Morse E. V.** (1956). Physiological characteristics differentiating *Vibrio fetus* from other vibrios, Am. J. Vet. Research, 17, 331.

31. **Kuzdas C. D. y Morse E. V.** (1956 b). A selective medium for the isolation of *Vibrio fetus* and related vibrios, *Journ. Bact.* 71, 251.
32. **Hulet C. V. Ercan Brack S. K., Price D. A., Humphrey R. D., Frank F. W. y Meinershagen W. A.**—(1960). Effects of certain antibiotics in the treatment of *Vibriosis* in sheep. *Am. J. Vet. Research*, 21, 441.
33. **Laboratorio Veterinario de Wybridge**—(1954). Methodes de Laboratoire pour le diagnostic de la brucellose, *Etudes agricoles de la FAO*, N° 25, pág. 101.
34. **Laing J. A.**—(1960). La *vibriosis* genital de los bovinos, *F. A. O. Estudios agropecuarios*, N° 32.
35. **Lecce J. G.**—(1958). Some biochemical characteristics of *Vibrio fetus* and other related *vibriosis* isolated from animals. *Journ. Bact.*, 76, 312.
36. **Lee A. M. y Scrivner L. J.**—(1941): Experimental work recent outbreaks of abortion in ewes, *Am. J. Vet. Research* 2, 50.
37. **Lerche P.**—(1927). *Deut. Tierärztl. Wochschr.*, 35, 484; citado por varios autores.
38. **Levi M. L.**—(1950). The agglutination test in *vibrionic* abortion of sheep, *J. Com. Path. and Therap.*, 60, 65.
39. **Liess B.**—(1958). *Monatsch. für Tierheilk.* 10, 267; citado por Florent (1960).
40. **Lindstruth R. W. Archcraft J. B. y Ward, B. Q.**—(1949). Studies on *vibrionic* abortion of sheep, *J. A. V. M. A.*, 114, 204.
41. **Marsh H., Firheammer B. D. y Scrivner H. L.**—(1954). The negative role of the ewe in transmission of *vibriosis* of sheep, *Am. J. Vet. Research*, 15, 352.
42. **March H. y Tunnicliff E. A.**—(1955). The diagnostic significance of the agglutination reaction for *vibriosis* in sheep, *J. A. V. M. A.*, 126, 101.
43. **Mc. Fadyean J. y Stockman S.** (1913). Report of the Departmental Committee Appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to inquire into epizootic abortion, *Par. I y II*, London.
44. **Miller V. A. y Jensen R.**—(1955). Datos no publicados, Colorado State University, Fort Collins; citados por Miller y Col. (1959).
45. **Miller V. A. Jensen R. y Gilroy J. J.**—(1959). Bacteremia in pregnant sheep following oral administration of *Vibrio fetus*, *Am. J. Vet. Researcher*, 20, 677.
46. **Miller V. A. y Jensen R.**—(1961). Experimental immunization against ovine *vibriosis*. The use of live and formalin killed *Vibrio fetus* vaccines, *A. J. Vet. Recherche* 22, 43.
47. **Mitserlic y Liess B.**—(1958). *Daut. Tierärztl. Wochchr.*, 65, 36; citados por Florent (1960).
48. **Morgan W. J. B.**—(1959). *J. Comp. Pathol y Ther.* 69, 125; citados por Florent (1960).
49. **Morse E. V. y Ristic M.**—(1954). Experimental *Vibrio fetus* infections in guinea pigs pathogenicity Studies and effects of guinea pig passage upon agglutinogens, *Am. J. Vet. Research*, 15, 599.

50. **Plastridge W. N.** y **Williams L. F.** (1943). Observations on *Vibrio fetus* infection in cattle, *J. A. V. M. A.*, 102, 89.
51. **Power J. H.**—(1958). A note on the isolation of *Vibrio fetus* from bull semen by direct cultivation, *Vet. Record.*, 70, 237.
52. **Ristic M.** y **Morse E. V.**—(1953). Experimental *Vibrio fetus* infection in guinea pigs. Bacteriological aspects, *Am. J. Vet. Research*, 14, 399.
60. **Ryff J. F.**—(1940). Vibrionic abortion in Michigan sheep, *J. A. V. M. A.*, 97, 452.
61. **Ryff J. F.**—(1941). Failure of natural *Vibrio fetus* infections to carry over in ewes, *Am. J. Vet. Research*, 2, 367.
62. **Ryff J. F.** y **Lee A. M.**—(1945). *Vibrio fetus* in sheep, *Am. J. Vet. Research*, 6, 149.
63. **Ryff J. F.**—(1956). In vitro and vivo use of antibiotics against *Vibrio fetus*, *J. A. V. M. A.*, 128 521.
64. **Schneider D. W.** y **Morse E. V.** (1955). The growth and viability of *Vibrio fetus* and related vibrios in media containing oxbile *Cornell Vet.*, 45, 84.
65. **Sjollema P.**, **Stegenga T. H.** y **Terpstra J. L.**—(1949). Infectique sterility of cattle caused by *Vibrio fetus*, *Proc-14th Intern Vet. Congr. London*, 3, 123.
66. **Stockman S.**—(1919). Vibrionic abortion, *J. A. V. M. A.*, 55, 499.
67. **Terpstra J. I.** y **Eisma W. A.** (1951). *Tijdschr. Dierhenneskr* 76, 433; por Florent (1960).
68. **Terspra J. I.**—(1954). *Vibriose bovine*, *Bull. Off. Int. Epizoot Rapport XXII Session*, pág. 352.
69. **Thoutvenot H.** y **Florent A.** (1954). Etudes d'un anaerobie du aperme du toureau et du vagine de la vache: *Vibrio bobulus* Florent (1953). *An. Institut Pasteur*, 86, 237.
70. **Tucker J. O.** y **Roberstad G. W.** (1956). Experimental vibriosis in sheep, *J. A. V. M. A.*, 129, 511.
71. **Tunncliff E. A.** y **March H.** (1954); citados por Tucker y Roberstad, (1956).
72. **Van Drimmelen C. C.**—Director of Veterinary Services, Department of Agriculture, Onderstepoort (Sur Africa).
73. **Van Waveren**—Director Central Diergeneeskundig Instituut, Afdeling Rotterdam (Holanda).
74. **Unpublished Data**—(1955). *Dest Of Vet. Sci. and Bact. Univ. of Wyoming, Laramie*, 1955.
75. **Webster H. D.** y **Thorpe F.** (1953). A study of the pathology of hembryonating chicken eggs inoculated with *vibrio fetus*, *Am. J. Vet. Research*, 14, 118.
76. **Welsh H.** y **March H.**—(1924). Vibrionic abortion in sheep, *J. A. V. M. A.*, 65, 203.
77. **Wiidik R. W.** y **Hlidar G. E.** (1955). *Zbl. Vet. Med.* 2, 238; citados por Laing (1960).
78. **Wilson J. B.** y **White P. G.** (1951). *J. Bact.* 61, 239; citados por Ristic y Col. (1956).
79. **White F. H.**, **Ristic M.** y **Sanders D. A.**—(1958). Infectivity of colonial variants of *Vibrio fetus* atrains for the chicken embryo, *Am. J. Vet. Research*, 19, 205.