

## ACCION DE LAS TOXINAS DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS TIPO A SOBRE EL ELECTROCARDIOGRAMA DE CONEJO

Rosana de Bernal, Bact. y Bióloga.  
Judith de Almansa, Microbiol. y M.Sc.  
Augusto Leyva, S., M.D.  
Gladys Fajardo C., Bióloga.

### RESUMEN

Se analizaron los electrocardiogramas de 10 conejos, inoculados por vía endovenosa, con un extracto toxigénico, rico en enterotoxina, producida por el *Clostridium perfringens* tipo A (NCTC 8798), en dosis de 0.5 ml./kg de peso. La toxina contenía 1.45 mg/ml de proteína. En los estudios E.C.G., se observó en algunos casos, desnivel discreto del intervalo ST, bloqueo incompleto aurículo-ventricular e isquemia del miocardio. Para uno de los casos, bloqueo completo aurículo ventricular, fibrilación y paro cardíaco, con posterior recuperación. Otras alteraciones fueron aplanamiento de la onda T y el desnivel de la onda J, se asocian éstos cambios con afección del subendocardio en la repolarización cardíaca. Las manifestaciones clínicas observadas post-inoculación consistieron en: lasitud, secreción nasal bilateral de consistencia serosa, disnea y diarrea.

### INTRODUCCION

Se han descrito por lo menos siete clases de toxinas producidas por el *Clostridium*

Respectivamente:

\* Profesora Asociada, U. Nal. de Colombia, Bogotá, A. A. 23227.

Profesora Asistente, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, U. Nal. de Colombia, Bogotá.

Cardiólogo Medicina Bio-energética, Hospital San Juan de Dios.

Instructora Asociada, U. Nal. Colombia. Bogotá.

*perfringens*, teniendo en cuenta sus características bioquímicas y fisiológicas, lo cual ha permitido su agrupación por tipos; en el tipo A, tienen marcada importancia la alfa y la enterotoxina. La alfatoxina o lecitinasa, está asociada con la gangrena gaseosa por sus efectos dermonecrotizantes y hemolíticos (7) y la enterotoxina es eritemal, vasodilatadora, productora de lesiones intestinales y alteraciones en la permeabilidad capilar y celular (4,11,12).

Estudios realizados en conejos sobre la acción de estas toxinas inoculadas en el lumen intestinal reportan: edema, hiper celularidad y descamación de las vellosidades intestinales. En intestino aislado, plicnosia y carlorrexis a nivel de las criptas de Lieberkhum, vacuolización de las neuronas y pérdida de las sustancias de Nissl en el plejo de Meissner (1,2,6).

Inyectada por vía endovenosa en ovinos, se ha observado diarrea, lacrimación, salivación, disnea, lasitud, recuperación y/o muerte (9). En bovinos, hiperemia en la mucosa del intestino, hidropericarditis y edema pulmonar (10). En equinos: edema, congestión de septos alveolares y miocardiitis multifocal (3).

Con el presente trabajo nos propusimos evidenciar las alteraciones funcionales y orgánicas del corazón, producidas por las toxinas del *Clostridium perfringens* tipo A, al ser inoculadas en conejos en dosis subletales. Estas alteraciones pueden ex-

plícar buena parte de la sintomatología descrita en la literatura, atribuidas a Infecciones o Intoxicaciones que aún no han sido bien esclarecidas.

## MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en 10 conejos cuyo peso oscilaba entre 2.000 y 2.500 gr., a los que se les inoculó toxina vía endovenosa, en proporción de 0.5 ml/kg., de peso corporal.

La obtención del extracto toxigénico se logró a partir de cultivos masivos de *Clostridium perfringens* tipo A (NCTC 8798). El medio de cultivo empleado fue el de Duncan-Strong, modificado por Mayorga y col (5). Los cultivos que presentaron óptima esporulación se precipitaron con el 10% de solución saturada de alumbre; éste precipitado fue centrifugado y sometido posteriormente a lisis por congelación - descongelación, el sobrenadante obtenido de la lisis contenía las toxinas, las cuales tenían una concentración de proteína de 1.45 mg/ml. Al inocular 0.5 ml. de éste extracto en ratones por vía endovenosa, les causaba al muerte en 20 minutos, debido al alto contenido de enterotoxina presente. El registro electrocardiográfico (E.C.G.) se llevó a cabo en un fisiógrafo NARCO BIOSYSTEM de cuatro canales, se utilizaron electrodos de aguja, los cuales se insertaron subcutáneamente en las extremidades anteriores y posteriores de los conejos. Se analizaron las gráficas correspondientes a la segunda derivación. Se hizo un registro con cada uno de los conejos antes de la aplicación de la toxina y post-inoculación durante 15 minutos continuos, a la hora, tres y 19 horas. Como control se inyectó un conejo con el diluyente libre de toxinas y se analizó utilizando los mismos intervalos de tiempo (Figura 1).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los animales al ser inoculados con el extracto toxigénico del *Clostridium perfringens*, manifestaron marcada lasitud, disnea secreción nasal ligeramente serosa, estornudos frecuentes, anorexia, exoftalmo y diarrea, primordialmente, durante las tres primeras horas post-inoculación. Este

cuadro clínico es compatible con el obtenido por otros investigadores, al inocular la toxina en ésta y otras especies susceptibles (3,6,9,10). Las lecturas de la frecuencia cardíaca en los conejos, pre-inoculación, mostraron un rango de variación entre 205 y 290 c/m (ciclos por minuto).

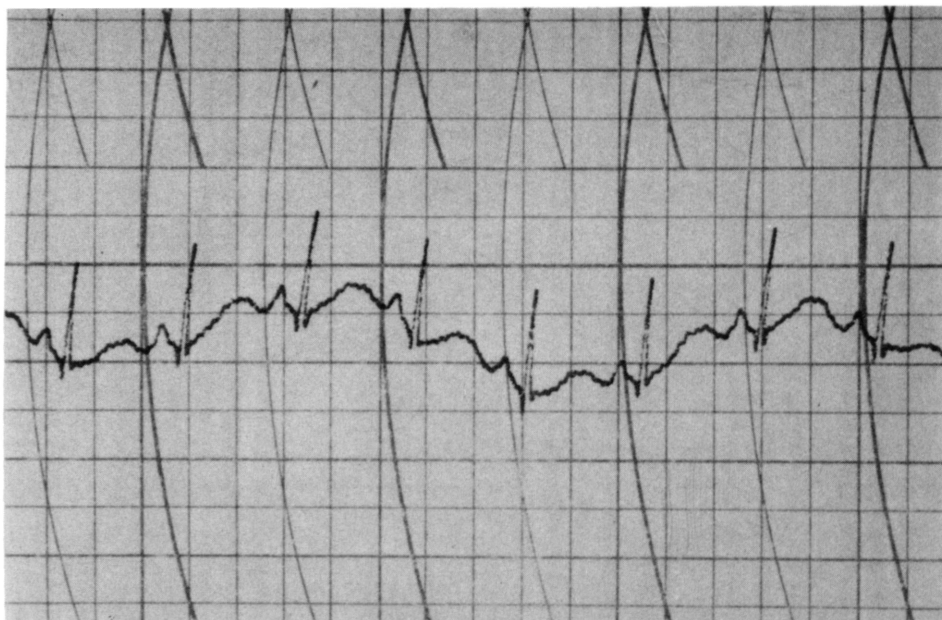
En los registros, post-inoculación, fueron relevantes los obtenidos en las tres primeras horas y en ellos, nueve casos presentaron un incremento de la frecuencia cardíaca con fluctuaciones de 12 y 66 c/m (promedio 22 c/m). En las gráficas que se analizaron a las 19 horas, la mayoría de los registros tendieron a hacerse cercanos a las obtenidas antes de la inoculación.

En el estudio de los E.C.G. se observó en cinco casos, desnivel discreto del intervalo ST, bloqueo incompleto aurículo ventricular e isquemia del miocardio; en algunos de éstos casos la onda P se fusionó con la onda T.

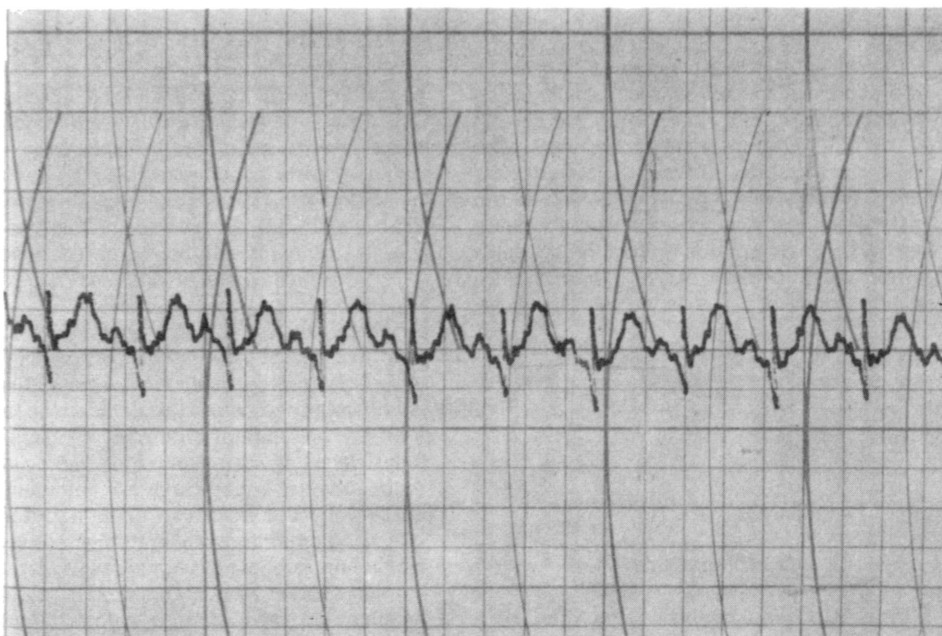
Hallazgos de mayor interés, lo constituyeron dos conejos cuyos registros gráficos se interpretaron así respectivamente: CONEJO No. 1: presencia de una onda Q profunda y algo mellada conformando un complejo ventricular QR, acompañada de un desnivel superior discreto de ST, imagen evocadora de una necrosis miocárdica persistente (FIGURA 2).

CONEJO No. 7: bloqueo completo aurículo ventricular y aspecto QR del complejo ventricular, con desnivel superior del intervalo ST muy importante que refleja una isquemia miocárdica severa y sobreaguda (FIGURA 3). Seguidamente el trazo se hizo isoelectrico significando un paro cardíaco, con reactivación posterior de actividad eléctrica del corazón, pero con las mismas alteraciones de isquemia aguda y necrosis del miocardio; posteriormente se sucedieron nuevos episodios de paro cardíaco alternado con periodo de alguna actividad eléctrica (fibrilación ventricular), en los momentos en que se practicaba masaje torácico externo (FIGURAS 4 y 5).

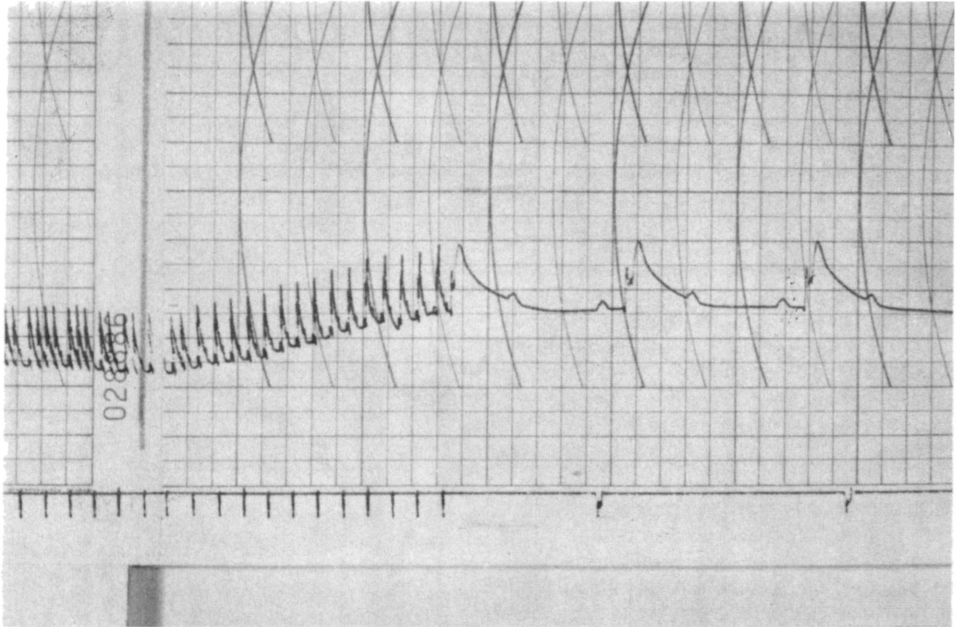
Otras alteraciones de interés lo constituyeron el aplanamiento de la onda T en cinco



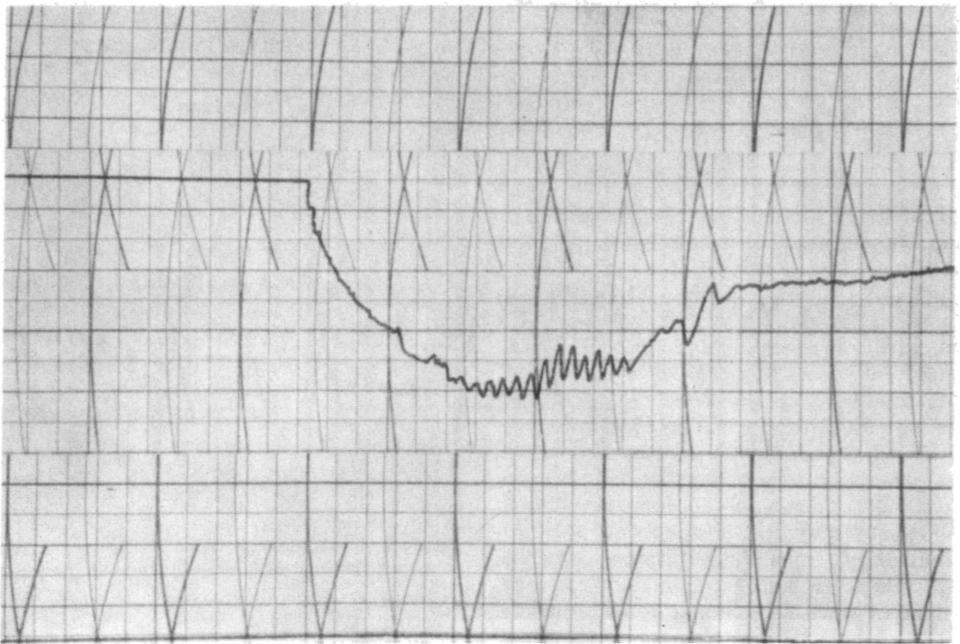
**FIGURA No. 1** Electrocardiograma normal del conejo



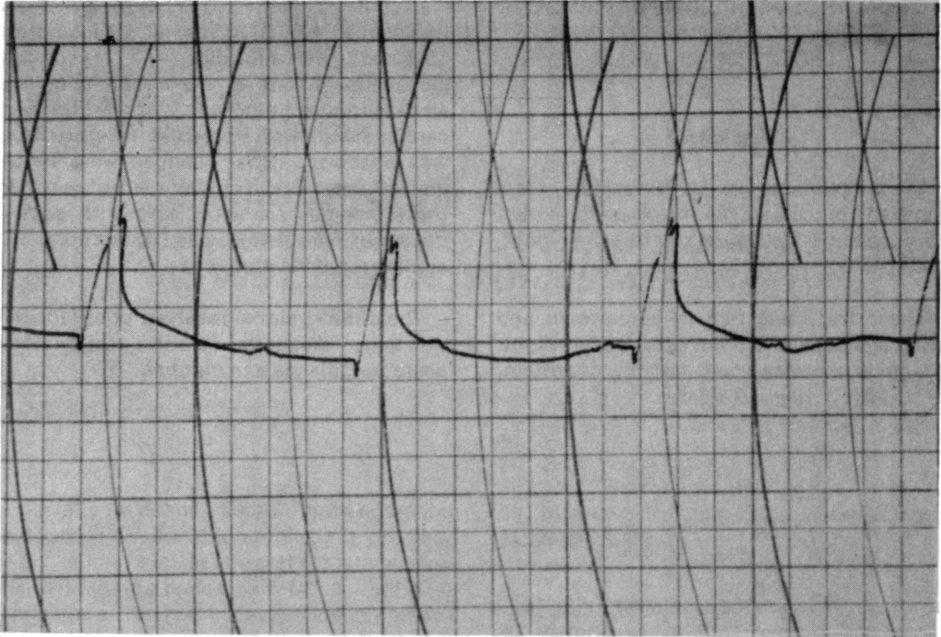
**FIGURA No. 2** Electrocardiograma de conejo inoculado con toxina de **Clostridium perfringens** tipo A. Observe la aparición de una onda Q profunda y mellada con desnivel superior de ST cconfigurando el aspecto de necrosis e isquemia del miocardio.



**FIGURA No. 3** Electrocardiograma de conejo inoculado con toxinas de **Clostridium perfringens** tipo A. Notese el bloqueo completo auriculo-ventricular



**FIGURA No. 4** ECG de conejo inoculado con toxinas de **Clostridium perfringens** tipo A. Presencia de paro cardiaco y periodos de fibrilación ventricular en el momento del masaje cardiaco externo.



**FIGURA No. 5** Electrocardiograma de conejo inoculado con toxinas del *Clostridium perfringens* tipo A. Persistencia del bloqueo aurículo ventricular y aspecto de isquemia sobreaguda y necrosis del miocardio

de los casos y el desnivel de la onda J detectada en seis E.C.G. Estos hallazgos también fueron descritos por Tseluch y col. (13), al estudiar el efecto de éstas mismas toxinas en gatos inoculados intramuscularmente y estudiar sus E.C.G. Los cambios en las ondas T y J se asocian con afección del subendocardio y con alteración en la repolarización cardíaca respectivamente.

La acción patológica de las toxinas sobre el miocardio se puede relacionar con alteraciones producidas directamente a nivel de membranas celulares, implicando el adecuado intercambio metabólico y traducido en cambios degenerativos, o ser éstos el resultado de procesos anóxicos como consecuencia de su acción sobre los vasos sanguíneos. Además, las alteraciones histopatológicas reportadas como apariencia granular del sarcoplasma, ruptura de las fibras y pérdida parcial de las estriaciones transversales de las fibras musculares, edema y necrosis coagulativa, compatible con infartos, (3,8,9) apoyan los resultados obtenidos en nuestro estudio.

Además de la acción directa de la toxina sobre diferentes órganos, existe la posibilidad de que parte de las alteraciones que se presentan en diversos órganos, sean la consecuencia de daños producidos a nivel del Sistema Nervioso Central, por consiguiente consideramos de importancia científica, seguir explorando los efectos fisiopatológicos de éstas toxinas para poder establecer su papel en la patología animal.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Comité de Investigaciones y Desarrollo Científico (CINDEC). A la Sección de Ciencias Fisiológicas de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

## ACTION OF CLOSTRIDIUM PERFRINGENS TYPE A TOXINS ON RABBIT'S ELECTROCARDIOGRAM

### SUMMARY

Electrocardiograms of 10 rabbits were analyzed, inoculated with toxigenic extract produced by *Clostridium perfringens* type A. (NCTC 8798).

The extract was rich in enterotoxin and given at a dose of 0.5 ml/kg of body weight. The toxin contained 1.45 mg/ml., of protein.

In some cases the E.C.G. showed discrete imbalance of ST interval, incomplete atrioventricular blockage and myocardial ischaemia. In one of the cases, complete atrioventricular blockage, fibrillation and cardiac failure with subsequent recuperation was observed. Other changes were flattening of wave T and impairment of wave J; these changes are associated with subendocardial problems and alterations in cardiac repolarization.

The clinical signs observed post-inoculation were: lassitude, serous nasal bilateral secretion, dysnea and diarrhea.

### REFERENCIA

1. BERNAL, R. de.; M. J. TORRES, M.; RUIZ, N. RUEDA y H. E. GONZALEZ. Acción de la esporotoxina del *Clostridium perfringens* en intestino aislado de conejo Rev. Lat. Amer. Microbiol. 23 (4): 207-211. 1981.
2. DOWELL, V. R.; M.J. TORRES-ANJEL.; H. P. RIEMANN.; M. MERSON. A new criterion for implicating *Clostridium perfringens* as the cause of food poisoning. Rev. Lat. Amer. Microbiol. 17: 137-142. 1975.
3. FIGUEROA, JUDITH.; Asociación entre esporotoxina del *Clostridium perfringens* y enterotoxemia equina. Tesis de grado Magister. Universidad Javeriana. 1979.
4. HAUSCHILD, A. Eritemal activity of the cellular enteropathogenic factor of *Clostridium perfringens* type A. Can. J. Microbiol. 16 (8): 651-654. 1970.
5. MAYORGA, E.; M. J. TORRES-ANJEL y J. FIGUEROA. Caracterización de una fracción que cromatográficamente antecede a la esporotoxina del *Clostridium perfringens*. Rev. Lat. Amer. Microbio. 20: 13-24. 1978.
6. Mc. DONEL, J. L. and C. L. DUNCAN. Regional localization of activity of *Clostridium perfringens* type A. Enterotoxin in rabbit, ileum, jejunum and duodenum. II. Infect. Dis. 136: 661-666. 1977.
7. MERCHANT, I. A.; and R. A. PACKER. Bacteriology and Virology, Seventh Edition. Iowa, State University Press. pp. 407-410. 1967.
8. NEIRA, R.; R. de BERNAL y J. FIGUEROA. Alteraciones histopatológicas en miocardio y pulmón de conejos inoculados con las toxinas del *Clostridium perfringens* tipo A ICA 18: 525-531. 1983.
9. NIILLO, L. The effect of enterotoxin of *Clostridium perfringens* on the systemic blood pressure of sheep. Rev. Vet. Sci. 13: 503-505. 1972.
10. NIILLO, L. Effect on calves of the intravenous injection of the enterotoxin of *Clostridium perfringens* type A. J. Comp. Path. 83: 265-269. 1973.
11. NIILLO, L. Measurement of biological activities of purified and crude enterotoxin of *Clostridium perfringens*. Infect. Imm. 12: 440-442. 1975.
12. SKJELKVALE, R.; H. TOLLESHANG and T. JARNUD. Binding of enterotoxin from *Clostridium perfringens* type A to liver cell in vivo and vitro. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 88 (2): 95-102. 1980.
13. TSELUKH, A. V.; R. F. MAKULKIN and G. N. KRYZHANOVSKY. Changes in the electrical activity of the cerebral cortex in intoxication caused by *Cl. perfringens* toxin, type A. Biull Eksp. Biol. Med. 82 (10): 1192-98. 1976.