

Contribución al estudio de los caracteres biológicos
y sensibilidad a los antibióticos del *Micrococcus*
Mastitidis Gangrenosae Ovis (Nocard, 1887)

PROF. DR. SANTOS OVEJERO
DR. MIGUEL DIEZ
DRA. R. PASCUAL

Entre las enfermedades del ganado lanar y cabrío, presenta interés, por la mortalidad que produce y los trastornos irreparables que ocasionan las graves lesiones mamarias, el proceso toxi-infeccioso denominado Mamitis Gangrenosa de la Ovejas y Cabras, en cuya etiología aparece como agente bacteriano más frecuente el *Micrococcus Mastitidis Gangrenosae Ovis*, de Nocard, y como posibles agentes que provocan graves trastornos secundarios, diversas especies bacterianas del género Clostridium, tal como el Cl. Perfringens, Cl. Septicum y otras especies menos importantes, como E. Coli, B. Tertius, etc.

La relativa obligatoriedad que el Reglamento de Epizootias de 26 de septiembre de 1933 establece en sus artículos 197-198, en cuanto hace referencia a la Mamitis Gangrenosa de las Ovejas y Cabras, justifican ampliamente la escasa casuística oficial que se registra en los datos oficiales de la Dirección General de Ganadería.

DATOS DE REFERENCIA

Año 1949.....	119	casos.
» 1950.....	76	»
» 1951.....	57	»
» 1952.....	—	»
» 1953.....	38	»
TOTAL.....	290	casos.

Con posterioridad a los trabajos de Rivolta (1875), cuyo autor aisla por primera vez el Micrococo Patógeno, Nocard (1886) describe los caracteres de este gérmen, que más tarde ha ocupado la atención de diferentes investigadores, como Mathis, Bride, Altara, Rosati, Pegreff, Leyshon y otros. Entre los españoles, han realizado trabajos sobre esta infección, Cayetano López, Vidal Munne, Colomo, Luque y Blanco Loizolier, este último con un estudio bacteriológico muy completo, en el que llega a conclusiones fundamentales sobre la etiología de la Mamitis Gangrenosa en España, valorando la importancia del *Micrococcus Mastitidis Gangrenosae Ovis* como agente etiológico de la infección en nuestros ovinos y caprinos.

Nuestras investigaciones realizadas sobre doce focos de la citada enfermedad, y estudiados en diferentes años, han confirmado para nuestra patria los resultados de BLANCO, aislando siempre el Micrococo o Estafilococo patógeno. Sin embargo, nos parece de interés el estudio bacteriológico de los focos que puedan aparecer, pues no debe desecharse la posibilidad de una asociación microbiana, que puede agravar la infección si en ella cooperan como agentes patógenos gérmenes anaerobios como los identificados por Weinberg, Forgeot, Carpano y otros, llegando a la etiología polimicrobiana a que hace referencia Basset, cuyo autor, una vez más, señala discrepancias no demostradas por la propia experimentación.

Consecuentes con el título de esta breve aportación, vamos a describir los caracteres estudiados en las cepas aisladas, y a la vez señaremos la acción inhibitoria de algunos antibióticos estudiados «*in vitro*» mediante el test de los discos, sin olvidar que en este caso (Mamitis) no creemos en un total paralelismo entre la sensibilidad del germen al antibiótico (realidad no discutible), y las posibilidades de una acción terapéutica eficaz, estrechamente relacionada con un nivel adecuado del antibiótico en los tejidos enfermos.

Aun estimando de interés conocer el metabolismo y la sensibilidad del *Staphylococcus* a los antibióticos, consideramos, una vez más, que en la lucha contra las epizootias, los métodos de inmunización activa son y seguirán siendo el camino útil y práctico de evitar parcial o totalmente las pérdidas que ocasionan los procesos microbianos actuales o de aquellos otros que puedan aparecer como resultado de la presencia de nuevas especies que forman el mundo de los Protozoarios, Rickettsias, Bacterias y Virus.

MICROCOCCUS MASTITIDIS GANGRENOSAE OVIS (NOCARD, 1887)

SINONIMIA

Micrococcus Mastobius (Trevisan, 1887).
Micrococcus Gangrenae Ovium (Freire, 1888).
Micrococcus Mastitis (Chester, 1901).
Micrococcus Mastidis G. Ovis (Pfeiler, 1908).
Micrococcus Mammitis (Hutchens in Beson, 1903).

MORFOLOGÍA

Cocos de un diámetro medio de 0,2-0,3 micras, agrupados en pequeñas masas o formando parejas o agrupaciones de 4-6 elementos. La regularidad de su pequeño tamaño es un carácter estimable de su morfología.

COLORACION

Permanecen Gram-positivos y al igual que otras especies bacterianas, en cultivos viejos, pueden perder el color violeta en la decoloración. Se tiñen fácilmente por los colorantes de uso corriente en Bacteriología.

CULTIVO.—PIGMENTO

Agar común.—Colonias pequeñas, de 1-2 mm. de diámetro, convexas, de bordes y superficie lisa, en un principio casi transparentes, que luego se tornan opacas. Coloración blanco-grisácea, que al engranecer toman aspecto ligeramente amarillento.

Caldo común.—Enturbia el medio a las 24 horas de incubación a 37 grados C., con sedimento granuloso que se disuelve por agitación.

Caldo suero.—Se observa un crecimiento más abundante que en caldo común.

Caldo glucosado.—Idénticas características que en caldo suero.

Agar suero.—Crecimiento más compacto que en agar común, pero con características similares en sus colonias.

Agar sangre.—Colonias iguales a las del agar común y rodeadas de una zona de hemólisis franca, en el crecimiento en superficie

PROPIEDADES DE SU METABOLISMO

Actividades reductoras.—En leche tornasolada, acidifica a las 24 horas, coagulando a las 48 horas, y reduciendo al 3-4 día de incubación.

En leche azul de metileno al 1 \times 20.000, reduce en un período de tiempo comprendido entre las 24 y las 72 horas.

Actividades proteolíticas.—En agua de peptona no se produce indol.

Después de 24 horas a temperatura eugenésica, se observa licuación de la gelatina.

Sobre la leche no ejerce acción proteolítica.

Acción sobre carbohidratos y polialcoholes.—Fermenta con producción de ácido, pero no de gas, la glucosa, sacarosa, lactosa, galactosa, fructuosa, manosa y manitol. No se produce ácido con la xilosa y sorbita, arabinosa, dextrina y rafinosa. Tiene acción variable sobre la maltosa salicina y celobiosa.

Actividades enzimáticas — En agua de peptona adicionada de manita (10 c. c. de agua de peptona y 0,5 c. c. de sol. de manita al 10 por 100), fermenta a ésta a las 24 horas de incubación a 37 grados C. Se ha observado este proceso enzimático en la totalidad de las cepas estudiadas.

El pH final del medio agua de peptona-manita a las 48 de incubación a 37 grados C., oscila de 5-5,2 tal como expresa el cuadro núm. I.

Frente a plasma humano se ha probado la existencia de coagulasa en todas las cepas estudiadas, excepto una. Con plasma de conejo, positiva la reacción en diez, dudosa en una y negativa en otra. Frente a plasma de carnero, positiva en diez, dudosa en una y negativa en otra. (Véase cuadro núm. I).

El estudio de la fibrinolisinha ha mostrado una acción escasa.

A las 24 horas de cultivo a 37 grados C., el germen estudiado produce catalasa.

Actividades hemolíticas.—Por siembra en superficie de agar sangre el germen produce una franca zona de hemolisísa.

Hemos estudiado los tipos de hemolisina, siguiendo la siguiente técnica: Tres series de tubos conteniendo 0,5 c. c. de glóbulos rojos de conejo, carnero y humanos, al 1 por 100 en sol. salina. Adición del filtrado de cultivo en presencia de CO₂ y en cantidades decrecientes

(0,5-0,4-0,2-0,1-0,05 c. c.). Completar hasta 1 c. c. con sol. salina. Incubar a 37 grados C. durante dos horas, y lectura de resultados. (Véase cuadro núm. I).

Producción de SH₂.—El germen, en su metabolismo, no es frecuente que produzca hidrógeno sulfurado, pero, sin embargo, hemos observado en algunas cepas reacción positiva a esta prueba, aunque no fuerte.

CUADRO NUM. I
DATOS SOBRE LAS PROPIEDADES ENZIMATICAS Y HEMOLITICAS
DEL STAF. DE MAMITIS GANGRENO SA

Cepa	FERMENTACION DE MANITA		COAGULOSA			HEMOLISINA	
	pH Final		Plasma humano	Plasma conejo	Plasma carnero	Alfa	Beta
1	+	5,10	+	+	+	0,05	0,0125
2	+	5,19	+	+	+	0,1	0,0125
3	+	5,05	+	+	+	0,05	0,025
4	+	5,19	+	+	+	—	0,1
5	+	5,13	—	--	—	—	—
6	+	5,10	+	+	+	0,05	0,025
7	+	5,18	+	+	+	0,05	0,025
8	+	5,20	+	+	+	0,1	0,0125
9	+	5,—	+	+	+	0,0125	0,0125
10	+	5,—	+	+	+	0,05	0,01
11	+	5,12	+	+	+	0,1	0,025
12	+	5,13	+	+-	+-	—	—

Reacción de nitratos —Los nitratos son reducidos a nitritos.

Reacción de Voges-Proskauer.—Este microorganismo produce acetil-metil-carbinol.

Reacción del rojo-metilo —La reacción es positiva.

VITALIDAD Y RESISTENCIA

En medios líquidos, y a temperatura de 60 grados C., solamente tres de las doce cepas estudiadas han resistido 30 minutos.

A 70 grados C. durante 30 minutos, no sobrevivió ninguna de las cepas.

A 80 grados C. durante 30 minutos, no sobrevivió asimismo ninguna de las cepas estudiadas.

TOXINAS

Toxina letal.—Por inyección al conejo, 0,2 c. c. vía intravenosa, de un filtrado de cultivo de 48 horas en atmósfera de CO₂ al 10 por 100, se ha observado en nueve cepas producción de trastornos generales sin muerte del animal. (Véase cuadro núm. II).

Necrotoxina.—Hemos tomado para su estudio un cultivo de agar inclinado de 24 horas a 37 grados C. Emulsión en 10 c. c. de sol. salina estéril, y a partir de ella diluciones del 1/10 al 1/2.000. Inoculación de 0,2 c. c. de filtrado por vía intradérmica a un conejo blanco. Lectura de resultados del 1-5 día.

CUADRO NUM. II

DATOS SOBRE EL PODER PATOGENO Y TOXINAS LETAL Y NECROTOXINA DEL STAF DE MAMITIS GANGRENOSA

Cepa	PODER PATOGENO Ratón (cultivo 48 h. 1/4 c. c. subcut.)	TOXINA LETAL Conejo (0,2 c. c. cultivo 48 h. intraven.)	NECROTOXINA Conejo (0,2 c. c. intradérm.) Dilución: Máxima al 1 x 1.000
1	Muere.	Trastornos generales sin muerte.	Proceso inflamatorio.
2	Muere.	Idem idem.	Idem idem.
3	—	Idem idem.	Semi-necrosis.
4	—	Sin sintomatología aparente.	Idem idem.
5	—	Idem idem.	Proceso inflamatorio.
6	Muere.	Trastornos generales sin muerte.	Necrosis.
7	Muere.	Idem idem.	Semi-necrosis
8	—	Idem idem.	Idem idem.
9	Muere.	Idem idem.	Idem idem.
10	—	Sin sintomatología aparente.	Necrosis.
11	—	Trastornos generales sin muerte.	Idem.
12	—	Idem idem.	Proceso inflamatorio.

Los resultados fueron los siguientes: Necrosis en tres conejos; Semi-necrosis en cinco conejos, y proceso inflamatorio en cuatro. Dilución máxima al 1/1.000. (Véase cuadro núm. II).

Poder patógeno en ratón.—Por inoculación de 0,25 c. c. de un cultivo de 48 horas a 37 grados C. al ratón, vía subcutánea, han muerto cinco ratones de los doce inoculados con las cepas respectivas, aislando seguidamente el germe de las vísceras. (Véase cuadro núm. II).

SENSIBILIDAD DEL GERMEN A LOS ANTIBIOTICOS

Realizamos los ensayos frente a diferentes antibióticos, utilizando

el test de discos con diferentes concentraciones, preparados por Difco Laboratories, Michigan, U. S. A.

Hemos observado los resultados que se indican en los cuadros números III-IV-V.

CUADRO NUM. III

DIAMETRO DE LAS ZONAS DE INHIBICION DEL CRECIMIENTO CON DISCOS DE ANTIBIOTICOS DE 6,5 mm/d.

Cepa	VIOMYCINA			MAGNAMYCINA			NEOMYCINA		
	1 mcg.	10 mcg.	100 mcg.	0,5 mcg.	1 mcg.	10 mcg.	10 mcg.	30 mcg.	60 mcg.
1	—	—	10	—	12	16	11	12	16
4	—	—	9	—	12	19	12	14	16
5	—	—	—	—	8	13	—	—	13
6	—	—	10	—	11	18	11	12	17
12	—	—	11	—	12	16	11	12	17

CUADRO NUM. IV

DIAMETRO EN MM. DE LAS ZONAS DE INHIBICION DEL CRECIMIENTO CON DISCOS DE ANTIBIOTICO DE 6,5 mm/d

Cepa	AUREOMICINA			BACITRACINA			CLOROMICETINA			STREPTOMICINA		
	10 mcg.	30 mcg.	60 mcg.	2 U. I.	10 U. I.	20 U. I.	10 mcg.	30 mcg.	60 mcg.	1 mcg.	10 mcg.	100 mcg.
1	23,5	26	28	11	17,5	20	17	22	26,5	—	—	11
4	26	26	27	10	18,5	19	22	25,5	—	—	—	8,5
5	24	25	26	11	19	21,5	17	22	24	—	—	8,5
6	30	30	30	—	16	22	19	26	27,5	—	9	16
12	29	29	29	8,5	15	20,5	16,5	21	27	—	8,5	16

CUADRO NUM. V

DIAMETRO EN MM. DE LAS ZONAS DE INHIBICION DEL CRECIMIENTO CON DISCOS DE ANTIBIOTICO DE 6,5 mm/d

Cepa	PENICILINA			POLYMICINA			TERRAMICINA		
	0,5 U. I.	10 U. I.	30 U. I.	5 mcg.	30 mcg.	60 mcg.	10 mcg.	30 mcg.	60 mcg.
1	—	—	27,5	—	—	12	21,5	25	27
4	—	—	25	—	—	18	21	22	26,5
5	—	—	20	—	—	12	22,5	25	25
6	22	25	25	15	15	18,5	26,5	30	30
12	19	21	23	—	11	15	24	28	31

CONCLUSIONES PROVISIONALES

1. Se estudian 12 cepas aisladas de focos de Mamitis Gangrenosa Ovina y se identifica el Micrococcus de Nocard.
2. Del estudio de su metabolismo y caracteres biológicos sobre el plasma, los hemáties de diversas especies, y animalss de experimentación, se comprueban sus propiedades de Estafilococo patógeno.
3. Su regularidad en la fermentación del manitol, con la estabilización del pH final, le clasifican como Micrococcus patógeno.
4. Las pruebas de laboratorio frente a diez antibióticos, permiten comprobar una acción destacada «in vitro» de los siguientes antibióticos: Terramicina, Aureomicina y Cloromicetina.

La sensibilidad del Micrococcus Mastitidis Gangrenosae Ovis para los citados productos antibacterianos, aconseja un empleo adecuado en la clínica para comprobar la posible eficacia de esta terapéutica curativa tan acreditada en el período actual.

5. Coincidimos con otros especialistas al afirmar que en nuestra patria el Micrococcus Mastitidis Gangrenosae Ovis es el agente etiológico más frecuente de la infección específica de las ovejas y cabras.
6. Por todos los caracteres del agente bacteriano estudiado, consideramos que la vacunación preventiva con preparados de calidad o mediante el empleo de autovacunas, es el medio más eficaz para la prevención de la Mamitis Gangrenosa de las ovejas y cabras.

B I B L I O G R A F I A

- NOCARD et LECLAINCHE.—Les maladies microbiennes.—París 1903.
TOPLEY, WILSON, MILES.—Bacteriología e inmunidad.—1949.
COURMONT-PANISSET.—Manual de Microbiología.—1917.
BASSET.—Quelques maladies infectieuses.—1946.
BLANCO LOIZOLIER.—Ciencia Veterinaria, XII, 1952, 271.
DIONIGI MURA-MARIO ALTIERI.—Zooprofilassi, X, 1950, 449.
MIESNER et SCHOOP.—Rec. Med. Vet., CX, 1934, 106.
MONDINE.—Rec. Med. Vet., CX, 1934, 119.
SANTIAGO LUQUE.—Arch. Vet. Práctica., II.
STAMATIN-Mme. A. TACUN-D. MARIGA.—Ann. Inst. Pasteur, 1949, 178.