

DEL INSTITUTO DE BACTERIOLOGIA
E INMUNOLOGIA

de la
Universidad de Concepción (Chile)
Director: Prof. Dr. A. Castelli

Virus epiteliomatoso y difteria aviaria

(Con 2 figuras)

(Nota preliminar) por

A. Castelli

(Recibido por la Redacción el 4-XI-1941)

Es un hecho conocido que en las epizootias de viruela de las aves, frecuentemente los animales afectados presentan, además de la cresta, también manifestaciones difteroides en la garganta y mucosa ocular, prevaleciendo una u otra manifestación. Sin embargo, no es raro observar epizootias que se desarrollan con manifestaciones de uno solo de estos tipos.

Por lo tanto, legítimamente ha surgido la duda si las dos manifestaciones (garganta y cresta) fuesen debidas a un único virus que actúa con síntomas diferentes según se localice en el epitelio de la garganta o en el de la cresta o si se trate de dos virus diferentes.

Los autores que se ocuparon del argumento, sumamente interesante bajo el punto de vista de la economía zootécnica, se dividieron en dos campos, los unos que sostuvieron la identidad del virus, el que invadiría antes las mucosas y secundariamente la piel, mientras que viceversa en el epiteloma la localización primaria sería la piel y secundariamente la garganta.

Otros sostuvieron, por el contrario, la duplicidad del virus, por cuanto las producciones epiteliomatosas de la piel, no tendrían nada que ver con las manifestaciones difteroides, que serían producidas por otro virus.

Sin embargo, ninguno de ellos pudo llegar a pruebas concluyentes sobre el particular.

Por lo tanto, desde hace 10 años, me ha parecido interesante hacer algunas investigaciones al respecto, las que inicié en ocasión de una grave epizootia que se verificó en un pequeño pueblo de la Cerdeña. Desgraciadamente me ví obligado a interrumpir estas investigaciones por falta de material, debido a la rapidez con que se apagó la epidemia y por pérdida del material que guardaba en el laboratorio por motivos que se me escaparon.

Sin embargo, esas observaciones, aunque incompletas, me permitieron establecer los siguientes hechos:

En los frotis microscópicos obtenidos del tejido inmediatamente inferior al lugar de escisión de las proliferaciones epiteliomatosas, coloreados con cualquiera de los métodos corrientes, se veían constantemente numerosos corpúsculos de forma redonda, de bien definidos contornos, de diámetro de fracción de micron, algunos casi en el límite de la visibilidad. Los mismos se podían observar en cortes de cresta infectada, en su parte más superficial. Muchos de estos se veían en el interior de los glóbulos rojos y leucocitos.

Corpúsculos similares fueron encontrados en el hígado de pollos muertos por la infección o sacrificados durante el curso de ella, y en el hígado de lauchas blancas inoculadas con emulsión de producciones epiteliomatosas.

No me fué posible entonces obtener cultivos de estos corpúsculos, que por su presencia constante en los productos patológicos, dejaban suponer un rol etiológico, opinión que era avalorada por el hecho de la reproducción constante de la infección con inoculación de material que contuviera estos corpúsculos y por que ellos no se encontraban jamás en cortes u frotis de cresta sana.

Por otro lado, la inoculación en la garganta con material obtenido de nódulos epiteliomatosos, dieron muy rara vez lugar a lesiones difteroides, que, por el contrario, se obtenían en forma más o menos constante con inoculación de material difteroiide proveniente de lesiones de la garganta.

Pude también entonces constatar que filtrando por bujías Berkefeld una emulsión de material mixto de membranas diftéricas y nódulos epiteliomatosos, e inoculando después el filtrado en cresta y garganta, se provocaba algunas veces la difteria, pero nunca el epitelioma, lo que dejaba legítimamente suponer que el virus diftérico era filtrable, mientras que el epiteliomatoso no.

Llegando a Chile y teniendo a disposición abundante material, cortesmente facilitado por el Instituto Biológico "Enrique Matte" el Dr. Schmidt-Hermann de Santiago y el veterinario provincial de Concepción, señor Dr. Manuel Kornblit, a los que expreso mis más sinceros agradecimientos, me preocupé de la prosecución de estas investigaciones, en las que me ayudó el alumno señor Montesinos, quien hizo de este argumento su tema de tesis de Dentista, al cual también agradezco su colaboración.

INVESTIGACIONES RECIENTES

El material usado en estas investigaciones fué recibido en tres partidas diferentes: la primera bajo la forma de producciones epiteliomatosas y otras dos veces en forma de pseudomembranas diftéricas, conservadas en glicerina o no.

El primer material, microcópicamente presentaba una predominancia de los corpúsculos antes descritos, junto a otros gérmenes de muy variada morfología y que no mostraban nada de especial.

El material diftérico se presentó muy rico en formas variadas, prevalentemente bacilares.

Los cultivos, tanto del primero como del segundo material, dieron lugar sólo a desarrollo de gérmenes muy variados sin prevalencia de alguna forma especial que pudiera llamar la atención.

Las experiencias que, debido al carácter preliminar de esta nota, expongo en forma muy sumaria, sin referir los protocolos, fueron iniciadas el 15 de Marzo de 1940.

I. EXPERIENCIAS CON MATERIAL EPITELIOMATOSO

En este día fueron inoculados 5 pollos, mediante escarificaciones en cresta y mollejas con material seco y pulverizado de nódulos epiteliomatosos provenientes de Santiago (Instituto Matte) que llevaban la fecha: 11 - III - 1940.

Otros 5 pollos fueron inoculados con el mismo material en la garganta.

El primer lote de animales, después de 8 a 10 días, presentó típicas producciones epiteliomatosas en el lugar de la inoculación.

El segundo lote no presentó lesiones, salvo aquellas ocasionadas por el traumatismo local y que mejoraron después de pocos días.

Este segundo grupo, después de su curación de las lesiones traumáticas, fué inoculado en la cresta con material proveniente del primer lote, y como resultado presentaron lesiones epiteliomatosas típicas en el punto de inoculación. De estos, cuatro sanaron y uno murió después de 20 días de la aparición de las lesiones. En su autopsia se pudo observar el hígado engrandecido y con degeneración turbia, bazo aumentado de volumen, cápsulas suprarrenales también aumentadas de volumen y congestionadas.

Los frotis de pulpa de hígado y bazo, presentaban numerosos corpúsculos parecidos a aquellos que normalmente se observan en las lesiones de la cresta.

II. Sucesivas inoculaciones en serie en nuevos pollos, con el fin de conservar el virus y de observar el curso de la enfermedad, reprodujeron constantemente los nódulos epiteliomatosos, sin lesiones en la garganta, salvo en 2 casos, en los cuales, después de 12 - 14 días, de la aparición de los nódulos, los animales presentaron placas diftéricas en la garganta y conjuntivas y abundante secreción nasal con acentuada anemia, muriendo después de algunos días.

A la autopsia se notó el hígado y bazo aumentados de volumen, cuyos frotis presentaban caracteres similares a los ya descritos anteriormente.

Los frotis de las placas diftéricas dieron sólo una muy variada flora bacterica, prevalentemente bacilar, que no presentaba nada de especial.

III. Los productos diftéricos inoculados en la cresta y garganta de otros 2 pollos, reprodujeron la difteria, pero no el epiteloma.

IV. OBSERVACIONES CLINICAS

El epiteloma se ha generalmente desarrollado después de un período de incubación de 8 - 12 días; a los 15, más o menos, las manifestaciones alcanzaban a su punto máximo, para mantenerse estables durante 10 - 12 días, después de los cuales las cistras epiteliomatosas cayeron, dejando en el punto de su ubicación una superficie callosa blanca amarillenta. Normalmente los animales se restablecieron, permaneciendo, como veremos más adelante, inmunes a nuevas inoculaciones.

— : — : —

De estas experiencias, repetidas durante más de un año, siempre con los mismos resultados, se puede deducir que normalmente, la inoculación de material epiteliomatoso en la garganta no da resultados.

Los 2 casos en los cuales, a las manifestaciones epiteliomatosas, se acompañaron lesiones diftéricas, dada su excepcionalidad (2 sobre un total de más o menos 80 pollos), se podrían atribuir, a mi parecer, a una infección fortuita secundaria.

Por otro lado, el resultado negativo de las inoculaciones del producto diftérico en la cresta, probaría que el virus productor de esta infección no es capaz de producir lesiones epiteliomatosas.

EXPERIENCIAS CON MATERIAL DIFTERICO

En Abril de 1941, con material diftérico, recibido de Santiago, y guardado en glicerina, fueron inoculados 4 nuevos pollos, con resultado negativo.

VI. Con otro material obtenido más adelante, en parte guardado en glicerina y en parte fresco, fueron inoculados otros 4 pollos, en cresta y garganta. En todos se produjo la difteria, y sin embargo, ninguno presentó lesiones epiteliomatosas.

Estos mismos animales, reinoculados después de 15 días con material proveniente de nódulos epiteliomatosos, presentaron todos típicas manifestaciones epiteliomatosas.

Estas experiencias, mientras confirman las precedentes parecen demostrar que la conservación en glicerina atenúa el virus.

OTRAS EXPERIENCIAS

VII. INOCULACION INTRAVENOSA.—Tres pollos fueron inoculados en forma intravenosa con material proveniente de nódulos epiteliomatosos y después de algunos días fueron sometidos a escarificación de la cresta con una aguja estéril. Después de 8 días de esta escarificación, presentaron todos pequeños nódulos epiteliomatosos, aunque estos no eran confluentes como normalmente se observa con la inoculación directa del material.

Los frotis obtenidos de la superficie de estas producciones, demostraron, sin embargo, la presencia de los típicos gránulos ya descritos, lo que demostrará que se puede obtener experimentalmente la localización en el tejido de elección (cresta) del virus, circulante en la sangre.

VIII. FILTRABILIDAD.—Nódulos epiteliomatosos y material de la garganta obtenidos de pollos inoculados en este laboratorio y procedente de Santiago, fueron, después mezclados y triturados con cuarzo, sometidos a filtración en filtros Seitz EKA.

Se obtuvo un filtrado límpido, perfectamente privado de otros gérmenes. Este filtrado, inoculado en la cresta y garganta de otros 5 pollos, dió resultado negativo en 3 y positivo en 2, por lo que respecta a las lesiones difteroides.

Reinoculados los 5 pollos en la cresta con material proveniente de pollos epiteliomatosos, presentaron todas las típicas lesiones de la enfermedad.

IX. RESISTENCIA DEL VIRUS.—El virus desecado y guardado más de un año, al ser reinoculado en pollos nuevos, se demostró siempre activo. Sin embargo, las lesiones se produjeron algo más tardíamente que con el virus fresco (18-20 días) y no presentan la gravedad y la confluencia de aquellas obtenidas con virus reciente, probablemente por la ausencia de otros gérmenes que en la infección corriente complican el cuadro.

X. INMUNIDAD.—Los pollos que sanaron de sus lesiones epiteliomatosas reinoculados después de 8-10 meses, se presentaron refractarios a la infección epiteliomatosa.

Los pollos inoculados con difteria, una vez sanos, se mostraron también inmunes hacia nuevas inoculaciones de membrana diftérica, pero, sin embargo, receptivos a la inoculación en cresta de material epiteliomatosos.

Por otro lado, los pollos inmunes a las inoculaciones epiteliomatosas, se mostraron receptivos a reinoculaciones con material diftérico en la garganta.

Por lo tanto, las dos infecciones, según estos resultados, parecen dar una inmunidad de larga duración hacia los respectivos virus, sin que haya reciprocidad entre ellas.

XI. TRANSMISION A OTROS ANIMALES.—Algunas tentativas de transmisión hechas a otros animales (conejos y cuyes) mediante escarificaciones en las orejas y las patas, resultaron negativas.

Otras hechas en lauchas blancas, hechas subcutáneas o intraperitoneal, llevaron a la muerte a los animales, en el hígado de los cuales fueron constantemente encontradas las formas cóccicas ya descritas, y mediante inoculación de su pulpa en la cresta de pollos nuevos, fué posible reproducir el epitelioma.

ENSAYOS DE CULTIVO

Fueron hechas varias tentativas de cultivos, con material de los nódulos y material de la garganta. Se obtuvo siempre el desarrollo de una variada y banal flora bacterica, con presencia de pequeños gránulos en los cultivos hechos con material epiteliomatoso.

Sin embargo, la inoculación experimental de los cultivos resultó completamente negativa, tanto para la forma diftérica, como para la forma epiteliomatosa.

XII. Por el contrario, sembrando en caldo simple la pulpa hepática o la sangre del corazón de animales muertos o sacrificados y que contenían los característicos gránulos epiteliomatosos, dió como resultado el desarrollo de estos gránulos.

El caldo se presentó límpido, con un depósito filamentosos en la parte más inferior del tubo y del cual los frotis revelaron la presencia de abundantes gránulos, ya descritos.

También se puede obtener un desarrollo, aunque muy escaso en el agar y en el suero coagulado, bajo forma de una estría muy delgada.

Estos cultivos, hasta ahora, se han podido conservar y llevan ya 5 pasajes sucesivos, manteniéndose en buenas condiciones.

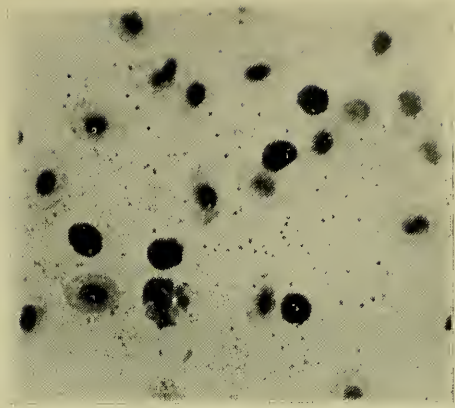
La inoculación de estos cultivos en la cresta de pollos nuevos, dió lugar a producciones epiteliomatosas, que, sin embargo, no tienen el carácter confluyente, que se observa con la inoculación del virus proveniente directamente de otro animal.

Inoculados en la garganta no producen ninguna lesión diftérica. Los pollos inoculados con estos cultivos, al ser inoculados más tarde con material epiteliomatosos, no contrajeron la enfermedad.

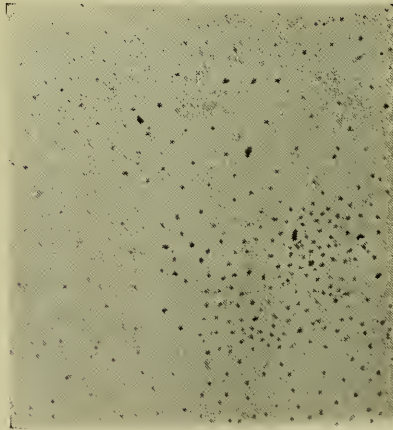
CONCLUSIONES

De todo lo expuesto, se puede deducir:

1.º—Los virus diftérico y epiteliomatoso son dos virus diferentes, lo que confirma mis investigaciones anteriores y la opinión de los dualistas.



Frotis de sangre corazón. El mismo aspecto con sus formas granulares características, se observa en frotis de sangre de crestas infectadas con epiteloma.



Frotis de cultivo de los típicos corpúsculos Gram positivos.
(5 pasaje en caldo).

(Ampliaciones 1 : 1250).

2.º—El virus epiteliomatoso inmuniza el animal hacia el epiteloma y el virus diftérico hacia la difteria. Sin embargo, no hay reciprocidad entre los dos.

3.º—Las dos infecciones pueden coexistir y probablemente una (epiteloma) predispone a la otra, como parecen demostrar los casos citados anteriormente.

4.º—El virus epiteliomatoso no es filtrable, mientras que, según las experiencias de nosotros, el virus diftérico, si bien no constantemente, es capaz de pasar los filtros no atravesados por los bacterios comunes.

5.º—El virus epiteliomatoso es cultivable en aerobiosis y anaerobiosis, y es constituido por un pequeño coco que mide fracciones de micron.

6.º—La inoculación experimental de los cultivos de este germen produce lesiones epiteliomatosas que se diferencian de las normales por la falta de confluencia y por su limitado desarrollo y porque nunca han dado lugar a la muerte del animal. Sin embargo, han dado lugar a la inmunidad y, por lo tanto, pueden presentar un rol importante en la vacunación, tema que tengo en estudio.

7.º—Propongo denominar provisoriamente el coccus aislado **micrococcus epiteliomatis avium**.

