

Capítulo 2

Carbunco bacteridiano

Carlos F. Amasino

Definición

El carbunco bacteridiano es una enfermedad infecciosa, bacteriana, zoonótica, aguda, febril, habitualmente septicémica y mortal, que cursa con incoagulabilidad sanguínea, edemas, hipertrofia y reblandecimiento del bazo con licuefacción de la pulpa, cianosis y salida de sangre por las aberturas naturales, que puede presentarse también en forma localizada, que afecta a los mamíferos y raramente a las aves, producida por el *Bacillus anthracis*.

Sinonimias

Ántrax, Carbunclo, Grano malo, Mal del bazo, Carbón, Pústula maligna, Mal de la pajarilla, Fiebre esplénica, Barro esplénico, Enfermedad de los cardadores de lana, Milzbrand, Charbón malin, Malattia della milza.

Presentación

Es cosmopolita. Está en Argentina. Se presenta habitualmente en verano, en días cálidos, sofocantes, después de lluvias o tormentas, lo que se atribuye a afluencia de esporos a las capas superficiales del suelo por las lluvias. Apariciones esporádicas pueden darse durante todo el año. Predomina en la cría extensiva y los lugares en que se presentaba con mucha frecuencia se denominaron "campos malditos".

Etiología

El carbunco bacteridiano es causado por el *Bacillus anthracis*, perteneciente al género *bacillus* que incluye como especies al *Bacillus anthracis* y a los antracoides (*B. cereus*, *mycoides*, *megaterium*, *subtilis*, etc).

El *Bacillus anthracis* es Gram (+), tiene forma bacilar, con extremos en ángulo recto. Es capsulado en el organismo o en cultivos en agar suero con 10-30% CO₂, donde da colonias lisas. No capsula en cultivos aerobios en agar simple donde da colonias rugosas características (vistas con 40 aumentos semejan la cabellera de la Medusa, mujer mitológica con cabello de serpientes) o en caldo nutritivo, donde por ser inmóvil, sedimenta en el fondo del tubo. Mide 5-6 µm de largo x 1-1,2 µm de ancho. Se presenta en cadenas cortas (3-5 elementos) en la sangre y en cadenas largas en caldo. Al contactar con el aire forma un esporo central que no deforma el soma bacteriano.

El *Bacillus anthracis* es aerobio y microaerófilo.

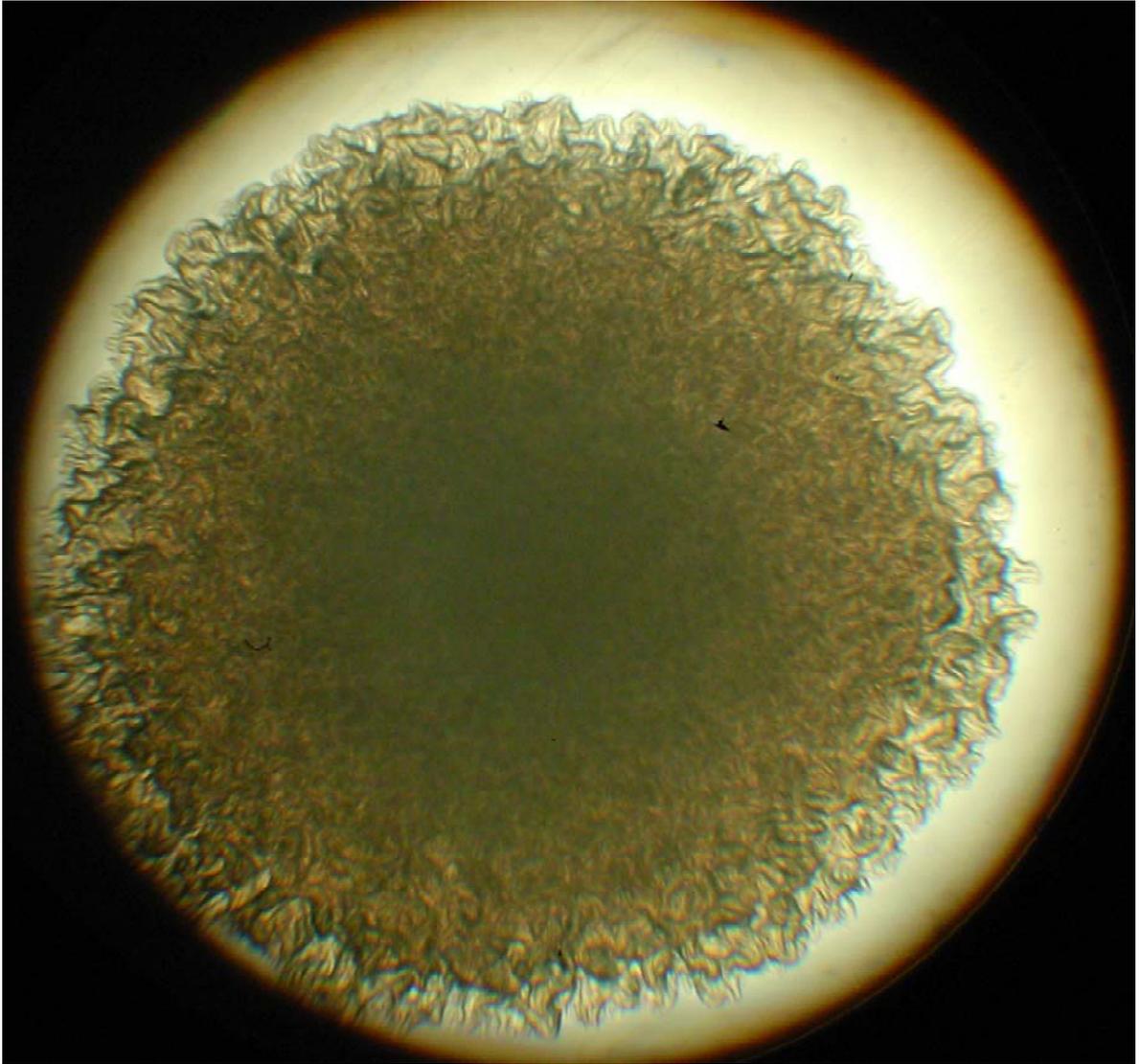
Los plásmidos pOX1 y pOX2 codifican la toxina y la cápsula respectivamente.

La toxina consta de tres factores. El Factor I o edematógeno provoca vasodilatación y edemas, el factor II o Antígeno protector permite la actuación del I y III, actuando como sistema de unión entre los receptores celulares y los factores tóxicos, pero por sí solo no tiene acción tóxica y el factor III o letal produce shock, hipotensión paro respiratorio y la muerte. También se ha comprobado que es responsable de una fuerte acción alterativa sobre los macrófagos, con liberación de interleukinas, que participan en la alteración general.

Antígenos: los antígenos de importancia para el diagnóstico son un GammaGlutamil-polipéptido capsular y un polisacárido somático (galactosa y d-glucosamina), ambos termoestables, que se detectan con la prueba de precipitación de Áscoli.

Resistencia

La forma vegetativa del *Bacillus anthracis* no tiene una resistencia especial. Se destruye a 60 grados en 10 minutos y es sensible a los desinfectantes comunes y a la putrefacción. Los esporos, en cambio, son extraordinariamente resistentes. Para su formación requieren la presencia de aire. La desecación no lo afecta, permaneciendo viable más de 50 años en el suelo. En autoclave a 120 ° C los destruye en 20 min, pero el calor seco de 120-140 recién en 3 horas. El pasaje por el jugo gástrico, así como el secado y salazón de las pieles, no los altera. El formol al 5% los inactiva luego de 6 horas.



Bacillus anthracis. Colonia en "cabellera de Medusa" ©Amasino

Patogenia

En la forma septicémica, los esporos ingeridos ingresan por intestino a la circulación sanguínea donde se convierten en la forma vegetativa de la bacteria, la cual inmediatamente capsula. Esto dificulta la fagocitosis, permitiendo que el germen se multiplique rápidamente. El bazo y los ganglios retienen en un principio las bacterias, pero pronto éstas superan su acción e invaden todo el organismo. La formación de las toxinas antrácicas provoca vasodilatación, edemas, hipotensión, dificultad respiratoria, cianosis y muerte.

Forma de infección

Las especies más susceptibles ingieren los esporos con el pasto o el agua, los cuales se han contaminado con las eliminaciones y los cadáveres de los enfermos de carbunco. Resulta importante la cantidad de esporos ingeridos. Los alimentos con harina de carne, sangre o huesos contaminada y la ingestión de cadáveres carbuncosos son otra forma de infección. También arneses, pieles y pelos de brochas contaminadas pueden originar infección por vía cutánea. La lana contaminada puede originar infección pulmonar por inhalación.

En las lesiones localizadas, que pueden ser producidas por contaminación con esporos o con la forma vegetativa del bacilo, éste se multiplica, produce una lesión inflamatoria con abundante edema, con posterior reacción de los ganglios regionales. En algunos casos puede generalizar. Si esta lesión local se halla en la zona faríngea, como ocurre en los cerdos, llega a obstruir el paso del aire y el animal muere por asfixia.

Especies susceptibles

Los más sensibles son los ovinos, bovinos y caprinos, en los que se presenta habitualmente la forma septicémica aguda o hiperaguda. Siguen los equinos, en los que se presentan formas septicémicas y raramente cutáneas. Los suinos, humanos y carnívoros son más resistentes, por lo que presentan formas localizadas, así como también formas septicémicas de la enfermedad. También afecta a los visones. Por último las aves, por su alta temperatura corporal natural (41 - 42° C) no resultan muy frecuentemente afectadas. Aparece a veces en las aves acuáticas como patos y gansos.

Especies refractarias: Las ovejas argelinas y los cerdos enanos son resistentes. Dentro de los animales de laboratorio, son muy susceptibles los ratones y cobayos y tienen mayor resistencia las ratas.

Período de incubación

Es de 1 a 3 días, aunque en algunos casos y en especies menos susceptibles puede ser mayor.

Sintomatología

Forma septicémica: afecta a los bovinos, ovinos y caprinos y equinos. La presentación peraguda, hiperaguda, apoplética o fulminante ocurre al principio de los brotes. Es súbita y rápidamente mortal. Se presenta fiebre, tambaleo repentino, respiración dificultosa, temblor,

colapso, caída súbita y muerte inmediata, presentándose hemorragias por las aberturas naturales. En la presentación aguda y subaguda, hay fiebre (41-42 ° C), excitación, luego depresión, cesa la rumiación y la secreción láctea, aparecen edemas, estupor, temblores, cianosis, caída y muerte con hemorragias por las aberturas naturales. En los equinos el comienzo se acompaña de cólicos. El cadáver del animal muerto por carbunco septicémico tiene una rigidez cadavérica incompleta y se hincha rápidamente en forma notable, hasta quedar con las extremidades hacia arriba. La sangre que sale por las aberturas naturales (nariz, boca, ano, vagina) es de color oscuro e incoagulable. En esta forma es posible detectar directamente animales muertos sin que se hubiera advertido sintomatología previa.

Forma faríngea: en el cerdo, especie menos susceptible, es habitual la forma faríngea del carbunco, llamada carbunco faríngeo, gloss ántrax o angina carbuncosa, que es adquirida por el cerdo al comer cadáveres carbuncosos. El raspado del alimento al tragar incula el germen en la zona faríngea, realizando una escarificación. En el lugar hay tumefacción rápida de la garganta y faringe y muerte por asfixia. Esta forma se ha detectado también en carnívoros.

En los visones se presenta en forma sobreaguda, generalizada, con alta mortalidad, luego de ingerir carne fresca de animales infectados. Pueden darse en los animales menos susceptibles formas locales cutáneas pero son poco frecuentes.

En las aves el carbunco es raro, lo cual es atribuido a su alta temperatura corporal, cercana a la disgenésica para el bacilo. Hay descripciones en patos.



Carbunco Bacteridiano: forma septicémica.

Aspectos zoonóticos

En el hombre se presentan tres formas de carbunco: cutánea, pulmonar y digestiva.

La más frecuente es la forma cutánea, producida por contacto de lesiones de la piel con el microorganismo al manipular, cuerear o efectuar la necropsia de un animal carbuncoso, acarrear cueros contaminados o ser picado por tábanos en las inmediaciones de cadáveres carbuncosos. Aparece habitualmente en las manos, cara y hombros. La lesión se presenta como una tumefacción circular inflamatoria saliente, edematosa, que forma luego una vesícula negruzca que posteriormente se deprime y toma aspecto de cráter y luego forma una escara o costra de color negro. El edema es notable y se extiende a toda la región afectada. Se aprecia luego reacción de los ganglios regionales, pudiendo esta lesión evolucionar hacia la septicemia si no es tratada.

La forma pulmonar es producida por la inhalación de esporos, lo cual produce una neumonía atípica rápidamente mortal, en 24-36 horas. Se la denomina enfermedad de los cardadores de lana, dado que esta actividad provocaba que los esporos que pudieran estar en la lana, se suspendieran en el aire y fueran inhalados. Esta forma tiene importancia en la guerra bacteriológica y en el bioterrorismo, ya que los esporos del *Bacillus anthracis* son fácilmente producidos en grandes cantidades, son muy resistentes y pueden ser espolvoreados por vía aérea con diversos sistemas. Por tal motivo, pese a las proscripciones de la guerra bacteriológica, se han desarrollado vacunas para el hombre inmunizando contra el antígeno protector del *Bacillus anthracis* que son usadas por algunos ejércitos en la protección vacunal de sus soldados.

La forma digestiva es más rara, produciéndose por comer carne infectada, ocasionando una enteritis con septicemia y muerte.

Alteraciones anatómicas

Las lesiones que se observan en los cadáveres de los animales muertos por carbunco son: hemorragias y edema en los tejidos y cavidades, sangre oscura e incoagulable, hemorragia intestinal (especialmente en el intestino grueso) y una alteración bien notable del bazo con hipertrofia y pulpa friable, a veces casi líquida, que ha originado la denominación de barro esplénico con que se conoce esta enfermedad. Hay infiltración edematosa gelatinosa en el subcutáneo, los ganglios linfáticos están tumefactos y el hígado y los riñones presentan agrandamiento y reblandecimiento.

La necropsia se efectuará si el criterio profesional lo juzgara imprescindible, teniendo en cuenta que su realización implica el riesgo de infección del operador por lo que deberá extremar las precauciones, que se facilita la esporulación de los gérmenes que contactan con el aire y que existen pocas lesiones de valor diagnóstico. De todos modos la eliminación de los cadáveres carbuncosos se hará enterrándolos profundamente y quemándolos dentro de la fosa

antes de tapparlos, colocando en el pozo en primer lugar la tierra en que se volcaron productos del cadáver y cal viva si es posible.



Carbunco cutáneo en el hombre. ©Amasino

Diagnóstico

Clínico: anamnesis de detección de animales muertos, con cadáveres muy hinchados presentando salida de sangre oscura e incoagulable por aberturas naturales. Muertes súbitas. Falta de vacunación o vencimiento del período de protección contra esta enfermedad en los animales. En cerdos, síntomas de dificultad respiratoria por inflamación notable en la zona de la garganta. Antecedentes de haberlos alimentado con carne o animales muertos y brotes previos en otra especie.

Para efectuar el diagnóstico de laboratorio se tomarán las siguientes muestras:

a. Un hueso largo para realizar el aislamiento del agente de la médula ósea, en donde se lo encontrará por ser la enfermedad septicémica (puede no hallarse en las formas localizadas que pueden matar antes de dar septicemia, por ej.: la forma faríngea del cerdo que mata por asfixia aún antes que se produzca la generalización).

b. Una muestra de sangre o mejor dos extendidos de sangre obtenidos de una vena superficial (no de la sangre que sale por las aberturas naturales porque es frecuente su contaminación con bacilos antracoides) para tratar de observar el germen en su forma capsulada. La cápsula se pierde con rapidez al contacto con el aire por lo cual es más adecuado el extendido, aunque a veces tampoco se ve.

c. Una muestra para realizar la reacción de Áscoli que puede ser cualquier elemento del cadáver (órganos, piel, tejido subcutáneo, tejido muscular o una oreja). Es requisito para esta prueba que el animal haya muerto por la enfermedad (no sirve la de un animal sacrificado en agonía ya que puede dar un falso negativo debido a que la multiplicación masiva del germen y su más alta concentración en el tejido y por consiguiente de sus antígenos se produce cerca de la muerte)

Diagnóstico de laboratorio del carbunco bacteridiano

En la marcha del diagnóstico de esta enfermedad se cumplen los postulados de Koch, los cuales expresan que para comprobar que un agente microbiano determinado es el causante de una enfermedad se debe:

1. Observar al agente en la lesión original. Para ello se colorea un extendido de sangre con Gram y otro con azul de metileno u otra coloración que permita ver cápsulas. En caso de tratarse de carbunco observaremos gérmenes Gram positivos de forma bacilar, con extremos en ángulo recto, que se presentan en cadenas cortas (3 a 5 elementos) en el preparado teñido con la coloración de Gram (con esta coloración no se ve la cápsula), y gérmenes de iguales características, de color azul, rodeados de una cápsula de color rosado pálido en el preparado teñido con azul de metileno.

2. Aislar el agente en cultivo puro, para lo cual se extrae material de la médula ósea o de otra muestra adecuada, se emulsiona en solución fisiológica y se siembra en un medio sólido para aerobios (agar nutritivo, agar tripticasa-soya), un medio líquido para aerobios (caldo nutritivo, caldo triptosa-fosfato) y un medio líquido para anaerobios (medio tioglicolato o tarozzi) para descartar otras etiologías. El *Bacillus anthracis*, en caso positivo, tras 24 horas de incubación a 37 °C, desarrollará la característica colonia blanquecina, grande, con aspecto de vidrio esmerilado a simple vista, de bordes festoneados y con aspecto de cabeza de Medusa cuando se la observa aproximadamente con 40 aumentos (si se cultiva paralelamente en agar suero en atmósfera de CO₂ desarrollará colonias lisas grandes con bacilos capsulados). En el caldo se producirá un desarrollo que sedimenta en el fondo, con largas cadenas de bacilos si se colorea. En el medio para anaerobios no se advertirá desarrollo.

3. Reproducir experimentalmente la enfermedad con el agente aislado, para lo cual se inocula en animales susceptibles. En la práctica la suspensión de médula se siembra y se inocula simultáneamente en animales para ganar tiempo en el diagnóstico. La inoculación se hace habitualmente por vía subcutánea o intraperitoneal en ratones, produciéndose la muerte de los animales en 24-72 horas por septicemia.

4. Se debe reobservar y reaislar el agente de la enfermedad reproducida experimentalmente, para lo cual se realiza la necropsia de los ratones efectuando coloraciones de improntas de bazo y cultivos de sangre del corazón.

Prueba de precipitación de Áscoli

También llamada prueba de termoprecipitación de Ascoli o reacción de Áscoli-Valenti: investiga en los cadáveres la presencia de los antígenos polipeptídico y polisacárido del *Bacillus anthracis*, lo cual, en caso de positividad, demuestra que la muerte se produjo por este agente.

Se debe contar con un suero precipitante anticarbuncoso conocido, denominado suero de Áscoli, el cual se puede preparar u obtener en el comercio.

El antígeno precipitante o precipitinógeno, elemento desconocido de la reacción, se preparará con material del cadáver sospechoso de la siguiente forma: se toman trozos de cadáver (oreja, órganos, subcutáneo, etc.), se pican finamente con tijera y se suspenden en solución fisiológica (NaCl al 0,85-0,90 % en agua) en un Erlenmeyer chico, en una relación de 1 en 5 (una parte de material + 4 partes de solución fisiológica, o sea el material al 20%). La suspensión se calienta a ebullición durante 1 a 3 minutos, contados desde que empieza a hervir, luego se enfría y se filtra con papel hasta que quede clara como agua (habitualmente se usa repetidas veces el mismo filtro y en caso de no estar bien clara luego de varios pasajes, se agrega al filtro una pequeña cantidad de carbón vegetal para que adsorba los pigmentos).

Una vez clarificado el antígeno o precipitinógeno, se coloca una porción de éste (0,3 – 0,5 ml) en un tubo de precipitación y luego se soto pone con otra pipeta Pasteur fina, igual cantidad de suero precipitante (se puede soto poner inclinando el tubo y dejando deslizar el suero por la pared o colocando directamente el suero en el fondo con la pipeta y retirándola con cuidado para evitar que se mezcle la zona de contacto entre los dos reactivos (interfase).

En caso de positividad aparecerá en la interfase un disco de precipitación con aspecto de humo, lo cual se aprecia mejor observándolo con luz oblicua. Se efectuará igual reacción con un testigo seguramente positivo (preparado con tejido de cobayos infectado con *Bacillus anthracis*) y un testigo negativo (preparado con tejido de animales sanos) a los efectos de comparar las reacciones en caso de duda. Estos testigos se tienen preparados de antemano y se conservan refrigerados.

La utilización de solución fisiológica es necesaria para aportar iones y asegurar la isotonicidad de las fases, evitando así que se mezclen. Esta prueba también se puede efectuar extrayendo el antígeno en frío durante 12-24 horas en solución fisiológica fenolada al 0,5 %, procedimiento de utilidad en el análisis de pieles y cueros. Esta prueba completa la marcha diagnóstica habitual del carbunco.

Otras pruebas que pueden emplearse en la identificación del *Bacillus anthracis* son: el cultivo en medios con penicilina, en los cuales el germen adopta una forma redondeada en cadenas, similar a un collar de perlas, por ser sensible a este antibiótico, la siembra por picadura en gelatina, en la que da forma de pino invertido, la prueba de inmunofluorescencia, la caracterización cromatográfica, la tipificación por fagos (fago *Gamma*) y la prueba de Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR), etc.

Tratamiento

Etiológico: el antibiótico de elección es la penicilina, en la dosis para grandes animales de 11.000 UI x kg o sea 1.100.000 UI cada 100 kg, por vía intramuscular. Le sigue la oxitetraciclina, en dosis de 4 mg x kg de peso, que puede llevarse hasta 20 mg x kg en el caso de las de larga acción. Se administrará a todos los animales enfermos o febriles (estos últimos se tratan como enfermos). Otros antibióticos que pueden usarse son ciprofloxacina, la clorotetraciclina, la eritromicina y el florfenicol.

Como tratamiento sintomático pueden utilizarse analépticos si se observa sintomatología de compromiso de las funciones de regulación de presión y respiración

Se vacunará a todos los animales tratados que sobrevivan a los 4-7 días.

Se vacunarán inmediatamente todos los que no manifiesten fiebre ni síntomas.

Profilaxis

Vacunación: la inmunización activa contra el carbunco se efectúa vacunando a los animales con una cepa viva de *Bacillus anthracis* incapaz de capsular en el organismo animal denominada cepa Sterne. La vacuna es una suspensión de esporos viables de la cepa Sterne. Al ser inoculados, estos esporos pasan a la forma vegetativa y al no capsular son fagocitados y excitan una buena respuesta protectora, sin existir el riesgo de que se produzca una generalización como pasaba con las vacunas capsulógenas como las cepas Pasteur I y II. No hay vacunas a germen muerto dado que no dan buena protección. La vacunación se realiza a los 3-4 meses y se repite anual o semestralmente, esto último en zonas de antecedentes frecuentes de la enfermedad. La dosis habitual es de 2 ml para bovinos y equinos y 1 ml para ovinos y porcinos, por vía subcutánea.

Para el hombre existe una vacuna preparada con el antígeno protector del *Bacillus anthracis* purificado. Se administra a individuos con probabilidad de exposición grave.¹

Medidas higiénicas: Disponer los cadáveres por enterramiento profundo, quemarlos en la fosa, cubrirlos con cal y taparlos, dejando 50 cm de tierra por arriba, para evitar que los esporos suban a la superficie por las lluvias, la acción de las lombrices o el arado del campo. La falta de aire alrededor del cadáver evita la esporulación y entonces la putrefacción destruye las formas vegetativas. Si se trasladan los cadáveres, se deben tapar las aberturas naturales y realizar el entierro en una zona alta del campo. Todo material de los animales infectados (cuero, pelos, lana, carne, leche) debe desecharse. La desinfección se puede realizar con formol al 5%, lechada de cloruro cálcico, agua oxigenada al 3% y ácido peracético al 0,4%. Un método alternativo de destrucción de los cadáveres es el denominado "tapado controlado", que consiste en rociar el cadáver con formol al 5%, taparlo con una cobertura de nylon grueso que lo cubra totalmente, cubrir los bordes con tierra, esperar 240 a 260 días de inactivación y reducción del cadáver y luego quemarlo completamente.

Bibliografía

Amasino C F. Carbunco bacteridiano. 2005. En enfermedades infecciosas de los animales. Temas diagnósticos. Ed. Del Autor. (19-28)

Anthrax.pdf http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.01

Betancor L. *Bacillus anthracis*. En: Stanchi, NO. 2007. Microbiología veterinaria. Ed. Intermedica. (294-299).

Carbunco. Manual de enfermedades de los animales terrestres. Organización Mundial de Sanidad Animal OIE: (Ex Oficina Internacional de Epizootias) <http://www.oie.int/es>.

Nosedá R P. Situación carbunco rural en Argentina 2012. Rev. Col. De veterinarios de la Provincia de Buenos Aires. N° 56. Octubre de 2013. (24-27)

<http://www.reporteepidemiologico.com/wp-content/uploads/2014/05/Situación-de-carbunco-rural-en-Argentina-Año-2012.pdf>

Singh Y, Ivins BE, Leppla SH: Study of Immunization Against Anthrax with the Purified Recombinant Protective Antigen of *Bacillus anthracis*. Infection and Immunity, 1998, Vol 66, Iss 7, pp 3447-3448