

# Universidad de Guadalajara

Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia



## Contribución al Estudio de las Streptolisinas en Cerdos.

T e s i s

que para obtener el Título de

Médico Veterinario Zootecnista

presenta

Sergio Armando Oros Bárcena

Segunda Generación 65 - 70

Guadalajara, Jal., Junio de 1971

A mis queridos padres  
Con todo mi agradecimiento:

CARLOS J. OROS E

Y

ALICIA B. DE OROS

AL DR. RAMON FERNANDEZ DE CEVALLOS  
DIRECTOR DE LA ESCUELA DE MEDICINA  
VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA U.G.

AL DR. JAVIER RIVERA HERNANDEZ

A MIS MAESTROS

C O N T É N I D O :

- I.- INTRODUCCION
- II.- MATERIAL Y METODOS
- III.- RESULTADOS
- IV.- DISCUCION
- V.- CONCLUSIONES
- VI.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

## INTRODUCCION

Tomando en consideración que la Streptococosis es un grave problema dentro de la porcicultura nacional y que las pérdidas a que asciende el monto total en las diferentes industrias porcinas es incalculable ya que en México no existen datos precisos del total de estas pérdidas, pero que en otros países como E.E.U.U. se estimó que en los años de --- 1960-62 las pérdidas fueron de once millones de dólares y -- con un incremento anual de cuatrocientos mil dólares por -- desecho de canales afectados. (5)

En el Estado de Jalisco, según datos proporcionados -- por el laboratorio de diagnóstico de patología animal de -- San Pedro Tlaquepaque, aparece este padecimiento en sexto -- lugar en orden de importancia con relación a las demás en--fermedades que afectan a esta especie, ya que el porcentaje de casos de Streptococosis en 1965 fué del 1% en 1966 del 5.3%; en 1967 6.6%; en 1968 2.8% y en 1969 6.1%. (4)

Debido a que existen varias presentaciones de la Strep--tococosis, esto hace difícil su diagnóstico. Así tenemos -- por ejemplo: Streptococosis nerviosa, que nos puede llevar--a confundir con un problema de encefalitis colérica o en -- una forma Septicémica que nos puede confundir con un proble--ma de Erisipela aguda; o la forma artrítica que hay que di--ferenciarla de Artritis por Erisipela; o Artritis por Myco--plasma. (1)

En la clínica solamente por las lesiones post-mortem -- y por el aislamiento del germen se llega a un diagnóstico -- definitivo, pero no existe un método específico para diag--nosticar la enfermedad en su fase sub-clínica, por esta ra--zón se pensó en elaborar el presente trabajo de Tesis.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL:

- 1.- Tubos para sangrar
- 2.- Agujas hipodérmicas Num. 18 - 18 - 21
- 3.- Jeringas de 5 y 10 ml.
- 4.- Hisopos
- 5.- Tubos de Ensaye
- 6.- Matraz Erlen Meyer 100 - 250 - 500 ml.
- 7.- Pipetas de 1 - 10 ml.
- 8.- Medio de Thioglycolato ( .29.5 gr. x litro )
  - Tripticasa . . . . . 15.000
  - Cistina . . . . . 0.500
  - Dextrosa . . . . . 5.000
  - Extracto levadura. . . . . 5.000
  - Cloruro de Sodio . . . . . 0.500
  - Resazurin . . . . . 0.001
  - Agar . . . . . 0.750
  - Thioglycolato de Sodio . . . . . 0.5
- 9.- Medio de Gelosa sangre
  - Bacto - Triptosa . . . . . 10 gr.
  - Bacto - extracto de carne 3 gr.
  - Cloruro de Sodio . . . . . 5 gr.
  - Bacto - Agar . . . . . 15 gr.
  - Sangre desfibrinada de conejo al 5%.
- 10.- Medio de Gelosa sangre - Azida de Sodio
  - Bacto - Triptosa . . . . . 10 gr.
  - Bacto - extracto de carne 3 gr.
  - Cloruro de Sodio . . . . . 5 gr.
  - Azida de Sodio . . . . . 0.2 gr.
  - Bacto - Agar . . . . . 15 gr.
  - Sangre desfibrinada de conejo al 5%.
- 11.- Solución Buffer isotónica de Streptolisinas
  - Cloruro de Sodio . . . . . 7.4 gr.

Fosfato acido de Potasio 3.17 gr.

Fosfato acido de Sodio . 1.81 gr.

En 1,000 ml. de agua destilada y ajustada a un pH de 6.5 a 6.7 y conservada en refrigeración a 20c. - 60c.

12.- Reactivo de Streptolisina O

13.- Solución Salina al 0.9%

14.- Solución Buffer para Inmunodifusión

Acido Borico . . . . . 6.7 gr.

Tetraborato de Sodio . .13.4 gr.

En 1,000 ml. de agua destilada.

15.- Taladro

16.- Medio de caldo de infusión de carne

Extracto de carne... . . 5 gr.

Bacto Peptona . . . . . 1 gr.

Cloruro de Sodio . . . . . 0.5 gr.

Agua destilada . . . . . 100 ml.

MÉTODOS:

Se sangraron 54 animales en una proporción de una hembra por dos lechones de su respectiva camada de tres semanas de edad de la vena cava anterior, teniendo una doble muestra por animal; una con anticoagulante estéril para hemocultivo y otra para obtener suero para la prueba de anti-Streptolisinas y otra parte para inmunodifusión. Se utilizaron además hisopos vaginales de las cerdas, los cuales se sembraron en medios de Thioglycolato, al igual, los hemocultivos también se sembraron en Thioglycolato y se incubaron durante 24 horas a 37°C. Al cumplirse estas 24 horas se resembraron en medio de Gelosa-Azida de Sodio y se incubaron nuevamente durante otras 24 - 48 horas. Posteriormente con las colonias que crecieron se llevaron a cabo las pruebas siguientes: Tinción de Gram; prueba de catalasa; y se trataron de tipificar con los siguientes carbohidratos: a) Dextrosa b) Maltosa c) Trichalosa d) Inulina e) Rafinosa f) Mannitol g) Sorbitol h) Manosa.

Para el método de la titulación de las anti-Streptolisinas ver cuadro número 1.-



CUADRO NUM. 1  
DILUCIONES DE SUERO

Dilución de tubo	A 1:10		B 1:100					C 1:500					Control células rojas	Control Streptolisin
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
ml. Suero	0.8	0.2	1.0	0.8	0.6	0.4	0.3	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	-	-
ml. Streptolisin O Buffer														
Agitar suavemente para -- mezclar .....	0.2	0.8	0.0	0.2	0.4	0.6	0.7	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.5	1.0
ml. reactivo de Streptolisin O .....	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	-	0.5
Agitar suavemente para -- mezclar. Incubar a 37°C. por 15 min. - ml. de 5% . - Suspensión de célula roja	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Agitar suavemente; incubar a 37°C -- por 45 min. - agitando después de los -- primeros 15 -- min. - Centrifugar tubos -- por 1 minuto de 1000 a -- 1500 r.p.m. - Valor unitario de cada tubo.	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500	Control	



APLICACION REACTIVO STREPTOLISINA O

Para la prueba de Inmunodifusión se utilizó una mezcla de agar noble en una cantidad de .95 grs. en 100 ml. de agua destilada con la solución Buffer para Inmunodifusión; dicha mezcla se sometió a temperatura de ebullición hasta que su contenido quedó completamente claro. Posteriormente se agregaron 15 ml. del medio difusor con una pipeta estéril, quedando una capa uniformemente distribuida dentro de la caja de Petri. (2) Por cada prueba se hicieron seis perforaciones en círculo; a la perforación central se le depositó un antígeno que es un cultivo de Streptococcus aislado de un animal sospechoso con las siguientes características: fermentó los carbohidratos; dextrosa, maltosa, trehalosa, manitol, sorbitol y manosa; y no fermentó inulina y rafinosa. Una vez tipificado como Streptococcus se inoculó en el medio de caldo de infusión de carne. Se dejó incubar a 37°C durante 24 horas, después se centrifugó durante una hora a 3000 r.p.m. y el líquido sobrenadante se diluyó con diez ml. de agua destilada conteniendo Thimerasol (1:5,000) (3), posteriormente se colocó en el medio de Inmunodifusión y en los restantes cinco orificios se colocaron los sueros de los animales muestreados, o sea cinco sueros para cada caja.

CUADRO NUM. 2  
 RESULTADOS PRUEBA SEROLOGICA EXPRESADO EN TITULOS DE UNIDADES TOOD

Diluciones	1:10		1:100					1:500				
	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500
Muestra No. 1 (Cerda)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No. 2 (Lechón)	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No. 3 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No. 4 (Cerda)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No. 5 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No. 6 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No. 7 (Cerda)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No. 8 (Lechón)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Muestra No. 9 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.10 (Cerda)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.11 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.12 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.13 (Cerda)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.14 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.15 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CUADRO NUM. 2 (Cont.)

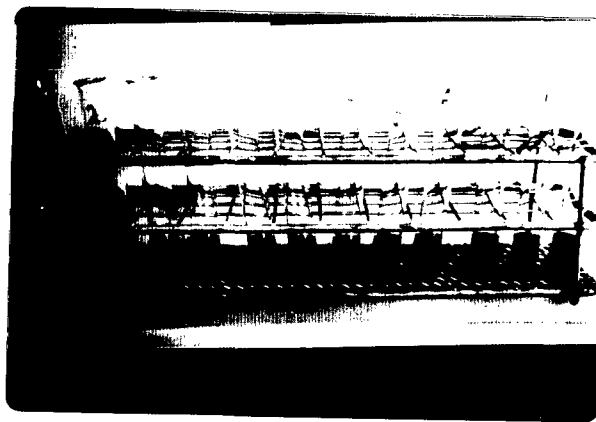
Diluciones	1:10		1:100					1:500				
	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500
Muestra No.16 (Cerda)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.17 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.18 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.19 (Cerda)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.20 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.21 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.22 (Cerda)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.23 (Lechón)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Muestra No.24 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.25 (Cerda)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.26 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.27 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.28 (Cerda)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Muestra No.29 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.30 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CUADRO NUM. 2 (Cont.)

Diluciones	1:10			1:100					1:500			
	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500
Muestra No.31 (Cerde)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.32 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.33 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.34 (Cerde)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.35 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.36 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.37 (Cerde)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.38 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.39 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.40 (Cerde)	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Muestra No.41 (Lechón)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.42 (Lechón)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.43 (Cerde)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.44 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.45 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CUADRO NUM. 2 (Cont.)

Diluciones	1:10		1:100					1:500				
	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500
Muestra No.46 (Cerde)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.47 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.48 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.49 (Cerde)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.50 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.51 (Lechón)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.52 (Cerde)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.53 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muestra No.54 (Lechón)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



RESULTADO STREPTOLISINAS O



CUADRO NUM. 3  
RESULTADOS CARBOHIDRATOS

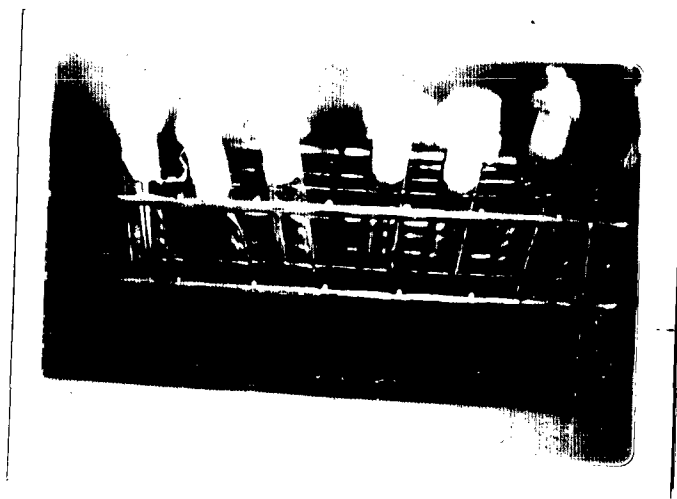
Muestra No.	DEXTrosa	MALTOSA	TREHALOSA	INULINA	RAFINOSA	MANITOL	SORBITOL	MANOSA	
1 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
4 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
7 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
10 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
16 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
13 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
19 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
22 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
30 (Corda ) Hemocultivo	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
14 (Lechón) Hemocultivo	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
18 (Lechón) Hemocultivo	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
11 (Lechón) Hemocultivo	+	+	+	-	-	-	+	+	Strep. Dysgalactia
24 (Lechón) Hemocultivo	+	+	+	-	-	-	+	+	Strep. Dysgalactia
28 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. Zooepidemicus

CUADRO NUM. 3 (Cont.)  
RESULTADOS CARBOHIDRATOS

Muestra No.	DEXTROSA	MALTOSA	TREHALOSA	INULINA	RAFINOSA	MANITOL	SORBITOL	MANOSA	
35 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
36 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	-	-	+	+	+	+	Strep. S.P.P.
37 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	+	-	+	+	+	Strep. Ubois
32 (Lechón) Hemocultivo	+	+	+	-	-	-	-	+	Strep. Equinilla
39 (Lechón) Hemocultivo	+	+	-	-	+	-	-	+	Strep. Equinus
40 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	-	-	+	+	+	+	Strep. Zeopidemicus
43 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
46 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
49 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	+	+	+	+	Strep. Bovis
52 (Corda ) Hisopo vaginal	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
47 (Corda ) Hemocultivo	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
48 (Corda ) Hemocultivo	+	+	+	+	+	+	+	+	Strep. Bovis
50 (Lechón) Hemocultivo	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
51 (Lechón) Hemocultivo	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield

CUADRO NUM. 3 (Cont.)  
RESULTADOS CARBOHIDRATOS

Muestra No.	DEXTROSA	MALTOSA	TREHALOSA	INULINA	RAFINOSA	MANITOL	SORBITOL	MANOSA	
42 (Lechón) Hemocultivo	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
43 (Cerde ) Hemocultivo	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield
50 (Cerde ) Hemocultivo	+	+	+	-	-	+	+	+	Strep. grupo E de Lancefield



RESULTADO CARBOHIDRATOS

CUADRO NUM. 4  
RESULTADOS INMUNODIFUSION

Muestra No.	Inmunodifusión	Muestra No.	Inmunodifusión
1	+	37	-
4	+	31	-
7	+	39	-
10	+	40	-
6	+	43	+
13	+	46	+
19	+	49	-
22	+	52	+
10	+	47	+
14	+	48	-
18	+	49	+
11	-	50	+
24	-	42	+
28	-	43	+
31	+	52	+
34	-		

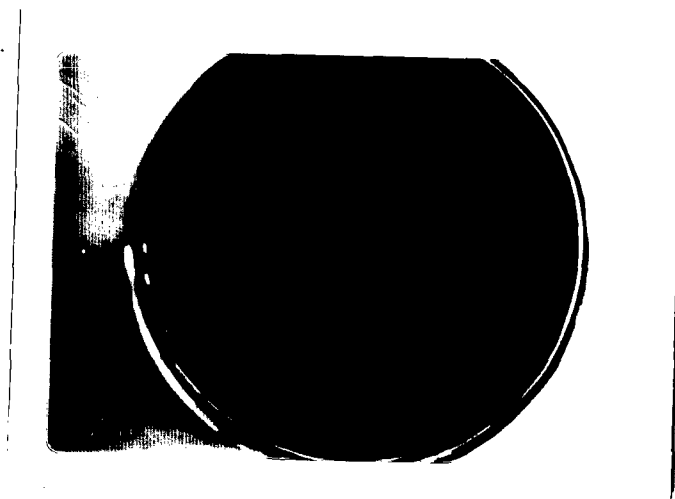
En la prueba de carbohidratos de 54 muestras, en 31 de ellas hubo aislamiento en un porcentaje de 57.4%. De las 54 muestras 13 corresponden a muestras vaginales de los cuillos- en 17 hubo aislamiento en un porcentaje de 92.3%. De los 13 hemocultivos de cerdas, solo en tres de ellas se obtuvo aislamiento en un porcentaje de 23.0%, y de 30 hemocultivos en lechones, en 11 hubo aislamiento en un porcentaje de 30.5%.

De las 31 muestras positivas de carbohidratos, 21 corresponden al grupo E de Lancefield, existiendo un 67.7% y las otras 10 muestras restantes corresponden:

- 1 Strep. Equisimiles
- 1 Strep. Equinus
- 1 Strep. Uberis
- 2 Strep. Zooepidemicus
- 2 Strep. Bovis
- 2 Strep. Dysgalactie
- 1 Strep. S.P.P.

Con relación a los resultados de las pruebas de Streptolisinas O, del total de 54 muestras 5 fueron positivas a la prueba y de estas cinco, tres corresponden a lechones y dos a cerdas en un porcentaje de 9.2%.

De 31 muestras que se trabajaron para la prueba de Inmy nodifusión, en 21 se observaron las bandas de precipitación- en un porcentaje de 67.7%.



COLONIAS DE STREPTOCOCCUS  
(Medio Gelosa Sangre - Azida de Sodio)

Con referencia al cerdo número 28 que presenta un título de 625 unidades Tood, y al número 40 con un título de 500 unidades Tood, habiéndose encontrado en ellos la presencia de Streptococcus Zooepidemicus que corresponde al grupo C de Lancefiel (6) (7), se observó que hay una relación serológica con el grupo A de Lancefield (8), el cual produce la Streptolisina O y que fue precisamente el reactivo que se utilizó en este trabajo.

En las muestras números 2- 8 y 23 que corresponden a lechones, observamos clínicamente un aumento de volumen de las regiones articulares intercarpianas presentando un alto título de anti-Streptolisinas (125 unidades Tood en humanos) y a su vez no obtuvimos aislamiento de Streptococcus a partir de sangre; en estos casos debimos de haber obtenido muestras de esa alteración articular, ya que reportes de algunos autores (10) animales portadores de Streptococcus en diferentes regiones corporales presentan un aumento en el título de anti-Streptolisinas (9), pero por no haber tenido consentimiento de los propietarios de los animales, no se pudo obtener la muestra de la alteración articular.

En base de las observaciones que se hicieron en las pruebas de Inmunodifusión, en un sólo caso observamos doble línea de precipitación que fue en la muestra número 52, lo que nos puede indicar que esta prueba puede tener diferencias cuantitativas como lo reporta el Dr. Shuman (5) y el resto de las muestras nos resultaron con una sola banda de precipitación, utilizando un sólo antígeno para las muestras, habiendo posibilidades de observarse resultados cuantitativos utilizando antígenos homólogos. (5)



Sin embargo puede existir un antígeno común y similar a distintos grupos de Strep. de Lancefield como es el caso que reporta el Dr. Shuman que puede haber un antígeno común a los grupos P - E - U de Lancefield. (11)

PRIMERA:- El uso de la Streptolisina O está indicada como un método auxiliar en el diagnóstico de la Streptococosis, siempre y cuando la cepa de este microorganismo sea afin al antígeno.

SEGUNDA:- La prueba de Inmunodifusión es aplicable como un método de diagnóstico utilizando antígenos de diferentes cepas de Streptococcus.

TERCERA:- La presencia de Streptococcus en cerdos es muy alta, pues de acuerdo con los aislamientos obtenidos en el presente trabajo de tesis, nos da un porcentaje de 57.4%.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Progress in Swine Practice ( pag. 309 )
- 2.- Scientific American (C.L. Stong, 1969 pag.248 -- 258)
- 3.- Swine Abscesses caused by Lancefield's group E - Streptococci I an approach to Their Detection by intradermic and serologic test (The Cornell Veterinarian Vol. LVI: No. 2, April 1966)
- 4.- Manual de operaciones de cinco años del laboratorio de Patología Animal de Tlaquepaque Jal., (Octubre de 1970 pag. 19 - A)
- 5.- Swine Abscesses caused by Lancefield's group E - Streptococci II. Experimental application of concentrated Culture filtrate antigens for their detection (The Culture filtrate antigens for their detection (The Cornell Veterinarian Vol. - LVII : No. 2 April 1967)
- 6.- Microbiología (William Burrow. Pag.432 edición - 19)
- 7.- Manual of Determinative Bacteriology (Bergey's - pag. 510-511 Seventh edition)
- 8.- Diagnóstico clínico por el laboratorio (Todd- -- Sanford pag. 936 cuarta edición)
- 9.- Microbiología (William Burrow pags. 439-441 edición 19)
- 10.- Enfermedades del cerdo. (Howard W. Dunne pag. -- 494 segunda edición)
- 11.- Swine abscesses caused by Lancefield's group E - Streptococci y Specificity of the presipitin test for their detection with relation to Streptococcal antigens of group p and U and Corynebacterium pyogenes (The Cornell Veterinarian pags.- 102-120 Vol. LIX No. 1, Enero 1969)