

January 2008

Estudio de prevalencia de muerte súbita por clostridios patógenos, asociados al suelo, y a otros factores en una zona de Ubaté, Cundinamarca

Diego Ortíz Ortega

Universidad Nacional de Colombia, dortiz@corpoica.org.co

Ruben Darío Toro Ortiz

Universidad Nacional de Colombia, rtoro@corpoica.org.co

Victorugo Téllez Cubillos

Universidad de La Salle, victorugot@hotmail.com

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/mv>

Citación recomendada

Ortíz Ortega D, Toro Ortiz RD y Téllez Cubillos V. Estudio de prevalencia de muerte súbita por clostridios patógenos, asociados al suelo, y a otros factores en una zona de Ubaté, Cundinamarca. Rev Med Vet. 2008;(15): 49-56.

This Artículo de Investigación is brought to you for free and open access by the Revistas científicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Revista de Medicina Veterinaria by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Estudio de prevalencia de muerte súbita por clostridios patógenos, asociados al suelo, y a otros factores en una zona de Ubaté, Cundinamarca¹

Diego Ortíz Ortega* / Ruben Darío Toro Ortiz**
Victorugo Téllez Cubillos***

RESUMEN

El presente estudio epidemiológico determinó la prevalencia de casos de muerte súbita en fincas ganaderas del municipio de Ubaté, departamento de Cundinamarca; el marco de muestreo del estudio fueron los hatos lecheros (980), la unidad de muestreo determinada fue cada hato. El tamaño de la muestra fue de 41 hatos, los cuales se encuestaron y georeferenciaron. La encuesta incluyó 72 preguntas, las cuales se analizaron y arrojaron como resultado una prevalencia del 22% de fincas afectadas por el Síndrome de Muerte Súbita. Se determinaron factores de riesgo asociados como el consumo de agua de vallado por parte de los animales, razón de prevalencia (RP) 3.08 (LC 95% 1.16 – 8.19). Se encontraron diferencias significativas entre predios afectados y no afectados en

variables como fincas de gran tamaño (mayores de 40 hectáreas) ($p < 0.05$), fincas con mayor número de potreros (más de 34) ($p < 0.05$) y la época de verano ($p < 0.05$). Adicionalmente se realizó un estudio bacteriológico a partir de 12 muestras de suelo tomadas en una finca afectada, con el objeto de aislar cepas patógenas de *Clostridium*, encontrándose que la especie *Clostridium sordelli*, fue la más frecuente. Estos resultados permiten generar algunas recomendaciones para los ganaderos, con el fin de colaborar en el establecimiento de medidas de prevención y control del Síndrome de Muerte Súbita.

Palabras clave: Clostridios, estudio epidemiológico, factores de riesgo, prevalencia, *Clostridium sordelli*.

¹ Trabajo resultado del Programa Nacional de Investigación en Salud Animal, Centro de Investigación TIBAITATA-CEISA, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA y Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de La Salle, Bogotá, D.C. Colombia.

* Médico Veterinario de la Universidad de La Salle, MSc. en Ciencias y Salud Animal de la Universidad Nacional de Colombia.
Correo electrónico: dortiz@corpoica.org.co

** Médico Veterinario del Tolima. M.Sc. en Genética y Biología Molecular de la Universidad Federal de RioGrande del Sur, Portoalegre, Brasil. Candidato a Doctorado en Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Colombia. Correo electrónico: rtoro@corpoica.org.co

*** Médico Veterinario de la Universidad de La Salle. Correo electrónico: victorugot@hotmail.com

Fecha de recepción: 10 de enero de 2008.

Fecha de aprobación: 22 de abril de 2008.

PREVALENCE STUDY OF SUDDEN DEATH CAUSED BY PATHOGENIC CLOSTRIDIUM ASSOCIATED TO SOIL AND OTHER FACTORS IN A ZONE OF UBATÉ, CUNDINAMARCA

ABSTRACT

This epidemiologic study determined the prevalence of sudden death cases in cattle farms in the Ubaté municipality in the Cundinamarca department. The study's sampling frame was the dairy herd (980); the sampling unity was each herd. The sample size was 41 herds, which were surveyed and geographically referenced. The survey included 72 questions which were analyzed and showed a prevalence of 22% farms affected by sudden death syndrome. Associated risk factors were determined in animals, such as fencing water consumption; prevalence ratio (PR) 3.08 (LC 95% 1.16-8.19). Significant differences were found out among affected and non-affected farms employing variables, such as large size farms (over 40 hectares, $p < 0.05$), those with the largest number of pastures (over 34, $p < 0.05$) and the dry season ($p < 0.05$). Additionally, a bacteriological study was

conducted in order to isolate pathogenic strains of *Clostridium* using 12 soil samples from an affected farm; from this study it was found that *Clostridium sordelli* was the most frequent strain. These results will allow recommending farmers to join efforts in establishing prevention and control measures for the sudden death syndrome.

Key Words: Clostridium, epidemiological study, risk factors, prevalence, *Clostridium sordelli*.

MARCO TEÓRICO

La muerte súbita de rumiantes, en pastoreo, es considerada un síndrome relacionado con muchos agentes patógenos, los cuales afectan principalmente la especie bovina; donde estos aparecen muertos repentinamente, o mueren luego de un curso corto de enfermedad, sin presentar mayores alteraciones visibles en su comportamiento o estado general (Benavides, 2004). Uno de los géneros bacterianos asociados con este síndrome, es el género de los Clostridios, (Quinn *et al.*, 2005), conformado por bacterias Gram positivas, esporógenas fermentadoras, generalmente móviles, anaerobias, catalasa y oxidasa negativas, que requieren medios enriquecidos con sangre completa de carnero, hemina y menadiona para su crecimiento (Smith & Holdeman, 1968). Son saprófitas, habitantes del suelo y de sedimentos de agua dulce o marina; constituyen parte de la flora intestinal normal de animales y el hombre; algunas pueden estar secuestradas como esporas en músculo estriado e hígado; las cuales pueden pasar a forma vegetativa cuando el medio presenta condiciones favorables de anaerobiosis, y así, puede causar enfermedad (Mudenda *et al.*, 2000).

Aunque se reconocen más de cien especies de Clostridios, menos de veinte son patógenos, y se agrupan, según la actividad de sus toxinas o el tropismo hacia los tejidos, en cuatro grupos o categorías. *Neurotóxicos*, sus toxinas pueden ingerirse preformadas, como ocurre en casos de botulismo, o ser el resultado del crecimiento de las bacterias en alguna parte del organismo, como es el caso del tétano. *Histotóxicos*, causan una serie de síndromes en animales domésticos, incluyendo gangrena gaseosa, pierna negra y edema maligno (Quinn *et al.*, 2005). *Enterotóxicos*, causantes de infección gástrica e intestinal en bovinos, ovejas y potros. La cuarta categoría, son los clostridios asociados con infecciones nosocomiales como son el *Clostridium difficile* en gastroenteritis (Biberstein *et al.*, 1994).

Los clostridios patógenos tienen dos maneras de infectar al huésped, una es colonizando el huésped a través de traumas o heridas, como el caso del *C. chauvoei* en ovinos, *C. septicum*, *C. tetani*, *C. sorde-lli* en bovinos y otras especies. La otra manera, no es una infección sino una intoxicación, mediante la producción de toxinas, como *C. novyi*, *C. perfringens*, *C. botulinum*, *C. haemolyticum* (Carter, 1989).

En Venezuela, entre los años 2000 y 2004, en un estudio sobre Muerte Súbita, en la región de los Llanos Centrales Venezolanos; utilizando la prueba de ELISA, se reportaron dos casos positivos a *C. botulinum*, y en uno de los hatos, se observaron signos clínicos y lesiones compatibles con *C. chauvoei* y *C. novyi* (Bermúdez *et al.*, 2004).

En Colombia, en los departamentos del Meta, Vichada, Arauca y Casanare, se determinó que la prevalencia de fincas afectadas por casos de muerte súbita fue de 35%, y se demostró que el consumo de huesos por parte de los animales fue uno de los principales factores de riesgo (Ortiz *et al.*, 2001). Adicionalmente se encontró que la mortalidad se presentó en épocas de lluvia (Ortiz, 2000).

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el municipio de Ubaté (Cundinamarca), a una altitud de 2600 metros sobre el nivel del mar, con una temperatura promedio de 14° C, y pisos térmicos, entre frío y páramo, con una precipitación anual de 734 mm (IGAC, 1996).

TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio epidemiológico transversal para determinar la prevalencia e hipotetizar factores de riesgo asociados a las muertes de bovinos ocasionadas por clostridios. El marco de muestreo se determinó a partir de los 980 predios, la unidad de muestreo fue el predio. La prevalencia utilizada para

calcular el tamaño de la muestra fue del 2%, con un error aceptado del 5%; y un nivel de confianza del 95% (Martin *et al.*, 1997), obteniendo una muestra de 41 predios y el muestreo se desarrolló de forma probabilística aleatoria simple.

ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA

La encuesta se conformó por un párrafo introductorio, identificación, georeferenciación del predio y 72 preguntas incluida una pregunta clave. Adicionalmente, se encuestó sobre aspectos de mortalidad, descripción del sistema ganadero, manejo de praderas y observaciones generales. Con la información obtenida, se estructuró una base de datos, la cual se analizó utilizando el programa *Epiinfo 6.1*®.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información se analizó en forma descriptiva para las variables cualitativas y cuantitativas. La estadística analítica para la información cualitativa incluyó las pruebas de Chi cuadrado y RP (Razón de Prevalencia). El proceso analítico de las variables cuantitativas incluyó la prueba de Barlett. Para los datos distribuidos normalmente se utilizó la prueba de Fischer; para varianzas no homogéneas, se utilizó la prueba de Kruskal-wallis (Ortiz, 2006).

TOMA DE MUESTRAS DE SUELO

El muestreo de suelos se desarrolló recorriendo los potreros en forma de zig-zag, tomando 20 submuestras, cada 15 metros, a 20 y 30 cm de profundidad, en ángulo de 45° (Coraspe *et al.*, 2003). Posteriormente se homogenizaron, y se elaboró un pastel, del cual se tomaron cuatro porciones, que fueron debidamente empacadas y rotuladas.

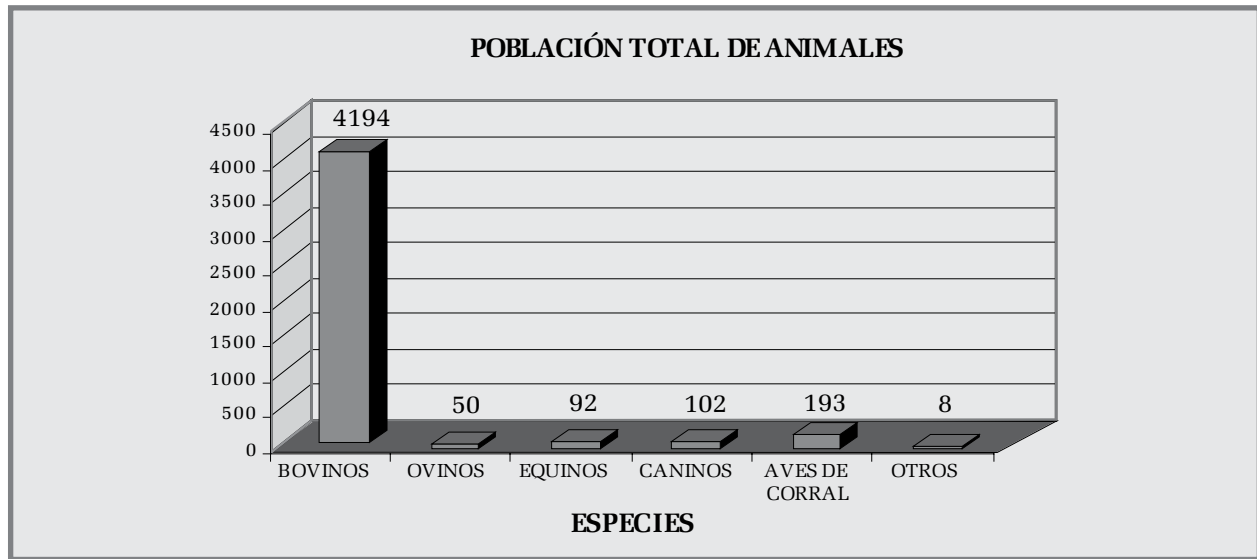
ESTUDIO BACTERIOLÓGICO

Con el fin de aislar bacterias anaerobias presentes en los suelos de las muestras recolectadas, y estudiar la posibilidad de relacionar los aislamientos con la presentación de casos de muerte súbita, las muestras de suelo, se procesaron de acuerdo al protocolo descrito por Gamboa *et al.* (2005) con modificaciones introducidas y estandarizadas por el laboratorio de bacterias anaerobias de CORPOICA. Brevemente, se indica, que las muestras se deshidrataron por seis semanas a 37° C, se maceraron y filtraron en un tamiz de 5 mm, se tomó 1 gramo y se colocó en una solución de alcohol al 50% por 30 minutos a 37° C. Luego se tomaron 100 µl del sobrenadante y se sembraron en tubos con caldo tioglicolato y trozos de carne, después de 48 horas de incubación a 37° C en anaerobiosis se realizaron siembras en agar sangre y agar yema de huevo. Evaluándose la morfología y otras características de clostridios (lecitinasa y lipasa +); finalmente se sometieron a caracterización bioquímica, utilizando kits comerciales (*API 20*® y *BBL CRYSTAL*®).

RESULTADOS

Según el análisis de la información obtenida de las 41 encuestas se encontró: la altitud promedio para el estudio fue de 2565.4 msnm (LC 95%, 2556.48-2566.33), el tamaño promedio de los predios fue de 23,22 hectáreas (LC 95%, 14.71-31.73) y 34 fincas (82.9%) se encontraron en zonas de inundables en los meses de invierno. Entre las labores agrícolas se encontró que solamente en 29 predios (70,7%) se implementa el subsolador, con un intervalo de uso de 12 meses. El tipo de ganaderías y el número de animales se muestran en la Gráfica 1.

GRÁFICA 1. INVENTARIO DE LAS ESPECIES DEL ESTUDIO.



De las 41 fincas encuestadas, nueve presentaron casos de muerte súbita asociada a clostridios, con una prevalencia del 22%. Los nueve predios afectados con muerte súbita reportaron 40 animales muertos (Promedio: 4.4 animales LC 95% 1.21 - 7.58), obteniéndose una prevalencia en animales de 0,95% para el estudio.

Los factores de riesgo identificados como asociados a la mortalidad de animales fueron el consumo de agua de vallado, época de verano, enfisema subcutáneo y disposición de cadáveres (Tabla 1).

TABLA 1. FACTORES DETERMINANTES ASOCIADOS A MORTALIDAD SÚBITA BOVINA

Variable	Factor de riesgo	RP*	LCI** 95%	LCS*** 95%
Origen del agua para los animales	Agua de vallados	3,02	1,1	8,9
Época del año	Verano	16,5	4,31	63,2
Signos clínicos	Enfisema	7,20	3,19	16,2
Disposición de cadáveres	Entierra	8,75	7,48	22,1

RP* (Razón de Prevalencia)
 LCI** (Límite de confianza inferior)
 LCS*** (Límite de confianza superior)

Al comparar los predios afectados y no afectados con algunos factores determinantes como tamaño de predio, número de potreros por predio, tiempo de rotación

de los potreros y grupos etéreos (terneras y vacas horras), se encontraron diferencias significativas; al igual que entre predios afectados y no afectados (Tabla 2).

TABLA 2. VARIABLES QUE PRESENTARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS PREDIOS AFECTADOS Y LOS NO AFECTADOS

Variable	Comparativo	X	LC I* 95%	LCS** 95%	P
Tamaño de predios (ha)	AFECTADOS	42.2	18.2	51.9	< 0.05
	NO AFECTADOS	18.3	9.61	27.8	
Número de potreros	AFECTADOS	34.1	17.3	50.8	< 0.05
	NO AFECTAROS	16.1	9.95	21.7	
Tiempo de rotación De potreros (Días)	AFECTADOS	65.2	53.9	76.5	< 0.05
	NO AFECTADOS	43.5	30.1	57.0	
Terneras (N°)	AFECTADOS	29.4	5.9	52.6	< 0.05
	NO AFECTADOS	9.5	5.5	13.6	
Vacac horras (N°)	AFECTADOS	28.1	5.8	25.6	< 0.05
	NO AFECTADOS	7.4	6.3	10.5	

LCI* (Límite de confianza inferior)
 LCS** (Límite de confianza superior)
 P*** (Probabilidad)

TABLA 3. CEPAS DE CLOSTRIDIUM OBTENIDAS A PARTIR DE MUESTRAS DE SUELO EN UN PREDIO AFECTADO.

Muestra de laboratorio	Coordenadas georeferenciadas		Resultado
	X	Y	
P101´	7348461	518083	<i>C. sordelli</i>
P102	7348460	518088	<i>C. hastiforme</i>
P201´	7348450	518042	<i>C. botulinum</i>
P202	7348407	517591	<i>C. sordelli</i>
P301	7348399	517562	<i>C. sordelli</i>
P302	7348456	518011	<i>C. butyricum</i>

DISCUSIÓN

Según los resultados del presente estudio, se encontró que en las 41 fincas ubicadas en el municipio de Ubaté, nueve presentaron casos de muerte súbita asociada a clostridios, con una prevalencia del 22%,

menor a la encontrada en otras regiones de Colombia, como es la Orinoquía, que fue de 35%. Se encontraron también resultados similares indicando que las fincas de mayor tamaño y mayor número de potreros son las de mayor prevalencia en este tipo de patologías (Ortiz *et al.*, 2001).

El factor determinante, el origen del agua de bebida para los animales en sistema de vallados mostró asociación con respecto a los casos de muerte súbita, en concordancia con lo descrito por Pino & Sánchez (2005) quienes encontraron que son comunes en bovinos las clostridiosis desarrolladas en forma endógena, ya que las esporas de estos microorganismos ingresan al animal por vía digestiva, son absorbidas a nivel intestinal y llegan a la circulación sanguínea donde se distribuyen a distintos tejidos, en especial en el músculo estriado esquelético, donde por reducción del potencial de óxido-reducción, las esporas germinan y se multiplican rápidamente, produciendo toxinas que necrosan los tejidos del área. En España se reportaron casos de muerte súbita asociada a *Clostridium sordelli* en leones en cautiverio, el cual fue adquirido a partir del agua de bebida (De la Fe *et al.*, 2006). Debido a lo anterior, la buena calidad y cantidad de agua que se suministre a los animales debe ser parte de las políticas de manejo y gerencia de los hatos, de tal forma que se garanticen las condiciones sanitarias óptimas a los animales, especialmente bovinos.

La época de verano como factor de riesgo, evidenció asociación con casos de mortalidad súbita en las fincas afectadas y presentó concordancia con los hallazgos de Mudenda *et al.* (2000) quienes encontraron, que las muertes asociadas a pierna negra, causada por *Clostridium chauvoei*, se manifiestan en esta misma época, en las grandes Sabanas de Zambia, factor ligado a inundación previa de potreros en época de invierno.

En cuanto a los signos clínicos determinantes, el enfisema subcutáneo presentó asociación con la muerte súbita, al igual a lo reportado en Venezuela, donde este signo clínico es de alta frecuencia seguido de inflamación edematosa, decaimiento, fiebre, toxemia y respiración rápida (Pino & Sánchez, 2005).

Otro de los factores determinantes asociados a mortalidad súbita bovina encontrados fue el factor deno-

minado “enterramiento” el cual tiene que ver con la disposición de los cadáveres en la zona, y específicamente con la profundidad, ya que cadáveres de animales muertos por clostridiosis, enterrados de forma superficial, durante su proceso de descomposición e incluso después, sufren fenómenos de lixiviación y arrastre de partículas por aguas lluvias lo que expone a los microorganismos (clostridios) y esporas, a la periferia del lugar de depósito y posteriormente estos se esparcen a los alrededores. (Friends of the Earth, 1996). Se hace necesario evaluar la forma como se entierran los animales ya que enterramientos inadecuados de los mismos puede incrementar el riesgo de mortalidad de los animales.

Los grupos a riesgo, las terneras y las vacas horras, semejan la situación encontrada por Parra *et al.* (1997) quien demostró que las clostridiosis afectan grupos etéreos similares. Por tanto estos grupos etéreos a riesgo deben ser objeto de atención por parte de los productores para implementar en ellos medidas de prevención y control de esta patología.

En la fase laboratorial, en la cual se dio el aislamiento de *Clostridium sordelli* a partir de muestras de suelo como el de mayor incidencia, presentó resultados similares a los aislamientos bacteriológicos obtenidos por Gamboa *et al.* (2005) donde *C. sordelli* fue la segunda especie de *Clostridium spp.* de mayor aislamiento, precedida del *Clostridium perfringens*. El aislamiento de este clostridio en la zona indica que dicha bacteria puede ser responsable de algunos de los problemas clínicos relacionados con miositis necróticas, por lo que se recomienda, como una medida de prevención para esta zona y similares, la vacunación con biológicos que contengan toxoides de *Clostridium sordelli* además de otros Clostridios.

BIBLIOGRAFÍA

- Benavides, E.; 2004. Causas de muerte súbita en bovinos en pastoreo en las sabanas de América tropical. *Revista colombiana de ciencias pecuarias*. 17:2. p 182 – 192.
- Bermúdez, V.; Moreno, J.; Moreno, j.; & García, F.; 2005. Síndrome Neuromotor bovino Indiferenciado en Llanos Centrales Venezolanos Asociado con Muerte Súbita o Agónica. Discusión sobre Etiologías Asociadas en el Diagnóstico Diferencial, del Diseño de Campo y Enfoque Diagnóstico Multidisciplinario. Ed. Aragua. p 10.
- Biberstein, E.; & Cheng, Z.; 1994. Tratado de Microbiología Veterinaria, Ed. Acribia, Zaragoza. p 673.
- Carter, G.; 1989. Fundamentos de bacteriología y micología veterinaria. Ed. Acribia, Zaragoza. p 325.
- De la Fe, C., Rodríguez, J., Ramírez, G., Hervás, J., Gil, J., & Poveda, J., 2006. Sudden Death Associated with *Clostridium sordellii* in Captive Lions (*Panthera leo*), *Vet Pathol* 43:370-374.
- Friends of the Earth (FOE), 10 de mayo de 1996, “Citizen’s Guide to Municipal Landfills”; Estados Unidos.
- Gamboa, M.; Rodríguez, E.; & Vargas, P.; 2005. Diversity of mesophilic clostridia in Costa Rican soils. *Anaerobe*. Vol 11. p 322-326.
- Instituto Geográfico Agustín Codazzi.; 1996. Diccionario Geográfico de Colombia. Tomo V. p 2384.
- Martin, W.; Meek, H.; & Willeberg, P. 1997. Epidemiología veterinaria, principios y métodos. Ed. Acribia. p 384.
- Mudenda, B.; Isogai, E.; Lungu, J.; Mubita, CH.; Nambota, A.; Kirisawa, R.; Kimura, K.; & Isogai H. 2000. Detection and characterization of clostridium species in soil of Zambia. *Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases*. Vol 23. p 277-284.
- Muyllle, E.; Oyaert, W.; & Ooms, L.; 1975. Treatment of tetanus in the horse by injection of tetanus antitoxin into the subarachnoid space. *Javma*. Vol 167. p 47-78.
- Ortiz, D.; 2000. Estudio epidemiológico del problema de mortalidad bovina en la Orinoquía colombiana. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Bogotá. p 290.
- Ortiz, D.; Benavides, E.; & Villamil, L.; 2001 Factores de riesgo asociados con la ocurrencia del síndrome neuroparalítico bovino en la Orinoquía Colombiana. *IQEN*. 6(15). p 228-229.
- Parra, J.; Olarte, F.; Barrera, J. & Acevedo, L. 1997. Mortalidad lechera en la altillanura del vichada. Informe técnico N° 1. CORPOICA.
- Pino, D. & Sánchez, A., 2005. Enfermedades clostridiales. Departamento Médico Quirúrgico. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. p 8.
- Quinn, J.; Markey, K.; & Carter, E.; 2005. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. Ed. Acribia. p 352.
- Smith, L. & Holdeman, L., 1868. The pathogenic anaerobic bacteria. Ed. Charles C. Thomas. Springfield. p 423.