



ENFERMEDADES CLOSTRIDIALES DE LOS RUMIANTES, CON ESPECIAL ENFASIS EN BOVINOS

Parte 1: ENTEROTOXEMIAS, ABOMASITIS Y ENTERITIS

Francisco A. Uzal, DVM, MSc, PhD, Dipl. ACVP

Profesor de Patología Diagnóstica Veterinaria, California Animal Health and Food Safety Laboratory, San Bernardino Branch, University of California, Davis. 105 W Cental Ave, San Bernardino, CA, USA

E-mail: fuzal@cahfs.ucdavis.edu

Introducción

Las enfermedades clostridiales son producidas por bacterias del género *Clostridium*, bacilos Gram positivos, anaerobios y esporulados. Dentro de las enfermedades clostridiales, las enterotoxemias son sumamente importantes por su efecto negativo en la salud y producción animal. Las enterotoxemias son, por definición, enfermedades causadas por toxinas bacterianas producidas en el intestino, que se absorben a la circulación y ejercen sus efectos en otros órganos, tales como el cerebro, pulmones, etc. En algunas ocasiones, estas toxinas producen, además, enteritis. En los rumiantes, el agente más importante responsable por las diferentes formas de enterotoxemia es *Clostridium perfringens*, mientras que otras especies clostridiales juegan un rol mucho menor en el desarrollo de estas enfermedades.

Enterotoxemias producidas por *Clostridium perfringens*

C. perfringens se clasifica en cinco tipos (A, B, C, D y E) de acuerdo a la producción de cuatro exotoxinas denominadas "toxinas mayores" (Tabla 1).

Tabla 1: Toxinas mayores producidas por los 5 tipos de *Clostridium perfringens*

Tipo de <i>C. perfringens</i>	Toxinas mayores producidas			
	alfa	beta	epsilon	lota
A	+	-	-	-
B	+	+	+	-
C	+	+	-	-
D	+	-	+	-
E	+	-	-	+

Otras dos toxinas también denominadas mayores (enterotoxina y beta 2) pueden ser producidas por todos los tipos de *C. perfringens* pero no se las utiliza actualmente para la clasificación de este microorganismo. Además de estas así llamadas toxinas mayores, algunas cepas de *C. perfringens* pueden producir hasta 15 toxinas, que son llamadas comúnmente "menores".

Los cinco tipos de *C. perfringens* pueden ser habitantes normales del intestino de animales normales, pero ante cambios bruscos de alimentación, u otros factores no muy bien entendidos que alteran el ambiente intestinal, proliferan en grandes cantidades y producen toxinas que son responsables de las distintas formas de enterotox-

emia. Es por esto que el simple aislamiento de cualquiera de estos microorganismos del intestino de animales con sospecha de enterotoxemia no es en si mismo un criterio de diagnóstico. A pesar de esto, no todos los tipos de *C. perfringens* se encuentran presentes en el intestino de animales normales en la misma proporción; por ejemplo, el tipo A esta presente en la gran mayoría de los animales, mientras que el tipo C raramente se encuentra en el intestino de animales sanos y el tipo B ha sido aislado solo en algunos países del mundo. Por eso, el aislamiento de algunos de los tipos de *C. perfringens* (por ejemplo el tipo C o B) puede ayudar a establecer un diagnostico presuntivo de enterotoxemia por ese tipo en particular.

Enterotoxemia por *C. perfringens* tipo A

C. perfringens tipo A produce enteritis necrótica en pollos y gangrena gaseosa en varias especies animales, incluyendo humanos. Estas dos enfermedades han sido bien caracterizadas y para ambas se han confirmado los postulados de Koch quedando, por lo tanto, pocas dudas acerca del rol de este microorganismo en la etiología de ambas enfermedades.

El rol de *C. perfringens* tipo A en las enfermedades gastrointestinales de los rumiantes es, sin embargo, mucho menos claro y la poca información disponible sobre el papel que este tipo juega en las enfermedades digestivas del bovino, es a veces contradictoria. Distintos autores discuten la patogenicidad de *C. perfringens* tipo A y esta discusión llega hasta el punto de que hay quienes niegan la capacidad de este microorganismo de producir enfermedad. El mayor problema para establecer un posible rol de este tipo de *C. perfringens* en las enfermedades digestivas del bovino radica en que al ser un habitante normal del intestino de la mayoría de los bovinos, su aislamiento del intestino de animales enfermos tiene poco o ningún significado diagnóstico.

En el ovino *C. perfringens* tipo A produce una enfermedad conocida como "enfermedad del cordero amarillo", que se cree que es mediada por la toxina alfa de *C. perfringens*; esta toxina es una lecitinasa. Debido a esto, el mayor efecto de la toxina alfa es la destrucción de los eritrocitos, con la consiguiente hemólisis e ictericia. El diagnóstico presuntivo se basa en los signos clínicos y hallazgos de necropsia, pero la confirmación del mismo debe basarse en el aislamiento de gran número de organismos (*C. perfringens* tipo A) en contenido intestinal. En general se asume que un recuento de 106 UFC/gr tiene significado diagnóstico. Sin embargo, los postulados de Koch no han sido completados para esta enfermedad y los criterios diagnosticos no han sido definidos. Hasta el presente no se ha descrito una



enfermedad equivalente a la enfermedad del cordero amarillo en bovinos.

Enterotoxemia por *C. perfringens* tipos B y C

C. perfringens tipo B y C producen enteritis necrótica en animales neonatos de varias especies animales, incluyendo bovinos. Ocasionalmente esta enfermedad se ve también en animales adultos de varias especies. Mientras que la enteritis necrótica por *C. perfringens* tipo C es relativamente común, la enterotoxemia por el tipo B es muchísimo más rara y la mayoría de los diagnósticos de esta enfermedad se limitan a países del medio oriente.

Los signos clínicos y hallazgos post-mortem de las enfermedades producidas por *C. perfringens* tipos B y C se deben principalmente a la acción de la toxina beta a nivel intestinal, donde esta produce severa necrosis de la mucosa. En estadíos terminales, la toxina beta puede absorberse a la circulación general produciéndose toxemia con hemorragias en las serosas, necrosis muscular y signos neurológicos. Como la toxina beta es extremadamente sensible a la tripsina, se considera que la tripsina presente en el intestino de animales no neonatos normales es la defensa más importante contra la acción de esta toxina. En neonatos, se especula que la presencia de calostro en el intestino (esta substancia tiene una fuerte acción inhibitoria de la tripsina), es el principal responsable por la falta de inactivación de la toxina beta y la consecuente necrosis intestinal.

Las enfermedades producidas por *C. perfringens* tipo C se caracterizan clínicamente por un rápido desarrollo que generalmente lleva a la muerte de los animales antes de las 24 hs. Los síntomas, cuando se los llega a observar, consisten en gritos y abdomen distendido y puede o no haber diarrea con sangre y trozos de mucosa. Ocasionalmente se observan signos neurológicos

A la necropsia se puede observar gran cantidad de sangre oscura en la luz intestinal, junto con fibrina y restos de mucosa descamada y úlceras que abarcan todo el grosor de la mucosa, que se observa roja y sangrante. Las lesiones se observan principalmente en el intestino delgado, aunque ocasionalmente el colon puede verse afectado también. Histológicamente estas enfermedades se caracterizan por necrosis difusa superficial aguda, con trombosis vascular en mucosa y submucosa. Pueden o no verse gran cantidad de bacilos asociados a las lesiones.

En los casos de *C. perfringens* tipo B, algunos animales que sobreviven por varios días pueden presentar, además, encefalomalacia simétrica focal debido a la acción de la toxina epsilon.

El diagnóstico presuntivo de estas enfermedades se basa en los signos clínicos y hallazgos de necropsia/histopatología y se confirma con la detección de la toxina beta (*C. perfringens* tipo C) o beta y epsilon (*C. perfringens* tipo B) en la luz intestinal. El aislamiento de *C. perfringens* tipo B o C es altamente significativo dado que estos tipos de *C. perfringens* son raramente encontrados en el

intestino de animales sanos.

Enterotoxemia por *C. perfringens* tipo D

Este es la forma de enterotoxemia más frecuentemente descrita en la mayor parte de las regiones de producción ovina y caprina del mundo. Sin embargo, a pesar de que en los últimos años se han publicado algunos casos de enterotoxemia tipo D en bovinos, la enfermedad parece ser sumamente rara en esta especie.

La enterotoxemia tipo D se conoce como enterotoxemia, enfermedad del riñón pulposo o enfermedad de la sobrealimentación. Al igual que los otros tipos de este microorganismo, el tipo D puede ser un habitante normal del intestino en un reducido porcentaje de ovinos, caprinos y bovinos. La enfermedad es producida por la toxina epsilon, una de las toxinas mayores de *C. perfringens* tipo D. Cuando este microorganismo está presente en el intestino de animales sanos, lo está en muy pequeña cantidad y produce toxinas que son eliminadas con los movimientos intestinales normales. Pero al producirse cambios en el ambiente intestinal, generalmente por cambio brusco a una dieta rica en carbohidratos fácilmente fermentables, prolifera en grandes cantidades produciendo enormes cantidades de toxinas que actúan sobre el epitelio intestinal facilitando su propia absorción a la circulación general, a través de la cual llegan a los órganos blanco (cerebro, riñones y pulmones). En estos órganos, la toxina epsilon se fija a un receptor en las células endoteliales, a consecuencia de lo cual estas células degeneran y mueren aumentando la permeabilidad vascular y permitiendo la salida de líquido y proteínas al espacio perivascular con el consiguiente edema. En la mayoría de los casos la muerte sobreviene durante este período, pero si los animales sobreviven lo suficiente, se produce necrosis del tejido cerebral, comúnmente denominado "malacia" y se observa la lesión conocida como encefalomalacia simétrica focal (ESF). El edema cerebral y de pulmón y la ESF son responsables de los signos neurológicos y respiratorios característicos de la enfermedad.

La forma más frecuente de la enfermedad es sobreaguda con muerte entre las 4 y 12 horas de iniciada, siendo los signos clínicos raramente observados. Cuando se los observa, estos se limitan a alteraciones neurológicas (opistótonos, pedaleo, rechimiento de dientes, gritos) y respiratorias en los estadíos terminales (respiración acelerada, rales). En la forma aguda, los animales sobreviven hasta 24 horas y los signos clínicos son generalmente los mismos que los descriptos para la forma sobreaguda.

El aspecto más importante a destacar al referirse a los cambios post-mortem de la enterotoxemia bovina tipo D, es que son sumamente variables y que en muchos casos no hay absolutamente ningún cambio macroscópico observable en el cadáver. Cuando hay cambios macroscópicos, estos pueden consistir en acumulación de líquido translúcido en cavidad peritoneal, torácico y/o



pericárdica; es este último espacio pueden observarse a veces ligeros filamentos de fibrina. El edema pulmonar es otro cambio que suele estar presente y que se reconoce fácilmente por la acumulación de espuma en la tráquea y grandes bronquios, además de encontrarse los pulmones pesados y exudar líquido de la superficie de corte al apretarlos. Los septos interlobulares suelen encontrarse engrosados por la acumulación de líquido.

Si bien los antecedentes y signos clínicos pueden orientar un diagnóstico de enterotoxemia por *C. perfringens* tipo D, no se puede realizar la confirmación del mismo sin el apoyo del laboratorio. Como en las enterotoxemias producidas por los otros tipos de *C. perfringens*, la confirmación del diagnóstico de la enterotoxemia tipo D se basa en la detección de toxinas (en este caso toxina epsilon) preformadas en el intestino delgado de los animales afectados. Sin embargo, en este caso particular, las lesiones histológicas en cerebro (edema proteináceo perivascular) son patognomónicas de la enfermedad y permiten establecer un diagnóstico definitivo de la misma.

Enterotoxemia por *C. perfringens* tipo E

C. perfringens tipo E produce toxinas alfa e iota y se han descrito casos de enfermedad en terneros y corderos asociados a este microorganismo, aunque su rol como agente productor de enterotoxemia en ovinos es aún discutido y la enfermedad producida ha sido pobremente definida. Este tipo de *C. perfringens* produce la clásica enterotoxemia del conejo, que se caracteriza por tiflocolitis hemorrágica.

Enterotoxemia/enteritis por *C. difficile*

Esta es una enfermedad emergente que afecta humanos, equinos y otras especies.

En equinos produce severa enteritis y/o enterocolitis, caracterizada por necrosis de la mucosa con trombosis. *C. difficile* produce dos toxinas principales: A y B. En bovinos, si bien este microorganismo se aísla con frecuencia del contenido intestinal, el significado de este hallazgo aún no ha sido determinado.

El diagnóstico se confirma por detección de cualquiera de estas toxinas en contenido intestinal y/o aislamiento del microorganismo, ya que *C. difficile* no es considerado un habitante normal del intestino en equinos sanos.

Enterotoxemia por *C. septicum*

Esta enfermedad, también llamada abomasitis clostridial, braxy o bradsot, es producida por *C. septicum* y se la describe habitualmente en otoño e invierno en países o zonas frías. Se han descrito casos en ovinos y, raramente, en bovinos.

Se sugiere habitualmente que pastos helados son los predisponentes del braxy al lesionar la mucosa del abomaso y permitir el ingreso de esporas o formas vegetativas al organismo. Sin embargo, es difícil imaginarse que pastos helados puedan llegar aún congelados hasta el abomaso y no existen en la bibliografía trabajos experimentales sobre la patogenia de esta enfermedad.

El braxy tiene curso agudo y la sintomatología consiste en fiebre, dolor abdominal, depresión y muerte en menos de 24 horas.

La lesión post-mortem más importante del braxy es la presencia de edema y úlceras en abomaso.

El diagnóstico se confirma por la demostración (por cultivo, PCR o inmunofluorescencia) de *C. septicum* en mucosa de abomaso.



ENFERMEDADES CLOSTRIDIALES DE LOS RUMIANTES, CON ESPECIALES ENFASIS EN BOVINOS

Parte 2: ENFERMEDADES HISTOTOXICAS Y NEUROTOXICAS

Francisco A. Uzal, DVM, MSc, PhD, Dipl. ACVP

Profesor de Patología Diagnóstica Veterinaria, California Animal Health and Food Safety Laboratory, San Bernardino Branch, University of California, Davis. 105 W Cental Ave, San Bernardino, CA, USA

E-mail: fuzal@cahfs.ucdavis.edu

Introducción

Las enfermedades clostridiales son producidas por bacterias del género *Clostridium*, bacilos Gram positivos, anaerobios y esporulados. Esta definición no es sólo de importancia académica, si no que es necesaria para entender la patogénesis y/o realizar el diagnóstico y la prevención de las enfermedades clostridiales. Por ejemplo, el hecho de que los clostridios sean anaerobios significa que las posibilidades de infección serán mayores en ausencia de oxígeno (como en el caso de heridas, focos de necrosis, etc.). Por otro lado, al tomar una muestra para diagnóstico se deben tomar precauciones para que la misma esté el menor tiempo posible en contacto con oxígeno antes de ser procesada. Finalmente, conocer la morfología de los clostridios es importante para interpretar frotis realizados a partir de material de campo o cultivos de laboratorio.

Si bien los clostridios son anaerobios, existen distintos grados de tolerancia al oxígeno. Dentro de los clostridios patógenos para los animales hay especies bastante tolerantes al oxígeno, como es el caso de *Clostridium perfringens*, y otras exquisitamente sensitivas como es el caso de *Clostridium novyi*.

Existen en la literatura distintas clasificaciones de las enfermedades histotóxicas producidas por clostridios. Aquí discutiremos una clasificación basada en el tipo de enfermedad producida. Así, agruparemos a las enfermedades clostridiales en los siguientes grupos:

1-Grupo mancha/gangrena gaseosa

Enfermedades producidas por *C. chauvoei*, *C. septicum*, *C. perfringens*, *C. novyi* y *C. sordellii*.

2-Grupo infecciones hepáticas

Enfermedades causadas por *C. novyi*
Enfermedades causadas por *C. piliforme*

3-Grupo neurotóxicas

Enfermedades causadas por *C. tetani*
Enfermedades causadas por *C. botulinum*

1-Grupo mancha/gangrena gaseosa

Dentro de este grupo se agrupan 2 enfermedades: mancha y gangrena gaseosa (edema maligno). Si bien ambas difieren en la patogenia, debido a la similitud en signos entre ambas, se las discutirá juntas en esta sección capítulo.

Tanto la mancha como la gangrena gaseosa son de ocurrencia universal, aunque mientras la gangrena gaseosa es una enfermedad comúnmente observada en varias especies animales, incluidos los bovinos, la mancha es tradicionalmente considerada una enfermedad del bovino. Sin embargo, ambas enfermedades pueden observarse en las dos especies. La mancha es producida por *C. chauvoei* solamente, pero la gangrena gaseosa puede ser producida por uno o más de los siguientes microorganismos: *C. chauvoei*, *C. septicum*, *C. novyi*, *C. perfringens* y *C. sordellii*.

A la mancha se la define como una enfermedad endógena ya que las esporas de este microorganismo ingresan al animal generalmente a través de la vía digestiva, son absorbidas a nivel intestinal y llegan a la circulación sanguínea por donde se distribuyen en distintos tejidos del organismo, pero en especial en el músculo estriado. La razón para esta preferencia es desconocida. Dentro del músculo son fagocitadas por los macrófagos que se encuentran normalmente en los tejidos y dentro de estos pueden sobrevivir por años. Cuando por algún motivo se produce una reducción del potencial de oxido reducción en esta zona, las esporas germinan y se multiplican rápidamente, produciendo toxinas que necrosan los tejidos del área, lo que a su vez reduce aún más la tensión de oxígeno estimulando la multiplicación de los gérmenes. Las toxinas producidas en la zona se diseminan rápidamente a la circulación general produciendo una toxemia que termina con la muerte del animal en pocas horas. En la práctica, las lesiones que predisponen a la mancha son traumas durante juntas y otros manejos de los animales.

La gangrena gaseosa, por su parte, es definida como una enfermedad exógena, ya que las esporas o formas vegetativas de los organismos involucrados ingresan al organismo a través de heridas abiertas en la piel, tales como inyecciones, vacunaciones, sangrado, etc.

El curso clínico de la mancha y la gangrena gaseosa puede ser agudo o sub-agudo, durando entre 6 y 24 horas. Cuando el curso es agudo, generalmente no se llegan a observar los signos clínicos. En los casos de curso sub-agudo hay fiebre, decaimiento y, cuando las lesiones se encuentran en los miembros, hay claudicación seguida de postración. En las zonas con lesiones, tanto en la mancha como en la gangrena gaseosa, se observa tumefacción debida al edema subcutáneo y en la mayoría de los casos, a la palpación se siente crepitación producida por las burbujas de gas generado por los microorganismos actuantes. La zona afectada generalmente se presenta



con tonos azulados y fría, debido a la isquemia tisular. Una delgada línea roja de hiperemia puede observarse separando esta zona del tejido sano circundante. En los casos de gangrena gaseosa a veces pueden encontrarse las heridas por donde se produjo la entrada de microorganismos.

A la necropsia de la mancha y la gangrena gaseosa se observa generalmente la piel del área afectada azulada y a la palpación puede sentirse edema y crepitación. Sin embargo, es importante recordar que muchas veces las lesiones de mancha se producen en músculos que no se pueden palpar externamente, tales como los músculos sublumbar, diafragma o corazón. Como norma general se acepta que la gangrena gaseosa produce lesiones que afectan principalmente al tejido subcutáneo, mientras que la mancha se restringe más al músculo. Sin embargo, en la mayoría de los casos ambos tejidos tienen algún grado de lesión en ambas enfermedades. El músculo afectado se presenta oscuro y con frecuencia se observan agujeros en el mismo producidos por gas, que le dan un aspecto de "apolillado". El líquido de las zonas lesionadas es mal oliente y en él se pueden observar burbujas de gas. En ambas enfermedades, pero particularmente en la gangrena gaseosa, hay abundante edema subcutáneo que a veces desde las zonas altas de los miembros puede extenderse hasta el rodete coronario, inmediatamente por encima de las pezuñas. Puede haber líquido en cavidades abdominal, torácica y pericárdica y hemorragias en superficies serosas. La histología del músculo muestra zonas de necrosis de coagulación rodeadas por una discreta infiltración de células inflamatorias entre las que se pueden observar los bacilos productores de la enfermedad. En un alto porcentaje de casos de mancha en algunos lugares del mundo se observan lesiones cardíacas además de las lesiones en el músculo esquelético. Un reducido número de casos se caracteriza por tener solo lesiones cardíacas en lo que se conoce como "mancha cardíaca".

Los hallazgos clínicos y de necropsia brindan generalmente un diagnóstico presuntivo de aceptable precisión en ambas enfermedades. Algo más de aproximación brinda la observación de improntas de la zona de la lesión, teñidas con la coloración de Gram, en las que se observan bacilos Gram positivos con espora terminal o subterminal. La confirmación del diagnóstico se obtiene a través de la inmunofluorescencia directa en improntas y/o cultivo/PCR de músculo y exudados de la zona afectada. Siempre conviene realizar, además, histopatología del músculo afectado ya que, aunque no brinda un diagnóstico definitivo, reafirma el presuntivo en caso que por algún motivo no pueda realizarse cultivo/PCR. Con el material fijado en formol enviado para histopatología, se puede realizar, además, inmunohistoquímica que se basa en la detección de los microorganismos en cortes de tejidos con anticuerpos específicos y que brinda también un diagnóstico definitivo.

2-Grupo infecciones hepáticas:

Hepatitis infecciosa necrosante y hemoglobinuria bacilar

La hepatitis infecciosa necrosante o enfermedad negra es producida por *C. novyi* tipo B, mientras que la hemoglobinuria bacilar o meada de sangre es producida por el tipo D del mismo microorganismo, también llamado *C. haemolyticum*. La hepatitis infecciosa necrosante se produce habitualmente en ovinos, mientras que la hemoglobinuria bacilar es usualmente considerada una enfermedad de los bovinos. Sin embargo, ambas pueden producirse en las dos especies.

Tanto el tipo B como el D de *C. novyi* producen una potente lecitinasa, denominada toxina alfa, que es la responsable de la hemólisis masiva observada en ambas enfermedades. En ambos casos las esporas de *C. novyi* son ingeridas con alimentos contaminados y en el intestino atraviesan la pared intestinal, pasando a la circulación portal a través de la cual llegan al hígado. En este órgano circulan por los capilares hepáticos y algunas de ellas son fagocitadas por los macrófagos tisulares o células de Kupffer donde permanecen, a veces, por años, hasta que se producen las condiciones de anaerobiosis necesarias para la germinación. Entre los factores que generan las condiciones de anaerobiosis necesarias para la germinación de las esporas, el predisponente más común es la larva de *Fasciola hepática* en su migración desde la cápsula hepática hasta los canalículos biliares. Durante esta migración, las larvas van produciendo túneles de necrosis, donde el nivel de oxígeno es mínimo o nulo, lo que produce las condiciones ideales para la germinación de las esporas clostridiales. Como se han descrito algunos casos de hepatitis infecciosa y hemoglobinuria bacilar en animales sin *F. hepática* se piensa que otros factores pueden también desencadenar la enfermedad. Esta idea tiene fundamento ya que las esporas de *C. novyi* necesitan para germinar anaerobiosis y por lo tanto, cualquier agente que produzca estas condiciones debería ser considerado un predisponente potencial de hepatitis infecciosa o hemoglobinuria bacilar. Entre estos factores se describen químicos y algunas plantas tóxicas.

Ambas enfermedades son casi invariablemente de curso agudo o sobreagudo, produciéndose la muerte en menos de 24 horas. Cuando llegan a observarse los signos clínicos, estos consisten en apatía, separación del rodeo, recumbencia (generalmente en posición esternal), orina de color rojo oscuro y, ocasionalmente, signos neurológicos consistentes en ceguera y depresión. Estos últimos se cree que se deben a encefalopatía hepática, producto de la incapacidad del hígado dañado para eliminar desechos tóxicos normales del organismo y que afectan el cerebro. La ictericia es raramente observada, ya que se necesitan más horas de las que normalmente sobreviven los animales para que los pigmentos biliares se hagan visibles en los tejidos.

El hallazgo más característico de la hemoglobinuria bacilar



es un foco de necrosis hepática que suele ser único y medir hasta 10 o 15 centímetros. En la hepatitis infecciosa los focos de necrosis hepática son generalmente múltiples y más pequeños que los de la hemoglobinuria bacilar. En ambas enfermedades los focos de necrosis tienen bordes irregulares y están claramente demarcados del resto del hígado por una delgada línea roja de hiperemia. Los mismos pueden o no verse desde la superficie capsular del hígado por lo que es importante durante la necropsia cortar este órgano en rodajas finas y observar la superficie de corte de cada una de ellas. Puede o no haber exudado hemorrágico de consistencia gelatinosa en cavidad abdominal, torácica y pericárdica y ptequias en superficies serosas. El tejido subcutáneo está generalmente muy congestivo y se presenta de un color rojo oscuro, lo que sugiere el nombre de enfermedad negra en el caso de la hepatitis infecciosa necrosante. La orina en la vejiga generalmente es de color rojo oscuro, lo mismo que la superficie de corte de los riñones donde en general cuesta distinguir la diferencia entre médula y corteza. Ocasionalmente, cuando los animales han sobrevivido lo suficiente, puede observarse ictericia generalizada. En la mayoría de los casos se observan lesiones en el hígado producidas por la migración de las larvas de *F. hepática*. La histopatología del hígado muestra zonas de necrosis de coagulación, donde la arquitectura general del órgano está conservada, aunque se ha perdido el detalle a nivel celular. Estas zonas de necrosis se encuentran rodeadas de una banda de células inflamatorias y abundantes bacilos Gram positivos, esporulados o no.

El diagnóstico definitivo se basa en el aislamiento o detección por PCR de *C. novyi* (tipos B o D) del hígado y/o la demostración de los mismos por inmunofluorescencia en improntas de este órgano. Se debe ser cauteloso al interpretar los resultados del cultivo, ya que *C. novyi* tipo B o D puede ser un habitante normal del hígado de bovinos y/u ovinos sanos, por lo que a menos que se trabaje con animales recién muertos y se obtenga un cultivo rico y en pureza, el aislamiento de este microorganismo del hígado carece de significado diagnóstico. Tratándose de cadáveres frescos, la inmunofluorescencia de frotis del hígado es diagnóstica. La histología es muy característica, por lo que da una buena indicación diagnóstica.

Enfermedad de Tizzer

Esta enfermedad es producida por *C. piliforme* y afecta en general animales jóvenes de varias especies, incluyendo bovinos, equinos y varias especies de animales de laboratorio. Desde el punto de vista anatomopatológico se describe una triada de lesiones que incluyen hepatitis, colitis y miocarditis, aunque la hepatitis necrotizante con gran número de bacilos intralesionales es sin duda la lesión más frecuentemente vista.

El cultivo de este microorganismo es sumamente complicado y el diagnóstico se basa en la histopatología, que es patognomónica.

3-Grupo neurotóxicas

Tétanos

El tétanos es producido por *Clostridium tetani*, que es un habitante normal del intestino de los animales, por lo que en general se lo encuentra en corrales u otros ambientes con materia fecal, donde sus esporas pueden sobrevivir por muchos años.

Las heridas de castración y vacunaciones son los predisponentes más frecuentes del tétanos. *C. tetani* es un microorganismo no móvil, por lo que una vez que entra en una herida, se reproduce localmente y produce una poderosa neurotoxina que es transportada hasta el sistema nervioso central por un mecanismo retrogrado a través de los axones de los nervios periféricos. La enfermedad aparece entre 3 días y 3 semanas luego de haberse producido la contaminación de la herida, dependiendo de la distancia entre esta y el sistema nervioso central.

El tétanos se caracteriza por un curso clínico que generalmente lleva a la muerte de los animales en 4 a 7 días. La sintomatología consiste en rigidez y convulsiones tónico-clónicas, postración y dificultad respiratoria, lo que finalmente produce la muerte.

A la necropsia de animales muertos por tétanos no hay hallazgos macro ni microscópicos excepto aquellos de heridas que puedan haber sido la puerta de entrada de los microorganismos y que no siempre son visibles. La necropsia de un animal muerto por tétanos es uno de los ejemplos clásicos de "necropsia negativa".

El diagnóstico se realiza por los signos clínicos que son característicos de esta enfermedad. Se pueden realizar improntas teñidas con la coloración de Gram y cultivo de las zonas profundas de heridas sospechosas, aunque raramente se obtienen resultados positivos.

Botulismo

El botulismo es producido por las toxinas de *C. botulinum*. Este microorganismo se clasifica en 7 tipos (A, B, C, D, E, F y G), pero el tipo C es el más frecuentemente descrito en animales. La enfermedad es común en zonas de deficiencia de fósforo y proteínas en verano o en pasturas que han sido abonadas con cama de pollos, donde las esporas de *C. botulinum* pueden sobrevivir por años. Se han observado también brotes en gran número de bovinos en engorde que han recibido alimentos contaminados con cadáveres de pequeños mamíferos (roedores, gatos, etc.) contaminados con *C. botulinum*.

El botulismo se caracteriza clínicamente por parálisis flácida y es otro ejemplo de necropsia negativa, no presentando los animales cambios post-mortem macro ni microscópicos específicos.

El diagnóstico presuntivo del botulismo se basa los síntomas clínicos, y se confirma por la detección de las toxinas de *C. botulinum* en contenido gastrointestinal, hígado o suero.