

**IDENTIFICACION DE CEPAS DE MICOBACTERIAS AISLADAS EN EL CENTRO DE
INVESTIGACIONES VETERINARIAS "MIGUEL C. RUBINO"
(CIVET) ENTRE 1981 - 1986**

Errico, F. *; Castro Ramos, M. **; Silvera, Fermiano **

RESUMEN

De un total de 630 muestras recibidas en el período comprendido entre 1981 - 1986, se identificaron 254 cepas de micobacterias (40.31 o/o). Se pudieron identificar 16 especies en base a características culturales y bioquímicas.

De las 254 cepas identificadas, 57.47 o/o fueron micobacterias "tuberculosas" (**M. bovis** y **M. tuberculosis**), de las cuales **M. bovis** representó el 53.93 o/o mientras que las micobacterias "no tuberculosas" fueron el 42.53 por ciento, de las cuales el complejo **MAI** representó el 21.65 o/o.

Palabras Calve: MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS, MYCOBACTERIUM BOVIS, MYCOBACTERIUM AVIUM.

VETERINARIA 24 (99) 9 - 13; Enero - Marzo 88

SUMMARY

Through a total of 630 samples received during the period 1981 - 1986, 254 mycobacteria strains (40.31 o/o) were identified. It was achieved the isolation of 16 species based on the cultural and biochemical features.

In 254 identified strains, 57.47 o/o were "Tuberculous" mycobacteria (**M. bovis** and **M. tuberculosis**) represented 53.93 o/o; meanwhile "Non Tuberculous" mycobacteria were 42.53 o/o, where **MAI** complex represented 21.65 o/o.

Key Words: MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS, MYCOBACTERIUM BOVIS, MYCOBACTERIUM AVIUM

VETERINARIA 24 (99) 9 - 13; January - March 88

INTRODUCCION

La Sección de Tuberculosis del Departamento de Bacteriología del CIVET realiza, entre otras funciones, la identificación de las micobacterias aisladas de diferentes especies, como apoyo a la campaña oficial de la Tuberculosis bovina, con el objetivo de conocer la población de micobacterias que se encuentran en nuestro país, que pueden producir sensibilidad inespecífica a las pruebas tuberculínicas y estudiar su rol en patología veterinaria.

También se realiza la identificación de cepas de micobacterias aisladas de humanos, actuando como laboratorio de referencia en nuestro país.

El objetivo del presente trabajo es presentar los resultados del estudio realizado sobre la identificación de 254 cepas de micobacterias en el período comprendido entre 1981 - 1986.

MATERIALES Y METODOS**A. Origen de las muestras:**

Durante el período comprendido entre 1981 - 1986.

* *Médico Veterinario, Jefe de Departamento, CIVET "Miguel C. Rubino", Ruta 8 "Brig. Gral. Juan A. Lavalleja" Km. 29, Pando, Canelones, Uruguay; Casilla de Correo 6577, Montevideo, Uruguay.*

** *Ayudantes Técnicos del Departamento de Bacteriología, Sección Tuberculosis, CIVET "Miguel C. Rubino".*

el CIVET procesó 630 materiales, de los cuales 254 correspondían a muestras patológicas (ganglios, órganos y tejidos con lesiones **granulomatosas**) de distintas especies animales; 250 de ganglios aparentemente normales; 23 de agua y leche; 65 de materia fecal para diagnóstico de paratuberculosis y 38 cepas aisladas de humanos.

B. Método de descontaminación y aislamiento:

La descontaminación de las muestras de distintas especies animales (ganglios, pulmones, hígado, bazo, etc.) se realiza utilizando ácido oxálico al 5 o/o, de acuerdo al método descrito por Tacquet y col. (11). Para la descontaminación de muestras de H₂O y leche, utilizamos el método de lauril sulfato de sodio, de acuerdo a Meyer, L. y David, H. (6). Para el aislamiento utilizamos los medios a base de huevo de Lowenstein - Jensen y Stonebrink, recomendados por el Centro Panamericano de Zoonosis (1) (2) (3). En cuanto al aislamiento de **Mycobacterium johnei** utilizamos el método desarrollado en nuestro Laboratorio (5).

C. Identificación de micobacterias:

Las cepas aisladas se identificaron en base al aspecto microscópico (Ziehl - Neelsen), tiempo de desarrollo, comparación de crecimiento entre los medios de

Lowenstein Jensen y Stonebrink respecto de las colonias, cromogenecidad, fotocromogenecidad y temperatura de desarrollo.

Complementadas por las siguientes pruebas enzimáticas: niacina, nitrato reducción, catalasa a temperatura ambiente y a 68°C, hidrólisis de Tween, reducción de tellurito de potasio, B-D galactosidasa, ureasa y pirazinamidas, de acuerdo a los métodos descritos por Nel E E y Centro Panamericano de Zoonosis (2) (7). Para identificación del *M. johnei* se realiza en base a sus características culturales y morfológicas, no realizándose pruebas enzimáticas (5).

D. Poder patógeno experimental:

Se utilizó el método de la triple inoculación experimental en meriones, ratones y hamsters, de acuerdo a lo descrito por Saenz y col. (10).

RESULTADOS

Como lo muestra el Cuadro 1 hemos identificado 254 (40.31) o/o cepas de micobacterias a partir de 630 muestras procesadas de diferente origen. El estudio de estas cepas nos ha permitido distinguir 16 especies diferenciadas, teniendo en cuenta su origen, tipo de muestras y sus características culturales y bioquímicas (Cuadros 2, 3 y 4).

La cepa *Mycobacterium bovis* BCG fue aislada de ganglio de un niño vacunado con BCG.

Solamente una cepa aislada de humano no pudo ser identificada. Esta cepa desarrolló un medio de Lowenstein Jensen de crecimiento lento a 37°C, no cro-

mógena y por sus características a las distintas pruebas enzimáticas no se la pudo encuadrar dentro del grupo III de Runyon.

En sólo 15 cepas se estudió el poder patógeno cuyos resultados ya fueron publicados por Saenz y col. (10).

CONCLUSIONES

De la observación de los resultados se desprenden que, de las 254 cepas estudiadas, las micobacterias "tuberculosas" representan el mayor porcentaje, siendo el 57.47 o/o contra el 42.53 o/o consideradas "no tuberculosas" (8) (Cuadro 2).

Dentro de las micobacterias "tuberculosas" el 3.54 por ciento fueron *Mycobacterium tuberculosis* y el 53.93 por ciento *M. bovis*. Dentro del grupo de las micobacterias "no tuberculosas" las que se destacan son las del complejo *Mycobacterium avium - intracellulare* (MAI), representando el 21.65 o/o de las cepas aisladas, mientras que las otras especies "no tuberculosas" *M. kansasii*, *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. flavescens*, *M. johnei*, *M. gastri*, *M. BCG*, complejo *terrae - triviale*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. aurum*, *M. vaccae* y *M. phlei* fluctúan entre un 0.39 o/o y 4.72 o/o. Resultados similares han obtenido otros autores (9) (12).

Estas cifras son significativas de la situación actual de la tuberculosis en Uruguay en cuanto a que el *M. bovis* sigue siendo preponderante y el complejo MAI comienza a tener cierta importancia (4). Es, por lo tanto, importante extremar la vigilancia a fin de evitar que la tubercu-

CUADRO No. 1. NUMERO DE CEPAS DE MYCOBACTERIAS spp. AISLADAS ENTRE 1981 - 1986 DE ACUERDO AL TIPO DE MUESTRA PROCESADA

	No. DE MUESTRAS PROCESADAS	No. DE CEPAS AISLADAS
Muestras patológicas	254	165 (64.96 o/o)
Muestras aparentemente normales	250	30 (12.00 o/o)
Muestras de H ₂ O y leche	23	9 (39.13 o/o)
Aislados de humanos (*)	38	38 (100.00 o/o)
Muestras de materias fecales (**)	65	12 (18.46 o/o)
TOTAL	630	254 (40.31 o/o)
(*) Los cultivos provienen de Laboratorios de Salud Pública para identificación salvo un caso aislado en el Centro		
(**) De las muestras de materias fecales, solamente se tuvo en cuenta el aislamiento de <i>M. johnei</i>		

losis bovina, una vez ratificada, no sea reemplazada por otro tipo de tuberculosis como podría ser la tuberculosis aviaria (12).

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración recibida en el proce-

samiento del material de rutina para el aislamiento y tipificación, a la Dra. Mariela Silva y al Ayudante de Laboratorio del CIVT "Miguel C. Rubino", Per. Agr. Glenn Müller, Igualmente a la Dra. Isabel N. de Kantor, de la Sección Tuberculosis de CEPANZO, quien ha confirmado la tipificación de varias de las cepas hechas por los autores y al Dr. A. Sáenz de la Facultad de Medicina

CUADRO No. 2. CEPAS DE MICOBACTERIAS ESTUDIADAS ENTRE 1981 - 1986

CEPAS	PRODUCTOS APARENTEMENTE		MATERIAS			TOTAL	o/o
	PATOLOGICOS	NORMALES	H ₂ O Y LECHE	FECALES	HUMANOS		
M. Tuberculosis	2				7	9	3.54
M. bovis	128		5		4	137	53.93
M. bovis BCG					1	1	0.39
M. kansasii		3				3	1.18
M. scrofulaceum	2	2				4	1.57
M. gordonae					3	3	1.18
M. flavescens			1			1	0.39
Complejo MAI	28	14			13	55	21.65
M. johnei				12		12	4.72
M. gastri		2			1	3	1.18
C. terrae-triviale	3	5	1		1	10	3.93
M. fortuitum			2		1	3	1.18
M. chelonae	1	1			2	4	1.57
M. aurum	1	1				2	0.78
M. vaccae		2			1	3	1.18
M. phlei					3	3	1.18
No identificado					1	1	0.39
TOTAL	165	30	9	12	38	254	100.00

CUADRO No. 3. ORDENAMIENTO DE LAS MICOBACTERIAS SEGUN SU ORIGEN

CEPAS	ESPECIE O FUENTE					TOTAL	o/o
	HUMANOS	BOVINOS	AVES	SUINOS	H ₂ O Y LECHE		
M. tuberculosis	7			2		9	3.54
M. bovis	4	119		9	5	137	53.93
M. bovis BCG	1					1	0.39
M. kansasii				3		3	1.18
M. scrofulaceum		2		2		4	1.57
M. gordonae	3					3	1.18
M. flavescens					1	1	0.39
Complejo MAI	13	11	12	19		55	21.65
M. johnei		12				12	4.72
M. gastri	1			2		3	1.18
C. terrae-triviale	1	1	2	5	1	10	3.93
M. fortuitum	1				2	3	1.18
M. chelonae	2	1		1		4	1.57
M. aurum		1		1		2	0.78
M. vaccae	1			2		3	1.18
M. phlei	3					3	1.18
No identificada	1					1	0.39
TOTAL	38	147	14	46	9	254	100.00

CUADRO No. 4 (*). IDENTIFICACION DE 254 CEPAS DE MICOBACTERIAS spp. DE ACUERDO AL TIEMPO DE DESARROLLO, TEMPERATURAS OPTIMAS, PIGMENTACION Y PRUEBAS ENZIMATICAS

ESPECIE	NoCEPA	o/o	TIEMPO DE DESARR.	TEMPERATURA DE DESARROLLO			PIGMENT.		NIAC. NITR.RED. CAT.22oC. CAT.68oC				HT		TK	B gal.	UR		Pza.
				30oC	37oC	42oC	Osc.	Luz	NIAC.	NITR.RED.	CAT.22oC.	CAT.68oC	5 d	18 d	3 d		2 h	18 h	
<i>M.tuberculosis</i>	(9)	3.54	L	100	100	0	0	0	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	45
<i>M. bovis</i>	(137)	53.93	L	100	100	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	20	20	-
<i>M. bovis BCG</i>	(1)	0.39	L	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>M. kansasii</i>	(3)	1.18	L	100	100	0	0	100	0	100	100	100	100	100	0	-	0	0	-
<i>M. scrofulaceum</i>	4)	1.57	L	100	100	0	100	100	0	0	100	50	0	0	0	-	50	50	-
<i>M. gordonae</i>	(3)	1.18	L	100	100	0	100	100	0	0	100	100	100	100	0	0	-	-	-
<i>M. Flavescens</i>	(1)	0.39	L	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Complejo MA(**)	(55)	20.65	L	100	100	100	0	0	0	0	100	100	0	0	50	0	0	0	-
<i>M. johnei</i>	(12)	4.72	L	0	100	50	0	0	0	0	100	100	80	80	0	-	0	0	-
<i>M. gestri</i>	(3)	1.18	L	100	100	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	-	100	100	-
<i>C. terrae-triviale</i>	(10)	3.93	L	100	100	30	0	0	100	100	100	100	100	100	100	0	0	0	0
<i>M. Fortuitum</i>	(3)	1.18	R	100	100	75	0	0	0	100	100	100	85	85	35	-	0	100	-
<i>M. Chelonae</i>	(4)	1.57	R	100	100	80	0	0	0	0	100	100	100	100	35	-	0	0	-
<i>M. surum</i>	(2)	0.78	R	100	100	0	100	100	0	0	100	100	0	100	100	-	100	100	-
<i>M. vaccae</i>	(3)	1.18	R	100	100	15	100	100	0	100	100	100	100	100	0	-	100	100	-
<i>M. phlei</i>	(3)	1.18	R	100	100	100	100	100	0	100	100	85	100	100	85	0	100	100	-
No identificada	(1)	0.39	L	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	(254)	100.00																	

(*) Tabla tomada del trabajo publicado por M. Thorel. Ann Microbiol Inst. Pasteur 131A:61-69, 1980.

(**) En el grupo del Complejo MAI el 18 o/o de las cepas desarrollaron pigmentación en cultivos de más de 1 mes. Todas las cepas aisladas se comportaron en las pruebas enzimaticas como lo indica el cuadro precedente en más del 85 o/o.

del Uruguay, por el estudio de patogenicidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. Comité Asesor de la OPS/OMS en Bacteriología de la Tuberculosis. Manual de normas y procedimientos técnicos para la bacteriología de la tuberculosis. Parte II: El cultivo del *Mycobacterium Tuberculosis*. B.A., CPZ, 1985. Nota Técnica No. 27.
- 2.- _____, Parte III: Sensibilidad del *Mycobacterium Tuberculosis* a las drogas. La identificación de micobacterias. B.A., CPZ, 1986. Nota Técnica No. 28.
- 3.- _____, Métodos de laboratorio de microbiología veterinaria para el aislamiento e identificación de micobacterias. B.A., CPZ, 1973. Serie de Monografías Científicas y Técnicas CPZ, No. 6.
- 4.- ERRICO, F. et al. Tuberculosis bovina: situación actual en el Uruguay. *Veterinaria*, Montevideo 16(73):83-87, 1980.
- 5.- ERRICO, F. y BERMUDEZ, J. Aislamiento de *Mycobacterium paratuberculosis* en bovinos en el Uruguay. *Veterinaria*, Montevideo 19 (83):13-16, 1983.
- 6.- MEYER, L. y DAVID, H. *Mycobacteriologie en Santé Publique*, Paris Centre National de Référence pour la tuberculose et les Mycobactéries. Institut Pasteur, 1979.
- 7.- NEL, E.E. Biochemical and serological methods in current use, Tuberculosis Research Unit, South African Medical Research Council. P.O. Onderstepoort, April, 1971.
- 8.- RUNYON, E.H. et al. *Mycobacterium*. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 2nd. Ed. Bethesda, American Society for Microbiology, 1974.
- 9.- SAENZ, A. y ERRICO, F. Micobacterias en ganglios aparentemente normales de cerdos en el Uruguay. *Boletín Oficina Sanitaria Panamericana*. 96, (4):307-313, 1984.
- 10.- SAENZ, A. et al. Pouvoir pathogène expérimental des *Mycobacteries* dites "atypiques" chez la souris, le hamster et le mérión. Etude anatomo-pathologique *Ann. Rech. Vet.* 16(3): 219-226, 1985.
- 11.- TACQUET, A. et al. Techniques for decontamination al pathological specimens for culturing *Mycobacteria*. *Bull. Int. Un. Tuberc.* 39:21-24, 1987.
- 12.- THOREL, M.F. *Micobactéries* identifiées dans un Centre de Recherches Vétérinaires de 1973 à 1979. *Ann. Microbiol. Institut Pasteur* 131 A: 61-69 1980.

Distribuidora DAREC S.R.L.

Marcelino Sosa 2224
Tel.: 29 38 87 - 29 65 85



 Labiana
Analítica

SCANZYM·AS



Comenzamos la distribución de

LEIVAS LEITE
(Brasil)

CALFOMAG
(Gluconato Ca, P, Mg)

LEIVASOM POLVO
(Triclorfon 98%)

UROTROPINA (Hexamina)

VACUNA contra MANCHA
y GANGRENA

VACUNA contra
PASTEURELOSIS

LABIANA ANALITICA
(España)

CORTICO LABIANA
(Dexametasona)
CORTICO - DEPOT

(Dexametasona retard)
ENTERILAN (Antidiarrelco
inyectable)

FERADIT (Hierro dextrano)
GENTANASOL 40 (Gentamicina)
LABIDROSOL B INYECTABLE

(Vitaminas B)
MAMINTRAL LACTACION
MAMINTRAL SECADO
(inyectores Intramamarios)
TIMPASOL (Poloxaleno)
ZOLUBIN TABLETAS
(Antidiarrelco oral)



**Laboratorios
Rodentia**

