

AISLAMIENTO Y CLASIFICACION DE MICOBACTERIAS DE GANGLIOS DE CERDOS EN LA ARGENTINA

Dres. Isabel N. de Kantor e I. W. Lesslie¹

El cerdo es un animal susceptible no solo a la tuberculosis bovina, humana y aviar, sino que también puede ser infectado por el grupo de micobacterias denominadas "atípicas". En una región con tuberculosis en el ganado bovino se realizó un estudio de ganglios de cerdos, con lesiones al parecer tuberculosas, para determinar con qué frecuencia las diferentes especies micobacterianas causan lesiones en este animal.

Introducción

Para que un programa de erradicación de la tuberculosis bovina tenga éxito debe considerar el ataque a la enfermedad en todos sus reservorios. Para ello es necesario conocer la prevalencia y distribución de la tuberculosis tanto en el cerdo como en las aves. La clasificación de las cepas aisladas de las diferentes especies animales, y de sus productos, será un elemento de valor para consideraciones epidemiológicas posteriores.

Con este estudio los autores se han propuesto determinar la importancia relativa del *M. bovis*, *M. avium* y otras micobacterias causantes de la tuberculosis en cerdos, en un país como la Argentina, donde esta enfermedad aún no se ha erradicado en el ganado bovino.

Material y método

Se estudiaron ganglios de cerdos que presentaban lesiones macroscópicas semejantes a la tuberculosis.

Durante un período de 10 meses, la Inspección Sanitaria del Matadero "Lisandro de la Torre" de Buenos Aires, enviaba al laboratorio lotes de 10 ganglios como máximo, dos veces por semana. Esta muestra no representa todos los animales inspec-

cionados en ese período con lesiones ganglionares de apariencia tuberculosa.

Aislamiento de micobacterias

Los materiales fueron disgregados en morteros, tratados con arena y agua destilada estériles, y la suspensión que se obtuvo fue homogeneizada y descontaminada con hidróxido de sodio al 4%, durante 15 minutos a 37°C, y posteriormente se neutralizó y se lavó. Las siembras se hicieron en los medios de Stonebrink y Löwenstein-Jensen. De cada material se prepararon extendidos que fueron coloreados por el método de Ziehl-Neelsen.

La lectura de los cultivos se efectuó a los 4, 8, 15, 30 y 60 días de incubación a 37°C y a 20-25°C.

Tipificación de las cepas aisladas

Se realizaron las observaciones siguientes: aspectos microscópico (Ziehl-Neelsen), tiempo de desarrollo de los cultivos en medios sólidos a base de huevos, temperatura óptima, comparación de crecimiento en medio de Stonebrink y de Löwenstein-Jensen, aspecto de las colonias, cromogenicidad y fotocromogenicidad, prueba de niacina (5), prueba de catalasa y peroxidasa (Catecol) a temperatura ambiente y a 70°C (1), nitrato reducción (técnica de Virtanen) (8), hidrólisis de tween (método de Wayne y Doubek)

¹ Centro Panamericano de Zoonosis, Ramos Mejía, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

(9), prueba de citrato de hierro amoniacal (método de Tacquet y Tison) (7).

Pruebas de virulencia

Cobayo: Por vía subcutánea, para lo cual se inocularon 0.5 mg de bacilos en suspensión acuosa, salvo en 109 de las cepas, en que directamente se inocularon 0.5 ml de la suspensión del material ganglionar en agua, sin tratar con HONa.

Pollo: Por vía endovenosa, se emplearon 0.2 mg de bacilos en suspensión en solución fisiológica. Esta prueba se realizaba sólo en caso necesario para diferenciar entre *M. avium* y *M. intracellulare*.

Immunoaglutinación (técnica de Schaefer)

Esta se efectuó sólo en 26 cepas de *M. avium* en la que se emplearon los sueros específicos originales de Schaefer² (6).

Pruebas tuberculínicas

Estas se realizaron en los cobayos inoculados, después de tres semanas, mediante el empleo de la prueba intradérmica con 100 U.I. de PPD mamífero (Weybridge) y 125 U.I. de PPD aviar (Weybridge), y a las 24 horas se leyeron las reacciones.

Resultados

Los resultados se detallan en el cuadro 1.

Las cepas clasificadas como *M. bovis* se desarrollaron en medio de Stonebrink, y en su gran mayoría no se desarrollaron en el de Löwenstein-Jensen en los primocultivos, a pesar de que en muchas ocasiones los cultivos en Stonebrink eran abundantes; presentaron la prueba de niacina negativa, con la actividad catalásica y peroxidásica positiva a temperatura ambiente y negativa a 70°; no reducían el nitrato ni hidrolizaban el tween, y mostraban su virulencia clásica para el cobayo al que sensibilizaban al PPD mamífero.

Las cepas clasificadas como *M. avium* lo fueron fundamentalmente por su virulencia para el pollo. Además, mostraron desarrollo

CUADRO 1—Aislamiento de micobacterias a partir de ganglios de cerdos (en 715 especímenes).

Clase	Cepas		
	No.	Porcentaje	Especímenes (%)
<i>M. bovis</i>	507	88.6	70.9
<i>M. avium</i>	43	7.5	6.0
<i>M. bovis</i> + <i>M. avium</i>	1	0.2	0.1
Micobacterias atípicas	13	2.2	1.8
Micobacterias atípicas + <i>M. bovis</i> o <i>M. avium</i>	9	1.5	1.3
Total	573	100.0	80.1

semejante en los medios de Löwenstein-Jensen y de Stonebrink, prueba de niacina negativa, catalasa positiva (+) a temperatura ambiente y a 70°, y negativa la peroxidasa, no poseían actividad nitrato reductora y no hidrolizaron el tween en 10 días. Al inocularse las cepas al cobayo, sólo producían absceso cerrado en el punto de inoculación y fuerte sensibilización al PPD aviar. En 26 de estas cepas se efectuó la prueba de inmunoaglutinación frente a los antisueros de los grupos serológicos I, II, III (*M. avium*) y Chance (*M. intracellulare*) y de acuerdo con ello se incluyeron 24 cepas en el grupo serológico II, y 2 en el grupo I, de *M. avium* (clasificación de Schaefer). En los 13 casos en que se aislaron sólo micobacterias "atípicas" de ganglios que presentaban lesiones macroscópicas semejantes a la tuberculosis, se les consideró como causantes de las lesiones. De esas 13 micobacterias, nueve mostraron caracteres generales de escotocromógenos, (Grupo II de Runyon) siendo negativa la prueba de hidrólisis del tween, y fueron consideradas *M. scrofulaceum*. Las otras cuatro cepas eran no cromógenas, de rápido desarrollo y fueron consideradas *M. fortuitum*. Asimismo, presentaban los caracteres generales descritos para el grupo IV de Runyon, y la prueba del citrato de hierro amoniacal fue positiva.

En nueve casos en que se aislaron micobacterias "atípicas" de ganglios y también

² Los materiales empleados en este estudio fueron provistos por U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program-NIAID.

M. avium o *M. bovis*, estas últimas especies fueron consideradas como las responsables de las lesiones.

Discusión

1. Se señala el alto porcentaje de aislamiento de bacilo bovino, a partir de una muestra de ganglios de cerdos seleccionada por la presencia de lesiones macroscópicamente semejantes a tuberculosis. Esto aparece como característico de un país con tuberculosis en el ganado bovino. El cerdo se infecta generalmente por vía digestiva, al alimentarse con residuos de la producción lechera. En ciertos casos también hay infección por vía aerógena.

En algunos países, como Inglaterra, donde la tuberculosis ha sido erradicada de bovinos, se observa que además de disminuir paralelamente la tuberculosis en porcinos, los porcentajes de casos de origen bovino a aviar tienden a invertirse con aumento de estos últimos (4).

2. Se ha aislado una proporción considerable de cepas de *M. avium* pero ninguna de *M. intracellulare*. Sin embargo, en Buenos Aires se han notificado casos de enfermedad humana, causada por *M. intracellulare* (2, 3). El hombre se debe infectar de algún reservorio de la naturaleza, ya que no se ha comprobado que exista contagio interhumano. Los resultados de este estudio no indican que el cerdo sea el origen probable de infección humana a *M. intracellulare* en esta región.

La mayor proporción de serotipo II de *M. avium* hallada en este estudio coincide con lo observado en pacientes humanos de tuberculosis aviar, en Buenos Aires (2, 3).

3. En nueve casos se consideró al *M. scrofulaceum* y en cuatro al *M. fortuitum* como causantes de lesiones ganglionares. Algunos autores comunican que los bacilos escotocromógenos del tipo del *M. scrofulaceum* son los causantes de adenitis en los niños. El *M. fortuitum*, aunque muy rara-

mente, también ha sido considerado causante de enfermedad en el hombre (9). Ambos han sido aislados de lesiones ganglionares en el cerdo. Llama la atención, sin embargo, este porcentaje relativamente elevado de lesiones ganglionares producidas por estas cepas, raramente patógenas para el hombre. En la región considerada en este estudio, ellas deben actuar como sensibilizantes para-específicos a la tuberculina mamífera en el hombre y en los animales, ya que su hallazgo en el cerdo hace suponer su existencia frecuente en la naturaleza.

Resumen

Se efectuó un estudio bacteriológico en 715 especímenes de ganglios de cerdos con lesiones macroscópicas semejantes a tuberculosis que procedían de la provincia de Buenos Aires y sur de Sante Fe, Argentina. De las 573 cepas aisladas, 88.6% fueron *M. bovis* y 7.5% *M. avium* (en un caso se aislaron ambas especies de un mismo material); en 2.2% de los ganglios las lesiones se debían a *M. scrofulaceum* o a *M. fortuitum* y en el 1.5% de los casos se aislaron otras micobacterias "atípicas" además del *M. avium* o el *M. bovis*.

En un lote de cepas de *M. avium* analizadas por inmunoaglutinación predominó el serotipo II de Schaefer. No se aisló ninguna cepa de *M. intracellulare*.

Dentro de una muestra de ganglios porcinos de las características consignadas, la alta proporción hallada de infección por bacilo bovino aparece como propia de una región con tuberculosis en el ganado bovino, donde el cerdo se infecta al ingerir frecuentemente residuos de la producción lechera. □

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al personal veterinario del Frigorífico "Lisandro de la Torre", que proveyó el material empleado en este trabajo, y a la Srta. Nilda Collini por su colaboración técnica.

REFERENCIAS

- (1) Canetti, G. y Grosset, J. *Techniques et indications des examens bacteriologiques en tuberculose*. París: Ed. de la Tourelle, 1969, pág. 133.
- (2) Cetrángolo, A. y Kantor, I. N. de. Aislamiento de micobacterias atípicas. *Medicina* 29: 186, 1969.
- (3) Kantor, I. N. de. Micobacterias atípicas. XIII Congreso Argentino de Tisiología y Neumología, Tomo II, pág. 552, 1972.
- (4) Lesslie, I. W. y Birn, K. J. *M. avium* infections in cattle and pigs in Great Britain. *Tubercle* 51: 446, 1970.
- (5) Runyon, E. H. *et al.* Distinguishing *Mycobacteria* by the niacin test. A modified procedure. *Am Rev Tuberc* 79:663, 1959.
- (6) Schaefer, W. B. Serologic identification and classification of the atypical *Mycobacteria* by their agglutination. *Am Rev Dis* 92:(Suppl. No. 6)85, 1965.
- (7) Tacquet, A.; Tison, A. y Devulder, B. Un test simple d'étude des mycobactéries: La transformation du citrate de fer ammoniacal. *Ann Inst Pasteur* 106: 797, 1964.
- (8) Virtanen, S. A study on nitrate reduction by *Mycobacteria*. *Acta Tuberc. Scand.* (Suppl. 48) 1960.
- (9) Wayne, L. G.; y Doubek, J. R. Diagnostic key to *Mycobacteria* encountered in clinical laboratories. *Appl. Microbiol.* 16: 925, 1968.

Isolation and classification of *Mycobacteria* from lymph nodes of swine in Argentina (Summary)

A series of 715 lymph node specimens taken from swine in Buenos Aires Province and southern Santa Fe Province, Argentina, presenting gross lesions resembling tuberculosis were studied bacteriologically. Of 573 strains isolated, 88.6 per cent were *M. bovis* and 7.5 per cent *M. avium* (in one case both species were isolated from the same material). In 2.2 per cent of the lymph nodes the lesions were due to *M. scrofulaceum* and *M. fortuitum*, and in 1.5 per cent of the cases other atypical mycobacteria were isolated in addition to *M. avium* and *M. bovis*.

Immunoagglutination testing of an *M. avium* lot showed that Schaefer serotype II was predominant. None of the strains isolated was *M. intracellulare*.

In a sampling of swine lymph nodes of the characteristics given, the high proportion of infection bacillus is considered characteristic of a region where there is tuberculosis among cattle, the pig becoming infected through frequent ingestion of dairy wastes.

Isolamento e classificação de micobactérias de gânglios porcinos na Argentina (Resumo)

Efetou-se um estudo bacteriológico de 715 espécimes de gânglios de porcos que apresentavam lesões macroscópicas semelhantes à tuberculose e que procediam da província de Buenos Aires e do sul de Santa Fé, na Argentina. Das 573 variedades de micobactérias isoladas, 88,6% eram de *M. bovis* e 7,5% de *M. avium* (tendo-se isolado, em um caso, as duas espécies do mesmo material).

Em 2,2% dos gânglios as lesões haviam sido provocadas pelas espécies *M. scrofulaceum* ou *M. fortuitum*, e em 1,5% dos casos foram isoladas outras micobactérias "atípicas", além da *M. avium* e da *M. bovis*.

Num lote de variedades de *M. avium* analisadas pela imuno-aglutinação predominou o sorotipo II de Schaefer. Nenhuma variedade de *M. intracellulare* foi isolada.

Em uma amostra de gânglios porcinos, com as características assinaladas, a alta proporção encontrada de infecção por bacilo bovino aparece como própria de uma região em que há tuberculose no gado bovino e onde o suíno é infectado ao ingerir frequentemente resíduos da produção leiteira.

Isolement et classification de mycobactéries de ganglions de porcs en Argentine (Résumé)

Il a été procédé à une étude bactériologique de 715 spécimens de ganglions de porcs souffrant de lésions macroscopiques semblables à la tuberculose et qui venaient de la province de Buenos Aires et du Sud de Santa Fé (Argentine). Des 573

souches isolées, 88,6 pour 100 étaient des *M. bovis* et 7,5 pour cent des *M. avium* (dans un cas on a isolé les deux espèces du même matériel); dans 2,2 pour 100 des ganglions, les lésions étaient dues à *M. scrofulaceum* ou à *M. fortuitum* et dans

1,5 pour 100 des cas on a isolé d'autres mycobactéries "atypiques" en dehors du *M. avium* ou du *M. bovis*.

Dans un lot de souches *M. avium* analysées par immunoagglutination c'est le sérotype II de Schaefer qui prédominait. Aucune souche de *M. intracellulare* n'a été isolée.

Dans le cadre d'un échantillon de ganglions de porcs aux caractéristiques rapportées, la forte proportion d'infection au bacille bovin constatée semble propre d'une région où la tuberculose règne parmi le bétail bovin, le porc s'infectant en ingérant fréquemment des résidus de laiterie.

CORRIGENDUM

En el número de septiembre de 1974 del *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana* (Vol. LXXVII, No. 3), en el artículo "Complicaciones del sarampión: experiencia en una zona rural de Guatemala", por los Dres. Juan J. Urrutia y Leonardo J. Mata, el encabezamiento de los cuadros 5 y 6 (pág. 227) debe corregirse como sigue:

"Suprímase la palabra *Libras* de la primera columna y substitúyase por la frase *Porcentaje de pérdida de peso* que aparece en la parte superior del encabezamiento."