

VIABILIDAD DE *Mycobacterium bovis* EN SOLUCION DE TETRABORATO DE SODIO ^a

Marco Antonio Santillán Flores ^b
Luisa María Sánchez Zamorano ^c
Feliciano Milián Suazo ^c
Isaura Carolina Ramírez Casillas ^b

RESUMEN

Santillán F M A, Sánchez Z L M, Milián S F, Ramírez C I C. *Téc. Pecu. Méx.* Vol 37 No 1 1999 pp 71-74. El diagnóstico definitivo de la Tuberculosis bovina, se basa en el aislamiento y tipificación bacteriológica de *Mycobacterium bovis*. Cuando el aislamiento del agente etiológico es a partir de tejidos sospechosos, las muestras deben enviarse al laboratorio en solución de tetraborato de sodio al 6%, ya que dicha solución tiene la propiedad de ser antiséptica, sin embargo, existen dudas sobre el tiempo en que las muestras de tejidos pueden permanecer en ella, sin que se afecte la viabilidad de las micobacterias. Se procesaron 12 nódulos linfáticos de bovinos con lesiones aparentes, sospechosas a tuberculosis, cada muestra se dividió en 10 porciones, nueve de las cuales se colocaron en la solución de tetraborato de sodio, el cultivo bacteriológico de las muestras se llevó a cabo de la siguiente manera: día 1 muestra no incluida en solución; día 2, 4, 7, 15, 30, 60, 90, 120 y 150 de las muestras en solución. Los cultivos obtenidos correspondieron a *Mycobacterium bovis*. En los cultivos del día 1, 2, 4, 7, 15, 30 el crecimiento bacteriano que se observó fue de más de 500 colonias de micobacterias por tubo, al día 60,90 el crecimiento fue de más de 100 colonias, para el día 120 el crecimiento disminuyó hasta menos de 100 colonias, para el día 150 el crecimiento bajó a menos de 10 colonias. Los resultados obtenidos mostraron que las muestras de tejidos sospechosos a tuberculosis pueden permanecer hasta por 90 días en la solución de tetraborato de sodio sin que se afecte la viabilidad de las micobacterias; después de este tiempo, la viabilidad se afecta ya que en el día 150 se observaron menos de 10 colonias por muestra, además de que el crecimiento fue irregular.

PALABRAS CLAVE : Tuberculosis bovina, *Mycobacterium bovis*, Tetraborato de sodio, Cultivo bacteriológico.

La tuberculosis bovina es uno de los principales problemas que enfrenta la ganadería nacional, no solo porque representa un riesgo para la salud animal y potencialmente para la salud pública, sino por que se traduce en grandes pérdidas económicas directas e indirectas, y determina uno de los principales obstáculos para la movilización nacional e internacional del ganado (1). El diagnóstico de la tuberculosis bovina, se ha basado en

los hallazgos a la necropsia de lesiones granulomatosas, en el examen histopatológico de estas y el aislamiento bacteriológico de *Mycobacterium bovis* (2). El laboratorio de diagnóstico es un auxiliar en el reconocimiento de las enfermedades de los animales, pero los resultados que arrojan estos análisis dependen de la naturaleza de la muestra, del cuidado con que se obtenga y de su adecuada selección. Para obtener un buen resultado del examen bacteriológico es necesario que las muestras con lesiones sospechosas a tuberculosis, sean remitidas al laboratorio en la mejor condición posible. El tejido debe enviarse lo más pronto posible, ya sea congelado o en solución de tetraborato de sodio (2,3,4). Las muestras congeladas de

a Recibido el 16 de febrero de 1998 y aceptado para su publicación el 8 de marzo de 1999.

b Cenid-Microbiología, INIFAP-SAGAR, Km. 15.5 Carretera México-Toluca, Col. Palo Alto, México DF. C.P. 05110.

c Campo Exp.-Querétaro, INIFAP-SAGAR, Pedro de Gante 20, Cimaterio, C.P. 76039 Querétaro, Qro.

tejidos sospechosos a tuberculosis, conservan una viabilidad de hasta 70%, durante un año (2). Sin embargo, el envío de muestras en congelación se vuelve un problema pues no siempre está al alcance de todos, y muchas veces las muestras no llegan al laboratorio con la prontitud requerida, lo que favorece la descomposición de la muestra.

La solución de tetraborato de sodio al 6%, es considerada como una solución antiséptica, que inhibe el crecimiento bacteriano, tiene efecto fungicida, es una sustancia amortiguadora y un estabilizador enzimático (5,6), lo cual la hace, el medio de transporte adecuado para las muestras de tejidos sospechoso a tuberculosis. Sin embargo, se tienen dudas sobre el tiempo en que pueden permanecer en la solución saturada sin que se altere la viabilidad de las micobacterias para obtener cultivos bacteriológicos positivos.

Corner (2), en un estudio realizado en 1994, informa que la viabilidad de las micobacterias disminuye hasta en un 80% en los primeros tres días de estar expuestos los tejidos sospechosos en la solución saturada. Por otro lado, la Norma Oficial Mexicana, de la Campaña Nacional contra la tuberculosis bovina, señala que el tiempo máximo que debe permanecer el tejido en la solución de tetraborato de sodio es de 10 semanas, ya que si el tiempo es mayor la muestra se deshidrata (1).

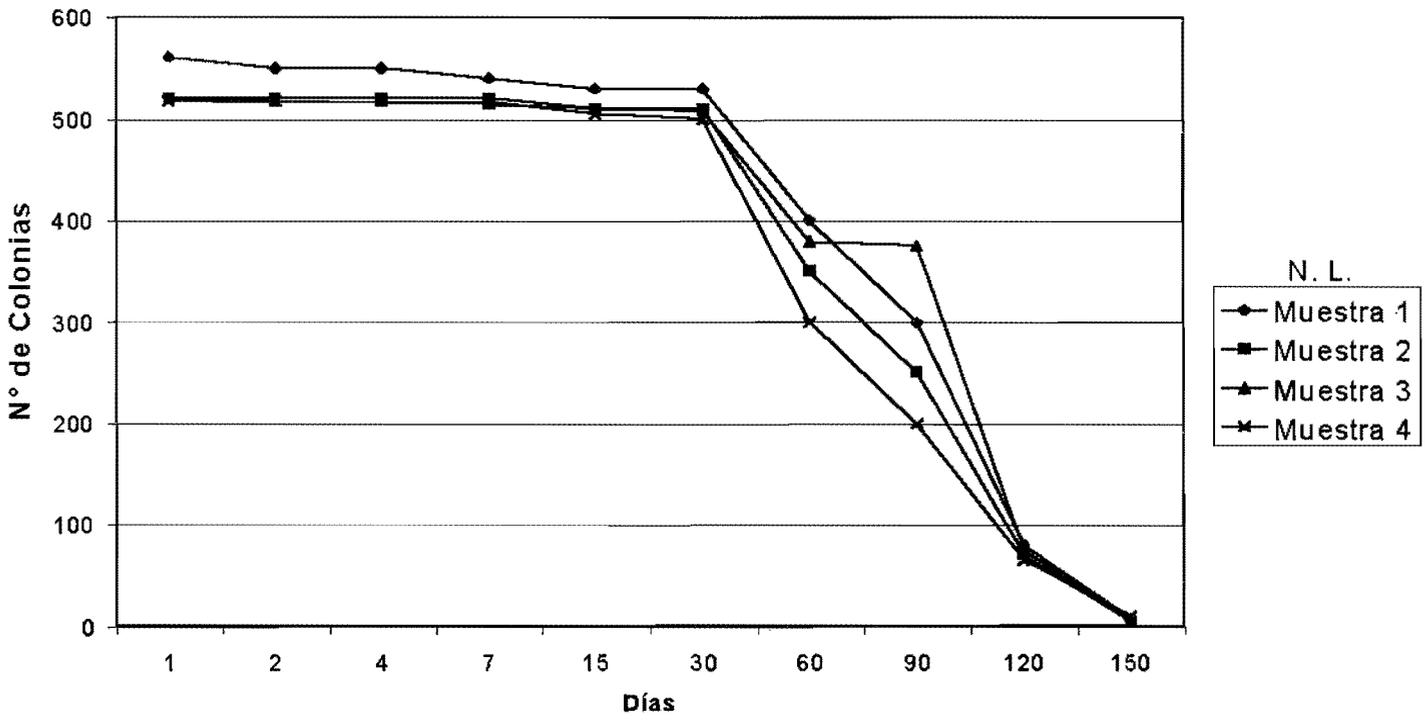
El objetivo del presente estudio fue, determinar el tiempo que pueden permanecer muestras con lesiones sospechosas a tuberculosis en solución de tetraborato de sodio al 6 %, sin que se afecte la viabilidad de las micobacterias.

Se seleccionaron 12 muestras de nódulos linfáticos con lesiones granulomatosas evidentes, sospechosas a tuberculosis, procedentes de bovinos que fueron enviados al rastro. Las muestras se dividieron en 10 porciones, teniendo cuidado de que fueran lo más homogéneas en cuanto al tamaño de la lesión. Nueve de estas porciones se colocaron en solución saturada de tetraborato de sodio al 6%.

El cultivo bacteriológico de las muestras se llevó a cabo de la siguiente manera, día uno, se sembró la muestra no expuesta en solución de tetraborato de sodio, mientras que las demás muestras se colocaron en la solución de tetraborato de sodio al 6%, para posteriormente sembrarlas a los días 2, 4, 7, 15, 30, 60, 90, 120 y 150 de estar incluidas en la solución. El cultivo bacteriológico se realizó con la técnica descrita por Payuer y col. (7), empleando el medio de cultivo de Stonebrink. Cada muestra se sembró por duplicado y se incubaron a 37 C, durante cuatro semanas, todos los cultivos con crecimiento se tipificaron por pruebas bioquímicas (3,4,7). El número de las colonias se observó con un contador de colonias, (Colony Counter American Optical Com.).

Los cultivos obtenidos correspondieron a *Mycobacterium bovis*. En los cultivos de los días 2, 4, 7, 15 y 30 se observó un crecimiento bacteriano de más de 500 colonias por tubo, en los días 60 y 90 el crecimiento fue de más de 100 colonias, para el día 120 el crecimiento disminuyó a menos de 100 colonias, y para el día 150 el crecimiento bajó hasta 10 colonias por tubo (Figura 1).

Figura N° 1 Tiempo de Sobrevivencia de *M bovis* en Solución de Tetraborato de Sodio



Número de colonias de *M bovis* obtenidas a partir del cultivo bacteriológico de Nódulos linfáticos N. L con lesión sospechosa a tuberculosis.

Los N.L se mantuvieron en solución de tetraborato de sodio para llevar a cabo el cultivo a diferentes días.

Las muestras correspondientes al día uno, que no fueron incluidas en la solución, tuvieron un crecimiento igual al de las muestras de los días 2, 4, 7, 15 y 30, que sí estuvieron en la solución.

En el presente trabajo la viabilidad de las micobacterias no se redujo en la primer semana de que las muestras permanecieron en la solución, como mencionan otros autores (2). El tiempo de permanencia máximo que pueden estar los tejidos en la solución de tetraborato de 90 días, observado en el presente trabajo, difiere por unos días con lo propuesto en la Norma Oficial Mexicana que menciona como tiempo máximo 70 días; sin embargo, esta diferencia podría deberse a que en el presente trabajo sólo se consideraron nódulos linfáticos con lesiones tuberculosas aparentes y no con lesiones tuberculosas muy pequeñas.

Por lo que se concluye que para obtener un número de micobacterias viables, suficiente para permitir la tipificación bacteriológica a partir de muestras con lesiones granulomatosas evidentes, la muestra podrá permanecer en la solución de tetraborato de sodio un máximo de 90 días.

Mycobacterium bovis VIABILITY IN SODIUM TETRABORATE SOLUTION

SUMMARY

Santillán F M A, Sánchez Z L M, Milián S F, Ramírez C I C. *Téc. Pecu. Méx.* Vol 37 No 1 1999 pp 71-74. Bacteriological isolation of *Mycobacterium bovis* from tuberculous lesions is the only way to make a definitive diagnosis. To obtain the best results from bacteriological

examination of specimens, these should be sent in a sodium tetraborate saturated solution (STS) to preserve the tissue and to control surface contamination. In this study twelve lymph nodes from *M. bovis* infected animals were tested. Each sample was divided in ten pieces. Nine of them were stored in STS and let stand for different intervals. Each piece stored in STS was inoculated in specific culture medium for bacteriological studies at days 2, 4, 7, 15, 30, 60, 90, 120 and 150. The first sample was inoculated the first day. The results showed that the viability of micobacteria stored in STS was high until day 90 (more than 100 colonies); after this time a decrease in viability was observed. On day 150 fewer than 10 colonies per sample were observed and growth was irregular and not suitable for bacteriological studies.

KEY WORDS: Bovine tuberculosis, *Mycobacterium bovis*, Sodium tetraborate, Bacteriological isolation.

REFERENCIAS

1. Programa de Aprobación de Médicos Veterinarios. CANETB, SAGAR. Manual de actualización técnica para la aprobación del médico veterinario como unidades de verificación en tuberculosis y brucelosis. 1a. Ed. México 1996;150.
2. Corner LA. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* in infection in cattle, *Vet. Microbiol.* 1994, 40: 53.
3. Balandrano CS, Anzaldo FG, Peña FGP, Betancourt MX. Manual de procedimientos de laboratorio INDRE/SAGAR TUBERCULOSIS: Secretaría de Salud. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Organización Panamericana de la Salud. 1996 México D.F.: 97.
4. Jarnagin JL, Payeur JB. A simplified system for Identification of *Mycobacteria* of veterinary interest in developing countries. *Nat. Vet. Services Lab.* Ames, Iowa. 1993; 599.
5. Index Borax com. [http.](http://) Principal use of borax, San Diego California, 1996; 2.
6. Index Borax com. [http.](http://) Toxicology and manifestations of poisoning by borate, San Diego, California, 1996;10.
7. Payeur JB, Jarnagin JL, Marquardt GJ, Schaper AL, Martin MB. Laboratory methods in veterinary mycobacteriology for the isolation and identification of *Mycobacteria*. *Nat. Vet. Services Lab.* Ames, Iowa. 1993;140.