

Aislamiento de *Corynebacterium bovis* de vaca en la República Oriental del Uruguay

Dr. Carlos Gil Turnes
Dr. Líbero Rossi Lema

Trabajo realizado en la Cátedra de Tecnología de la Leche, Facultad de Veterinaria, Montevideo, República Oriental del Uruguay.

INTRODUCCION

Corynebacterium bovis fue descrito por Bergey en 1904 con el nombre de *Bacillus pseudodiphtheria* (Breed, Murray y Parker Hitchens, 1948). Evans (1916) lo describe, a su vez, denominándolo *Bacterium lypoliticum* y *Bacillus abortus* var. *lypoliticus* (Evans, 1917), considerando posteriormente que éstos, así como *Bacillus pseudodiphtheria* descrito por Bergey (Evans, 1948) y *Corynebacterium bovis* (Breed, Murray y Parker Hitchens, 1948) eran el mismo microorganismo, lo que fue confirmado por Black (1941).

La fuente de treinta y tres aislamientos de *Corynebacterium bovis* realizados fue leche fresca de cuartos normales (Breed, Murray y Parker Hitchens, 1948).

Mc Ewen y Cooper (1947) relacionaron los "corynebacterium de la ubre" con las mastitis no asociadas con los patógenos clásicamente aislados de casos de mastitis, a saber *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiac*, *Streptococcus dysgalactiac*, *Streptococcus uberis* y *Corynebacterium pyogenes*. Kastli y Binz (1948) asociaron *C. bovis* a mastitis, aunque indicaron que su patogenicidad era notablemente más reducida que la de los agentes de mastitis previamente mencionados. Cobb y Walley (1962) ais-

laron **Corynebacterium bovis** del 15 % de 95 muestras de leche cuyo contenido celular indicaban un proceso inflamatorio en las glándulas que las habían producido. Reprodujeron el cuadro experimentalmente y señalaron la posibilidad de que **C. bovis** pudiera actuar como agente de mastitis.

Rossi Lema y Gil Turnes (1969) aislaron *Corynebacterium* en el 3.9 % de 881 muestras de leche de vaca aparentemente normal. No se tipificaron todas las cepas, aunque la casi totalidad respondieron a las características de **C. bovis**.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras de leche utilizadas se obtuvieron de cuartos individuales de vacas que no estaban padeciendo ningún cuadro patológico detectable clínicamente y cuya producción era destinada a consumo humano.

Las muestras se colectaron en tubos de ensayo (160x15 mm.) tomando las precauciones necesarias para impedir su contaminación por bacterias que no provinieran del exterior de la ubre. Se mantuvieron a 4°C durante 18 horas, al cabo de las cuales fueron sembradas en agar sangre de ternero o de conejo al 5 %. Las placas se incubaron a 37°C haciéndose una lectura a las 24 horas de incubación y la lectura final a las 48 horas.

Las colonias con morfología de **Corynebacterium bovis** se repicaron en Bacto Heart infusión Agar (Difco Laboratorios, (Mounier, 1933) con cultivos de 24 horas. La prueba de dtermi-Dertit, Michigan, USA). A las 72 horas de cultivo a 37°C se barrió el cultivo con solución fisiológica y se sembraron medios para la determinación de la capacidad oxidativa de carbohidratos (Bacto Phenol Red Lactose Broth, Bacto Phenol Red Dextrose Broth, Bacto Phenol Red Saccharose Broth, Difco Laboratorios), para la determinación de la capacidad de reducción de nitratos, para la determinación de la capacidad de producción de enzimas gelatinolíticas, para la determinación de producción de Indol, ácido sulfhídrico y motilidad (Bacto SIM Medium Difco Laboratorios) y leche tornasolada.

La interpretación de la capacidad de oxidar los carbohidratos se hizo mediante el viraje del indicador presente en el medio a la 24 y 48 horas de cultivo o su ausencia. La determinación de producción de ácido sulfhídrico y motilidad se realizó siguiendo las indicaciones de Difco Manual (1953) y la de producción de Indol utilizando papeles de filtro impregnados en una solución saturada de ácido oxálico. La reducción de nitratos se verificó utilizando las técnicas de Zambelli y de Griess luego de 24 horas de cultivo.

La determinación de la capacidad de producción de enzimas gelatinólicas se siguió durante catorce días. La determinación de producción de enzimas gelatinolíticas se siguió durante catorce días a 18-20° C.

Se inocularon lauchas albinas de 18-20 gr. de peso con un ml. de cultivo de 72 horas en caldo peptona por vía intraperitoneal. Se observaron durante siete días.

Se utilizaron las técnicas de coloración de Gram y de Neisser (Merchant, 1956) específica para coloración de gránulos metacromáticos.

RESULTADOS

Las tres cepas clasificadas presentan idéntica morfología, reacciones tintoriales y morfología de colonia.

Son bacilos Gram positivos con granulaciones metacromáticas, pleomórficos y dispuestos en empalizada, en V o en forma de clava. Catalasa positivos, no hemolíticos. Las colonias son muy difíciles de apreciar a las 24 horas de cultivo y a las 48 se presentan como colonias de borde crenado, convexas, muy difíciles de suspender en suero fisiológico.

CUADRO 1

Copa Mot.	H ₂ S	Indol.	Leche tor.	Lactosa	Dextrosa	Sacarosa	Nitrato a NO ₂	Pat. laucha	Gelat.	Cat.
150-4	—	—	nm	—	'	'	—	—	—	+
156-3	—	—	nm	—	'	'	—	—	—	+
175-4	—	—	nm	—	'	'	—	—	—	+

nm: no modifica; —: reacción negativa; ':cultivo en forma granular sin viraje del indicador.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las tres cepas estudiadas se clasifican, tanto por sus características de cultivo, como por su morfología y metabolismo, como **Corynebacterium bovis** (Breed, Murray y Parker Hitchons, 1948; Cowan y Steel, 1961).

Las cepas 150-4 y 156-3 se aislaron de leches cuyos contenidos celulares fueron menor a 56.000 y 113.600 por ml. respectivamente. La 175-4 fue aislada de leche con elevado contenido celular (Whiteside 2).

SUMARIO

Se comunica el aislamiento y la clasificación de **Corynebacterium bovis** de leche de vaca en la República Oriental del Uruguay.

SUMMARY

Corynebacterium bovis has been isolated and classified in the República Oriental del Uruguay from fresh cow's milk.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- BERGEY (1904). — Citado por Breed, Murray y Parker Hitchens (1948).
- BLACK, L. A. (1941). — J. Bacteriol. **41**, 185.
- BREED, R. S.; MURRAY, E. G. D. y PARKER HITCHENS, A. (1948). — "Bergey's Manual of determinative bacteriology". 6ª ed. The William and Wilkins Co., Baltimore, USA.
- COBB, R. W. y WALLEY, J. K. (1962). — Vet. Rec. **74**, 3, 101.
- COWAN, S. T. y STEELK, J. (1961). — J. Hyg., Camb. **59**, 357.
- DIFCO MANUAL (1953). — 9ª ed. Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA.
- DUCKITT, S. M.; SEAMAN, A. y Woodbine, M. (1963). — Vet. Bull. **33**, 2, 67.
- EVANS, A. (1916). — Jour. Inf. Dis. **18**, 459.
- EVANS, A. (1917). — J. Bacteriol. **2**, 185.
- EVANS, A. (1948). — Citado por Breed, Murray y Parker Hitchens (1948).
- KASTLI, P. y BINZ, M. (1948). — Citado por Duckitt, Seaman y Woodbine (1963).
- Mc. EWEN, A. D. y COOPER, M. B. (1947). — Vet. Rec. **59**, 48, 655.
- MERCHANT, J. (1956). — "Veterinary bacteriology and virology". Iowa College Press, Iowa, USA.
- MOUNIER, P. (1933). — "Parvianalyse chimique et toxicologique des eaux potables". E. médicales N. Maloine, Paris, France.
- PLASTRIDGEWAYNEN (1946). — Little Ralph B. Bovinemastitis Mc. Graw - Hill Book Company, Inc.
- ROSSI LEMA, L. y GIL TURNES, C. (1969). — MASTITIS SUBCLINICAS Comportamiento de los métodos diagnósticos y estimación de su incidencia económica. Anales de la Facultad de Veterinaria de Montevideo, en prensa.
- TOPLEY y WILSON (1949). — "Bacteriología e Inmunidad". Salvat Ed. Barcelona.