

COMUNICACIONES

Primer aislamiento de *Clostridium tetani* a partir de suelos de la Meseta Central de Costa Rica

Evelyn Rodríguez, María del Mar Gamboa y Bernal Fernández
Laboratorio de Anaerobios, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

(Rec. 24-V-1990. Acep. 22-VIII-1990)

Abstract: Clinical evidence has long pointed to the existence of *Clostridium tetani* in Costa Rica. Thirty soil samples were studied for clostridia, and two yielded six strains of *C. tetani*, four of which proved to be toxigenic when mice were inoculated intraperitoneally with the culture supernates. These four isolates could be neutralized when their toxic supernates were admixed with tetanus antitoxin.

Key words: *Clostridium tetani*, soil, Costa Rica

Clostridium tetani fue aislado por primera vez en 1889, en Berlín, por Kitasato. Posteriormente, muchos otros investigadores demostraron su presencia en el suelo, principal habitat de este microorganismo. Así, Sanada & Nishida comunicaron en 1965 haber encontrado en el Japón un 31% de las muestras de suelo positivas. Por su parte, Beland & Rossier refirieron en 1973 haber hallado *C. tetani* en el 42% de los suelos de Canadá. En Brasil, Tavares en 1975 relató el hallazgo de un 32% de muestras de tierra positivas, en tanto que Smith comunicó en 1978 una frecuencia de positividad del 30% en los suelos de los Estados Unidos de N.A. Hasta la fecha no se ha informado de su presencia en suelos de Costa Rica, pero sí se han reconocido casos clínicos de tétano, enfermedad grave producida por la neurotoxina que elabora el *Clostridium tetani*. En efecto, entre 1982 y 1989 las "Memorias" del Ministerio de Salud consignan 55 casos de tétano, incluyendo dos de tétano neonatal ocurridos en 1988.

En esta comunicación se informa sobre los primeros aislamientos de *C. tetani* a partir de suelos de Costa Rica, ello como parte de un estudio de clostridios en tierras.

Se recolectaron 30 muestras de suelo de la Meseta Central de Costa Rica, tratando de incluir el mayor número posible de los diferentes

tipos de suelos descritos por Pérez, Alvarado y Ramírez (1978). Las tierras se sometieron a una desecación lenta en estufa a 30°C durante 4 a 6 semanas, luego fueron molidas y pasadas por tamiz de 0.5 mm. De cada muestra así tratada se tomó una porción de 10 g, la que se mezcló con 30 ml de agua destilada a 60°C contenida en un erlenmeyer y se mantuvo a esa temperatura durante 10 minutos. Transcurrido el plazo, se enfrió rápidamente el contenido del frasco a 37°C, se le adicionó alcohol etílico de 95% en cantidad suficiente para obtener una concentración final de 45%, se mezcló bien y se mantuvo así por 30 minutos.

Seguidamente, se inocularon 10 tubos de medio Carne Picada-Levadura, prereducido (CMY), que se incubaron a 30°C por 7 días. A partir de los tubos de CMY que presentaron crecimiento se procedió a rayar tubos arrollados de medio Agar-Infusión-Cerebro-Glucosa-Levadura, prereducido, los que se incubaron a 35°C a fin de obtener los diferentes morfotipos coloniales. Estos fueron identificados bioquímica y cromatográficamente empleando los procedimientos utilizados en el Laboratorio de Anaerobios del Instituto Politécnico de Virginia, E.U.A. (Holdeman, Cato & Moore 1977).

Se logró el aislamiento de seis cepas de *C. tetani* a partir de dos muestras de tierra, procedentes de un cafetal de Santo Domingo de

Heredia (9° 59' N y 84° 06' W) y del Parque Central de la Ciudad de Alajuela (10° 01' N y 84° 13' W). Cuatro de estos aislamientos resultaron ser tóxicos al inocular ratones por vía I.P. con los sobrenadantes de los cultivos, según recomendación del Centro para el Control de Enfermedades (Dowell & Hawkins 1981). En los cuatro casos antes mencionados fue posible neutralizar la capacidad toxigénica de los cultivos empleando antitoxina tetánica.

Nos llama la atención la menor frecuencia de cepas de *C. tetani* que hemos aislado al comparar nuestras cifras con las obtenidas por diversos autores en los estudios citados al inicio. Consideramos la posibilidad de que el método que utilizamos para el aislamiento de los diversos clostridios haya resultado ser muy drástico para la obtención de *C. tetani* en particular. Alternativamente, es posible que la prevalencia de esta bacteria en las zonas estudiadas por nosotros sea marcadamente menor que en otras áreas geográficas.

REFERENCIAS

- Beland, S. & E. Rossier. 1973. Isolement et identification de *Clostridium tetani* dans le sol des Cantons de L'Est de la province de Quebec. Can. J. Microbiol. 19:1513-1518.
- Dowell, V.R. Jr. & T.M. Gawkins. 1981. Laboratory methods in anaerobic bacteriology, C.D.C. Laboratory manual. Department of Health and Human Services, H.H.S. publication C.D.C. 81'8272. Center for Disease Control, Atlanta.
- Holdeman, L.V., E.P. Cato & W.E.C. Moore (ed.). 1977. Anaerobe laboratory manual, 4th. ed., Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
- Kitasato, S. 1889. Die Isolierung von *Bacillus tetani* und seine Reinigung. Z. Hyg. u. Infekt-Kr. 7:225-231.
- Memorias de los años 1985 y 1989. Ministerio de Salud. Depto. de Publicaciones. San José, Costa Rica.
- Pérez, S. A. Alvarado & E. Ramírez. 1978. Mapas de Asociaciones de Subgrupos de Suelos de Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José, Costa Rica.
- Sanada, I. & S. Nishida. 1965. Isolation of *Clostridium tetani* from soil. J. Bacteriol. 89:626-629.
- Smith, L.D.S. 1978. The occurrence of *Clostridium botulinum* and *Clostridium tetani* in the soil of the United States. Health Lab. Sci. 15:74-80.
- Tavares, W. 1975. Contaminação do solo do estado do Rio de Janeiro pelo *Clostridium tetani*. Bol. Cien. Vital Brasil. 2:9-179.