

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE MYCOBACTERIUM
 PARATUBERCULOSIS EN MEXICO**

CARLOS RAMÍREZ P.¹
EMILIO TRIGO T.²
FRANCISCO SUÁREZ G.¹
RICHARD MERKAL³

Se informa el aislamiento de *Mycobacterium paratuberculosis* (Bacilo de Johne) a partir de muestras de ganglios mesentéricos e intestino delgado de bovinos lecheros sacrificados en el Rastro de Tulancingo, Hgo. El *Mycobacterium paratuberculosis* es el agente causal de la paratuberculosis o enfermedad de Johne; esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo, siendo hospedadores naturales los bovinos, ovinos, caprinos y algunos rumiantes salvajes (Hagan, Bruner y Gillespie, 1970).

Johne y Frothingham (1895) informaron sobre el primer caso de paratuberculosis en un bovino, pensando que se trataba de un caso atípico de tuberculosis. En 1912 Twort e Ingram aislaron y cultivaron en forma pura dicho organismo, para posteriormente producir un antígeno (Johnina) a partir de un extracto del cultivo de los microorganismos.

En México, Unzueta (1936) diagnosticó la presencia de la enfermedad por primera vez en bovinos lecheros, utilizando como método diagnóstico la aplicación de Johnina y tuberculina aviar, y también al observar el bacilo al microscopio.

Debido a la poca información que se tiene sobre esta enfermedad en México, en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias se realizan actualmente estudios con el fin de conocer la importancia de esta enfermedad en nuestro medio, para lo cual

fue necesario primeramente efectuar el aislamiento de *Mycobacterium paratuberculosis*, para así contar con cepas nacionales a partir de las cuales se puedan producir antígenos que serán utilizados en pruebas de diagnóstico inmunológico.

Para la realización de este estudio se recolectaron 32 muestras de intestino delgado (porción ileocecal) y nódulos linfáticos mesentéricos de bovinos Holstein adultos, sacrificados en el Rastro de Tulancingo, Hgo. Dichas muestras fueron divididas en dos porciones con objeto de realizar estudios bacteriológicos e histopatológicos.

Para los estudios bacteriológicos se siguieron las técnicas de aislamiento descritas por Merkal (1970), las cuales consisten en:

a) Los especímenes sospechosos se colocan en un homogenizador Virtis* con el fin de liberar a los bacilos de las células epiteliales y fagocíticas.

b) A continuación se depositaron durante 12 horas en una solución de cloruro de Benzalconio (Zepiran) al 0.3% para destruir bacterias y hongos contaminantes (Merkal *et al.*, 1964; Merkal y Thurston, 1968).

c) Se inoculan medios de yema de huevo con y sin micobactina incubándose a 38°C con los tapones flojos, durante una semana para desecar el medio y posteriormente se aprietan, dejándose un mínimo de tres semanas y un máximo de cuatro meses para considerarlos negativos.

d) Se seleccionan las colonias sugestivas y se preparan frotis, los cuales se colorearon por la Técnica de Ziehl-Neelsen.

Para el estudio histopatológico las muestras fueron fijadas en formol tamponado al 10%. Posteriormente fueron procesadas

Recibido para su publicación el 16 de febrero de 1979.

¹ Departamento de Bacteriología.

² Departamento de Fisiopatología, Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, km 15.5 Carretera México-Toluca, Palo Alto, D.F.

³ Centro Nacional de Enfermedades Animales, Ames, Iowa, E.U.A.

* Modelo 23. Research Equipment.

por las técnicas de rutina, realizándose cortes a 5 μ de grosor y coloreándolos por los métodos de hematoxilina-eosina y Ziehl-Neelsen.

De las 32 muestras trabajadas sólo 2 presentaron crecimiento de *Mycobacterium paratuberculosis*, representado por la presencia de pequeñas colonias (1 a 5 mm de diámetro), firmes y de color blanco brillante; dicho crecimiento se observó únicamente en los medios de cultivo que habían sido adicionados con micobactina férrica.

Microscópicamente se apreciaron pequeños bacilos ácido resistentes, los cuales mostraban una tendencia a formar acúmulos.

Dichos aislamientos fueron enviados para su confirmación al Centro Nacional de Enfermedades Animales de los Estados Unidos (N.A.D.C.), Ames, Iowa.

Las lesiones histológicas observadas en dichas secciones estuvieron caracterizadas por la presencia de algunas células epiteloides, conteniendo bacilos ácido resistentes en su interior; además la mucosa intestinal presentaba una infiltración severa por células mononucleares, en donde predominaban linfocitos, seguidos de macrófagos y células plasmáticas. Los nódulos linfáticos mesentéricos se encontraban edematosos y con una marcada hiperplasia linfoide, aunque sin mostrar cambios inflamatorios.

Al revisar la literatura al respecto, parece ser que éste es el primer aislamiento del *Mycobacterium paratuberculosis* en México, ya que en el estudio realizado por Unzueta (1936) no se efectuaron aislamientos.

Literatura citada

BUSTAMANTE, X., 1974, Detección de anticuerpos a *Mycobacterium paratuberculosis* por medio de la prueba de fijación de complemento. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

GARBAY, V.M., 1974, Prueba doble comparativa intradérmica a la tuberculina aviaria y mamífera para identificación de reactores a *Mycobacterium paratuberculosis* en un hato de ovinos. Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

HACAN, W.A., W.D. BRUNER y J.H. GILLESPIE, 1970, Enfermedades infecciosas de los animales

Otros estudios realizados en México (Garibay, 1974; Bustamante, 1974) se han centrado en la utilización de técnicas inmunológicas para el diagnóstico de esta enfermedad en ovinos.

El aislamiento de *Mycobacterium paratuberculosis* que se informa en esta ocasión, cumple los requerimientos descritos por Merkal (1970), los cuales se basan en la necesidad del germen por micobactina férrica para su crecimiento *in vitro*, ya que esta especie de micobacteria no es capaz de producir la suya específica como lo hacen el resto de las micobacterias. Por lo cual para el cultivo de *M. paratuberculosis* se añade micobactina purificada proveniente de *M. phlei*.

Además, como se requiere de la presencia de iones férricos para su crecimiento, el medio contiene yema cruda de huevo, que es rica en este mineral.

En lo referente a las lesiones histopatológicas, éstas correspondieron a las descritas por otros autores para esta enfermedad (Jubb y Kennedy, 1970).

Summary

The first isolation and identification of *Mycobacterium paratuberculosis* in Mexico is informed. The samples were obtained from dairy cattle slaughtered in the abattoir of Tulancingo, Hgo. The methods of culture as well as the pathological findings are described.

domésticos. 3ª ed., *La Prensa Médica Mexicana*, México, D.F. p. 420.

JOHNE, H.A. and FROTHINGHAM, 1895, Ein eigentümlicher Fall von Tuberkulose beim rind. *Dtsch. Ztschr. f. Tiermedizin und vergl. Pathologie*, 21:438.

JUBB, K.V.F. and P.C. KENNEDY, 1970, Pathology of Domestic Animals, *Academic Press, Inc.* New York. p. 135.

MERKAL, R.S., K.E. KOPECKY, A.B. LARSEN and J.R. THURSTON, 1964, Improvements in the techniques for primary cultivation of *Mycobacterium paratuberculosis*, *Am. J. Vet. Res.*, 25:1290.

MERKAL, R.S. and THURSTON, 1966, Susceptibilities of mycobacterial and nocardial species to benzalkonium chloride, *Am. J. Vet. Res.*, 29:759.

MERKAL, R.S., 1970, Diagnostic methods for detection of paratuberculosis (Johnes disease), *Proc. 74th Annual Meet. U.S. Animal Health Association*, 620.

TWORT, F.W. and I.L.Y. INGRAM, 1912, A method

for isolating and cultivating the *Mycobacterium enteritidis chronicae pseudotuberculosis bovis* and some experiments on the preparation of a diagnostic vaccine for pseudotuberculosis enteritis of bovines, *Vet. J.*, 68:353.

UNZUETA, R.J., 1936, Contribución al estudio de la enteritis paratuberculosa bovina en México. Tesis de Licenciatura, *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.