

MYCOBACTERIUM PARATUBERCULOSIS

(Traducido de "The Infectious Diseases of Domestic Animals". William Arthur Haggan, 1944, pág. 258). Trad. Dr. B. Szifres.

Sinónimos: El bacilo de la Enfermedad de Johne; bacilo de Johne.

El *Mycobacterium paratuberculosis* es un bacilo algo más pequeño que cualquiera de los bacilos tuberculosos. Es el agente de una enfermedad de los bovinos y ovinos, que en los países de habla inglesa se llama Enfermedad de Johne, siendo también conocida bajo los nombres de enteritis crónica bacteriana, enteritis crónica hipertrofírica y paratuberculosis. Johne y Frolingham fueron los primeros en descubrir el agente específico en los tejidos enfermos. Estos investigadores creyeron que los microbios observados por ellos eran bacilos tuberculosos aviares, pensando que se trataba de un caso aislado de naturaleza peculiar. Más tarde se ha constatado que la presencia de esta enfermedad no es rara, pero siempre se la consideraba como una forma peculiar de tuberculosis, hasta que Bang por un estudio meticuloso pudo arrojar luz sobre su verdadero carácter. El agente patógeno fué aislado por Twort, en Londres, en 1911. Howarth y Dunkin que trabajaban con esta enfermedad en ovinos, no pudieron obtener cultivos del bacilo a partir de tejidos, no obstante usar las técnicas que en el caso del bacilo bovino han dado resultado. Este hecho planteó la cuestión de la identidad de ambos microorganismos, pero tomando en cuenta que las lesiones son idénticas era de presumir que también lo son los agentes responsables. Algunos años más tarde logramos inyectar varios ovinos, alimentándolos con material infeccioso procedente de ganado bovino, con los síntomas y las lesiones típicas de la enfermedad natural.

Morfología y reacciones tintoriales. — El *Mycobacterium paratuberculosis* se presenta en los tejidos y en los cultivos como un bacilo corto y grueso de 1 micra de largo sobre 0.5 micras de grosor. Es firmemente ácido-resistente y gram-positivo. No forma esporas. No es capsulado. En los tejidos se desarrolla comúnmente dentro de las células epitelioideas que proliferan en los sitios de la localización del bacilo.

Carácteres de cultivo. Twort, en 1911, logró por primera vez cultivar el *M. paratuberculosis* en medios artificiales. Habiendo fracasado investigadores anteriores en este propósito, este autor pudo cultivar al bacilo de Johne por intermedio de la incorporación en los medios, de bacilos ácido-resistentes, muertos por calor, de otras especies. Twort llegó a este resultado, después de ensayar infructuosamente muchos medios de cultivo que son usados para bacilos tuberculosos. Se le ocurrió a este investigador que quizás falle en sus medios de cultivo alguna substancia esencial para el crecimiento del bacilo de Johne y que eventualmente esta substancia esté presente en los otros bacilos ácido-resistentes. Habiéndose convencido que estaba en lo cierto, él intentó aislar esta "substancia esencial" haciendo extractos de cultivos, y usando extractos de muchas otras substancias. Llegó a la conclusión que por medio de los solventes aceosos y grasos se podía extraer la substancia necesaria de varias especies de bacilos ácido-resistentes, y que —en cambio— los extractos de otras bacterias y de tejidos vegetales y animales no la contenían. Todas estas investigaciones son dadas a conocer, en detalle, por Twort e Ingram, en 1913. Muy poco se ha podido averiguar sobre la naturaleza de esta "substancia esencial" hasta la aparición del trabajo de Wooley y Mc Carter en 1940. Estos autores demostraron que "phthiocol", que Newman,

Crowder y Anderson aislaron del bacilo tuberculoso humano en 1934, tenía las propiedades del factor necesario. Almquist y Klose, en 1939, demostraron que "phitioco" posee las propiedades anti-hemorrágicas de la vitamina K. Es por eso que Wooley y Mc Carter ensayaron la vitamina K sintética —2 metil naftoquinona— y encontraron que esta es eficaz. La "substancia esencial" de Twort parece pues ser la hidro y liposoluble vitamina K, el factor antihemorrágico. Los investigadores admiten, sin embargo, que los cultivos no se desarrollaron tan bien con los extractos como con las suspensiones de bacterias ácido-resistentes, siendo pues posible que haya uno o más factores adicionales. Todavía no descubiertos que favorecen el desarrollo del bacilo de Johne. De paso será interesante hacer notar que este es el único caso conocido, donde una vitamina liposoluble es necesaria para el desarrollo microbiano, siendo, en cambio, sabido que muchas especies bacterianas requieren para su crecimiento las vitaminas hidrosolubles.

Los primeros cultivos a partir del organismo animal se desarrollan muy lentamente en cualquiera de los medios usados; mucho más lentamente que los bacilos tuberculosos. Sobre el medio a huevo de Dorset —enriquecido con un 5 % en peso, de bacilos ácido-resistentes saprófitas húmedos, que son agregados antes de la esterilización y coagulación— el germen se desarrolla sin gran dificultad, al sembrar el medio de cultivo con material de ganglios linfáticos infectados, donde el bacilo de Johne se encuentra muchas veces en estado puro. Los cultivos hay que incubarlos a 37° durante 6 semanas —que es cuando aparece un crecimiento visible. Durante el periodo de incubación los tubos deben ser parcialmente sellados para evitar la evaporación y deshidratación consiguiente del medio de cultivo. El cultivo aparece en forma de muy pequeñas colonias, secas e irregulares, no muy diferentes de los cultivos de aislamiento de los bacilos tuberculosos de mamíferos. Cuando se hacen subcultivos, repicando a medios frescos del mismo tipo, se obtiene un cultivo confluyente, que se hace visible ya a las 2 o 3 semanas de incubación, alcanzando el máximo de desarrollo después de 5 o 6 semanas. Cepas ya acostumbradas a los medios artificiales, presentan un cultivo seco y escamoso, y de un color crema. Aún después de muchos años de repiques en medios artificiales, el bacilo de Johne no cultiva o lo hace muy pobemente sobre la mayor parte de los medios comúnmente usados para los bacilos tuberculosos, si no se agrega el factor necesario para su desarrollo. A veces se obtienen algunos cultivos pobres pero después de 2 o 3 repiques sobre medios no enriquecidos con el factor necesario, los transplantes ulteriores fracasan.

Es difícil de habituar al *M. paratuberculosis* a desarrollarse en medios líquidos. En caldo glicerinado, enriquecido con la "substancia esencial" en forma de bacilos muertos por calor de *Mycobacterium phlei*, el cultivo que se obtiene es siempre pobre. Despues de varios meses de incubación se desarrollan sobre la superficie pequeños islotes de cultivo y sobre el fondo del matraz se puede observar un sedimento granuloso bastante pesado. Se ha constatado que algunos medios sintéticos, cuando se les enriquece con el factor de crecimiento necesario, son más apropiados que los medios usuales. El medio que nos ha dado los mejores resultados, es el descripto por Dorset, Henley y Moskey. Su composición es la siguiente:

Fosfato bipotásico	1 gr.
Sulfato de magnesio	1 gr.
Citrato de sodio	0,5 gr.
Asparagina	5 gr.
Citrato férrico de amonio	0,06 gr.
Glicerina	70 c.c.
Aqua	1.000 c.c.

Para hacer este medio apropiado para el bacilo paratuberculosos hay que agregar 0,3 a 0,5 gr. de bacilos secos de *Myc. phlei* antes de la esterilización. El medio es ajustado a pH 7,2 si la reacción final está lejos de este punto. Sobre este medio se puede obtener cultivos muy ricos de *Myc. paratuberculosis*, después que la cepa se haya acostumbrado a él. Buenos cultivos se pueden obtener también para algunas cepas, sin agregar el factor de desarrollo, pero estas cepas generalmente mueren después de algunos repiques. El cultivo sobre medios líquidos se parece al del bacilo de Koch de mamíferos, quedando el medio claro y formándose una película seca que se extiende sobre toda la superficie del medio y se espesa en un velo espeso y frunció.

PATOGENIA

Para animales de experiencia. — Conejos, cobayos, ratas, ratales, gallinas y todos los animales que no sean rumiantes, no son susceptibles a la infección. Sin embargo si se inyectan grandes dosis de cultivo en cualquier animal, se pueden originar lesiones locales en el punto de inoculación, tales como las que provocan todos los bacilos ácido resistentes. Si los bacilos son introducidos en la cavidad peritoneal, aparecerán masas tuberculiformes sobre el gran epiplón.

Para bovinos. — La paratuberculosis es una enfermedad de los animales jóvenes y es bastante raro que animales viejos desarrollen síntomas clínicos. La mayor parte de los casos se observan en hembras de 2 ó 3 años y la enfermedad se vuelve aparente lo más a menudo después del 1.^o o 2.^o parto. Las pérdidas más grandes ocurren entre animales de alta producción, presumiéndose por eso que la lactación sea la responsable del quebrantamiento de la resistencia de animales que son portadores de la infección. La infección se asienta en el intestino y los ganglios linfáticos del mesenterio. Las partes más atacadas son la parte final del intestino delgado, el ciego y el comienzo del colon, pero en casos avanzados las lesiones pueden extenderse del duodeno hasta el recto. Las lesiones de la pared intestinal toman la forma de unas masas difusas de células epitelioides que muchas veces ocasionan un gran engrosamiento de la mucosa y de la sub-mucosa. Al contrario de lo que pasa en la infección tuberculosa, en la paratuberculosis no hay formación de tubérculos, ni ulceración. La pared intestinal puede estar muy engrosada y cuando se la estira, se pueden observar las tumefacciones en forma de placas, pero el epitelio está intacto. Los ganglios mesentéricos generalmente no presentan lesiones macroscópicas, a lo sumo un ligero aumento de volumen. Algunas veces los linfáticos de la superficie serosa de las porciones atacadas del intestino, están engrosados, tomando la forma de un cordón tortuoso. Raspando la superficie de la mucosa intestinal o de la superficie de un ganglio cortado, se puede demostrar

por frotis gran cantidad de bacilos ácido-resistentes. Los bacilos se presentan generalmente en grupos, y frecuentemente dentro de las células. En cortes histológicos, se puede observar, la mayor parte de los bacilos en las células epitelioïdes de la lesión.

La enfermedad de Johne no causa la muerte de muchos animales a la vez, produciéndose las pérdidas más bien gradualmente de a uno a dos animales por vez. En total las pérdidas son muchas veces grandes, en vista de que ocurren persistentemente durante largos períodos de tiempo. Esto está de acuerdo con nuestra propia experiencia con un lote experimental que hemos mantenido durante algunos años. Hemos llegado a la conclusión, en nuestras experiencias con el rodeo mencionado, que es fácil reproducir la enfermedad en terneras no infectadas si se las pone en presencia con animales adultos infectados, siendo, en cambio, que los animales adultos rara vez se infectan de esta manera. Administrando material infectado por vía bucal, hemos observado que es posible infectar tanto terneras jóvenes como animales adultos, pero mientras la mayor parte de las terneras han manifestado síntomas clínicos de enfermedad, después de una incubación de uno o dos años, los animales adultos no hicieron manifestación clínica alguna, acusando solamente reacción a los tests alérgicos durante un tiempo, y desapareciendo luego. Está claro que esta enfermedad, en la mayor parte de los casos, es contraída en la primera edad y que muchos pero no todos de estos animales desarrollan síntomas clínicos al llegar a la madurez. Asimismo se desprende de los hechos que la infección en la edad adulta no es común, excepto si esta se ha originado y persistido desde la primera edad.

SINTOMAS

Los síntomas son básicamente característicos. Comúnmente el primer síntoma es la falta de desarrollo general, con el pelo áspero y piel seca. Empieza una diarrea que frecuentemente se vuelve muy profusa. El tren posterior y la cola de los animales enfermos están cubiertos por las defecaciones líquidas. El animal se deshidrata, la emaciación progresiva rápidamente, los globos oculares se hunden, y el animal se vuelve débil. El enfermo pierde el apetito, no tocando la ración durante muchos días. No hay fiebre, siendo la temperatura del cuerpo, muchas veces, subnormal. La muerte puede producirse más o menos a la semana desde que empezó la diarrea. En algunos casos, la diarrea cesa después de algunos días, el animal experimenta un mejoramiento durante algún tiempo, para sufrir luego una recaída, reapareciendo los síntomas después de períodos que pueden variar de algunos días a un año o más. Frecuentemente la recurrencia de los síntomas aparece después del parto subsiguiente.

Para ovinos y caprinos. — En estos animales los síntomas y las lesiones son similares a los de los bovinos. Ya hemos señalado que varios investigadores sugieren que el germen de la enfermedad en los ovinos sea distinto al de los bovinos basándose en que los métodos que permiten aislar y cultivar el bacilo de la paratuberculosis bovina, no dan resultado para el bacilo de los ovinos y caprinos.

Modo de infección. — La vía natural de infección es indudablemente el tracto digestivo. Las pruebas experimentales indican que la infección es reproducida con relativa facilidad, por esta vía, pero que otros factores determinan si la enfermedad

ha de progresar hasta el punto de manifestar apariencias clínicas, o si la enfermedad ha de quedar inaparente, o extinguirse.

Métodos de diagnóstico. — Hay varios métodos para descubrir la presencia de la enfermedad en los animales. Los principales son los siguientes:

I. Métodos clínicos. — Animales con diarrea persistente y con emaciación deben ser considerados como sospechosos. Si estos animales mueren o son sacrificados, debe remitirse a un laboratorio una porción de la parte final del intestino delgado.

2. Maspajes de la mucosa rectal. — En cierto número de casos avanzados, probablemente no más que en la cuarta parte de todos los casos, la enfermedad se extiende a las partes finales del intestino grueso y aun al recto. En casos así se puede reconocer por palpación la mucosa rectal engrosada. Si no hay engrosamiento aparente, se puede arrancar con la uña un fragmento de mucosa para el examen microscópico. El fragmento debe ser lavado con agua limpia, puesto sobre una lámina y aplastado. Se hacen frotis y se colorea para buscar bacilos ácido-resistentes. Debe tenerse muy en cuenta que las materias fecales de todos los bovinos tienen bacilos ácido-resistentes, no hay que confundirlos, pues, con el bacilo de la paratuberculosis. El bacilo de Johne es más pequeño que cualquiera de los ácido-resistentes saprófitas y se presenta en agrupamientos característicos. Un observador experimentado puede generalmente identificar con seguridad los bacilos observados.

3. Los tests alérgicos. — En 1909, antes que el bacilo de Johne hubiera podido ser cultivado artificialmente, Oluy Bang, llamó la atención sobre el hecho de que muchos animales infectados reaccionan a la tuberculina aviaría, por inoculación subcutánea. Esta prueba fué usada por muchos investigadores con resultados bastante satisfactorios. Una de las primeras tareas que se ha propuesto Twort después de obtener cultivos puros del *M. paratuberculosis*, era de preparar con este bacilo un producto análogo a la tuberculina, para usos diagnósticos. Los cultivos de Twort eran muy pobres y los productos preparados no dieron buen resultado, habiéndose demostrado, sin embargo, que en algunos animales se pueden obtener reacciones. Beach y Hastings, en Estados Unidos, fueron los primeros en usar johnina o paratuberculina intravenosamente. Los trabajos de estos autores y los de otros han demostrado que esta vía de administración del reactivo es más efectiva que la inoculación subcutánea. Sin embargo no se pudo probar de que la johnina sea más eficaz o tenga cualquier ventaja sobre la tuberculina aviaría, en inoculación intravenosa.

La reacción fisiológica que sigue a la inoculación intravenosa de johnina o de tuberculina aviaría es la misma. Animales normales, si no les administra dosis exageradas, acusan poca o ninguna reacción. Animales enfermos, en cambio, empiezan a manifestar signos de malestar a la hora más o menos de la inyección. Se observa abatimiento, el animal deja de comer, mantiene la cabeza baja, el pelo es erizado y a menudo sobrevienen temblores. En algunos animales se presenta una diarrea que puede durar algunos días. La curva febril empieza desde la 3.a a la 5.a hora después de la inyección y alcanza su máximo desde las 5 a 8 horas, según la dosis y potencia del reactivo. Despues de alcanzar el máximo, la temperatura comunmente baja con rapidez hasta la normal de 10 a 12 horas después de la inoculación.

Tanto la tuberculina aviaria como la johnina pueden ser usadas por vía intradérmica. Los filtrados crudos pueden ser concentrados, o sino se puede precipitar el agente activo de tales filtrados, por el método que Seibert usa en la preparación de P.P.D. de tuberculina. Nosotros hemos ensayado todos estos productos y creemos que todos ellos son inferiores a la tuberculina aviaria. Sin embargo, otros autores informan haber obtenido buenos resultados con la prueba intradérmica. Los tests intradérmicos son mucho más sencillos y exigen menos tiempo que los tests intravenosos, por lo que es indudable que reemplazaran a estos últimos si se llega a demostrar la fidelidad de sus resultados.

4. Las pruebas serológicas. — Los animales enfermos de paratuberculosis fijan el complemento con regularidad con antígenos hechos con cualquiera de una serie de bacilos ácido-resistentes. Quiere decir en otras palabras que la reacción es específica para el grupo, pero no para la especie microbiana. Por intermedio de esta prueba no se puede distinguir la paratuberculosis y la tuberculosis, y además muchos animales que no tienen ninguna de estas enfermedades fijan el complemento, presumiblemente por estar sensibilizados por otras clases de bacilos ácido-resistentes. Nuestra experiencia demuestra que una reacción negativa en un animal con síntomas sospechosos, indica que la enfermedad que lo aqueja no es la paratuberculosis; un resultado positivo, en cambio, debe ser tomado con mucho reserva.

Inmunidad. — Animales con síntomas clínicos de paratuberculosis rara vez se restablecen en forma permanente. Algunas veces, se pueden observar animales que encontrándose en un estado bastante avanzado de la enfermedad, se restablecen aparentemente, pero no se conocen casos de animales que habiendo manifestado síntomas clínicos, se curen completamente de la paratuberculosis. En una ocasión pudimos observar un animal que después de enfermarse de paratuberculosis, quedó bien durante 5 años, pero en la autopsia se encontraron lesiones, si bien mínimas. Parece probable, juzgando por los resultados de los tests alérgicos, practicados repetidamente en un lote experimental de bovinos, que muchos animales adquieren la infección, sin nunca manifestar signos de enfermedad, y que en estos casos subclínicos la enfermedad se desarrolla solamente hasta un cierto grado y que finalmente se libran completamente de la infección.

Vallee y Rijnard, empezaron en 1926 una serie de ensayos en Francia para determinar la posibilidad de usar el bacilo de Johne como vacuna para proteger el ganado. Ellos constataron que si se administran cultivos de *M. paratuberculosis* por vía sub-cutánea, se producen solamente tumores inocuos, los que aparentemente confieren un considerable grado de protección contra la enfermedad naturalmente adquirida. Según un informe publicado en 1934, más de 12.000 animales fueron tratados con buen resultado, por este método de inmunización. En un pequeño ensayo experimental efectuado en Estados Unidos de Norte América se pudo comprobar que aunque esta vacunación (método Vallee y Rijnard) no impide la infección de los terneros, los terneros vacunados resisten mejor la enfermedad que los animales testigos. El método no ha sido ensayado en gran escala en Estados Unidos y no hay otra información disponible sobre los resultados de los investigadores franceses.

Bibliografía:

- Almquist y Klose. Jour. Am. Chem. Soc. 1939, 61, 1611.
- Bang, B. Berl. tierärztl. Wochenschr. 1906, p. 759.
- Bang, O. Centr. f. Bakl. 1909, I Orig. 51, 450.
- Beach y Hastings Jour. Inf. Dis. 1922, 30, 69.
- Dorset, Henley y Moskey. Jour. Am. Vet. Med. Assoc. 1926, 70, 373.
- Dunkin y Balfour - Jones. Jour. Comp. Path. and Therap. 1935, 48, 236.
- Hagan, Cornell Vet. 1935, 25, 345.
- Hagan Symposium Series, Vol. I. 1937, Am. Assoc. Adv. Sci., p. 69.
- Hagan Cornell Vet. 1938, 28, 34.
- Hagan y Zeissig. Jour. Am. Vet. Med. Assoc. 1929, 74, 985.
- Hagan y Zeissig Ann. Rpt. N. Y. State Vet. Coll. for 1927, 28, p. 150.
- Hagan y Zeissig Cornell Vet. 1933, 23, I.
- Hagan y Zeissig Jour. Am. Vet. Med. Assoc. 1933, 82, 391.
- Howarth. Jour. Am. Vet. Med. Assoc. 1932, 81, 383.
- Johns y Frolingham. Deutsche Seitschr. f. Fierned. 1895, 21, 438.
- Newman, Crowder y Anderson. Jour. Biol. Chem. 1934, 105, 279.
- Twort. Proc. Royal Soc. Med. 1911, Series B, 83, 158.
- Twort e Ingram "John's Disease" 1913. Balliere, Findall y Cox. Londres.
- Vallee y Rinjard. Rev. gen. Med. Vet. 1926, 35, I.
- Vallee, Rinjard y Vallee. Rev. gen. Med. Vet. 1934, 43, 50.
- Wooley y Mc Carter, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 1940, 45, 357.

