



La paratuberculosis bovina. Diagnóstico y control

MIGUEL PRIETO MARTÍN. Área de Sanidad Animal del SERIDA-Gijón. Deva. Jmprieto@serida.org

La paratuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica causada por una bacteria denominada *Mycobacterium avium paratuberculosis* (Map), que afecta tanto a rumiantes domésticos como silvestres, en los que provoca una enteritis y linfadenitis granulomatosa.



Introducción

Se cree que los animales se infectan en edades tempranas y solo algunos llegan a desarrollar la enfermedad en la edad adulta, que es cuando se observa un adelgazamiento progresivo, diarrea y

finalmente la muerte de los animales afectados. La principal vía de transmisión entre los animales es la fecal-oral, a través de la ingestión de bacilos en el agua, leche o cualquier alimento contaminado por las heces de los animales infectados (Chiodini *et al.* 1984).

Fotografía 1.-La rentabilidad de las ganaderías puede verse comprometida por la incidencia de la paratuberculosis.



Presencia y distribución

La paratuberculosis tiene una amplia distribución mundial, se sospecha que la mayoría de los países tienen presencia de *Map* en diferentes grados de prevalencia, algunos ejemplos de prevalencias de *Map* en Europa se detallan en la tabla 1. Para calcular la prevalencia aparente, los autores consideraron el número de rebaños detectados como positivos del total de rebaños analizados para cada país. La mayoría de los países europeos analizados presentaron más del 50% de rebaños afectados, las diferencias que se observan son difíciles de interpretar, especialmente debidas al uso de metodologías diferentes.

País	Año	Prevalencia
Alemania	2004	42%
Bélgica	1998	18%
Dinamarca	1998	55%
Francia	1999	68%
Italia	2001	65%
Reino Unido	1995	17%

En España, la enfermedad parece estar ampliamente distribuida en el ganado vacuno, pero no existen trabajos referentes a prevalencias, el estudio más amplio fue el llevado a cabo por Juste *et al.* (2000) en el que encontraron una prevalencia individual del 30% en vacas sacrificadas en matadero y de un 10% usando PCR en muestras de tanque de leche. Más recientemente, se estimó que cerca del 50% de los rebaños vacunos de la montaña leonesa presentaban al menos un animal infectado con paratuberculosis (Pérez *et al.* 2009).

En Asturias estudios llevados a cabo en el SERIDA (Balseiro *et al.* 2003) utilizando diferentes técnicas diagnósticas encontraron en animales sacrificados en matadero una prevalencia de un 44,4%, aunque hay que tener en cuenta que el 39,6% del total de esos animales presentaron lesiones de tipo focal. También se determinó la prevalencia de la paratuber-



Tabla 1.-Resumen de prevalencias aparentes de paratuberculosis en los rebaños bovinos de algunos países de Europa. Tomado de Nielsen y Toft (2009).



Tabla 2.-Prevalencia de la paratuberculosis en ungulados silvestres de Asturias mediante histopatología.

culosis en 16 rebaños de vacuno lechero mediante un ELISA casero, la prevalencia en 15 rebaños osciló entre un 3,1% y un 22,2%, con una media de un 11,32%. Solo en un rebaño no se detectó paratuberculosis. Por otra parte, se han realizado estudios de prevalencia en fauna silvestre, en la tabla 2 se muestran los resultados de los análisis histopatológicos. Las prevalencias obtenidas fueron en el jabalí, venado y gamo del 1,9%, 2,9% y 31,2% respectivamente. Los dos jabalís fueron capturados en el concejo de Oviedo y Teverga. Tanto los venados como los gamos positivos fueron capturados en la Sierra del Sueve. En el gamo se encontraron lesiones en 31 animales, predominando las lesiones del tipo focal (76,7 %). A pesar de las altas prevalencias encontradas en el gamo, en estudios recientes (Abendaño *et al.* 2012) hemos detectado que las cepas de *Map* aisladas tanto de gamos como de bovinos tienen unas características fenotípicas diferentes, lo que nos permite intuir, a la espera de nuevas pruebas, que la paratuberculosis de la fauna silvestre es independiente de la paratuberculosis del ganado doméstico.

Especie	n.º	Prevalencia
Jabalís	105	1,90%
Venados	69	2,89%
Gamos	96	31,25%

Repercusiones

Las altas prevalencias tienen un grave impacto económico especialmente en la cabaña ganadera de alta producción lechera. Las pérdidas son muy difíciles de cuantificar debido a que esta enfermedad produce un gran número de animales infectados subclínicamente que pasan desapercibidos. Estas pérdidas engloban tanto las de tipo directo, por mortalidad prematura, como indirectas por disminución en la producción lechera, problemas de infertilidad, descenso en el valor de la canal.

Un aspecto particular a considerar sería la cada vez mayor preocupación que suscita la posible implicación de *Map* como agente etiológico de la enfer-

medad de Crohn en humanos, proceso caracterizado también por una enteritis granulomatosa crónica, aunque su relación no ha sido definitivamente comprobada mediante el aislamiento de *Map* en sangre y tejidos de pacientes con esta enfermedad (Juste *et al.*, 2009). No obstante dicha posibilidad ha suscitado un gran interés sobre el posible papel zoonótico de esta micobacteria.

Diagnóstico

Uno de los principales problemas que plantea la paratuberculosis es su diagnóstico, especialmente en los animales subclínicos, al no existir a día de hoy un diagnóstico que tenga una sensibilidad y especificidad del 100%. El test ideal tendría que ser rápido y sensible de tal manera que permita a los ganaderos detectar de manera rápida a los animales que estén excretando la micobacteria o asegurarse de que los animales que compra para introducir en su rebaño estén libres de la infección. El test debe de identificar a los animales que puedan desarrollar la enfermedad en un futuro, por ser posibles focos de infección para el resto de los animales. Finalmente debería de ser específico de *Map* para evitar posibles reacciones cruzadas con otras micobacterias.

La identificación de los animales clínicamente enfermos es relativamente sencilla, basándose en los síntomas característicos, que son la pérdida de la condición corporal (fotografía 2) y diarreas intermitentes o continuas. Los casos clínicos aparecen a lo largo del año en forma de goteo, en general, los síntomas se agravan con los cambios de alimentación y durante las primeras semanas de lactación de la madre.



Fotografía 2.-Vaca con manifestaciones clínicas de paratuberculosis.

La presencia de un solo caso clínico grave, no es más que el indicio de la gravedad de la difusión de la enfermedad dentro del rebaño, es por lo que se debe de recurrir a un laboratorio especializado para intentar descubrir el alcance real de la enfermedad. Para ello la prueba más utilizada e indicada en este momento es el ELISA (fotografía 3) en muestras de suero sanguíneo (fotografía 4). Constituye una técnica económica, sencilla de realizar y permite manejar muchas muestras. El problema de esta técnica es que su sensibilidad varía ampliamente en función del estatus infeccioso en el que se encuentra el animal, obteniéndose valores entre un 15% y un 97,7%, estrechamente relacionada con la presencia de lesiones graves caracterizadas por una eliminación intensa de *Map* (González, 2003). Esta técnica es muy limitada cuando se trata de animales infectados subclínicamente, con valores de sensibilidad



Fotografía 3.-Técnica ELISA para detectar anticuerpos frente a *Map*. Los pocillos más coloreados representan los sueros positivos.



Fotografía 4.-Muestra de suero sanguíneo.





Fotografía 5.-Intestino delgado con enteritis y edema por paratuberculosis.



estimados entre el 15,8% y el 14,3% en lesiones del tipo focal y multifocal.

En resumen, el ELISA es una técnica poco sensible y la positividad está asociada a animales preclínicos o clínicos, debido a ello un alto porcentaje de infectados con formas lesionales leves serán negativos a esta prueba. Por ello, también se realizan pruebas complementarias como las basadas en la detección de la respuesta inmune celular; es el caso del test g-Interferón que es más sensible que la prueba ELISA, especialmente en los casos subclínicos. Es una técnica complementaria y la combinación de ambas podría detectar más del 90% de los infectados, el mayor inconveniente de esta técnica es su coste y que no siempre están disponibles los reactivos para llevarla a cabo.

Otra técnica basada en la detección de la respuesta celular es la intradermoreacción comparada con PPD aviar, es la misma técnica que se emplea en el diagnóstico de la tuberculosis bovina. Desde el SERIDA se han valorado las reacciones cruzadas de la paratuberculosis con la intradermoreacción simple en las condiciones de trabajo de Asturias, utilizando para ello bovinos sacrificados en matade-

ros y animales vivos procedentes de rebaños infectados con paratuberculosis y libres de tuberculosis desde sus inicios (Balseiro, 2004), no encontrándose reacciones cruzadas, salvo en casos de paratuberculosis grave asociadas a lesiones difusas linfocitarias con alto componente celular, y en estas lo fueron de forma débil. La eficacia de esta técnica como diagnóstico de campo ha sido muy discutida, adjudicándosele valores bajos de sensibilidad, por lo que su uso se enmarca como prueba complementaria a la prueba de la intradermoreacción con PPD en la tuberculosis bovina.

La detección de *Map* en las heces y tejidos es el método de diagnóstico de referencia y definitivo de paratuberculosis tanto en el animal vivo como muerto. En algunos países ha sido establecida como base para el desarrollo de programas de control, se puede realizar en heces de forma individual o a nivel de explotación por grupos de animales para abaratar costes. A pesar de su amplia utilización, este método de diagnóstico tiene el importante inconveniente del largo periodo de tiempo que se necesita para obtener resultados, ya que se necesitan como mínimo de 4 a 8 semanas hasta que se observan crecimientos. Otro grave inconveniente que

presenta el cultivo es el elevado coste que supone, sobre todo cuando se aplica a un gran número de muestras.

El descubrimiento de la secuencia de inserción IS900 específica de *Map* (Green *et al.* 1989) ha sido clave en el desarrollo y puesta a punto de nuevas técnicas de diagnóstico de *Map* en animales vivos y muertos, como la reacción en cadena de la polimerasa o PCR, que permite identificar al agente etiológico de la paratuberculosis de manera rápida, sencilla y específica. La sensibilidad es algo inferior al cultivo, pero con la gran ventaja que ofrece de rapidez, inferior a una semana.

El diagnóstico tras la necropsia es mucho más sencillo y preciso que el que se pueda realizar con el animal en vida. Las lesiones macroscópicas específicas que suelen presentar la mayoría de los animales afectados clínicamente de paratuberculosis y pueden proporcionar un diagnóstico bastante fiable de la presencia de la enfermedad. El hallazgo principal es el marcado engrosamiento y aspecto edematoso de la pared del intestino delgado, principalmente de tramos del íleon y yeyuno (fotografía 5). Otra lesión macroscópica característica se presenta en los linfonodos yeyunales e ileocecales que aparecen tumefactos y edematosos.

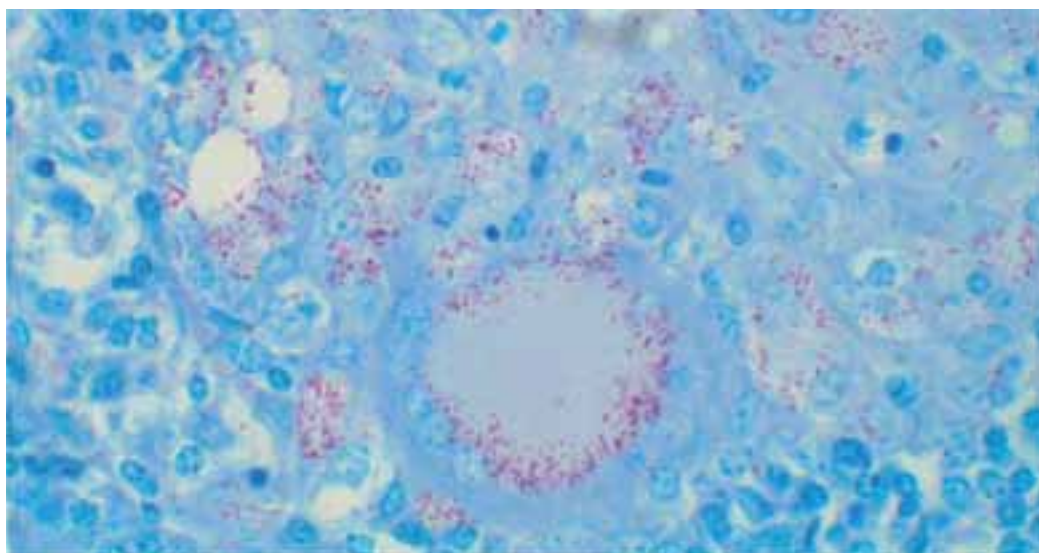
Microscópicamente la paratuberculosis se considera como una enteritis granulomatosa, que en casos graves puede

llegar a producir la atrofia y fusión de las vellosidades intestinales. Las lesiones paratuberculosas según su gravedad se dividen de manera resumida en lesiones del tipo, focal, multifocal y difusas, estas últimas son las más graves y predominan los macrófagos de gran tamaño formando granulomas (fotografía 6). Esta técnica es definitiva y muy sensible, siempre que la muestra a procesar sea de íleon y ganglio yeyunal caudal.

Control

El control de la paratuberculosis constituye un verdadero desafío especialmente en las explotaciones lecheras, a pesar de que la enfermedad se conoce desde hace más de un siglo, se sigue buscando la estrategia de control óptima para su erradicación.

La medida más rápida y eficaz es la vacunación. Además de la disminución de los casos clínicos, la vacunación parece disminuir tanto la cantidad de micobacterias excretadas como el número de animales excretores, aunque es muy importante tener en cuenta que la vacunación no previene la infección de los animales. La vacunación frente a la paratuberculosis se encuentra prohibida en España por la interferencia que se produce con la prueba de tuberculina que se emplea en el diagnóstico de la tuberculosis bovina. Otro inconveniente importante es la interferencia con posteriores pruebas de diagnóstico inmunológico de



←
Fotografía 6-Lesiones microscópicas de paratuberculosis en intestino delgado. Se observan los granulomas característicos repletos de micobacterias (en rojo).

paratuberculosis que se quieran realizar. En países donde se lleva a cabo, la pauta es variable, desde vacunar sólo a la reposición o realizar la inmunización de toda la explotación. En España se debería considerar la posibilidad de aplicar vacunas en rebaños libres de tuberculosis en los últimos cinco años o más y que no dedican animales a la venta para vida (García Marín, 2000).

La medida más habitual de control de la paratuberculosis bovina es la denominada diagnóstico y sacrificio de los animales infectados ("test and cull"), con este sistema se lograría disminuir la prevalencia de la infección y el número de excretores del bacilo pero no su erradicación (Kalis *et al.* 2001). Para ello hay que eliminar a todos los animales en los que se hayan detectado micobacterias en las heces, realizando cultivos cada 3-4 meses. Eliminar a todos los animales serológicamente positivos. El método ideal para detectar y eliminar el mayor número posible de infectados sería la combinación de varias pruebas (ELISA, g-Interferón y cultivo de heces), pero nos encontraríamos con tener que sacrificar muchos animales en algunas explotaciones, con lo que solo podría aplicarse en casos de muy baja prevalencia.

Además del establecimiento de los diferentes programas de control es de gran importancia adoptar medidas higiénico-sanitarias para disminuir en lo posible el contagio entre animales. Dentro de estas medidas se considera primordial la limpieza, desinfección de la explotación y la separación de las crías de las madres lo antes posible o al menos de aquellas que resulten sospechosas de padecer la enfermedad. El manejo correcto de los terneros constituye el punto crítico en un programa de control, de su correcta aplicación dependerá la posibilidad de erradicar la paratuberculosis de un rebaño. En casos de madres excretoras de *Map* sería conveniente eliminar su descendencia, al poder encontrarse infectada por vía intrauterina (Chiodini *et al.* 1984). A la hora de adquirir nuevos animales es necesario llevar un control muy estricto para evitar introducir la infección en un rebaño libre de paratuberculosis.

Referencias bibliográficas

- ABENDANO, N., SEVILLA, I., PRIETO, M., GARRIDO, J. M., JUSTE, R., ALONSO, M. (2012). Quantification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* strains representing distinct genotypes and isolated from domestic and wildlife animal species by use of an automatic liquid culture system. *J.Clin. Microbiol.*, 50: 2609-2617.
- BALSEIRO, A., PRIETO, M., ESPÍ, A., PÉREZ, V., GARCÍA MARÍN, J. F. (2003). Presence of focal and multifocal paratuberculosis lesions in mesenteric lymph nodes and the ileocecal valve of cattle positive to the tuberculin skin test. *Vet. J.*, 166: 210-212.
- BALSEIRO, A. (2004). Paratuberculosis bovina: valoración de las reacciones cruzadas con la prueba de la tuberculina, evaluación de técnicas diagnósticas y prevalencia en Asturias. *Tesis Doctoral*. Universidad de León.
- CHIODINI, R. J., VAN KRUININGEN, H. J., MERKAL, R. S. (1984). Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects. *Cornell Vet.*, 74: 218-262.
- GARCÍA-MARÍN, J. F. (2000). Tuberculosis y Paratuberculosis. *Producción Animal*, nº 154: 3-11.
- GONZÁLEZ, J. (2003). Caracterización lesional y evaluación de técnicas diagnósticas de la paratuberculosis bovina. *Tesis Doctoral*. Universidad de León.
- GREEN, E. P., TIZARD, M. L., MOSS, M. T., THOMPSON, J., WINTERBOURNE, D. J., MCFADDEN, J. J., HERMON-TAYLOR, J. (1989). Sequence and characteristics of IS900, an insertion element identified in a human Crohn's disease isolate of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Nucleic Acid. Res.*, 17: 9063-9073.
- JUSTE, R. A., ELQUEZABAL, N., PAVÓN, A., GARRIDO, J. M., GEJO, M., SEVILLA, I., CABRIADA, J. L., TEJADA, A., GARCÍA-CAMPOS, F., CASADO, R., OCHOTORENA, I., IZETA, A. (2009). Association between *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* DNA in blood and cellular and humoral immune response in inflammatory bowel disease patients and controls. *Ins. J. Infect. Dis.*, 13: 247-254.
- NIELSEN, S. S., TOFT, N. (2009). A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe. *Prev. Vet. Med.*, 88: 1-14.
- PÉREZ, V., MORENO, O., MUÑOZ, M., GARCÍA-PARIENTE, C., BENAVIDES, J., DELGADO, L., GONZÁLEZ, J., LUIS, M., FUERTES, M., GARCÍA-MARÍN, J. F., FERRERAS, M. C. (2009). Diagnosis of paratuberculosis in slaughtered calves in the Northwest of Castilla y León (Spain) by pathological methods. *Proc. 10th Int. Coll. PTBC*. P 184. Minneapolis. Minnesota. EEUU. ■