



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLAS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“PARATUBERCULOSIS BOVINA”

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA

LUIS VILLEGAS MEJÍA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA

ASESOR:

MVZ.EPA. RAMIRO ANGEL MENDOZA

Morelia Michoacán de Ocampo, agosto 2021.



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLAS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“PARATUBERCULOSIS BOVINA”

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA

LUIS VILLEGAS MEJÍA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA

Morelia Michoacán de Ocampo, agosto 2021.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Paratuberculosis bovina.....	3
II. ETIOLOGIA	5
2.1. Género <i>Mycobacterium</i>	5
2.2. Identificación	6
2.3. Antecedentes	7
2.4. Morfología	8
2.5. Metabolismo.....	9
2.6. Micobactina	10
2.8. Resistencia y persistencia	12
III. EPIMEDILOGIA.....	13
3.1. Hospedadores.....	13
3.2. Transmisión.....	14
3.3. Distribución y prevalencia	15
3.4. Pérdidas económicas.....	16
IV. Patogenia	17
4.1. Entrada e invasión del <i>Map</i> en el hospedero	18
4.2. Factores de virulencia.....	20
V. RESPUESTA INMUNE DEL HOSPEDADOR.....	22
5.1. Respuesta inmunitaria celular	23
5.2. Inmunidad humoral	24
VI. SIGNOS CLÍNICOS	24
6.1. Lesiones macroscópicas.....	25
6.2. Lesiones microscópicas.....	26
VII. DIAGNÓSTICO	27
7.1. Diagnóstico basado en técnicas histopatológicas convencionales	27
7.2. Diagnóstico basado en la detección bacteriológica.....	28

7.3.	Tinción y detección al microscopio	28
7.4.	Aislamiento.....	29
7.5.	Detección de DNA	30
7.6.	Prueba de PCR.....	30
7.7.	Diagnóstico basado en la respuesta inmunológica del hospedador	31
7.8.	Detección de la inmunidad celular <i>in vivo</i> intradermorreacción	32
7.9.	Prueba de IFN- γ	32
7.10.	Detección de la inmunidad humoral	33
7.11.	Fijación de complemento.....	34
7.12.	Prueba de Inmunodifusión en Gel de Agar	34
7.13.	Prueba de ELISA.....	35
VIII.	CONTROL	35
IX.	TRAMIENTO Y VACUNACIÓN.....	36
X.	CONCLUSIÓN.....	39
XI.	BIBLIOGRAFÍA	40

RESUMEN

En este contexto me propongo a exponer, la etiología, patogenia, así como las pruebas de diagnóstico y las medidas de prevención en la paratuberculosis en bovinos. Este trabajo lo realizo para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista. El presente se realizó por medio de un conjunto de información recopilada, obtenida de tesis, artículos de revistas electrónicas y documentos de sitios web. La paratuberculosis es una afección provocada por *Mycobacterium avium* de la sub especie paratuberculosis, que provoca una enteritis granulomatosa en la primera porción del intestino delgado y linfonódulos mesentéricos. Siendo considerada por la Organización Mundial de la Salud como una de las enfermedades de mayor importancia a nivel mundial. Su largo periodo de incubación genera dificultades en las pruebas de diagnóstico. Lo que prolifera excreción de la bacteria en el ambiente, lo cual conlleva al desecho de los animales infectados, e incremento de los costos de tratamiento y la disminución de los parámetros productivos de una unidad en producción.

Palabras clave: Etiología, paratuberculosis, diagnóstico, patogenia, tratamiento.

ABSTRACT

In this context, I intend to present the etiology and pathogenesis, as well as the diagnostic tests and the preventive measures, of paratuberculosis in bovines. This work is being done to obtain my Bachelor's degree in Veterinary Medicine and Zootechnics. The present work was carried out by means of a set of compiled information, obtained from theses, electronic journal articles, and website documents. Paratuberculosis is an illness caused by *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis, which triggers a granulomatous enteritis in the first portion of the small intestine and the mesenteric lymph nodes. Considered by the World Health Organization as one of the most important diseases at global scale. Its long incubation period creates difficulties in diagnostic tests. Which proliferates the excretion of the bacterium into the environment, leading to the disposal of infected animals and the increase of treatment costs and the decrease of the production parameters of a unit of output.

Key words: etiology, paratuberculosis, diagnostic, pathogenesis, treatment.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Paratuberculosis bovina

La paratuberculosis o enfermedad de Johne, también conocida como enteritis granulomatosa es una enfermedad causada por *Mycobacterium avium* subespecie *Paratuberculosis (MAP)*.

Esta se encuentra distribuida en la mayor parte del mundo, debido a la comercialización de animales para abasto o con fines reproductivos.

En México existen trabajos que demuestran la presencia de paratuberculosis en rumiantes, sin embargo, no se le ha dado la importancia necesaria para su debido control o reducción de los niveles de contagios (Royo, 2018).

Esto provoca pérdidas económicas en la industria ganadera debido a la disminución progresiva de peso, teniendo un impacto en los parámetros de producción y reproducción, así como generar altos costos en los procedimientos de diagnóstico y monitoreo, lo cual conlleva al desecho prematuro de animales infectados y la muerte paulatina de dicho animal (Nákid, 2014).

El agente causal de esta enfermedad, es una bacteria Gram-positiva ácido-alcohol resistente, que afecta principalmente a rumiantes domésticos y silvestres, aunque también se ha encontrado en otras especies. (Morón, et al., 2013).

Esta enfermedad provoca lesiones granulomatosas en el intestino delgado (ID), linfonodos mesentéricos, pulmones, hígado, bazo, pleura y peritoneo (Méndez, et al., 2013).

Provoca una diarrea profusa y acuosa de curso crónico (Weaver, et al., 1992).

La micobacteria causante de la paratuberculosis puede permanecer durante mucho tiempo en el ambiente, pero no se puede multiplicar. Es uno de los pocos agentes

infecciosos que consigue adentrarse en las células defensivas o macrófagos del animal, no sólo resistiendo su efecto, también crece y se multiplica en ellas (Martínez, 2007).

Este hecho hace que la principal fuente de infección sean los animales portadores del patógeno (Martínez, 2007) ya que suelen adquirir la enfermedad a temprana edad por vía oral (Oña, et al., 2012).

Lo más frecuente es el contagio durante la lactación, mamando de las ubres contaminadas, con heces de animales excretores o bien por la simple convivencia en instalaciones contaminadas, sin embargo, es posible un contagio a través de la leche o el calostro e incluso una transmisión vertical a través de la placenta. Estos casos ocurren porque la madre presenta un estado avanzado de la enfermedad (Oña, et al., 2012).

El diagnóstico temprano de paratuberculosis es difícil debido a su largo período de incubación y a su lenta progresión; para el diagnóstico de *Map* en bovinos se utilizan diferentes pruebas, tales como la detección de anticuerpos contra *Map*, la detección de genes del *Map*, el cultivo bacteriano de materia fecal, el examen para la detección de *Map* en muestras de tejido, así como la prueba de diagnóstico basada en hipersensibilidad cutánea retardada, denominada también como prueba de *Johnina* intradérmica (Ferré, 2010).

No se ha demostrado claramente que la paratuberculosis sea una zoonosis, sin embargo, algunos autores mencionan que la paratuberculosis está asociada con la enfermedad de *Crohon* en los humanos; ésta es una afección inflamatoria intestinal de los humanos, crónica y dolorosa con diarrea que se asemeja a la enfermedad de *Johnne* (Ferré, 2010).

Debido a que existe una posible vía de transmisión, como los productos lácteos de animales infectados en estadio clínico y sub clínico de la enfermedad, ya que la micobacteria se encuentra en alta concentración en la leche (Romano, et al., 2007).

II. ETIOLOGIA

2.1. Género *Mycobacterium*

Se conoce como *Mycobacterium avium* subespecie *Paratuberculosis Map*, al microorganismo que desde el punto de vista taxonómico, se incluye dentro del género *Mycobacterium*, único género de la familia *Mycobacteriaceae* perteneciente al orden *Actinomycetales*, del que también forman parte los agentes causales de la tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae*) y de la lepra (*Mycobacterium leprae*) (Bedolla, et al., 2011).

Dentro de este género se encuentran micobacterias ambientales, micobacterias propias del ganado y de las aves y otras subespecies que actúan como patógenos oportunistas (Bedolla, et al., 2011).

Etimológicamente el término *Mycobacterium* procede de *myces* (*hongo*) y *bakterion* (*pequeño bastón*), que significa bacteria semejante a los hongos (Bedolla, et al., 2011)

En un primer momento, al agente causal de la paratuberculosis se le denominó *Mycobacterium paratuberculosis*, posteriormente *Mycobacterium johnei* y en la actualidad se le conoce como *Mycobacterium avium paratuberculosis* (Fernández, 2017).

Actualmente el complejo de *Mycobacterium avium* (*MAC*) está formado por las subespecies *Map*, *Mycobacterium avium* subespecie *Avium* (*MAA*), *Mycobacterium avium* subespecie *Hominissuis* (*MAH*) y *Mycobacterium avium* subespecie *Silvaticum* (*MAS*) garantizando así la representación de la homología observada entre ellas, pero sin olvidar las propiedades distintivas de cada una (Fernández, 2017).

El agente causal de la paratuberculosis es un bacilo de 1-2µm de longitud y hasta 0.5µm de anchura. Es un organismo Gram positivo facultativo, ácido alcohol

resistente, muestra una tinción homogénea mediante la técnica de ZN, aerobio e inmóvil (Mundaca, 2012).

En medios sólidos *Map* desarrolla colonias rugosas despigmentadas. Este es un organismo que crece de manera lenta y requiere un transportador de hierro químicamente conocido como micobactina y preferentemente infecta mamíferos antes que a las aves; posee la capacidad de crecer y multiplicarse dentro de los macrófagos (Mundaca, 2012).

Es un patógeno intracelular facultativo que posee un componente único de la pared de las micobacterias, la cual es resistente a la destrucción y penetración, siendo capaz de producir factores que neutralizan a los químicos antibacterianos producidos en el interior de los macrófagos (Mundaca, 2012).

2.2. Identificación

Debido a la similitud entre especies, la identificación de los miembros del género es a veces difícil, a lo que se suma la incapacidad de los métodos biológicos clásicos (Iriondo, 2006).

Los avances en métodos moleculares están facilitando este proceso, algo que resulta imprescindible a la hora de intentar controlar las infecciones causadas por estos microorganismos (Iriondo, 2006).

Los eventos evolutivos de los organismos quedan impresos en la secuencia del RNA; el análisis de estas secuencias forma la base para la identificación de los microorganismos (Iriondo, 2006).

La secuenciación de ciertas regiones del 16SrDNA permite identificar con fiabilidad la especie a la que pertenece una bacteria en particular (Iriondo, 2006).

La paratuberculosis no se puede diagnosticar a través de un examen superficial de los intestinos debido a que se deben buscar las formas de engrosamiento (OIE, 2018).

Los intestinos deben abrirse desde el duodeno hasta el recto para exponer la mucosa, por lo que no siempre existe una relación estrecha entre la gravedad de los signos clínicos y la extensión de las lesiones intestinales (OIE, 2018).

Se debe inspeccionar la mucosa, especialmente del íleon terminal, para comprobar si existe el plegamiento y el engrosamiento patognomónico. Las primeras lesiones se manifiestan como el engrosamiento y el encadenamiento de los vasos linfáticos (OIE, 2018).

Además los nódulos linfáticos mesentéricos se encuentran habitualmente prominentes y edematosos (OIE, 2018).

2.3. Antecedentes

La paratuberculosis fue descrita por primera vez en Alemania por Johne y Frothingham en el año de 1895, en la especie bovina (Bedolla, et al., 2011).

En la cual la enfermedad ha sido bien caracterizada y se encuentra altamente difundida en la mayoría de los países especialmente en hatos lecheros (Bedolla, et al., 2011).

Para John y Frothingham el bacilo causal era una micobacteria de tipo aviar, algo que fue reconocido en 1990 cuando se publicó un estudio que demostraba que el agente causal de la paratuberculosis formaba un conglomerado de cepas, claramente diferenciado de otras cepas similares, pero siempre dentro de los límites de variabilidad de la especie *Mycobacterium* (Rocha, 2007).

El primer aislamiento e identificación de este agente fue en un medio de cultivo que se logró en 1911 por Towort e Ingram, siendo clasificado como una micobacteria denominada *Mycobacterium enteritidis chronicae pseudotuberculosis bovis johne* (Herrera, 2014).

Posteriormente se conoció al microorganismo como *Mycobacterium johne*. En la actualidad se considera el agente causal de la paratuberculosis como una subespecie dentro del complejo *Mycobacterium avium* (Herrera, 2014).

En México existen pocos estudios moleculares de identificación y tipificación de *Map*; la primera identificación molecular se realizó en caprinos, por medio del ensayo IS900-RFLP en el valle de México. Este estudio reveló la presencia de *Map* del tipo C1, uno de los tipos más diseminados a nivel mundial entre las diferentes especies de animales (Correa, et al., 2013).

Investigaciones posteriores realizadas en muestras de leche de ganado caprino y bovino en la zona central de México, revelaron que además del tipo C, el *Map* de tipo 1 y el S, también estaban presentes en estas especies (Correa, et al., 2013).

2.4. Morfología

La pared celular de las micobacterias está constituida por una capa interna y una capa externa que rodea a una membrana plasmática; el compartimento exterior o capa externa está formado a su vez por lípidos y proteínas (Castellanos, 2010).

Estos lípidos están normalmente asociados a la pared celular a través de ácidos grasos de cadena corta y larga que complementan la capa interna. (Castellanos, 2010).

La presencia de ácido micólico en la compleja envoltura celular están provistos, gracias a la cual poseen su característica de resistencia.

Esta envoltura está constituida por tres componentes:

- La **cápsula** cuya síntesis parece ser controlada por mecanismos reguladores dependientes del huésped en micobacterias patógenas.
- La **pared celular**, formada por una unión covalente entre peptidoglicano, arabinogalactano y ácidos micólicos.
- Y la **membrana citoplasmática**, cuya composición es similar a la de otras bacterias (Iriando, 2006).

El lipoarabinomano es un fosfolípido unido a la membrana que atraviesa toda la envoltura celular cuya composición difiere entre distintas especies de micobactinas, siendo uno de los principales antígenos de la pared de *Map* (Iriando, 2006).

2.5. Metabolismo

Las micobacterias son microorganismos aerobios o microaerófilos quimioorganotrofos, cuya temperatura óptima de crecimiento se sitúa entre los 30 y 45 °C, estas utilizan glicerol y piruvato como fuente de carbono, energía y como fuente de nitrógeno pueden utilizar asparagina, glutamato y amonio (Iriando, 2006).

Son pototrofas para todos los aminoácidos, purinas, pirimidinas y vitaminas del complejo B. Estas producen exoquelina y micobactina, dos sideróforos necesarios para metabolizar el hierro, su genoma bacteriano es rico en Guanina (G) Y Citocina (C) con un porcentaje aproximado del 61-71% (Iriando, 2006).

2.6. Micobactina

La micobactina es un grupo de compuestos estrechamente relacionados entre ellos y asociados a la célula, que producen las micobacterias en condiciones limitadas de hierro, para poder transportar el metal al interior de la célula (Bedolla, et al., 2011).

Está demostrado que *Map* puede crecer perfectamente sin aporte exógeno de micobactina si el medio contiene suficiente hierro y otros nutrientes disponibles (Bedolla, et al., 2011).

Existen cepas de campo de *Map* que son aisladas incluso con mayor facilidad en medios sintéticos sin micobactina añadida y otras de las que se ha comprobado su independencia tras sucesivos subcultivos (Bedolla, et al., 2011).

La adición de micobactina es muy eficaz a la hora de identificar en medios a base de huevo, resultado de gran utilidad a la hora de descartar otro tipo de micobacterias en estos medios. (Bedolla, et al., 2011).

2.7. Cultivo

La bacteria se puede cultivar en una muestra de heces, de áreas engrosadas de la pared intestinal y los ganglios linfáticos ileales, mesentéricos e ileocecales (Rovid, 2007).

Los medios adecuados incluyen la yema de huevo Herrold, el modificado Dubos y los medios Middlebrook 7H9, 7H10 Y 7H11 (Rovid, 2007).

La micobactina es necesaria para el crecimiento bacteriano, por la que *Map* crece lentamente y sus colonias pueden demorar de 5 a 14 semanas en aparecer (Rovid, 2007).

Sobre el medio de Herrold, las colonias inicialmente son pequeñas, incoloras, semiesféricas y traslúcidas, con márgenes redondos parejos y una superficie lisa y brillante. Con el tiempo las colonias se vuelven grandes y opacas, ásperas y mamiladas. (Rovid, 2007).

Con base en las características del cultivo y la caracterización molecular PFGE (electroforesis en gel en campo pulsante), las cepas de paratuberculosis se han clasificado en tres tipos I, II y III (Zapata, et al., 2008).

Las cepas de tipo II fueron las primeras cepas de la paratuberculosis en cultivo de crecimiento lento que se aislaron de bovino, las de tipo I y III fueron aisladas inicialmente en ovejas y con poca frecuencia han sido aisladas en cabras y bovinos (Zapata, et al., 2008).

También existen las alternativas al cultivo individual que se realizan con *pooles* de materia fecal de 5 a 6 bovinos, donde se reduce sustancialmente el costo de un monocultivo.

El cultivo debe ser usado para confirmar la infección en animales con resultados positivos en ELISA, en las siguientes circunstancias:

- a) Ninguna evidencia clínica.
- b) Costos muy altos.
- c) Eliminar un animal positivo.
- d) Inserción de un establecimiento en un programa de control voluntario de (PTBC) (Morsella, et al., 2011).

2.8. Resistencia y persistencia

Al igual que otras micobacterias *Map* tiene una pared muy gruesa, con un alto contenido lipídico que supone el 60% del peso seco de la misma (Fernández, et al., 2005).

Esta pared consta de cuatro capas:

- La más interna es el **peptidoglicano** con moléculas de N-acetilglucosamina y ácido N-glucolilmurámico con cadenas cortas de alanina o glicina
- La segunda posee **arabinogalactanos** que se encuentran unidos a los ácidos micólicos de la tercera capa.
- La tercera capa que trata de **ácidos gruesos** de cadena larga (60-90 átomos de carbono) de gran importancia taxonómica.
- La capa más externa se encuentra constituida por **lípidos** como el *cord factor* (trehalosa 6,6'-dimicolato) y por **mucósidos** (Fernández, et al., 2005).

En conjunto le confieren a la bacteria una escasa permeabilidad celular, que es responsable, entre otras cosas, de la ineficiencia de múltiples agentes antimicrobianos, así como de la característica ácido-alcohol resistente (Fernández, et al., 2005).

A demás determinados componentes de la pared, como el lipoarabinomano intervienen en la patogenia y favorecen la supervivencia del microorganismo en el interior de los macrófagos, así como la gran resistencia a muchos productos desinfectantes y a condiciones ambientales adversas (Fernández, et al., 2005).

Al ser eliminada por las heces, *Map* suele quedar protegida por materia fecal; en estas circunstancias es resistente durante mucho tiempo a la desecación o el calor (Pérez, 2018).

También se ha comprobado que puede ser viable durante 300 días en las heces y hasta por 9 meses en aguas estancadas, esta resiste el proceso de ensilado y a

pesar de su alta capacidad de persistir en el medio, es sensible a la luz solar directa o a las altas temperaturas, incluso es capaz de soportar la acción de muchos desinfectantes, pero es sensible al tratamiento con lejía, a los cresoles o fenoles si estos van diluidos en agua y tratan las superficies durante al menos 10 a 15 minutos (Pérez, 2018).

III. EPIMEDIOLOGIA

3.1. Hospedadores

La *paratuberculosis* es una enfermedad tradicionalmente conocida por afectar a los rumiantes domésticos, aunque en realidad posee un rango más amplio de hospedadores, ya que se ha confirmado mediante técnicas serológicas, histopatológicas y bacteriológicas de que afecta también a rumiantes salvajes (Camarena, 2014).

Esta adquiere mayor importancia en la especie bovina, ovina y caprina debido a los intereses adquiridos por el ser humano sobre ellas (Iriondo, 2006).

Entre los rumiantes *Map*, se considera una infección común del ganado lechero ya que está estrechamente relacionada con los tipos de explotación y manejo, siendo más frecuente en animales bajo condiciones de estabulación (Cárdenas, et al., 2017).

Además de los rumiantes *Map* también se ha logrado aislar en especies mono gástricas como: el burro, el caballo, el cerdo, la comadreja, el conejo, el coyote, el jabalí, la liebre, el lobo, los primates, el oso pardo, el tejón y el zorro, e incluso también en aves como los cuervos (Royo, 2018).

La enfermedad de Johne es de distribución mundial y se ha expandido principalmente por el comercio de animales; esta se reportó por primera vez en Europa; en la actualidad existen reportes en todos los continentes. Suecia y algunos estados de Australia están libres de paratuberculosis (Cárdenas, et al., 2017).

La principal forma de diseminación es el comercio de animales infectados, pero también cobra importancia la transmisión fecal-oral ya que por cada gramo de heces se pueden excretar millones de unidades formadoras de colonias dependiendo de la fase de la enfermedad (Cárdenas, et al., 2017).

3.2. Transmisión

Los animales jóvenes neonatos son los más susceptibles a adquirir una infección por *Map*, estos por lo general se infectan al ingerir las bacterias a través de la leche, del calostro o de las glándulas mamarias contaminadas con heces de animales infectados (Nákid, 2014).

Existen estudios que han demostrado que la transmisión vertical es posible, ya que se han encontrado cepas (*sMap*) en tejidos fetales y cotiledones; asimismo en rumiantes silvestres, como en especies mono gástricas (Nákid, 2014).

Los animales adultos se contagian al ingerir pastos, forrajes o beber agua contaminada con la cepa, entre otras formas de infección como la intrauterina, a través del semen, tanto en monta natural como en inseminación artificial (Oyarvide, 2013).

Así como en los barridos uterinos y en la transferencia de embriones (Rovid, 2007).

Investigaciones sobre la contaminación de suelos con *Map*, han determinado que también juega un rol en la transmisión, esto debido a que los suelos ácidos contienen un mayor número de micobacterias, debido a que el hierro necesario para su

multiplicación del agente aumenta la solubilidad cuando el pH del suelo disminuye, por lo que en esas regiones se registra mayor número de casos de paratuberculosis (Oña, et al., 2012).

3.3. Distribución y prevalencia

La paratuberculosis es una enfermedad que se encuentra distribuida a nivel mundial, sin embargo, hay países que no cuentan con la información de la prevalencia real de esta enfermedad, debido a las dificultades que plantea su diagnóstico (Suanes, et al., 2015).

La prevalencia de esta enfermedad puede variar de acuerdo a los animales que utilizan como base para la agricultura y a los animales que son exportados a otras regiones (Sosa, 2015).

En Estados Unidos se ha incrementado la prevalencia a un 68% por dicho patógeno en hatos lecheros, mientras que en el continente europeo, Nielsen y Toft revelaron prevalencias de infecciones por Map en ganado de aproximadamente del 20% y al menos del 3 al 5% en algunos países de Europa (Sosa, 2015).

Para México en 1994 Morales realizó un estudio en ganado de Lidia, en el cual muestreo 40 animales y encontró que el 30% de estos animales eran positivos a paratuberculosis (Ávila, et al., 2013).

En 2003 Santillán documentó una prevalencia en el Estado de Guanajuato del 30.6% en ganado lechero y 25% en ganado de doble propósito, posteriormente pruebas realizadas por Miranda, Trueta y Chávez en 2005, en la cuenca lechera de Tызayuca en el Estado de Hidalgo revelaron prevalencias del 8.87% de la enfermedad (Ávila, et al., 2013).

3.4. Pérdidas económicas

La *paratuberculosis* causa pérdidas económicas a los productores, a la industria láctea y cárnica, cuando se revela la enfermedad clínica y también con la presencia de animales portadores sub-clínicos de *Map*.

Las pérdidas directas por *Map* son:

- a) Disminución en la producción de carne y/o leche.
- b) Disminución en la fertilidad, con un crecimiento de intervalo entre partos.
- c) Prematura eliminación de los animales del hato.
- d) Escasa conversión alimenticia, incrementando costos de alimentación.
- e) Aumento en la susceptibilidad a desarrollar otras enfermedades.
- f) Pérdida del potencial genético y en mercados de exportación
- g) Un incremento en los costos derivado por el uso de medicamentos (Morsella, et al., 2011).

Las pérdidas económicas causadas por la enfermedad de John en los Estados Unidos se estimaron en 1.5 billones de dólares para el año 2010 (Vergara, et al., 2019).

El impacto en México de la paratuberculosis, es poco valorado, por lo que no se tienen estudios reales, sin embargo, un estudio realizado en el Complejo Agropecuario Industrial Tizayuca, Hidalgo por Miranda Trueta y Chávez en el 2005 demostró que las pérdidas por esta enfermedad son de \$10,345.00/vaca al año. Lo que presenta una pérdida en la cuenca de \$ 25,411,836.00 al año, que expresa el 4% del precio por litro pagado al productor. Del total de los costos, la mayor pérdida presentó una disminución de la producción de leche por un 47% (Ávila, et al., 2013).

IV. Patogenia

La patogénesis describe la manera en la cual el patógeno ingresa al cuerpo del hospedador, como se multiplica para poder ser liberado y como diseminarse por el medio ambiente, mientras que el hospedador está en lucha de disminuir los daños ocasionados (Villamar, 2016).

Es necesario comprender con claridad la patogénesis de la enfermedad para poder llegar a prevenir la infección o tratar adecuadamente los animales infectados. En el proceso patogénico de la paratuberculosis influyen varios factores entre los que destacan los factores genéticos y el estatus inmune del hospedador. *Map* es una bacteria intracelular facultativa que al infectar especies rumiantes causa la enteritis granulomatosa fatal que conocemos como paratuberculosis o enfermedad de Johne. La dificultad en el aislamiento de la bacteria (tiempo, cepas de cultivo complicado), el largo periodo de incubación de la enfermedad (normalmente más de dos años) y la dificultad en reproducir las características típicas de ésta de manera experimental (Iriondo, 2006).

Los animales jóvenes son los más susceptibles a infectarse con *Map* y el contagio principal es la vía digestiva, al mamar ubres contaminadas de animales excretores. Existen otras vías aunque de menor importancia, como el calostro, el agua, alimento y diversas superficies contaminadas a las cuales los animales tienen acceso, se ha propuesto la vía transuterina como una forma de contagio, debido que se ha aislado *Map* en vacas con y sin signos clínicos, a partir de cotiledones, mucosa del útero y fetos, pero de forma muy ocasional y sin importancia en la práctica. También se ha aislado del tracto genital y de semen de toros, aunque la infección por esta vía no se ha demostrado. Igualmente se ha constatado la participación de vectores en presencia de la enfermedad, huevos de tricoestróngilos diferentes lombrices de tierra (ninfas de cucaracha) y diversas especies de moscas, que han estado en contacto con heces contaminadas de la bacteria (Camarena, 2014).

4.1. Entrada e invasión del *Map* en el hospedero

El primer contacto del bovino con *paratuberculosis* puede ocurrir en el feto de una vaca que esté infectada, lo cual implica que se encuentra expuesto al agente patógeno desde el ambiente uterino. Posteriormente, durante los primeros días de vida el neonato adquiere la infección por vía oral (Ramírez, et al., 2013).

Una vez que la bacteria ingresa al sistema digestivo, se aloja en el intestino delgado, ya que las células epiteliales son las principalmente encargadas de captar a *Map*, y mediante un mecanismo de endocitosis, facilita el paso de la bacteria para ingresar de esta forma en el organismo hasta el tejido linfoide subyacente o placas de Peyer y posteriormente diseminándose a otras áreas de la mucosa intestinal y nódulos linfáticos mesentéricos, para poder ser fagocitada por los macrófagos subepiteliales activados (células Dianna) de esta micobacteria (Rocha, 2007).

Los macrófagos son el tipo celular crucial para que la micobacteria pueda o no ser destruida.

Para que se produzca la endocitosis *Map* debe adherirse a la superficie de las células M (macrófagos). Los mecanismos de adhesión aún no están del todo claros, pero se ha identificado una proteína de acoplamiento a la fibronectina o FAP (Fibronectin Attachmet Protein) en la superficie de *Map* que le permite establecer un puente de unión a las integrinas $\beta 1$ (fibronectina), proteínas de la matriz extracelular de las células M, lo que explicaría la predilección de *Map* por emplear estas células en su ingreso (Royo, 2018).

Las células M son especializadas en la captación de antígenos de la luz intestinal y gracias a que no poseen lisosomas ni enzimas hidrolíticas *Map* es adherido, este pasa intacto a través de las vacuolas, gracias a este hecho, las características antigénicas permanecen intactas (Royo, 2018).

Una vez dentro de los macrófagos, el microorganismo dispone diversas estrategias para evitar su destrucción, multiplicarse y así diseminarse por el organismo (Fernández, 2017).

Entre las estrategias que confieren a la micobacteria esa propiedad de resistencia frente a la acción de los macrófagos cabe destacar:

- a) La inhibición de la maduración del fagosoma a fagolisosoma
- b) La disminución de la función bactericida de los macrófagos asociada a la complejidad de su pared bacteriana
- c) La inhibición de la acidificación del fagosoma-lisosoma por medio de la reducción de los sistemas oxidativos, en particular de óxido nítrico (NO) y de óxido nítrico sintasa (NOS)
- d) La activación de la proteína quinasa mitógena-activa p38
- e) El bloqueo de interacción de la ruta normal de apoptosis
- f) La reducción de la expresión de antígenos inmunogénicos en su estructura, denominados formas de resistencia o formas L (formas de pared defectiva o esferoplastos) (Fernández, 2017).

La infección con *Map* afecta la respuesta mediada por los linfocitos T, especialmente en los estados avanzados de la enfermedad (Zapata, et al., 2008).

Durante los estados subclínicos de la infección, *Map* induce la respuesta inmune mediada por células del hospedero, induciendo la proliferación de linfocitos y producción de citoquinas. A medida que progresa la infección hacia un estado clínico, la respuesta inmune mediada por células declina y se da una fuerte respuesta de tipo humoral (Zapata, et al., 2008).

Durante los estados finales de la enfermedad, la falta de respuesta inmune mediada por células específicas de antígeno puede desencadenar una rápida diseminación en el hato (Zapata, et al., 2008).

La modulación inmunológica, es en parte inducida por los diferentes antígenos de *Map*, entre los que parecen destacar el polisacárido LAM, las proteínas de choque

térmico, que son presentadas por el MHCIIA a los linfocitos T y la proteína de 35 KDa como el principal factor de virulencia (Fernández, 2017).

Se produce entonces una compleja interacción entre los diferentes procesos inmunológicos, en ocasiones contrapuestos, que va tener como resultado que los macrófagos destruyan la micobacteria y por lo tanto el animal supere la infección o la micobacteria logre sobrevivir, lo que conducirá que el animal desarrolle la enfermedad clínica o permanezca como portador asintomático de la infección (Fernández, 2017)

4.2. Factores de virulencia

Las micobacterias poseen dos características que explican su eficacia para sobrevivir y multiplicarse en los macrófagos:

- 1) La pared micobacterial y la resistencia a la destrucción
- 2) Factores generados por la micobacteria que puede neutralizar los productos antibacteriales producidos por los macrófagos (Zapata, et al., 2008).

El lipoarabinomanano (LAM), considerado como el mayor antígeno de superficie de las micobacterias, es un lípido asociado con la intervención en la maduración del fagosoma y con la inhibición de la apoptosis del macrófago. El bloqueo de la función que se da entre el fagosoma que contiene la micobacteria, con el endosoma tardío, está relacionado con el receptor de transferrina (Zapata, et al., 2008).

Map también evita la activación de la bomba protón ATPasa y así interfiere en el proceso de acidificación del fagosoma necesario para la maduración del mismo y la posterior unión en el lisosoma para la destrucción intracelular de la bacteria (Zapata, et al., 2008).

A pesar de que no se han caracterizado otros lípidos y glicolípidos con carácter antigénico en *Map*, se cree que las micobacterias comparten diferentes características antigénicas, entre las que se incluyen :

- Las proteínas GroES y GroEL, altamente antigénicas
- Las proteínas 34-kDa, inductora de la respuesta inmune humoral
- La bacterioferretina , conocida como antígeno D
- Las proteínas reductasa alquilhidroperoxidasas AhpC y AhpD involucrados en la detoxificación de los intermediadores del nitrógeno reactivo (Zapata, et al., 2008).

Otro antígeno específico de *Map* es la proteína HspX, la cual está implicada en la unión celular y en la estimulación de fagocitosis y se ha encontrado expresado incluso por el *Map* dentro de macrófagos (Zapata, et al., 2008).

El elemento de aserción IS900, específico de *Map* codifica para la proteína de expresión dependiente del hospedero (*hed host expression dependent*) con funciones de inducción de la respuesta inmune (Zapata, et al., 2008).

Entre los factores de virulencia empleados por las bacterias pertenecientes al género *Mycobacterium* destacan los genes de entrada a células mamíferas (Mammalian Cell Entry Genes, MCE), cuyos productos de expresión génica (las proteínas MCE) son esenciales para la entrada celular y su supervivencia en el interior de los macrófagos (Castellanos, 2010) .

Otros de los genes con un posible papel en la patogénesis de las micobacterias, son las proteínas miembros de la familia PE/PPE (dominios de prolina-ácido glutámico y prolina-prolina-ácido glutámico respectivamente, localizados en los dominios y próximos al extremo N terminal) estas proteínas son específicas de micobacterias y en *Mycobacterium avium paratuberculosis* hay un total de seis proteínas PE y 36 proteínas PPE, homólogas a las descritas en el genóma de *M. Tuberculosis* y las cuales comprenden tan sólo un 1% de la totalidad del genóma de *Map*. Algunas de estas proteínas PPE se han visto involucradas en la virulencia

de cepas de *M. avium* en ratones y el crecimiento intracelular de este microorganismo en el interior de macrófagos (Castellanos, 2010).

Entre otros factores de virulencia descritos en la literatura se encuentra la proteína de superficie celular de 35 kDa, a la cual se le atribuyó un posible papel en el proceso de interacción entre *Map* y las células intestinales del hospedador (Castellanos, 2010)

V. RESPUESTA INMUNE DEL HOSPEDADOR

En el caso de la paratuberculosis, la respuesta inmunitaria innata se inicia con la fagocitosis llevada a cabo por los macrófagos subepiteliales, dotados de diversos receptores que participan en la respuesta innata como lo son los receptores de inmunoglobulinas (FcR), receptor de la manosa CD206, proteínas de la membrana CD14 de unión a lípidos, receptores de transferrina (scavenger receptors) y los receptores de complemento (CR), entre los que destacan el SR3, por ser uno de los participantes en la fagocitosis (Fernández, 2017).

Uno de los principales grupos de PRR que participan en el reconocimiento de *Map* son los receptores "toll-like" (TLR). Se trata de proteínas presentes en las células dendríticas y los macrófagos, principales CPA y que a pesar de considerarse superficiales, unen el compartimento extracelular con el intracelular (Fernández, 2017).

Tras la interacción de los lipopolisacáridos (LPS) y lipoproteínas (LPP) de las micobacterias con los TLR, tiene lugar una cascada de señales intracelulares que induce la producción de citosinas así como de reactivos nitrogenados y oxidativos intermediarios, para intentar contener o eliminar la infección (Fernández, 2017).

5.1. Respuesta inmunitaria celular

Esta rama de la respuesta inmunitaria se caracteriza por un microambiente en el que predominan citocinas de acción proinflamatoria como lo son el IFN- γ , TNF- α , la IL-1 β , IL-6 e IL-17 (Fernández, 2017).

Según el modelo de la respuesta inmunitaria asociada a la infección paratuberculosa, ampliamente consensuado, en las primeras fases de la infección el animal desarrollará una respuesta fundamentalmente de tipo celular sin producción de anticuerpos, siendo las células T CD4+ Th1 y CD8+ siendo las primeras en ofrecer protección (Fernández, 2017).

En esta fase se ha descrito en los bovinos y ovinos una polaridad poblacional en la que prevalecen los linfocitos T CD4+ Th1 y $\gamma\delta$ WC1+, encargados de secretar las citocinas IFN- γ , TNF- α e IL-2, efectoras de la respuesta inmunitaria celular de carácter proinflamatorio. Se puede considerar al IFN- γ como la principal citocina efectora Th1 (Fernández, 2017).

Además de participar en la diferenciación de las células que intervienen en este tipo de respuesta, es un potente inductor en la activación de los macrófagos (Fernández, 2017).

Un aumento en la producción de IFN- γ se ha relacionado con una respuesta protectora por parte del hospedador en las primeras fases de la infección por *Map*. Debido a esto, se ha empleado la prueba de valoración de la liberación de IFN- γ (INGRA) en sangre periférica tras su estimulación con antígenos de *Map*, como un método de diagnóstico para detectar animales en fases iniciales o subclínicas (Royo, 2018).

5.2. Inmunidad humoral

Se caracteriza por la producción de anticuerpos mediada por linfocitos B, y escasa producción de citocinas proinflamatorias como IFN- γ , y el predominio de las de tipo Th2, principalmente IL-4 e IL-10, ejercen un efecto supresor sobre la secreción de IFN- γ y con ello, permiten la diseminación de las micobacterias que la enfermedad progrese hacia fases avanzadas (Fernández, 2017).

El TGF- β es otra citosina importante en la inmunomodulación de la respuesta inmunitaria por su efecto supresor de la IL-2, MHCII e IFN- γ y catalizadora de la activación de la IL-10 (Fernández, 2017).

Una vez activados hacia un perfil de Th2, estos linfocitos estimulan la diferenciación de los linfocitos B para que produzcan anticuerpos, IgM y fundamentalmente IgG1, específicos frente a los antígenos de Map (Fernández, 2016).

A su vez, las células B estarían implicadas en la activación de las células CD4+ hacia un perfil Th2 (Royo, 2018).

VI. SIGNOS CLÍNICOS

La paratuberculosis se manifiesta principalmente en animales adultos, entre los 2 y 3 años de edad, no es común observarlos en animales jóvenes (Soberón, 2006).

Los signos clínicos que manifiestan los animales infectados con *Map* son:

- Pérdida de condición corporal (aunque el apetito se mantiene)
- Disminución de la producción láctea y edema submandibular y ventral causado por hipoproteinemia (Covarribias, 2012).

- Así como trastornos diarreicos, que son intermitentes al principio y se hacen progresivamente más intensos hasta su presencia constante en los bovinos (Haberman, 1978).

En etapas tempranas de la infección, las lesiones se encuentran restringidas a las paredes del intestino delgado y provocan el drenaje de los ganglios linfáticos mesentéricos (OIE, 2018).

Cuando progresa la enfermedad aparecen lesiones macroscópicas en el íleon, yeyuno, intestino delgado terminal, ciego, colon y en los ganglios linfáticos mesentéricos; *Map* está presente en las lesiones y finalmente en todo el cuerpo (OIE, 2018).

Las lesiones intestinales son las responsables de la pérdida de proteína y de el síndrome de mala absorción proteica, lo que conduce a un desgaste muscular. Los signos clínicos habitualmente aparecen primero en la etapa adulta temprana, pero la enfermedad puede presentarse en los animales a cualquier edad por encima de 1 a 2 años y en ganado bovino lechero es más habitual en grupo de edad entre 3 a 5 años (OIE, 2018).

6.1. Lesiones macroscópicas

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 se suelen presentar en la mayoría de los animales afectados clínicamente de paratuberculosis y que pueden proporcionar un diagnóstico bastante fiable de la presencia de la enfermedad es el marcado engrosamiento y aspecto edematoso de la pared del intestino delgado, principalmente de tramos del íleon y yeyuno (Mundaca, 2012).

Otra lesión macroscópica característica se presenta en los linfonodos yeyunales e ileocecales que aparecen tumefactos y edematosos (Prieto, 2013).

6.2. Lesiones microscópicas

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 causadas por *Map* según su gravedad se dividen de manera resumida en lesiones de tipo, focal, multifocal y difusas, estas últimas son las más graves y predominan los macrófagos de gran tamaño formando granulomas. Esta técnica es definitiva y muy sensible, siempre que la muestra a procesar sea de íleon y ganglio yeyunal caudal (Prieto, 2013).

Histológicamente la paratuberculosis cursa con una enteritis y linfadenitis de tipo granulomatoso que se caracteriza por la presencia de un infiltrado focal o difuso de los macrófagos, células epiteloides, células gigantes y linfocitos, que se agrupan y organizan en granulomas, cuya presencia alteran la estructura normal de la pared intestinal (Fernández, 2017).

En los casos avanzados infiltran de forma difusa la LP, provocando su engrosamiento con atrofia y dilatación de las vellosidades intestinales y pueden extenderse a otra zona como la capa muscular y serosa (Royo, 2018).

VII. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la paratuberculosis es un desafío pues la efectividad de las pruebas depende directamente del estadio clínico en que se encuentre el animal. Los animales en estadio silencioso y subclínico se caracterizan por una alta respuesta inmune celular, mientras en estadios clínicos y avanzados predomina la respuesta humoral (Santillan, 2010).

Los animales con paratuberculosis en un estado crónico de la enfermedad desarrollan un estado de anergia (incapacidad de los linfocitos de reaccionar ante un antígeno) donde las pruebas diagnósticas son menos sensibles (Santillan, 2010).

El aislamiento por cultivo de *Map* es considerado la prueba de oro, pero requiere procedimientos especializados que dependen en gran medida de la cantidad de bacterias presentes en la muestra y de la descontaminación de especímenes clínicos (Santillan, 2010).

7.1. Diagnóstico basado en técnicas histopatológicas convencionales

La muestra se fija en formol al 10% y se realiza la inclusión en parafina, se hacen cortes en micrótopo, con un espesor de 4 micras y se colorean con Hematoxilina-Eosina y ziehl-Neelsen (Correa, et al., 2015).

A la observación microscópica se puede ver un infiltrado de células epiteloideas en el corion de la mucosa y de la submucosa, deformación de las vellosidades con engrosamiento de la mucosa. En los cortes coloreados con Ziehl-Neelsen se visualizan gran cantidad de células epiteloideas que contienen dentro de cada una

de ellas, bacilos ácido-alcohol resistentes, principalmente en el corion de la mucosa y en los ganglios mesentéricos (Correa, et al., 2015).

7.2. Diagnóstico basado en la detección bacteriológica

Aunque no exista ninguna prueba diagnóstica antemortem que permita identificar la enfermedad en todos sus estadios tradicionalmente se ha considerado como Gold Standard el cultivo microbiológico de muestras fecales, sin embargo, esta es una técnica lenta, laboriosa y con una sensibilidad variable en función de la fase de la enfermedad (Correa, et al., 2015).

Estas limitaciones impiden una rápida identificación de animales infectados por *Map*, lo que retrasa la toma de decisiones y favorece una mayor diseminación del agente en la explotación (Fernández, 2014).

El cultivo se lleva a cabo por medio de un frotis de ileón y/o cultivos fecales los cuales son más caros que la prueba de ELISA y los resultados se obtienen hasta los 2-4 meses, la ventaja de este método es su elevada especificidad (Fernández, 2014).

7.3. Tinción y detección al microscopio

Se examinan al microscopio frotis fecales o de mucosa intestinal teñidos según el método Ziehl-Neelsen que puede diagnosticar la paratuberculosis en modo preliminar si se encuentran agrandados tres o más microorganismos de bacilos ácido-resistentes pequeños (0,5-1,5 μ m) y fuertemente teñidos. La presencia de

bacilos ácido-resistente aislados en ausencia de agregados es un resultado dudoso, ya que la desventaja de esta prueba es que no permite la diferenciación con otras especies de micobacterias y solo una pequeña proporción de casos pueden confirmarse mediante el examen microscópico de una muestra fecal única (Camarena, 2014).

7.4. Aislamiento

Las micobacterias poseen características biológicas que las hacen particulares, por lo que es necesario utilizar técnicas de laboratorio especiales para su aislamiento. Debido que las muestras obtenidas de animales infectados, provienen únicamente de heces, por lo cual es un material altamente contaminado, este debe someterse a una descontaminación con el fin de destruir los microorganismos contaminantes o bien, otras bacterias competidoras por los nutrientes (Camarena, 2014).

Para ello se emplea diferentes agentes bactericidas como el verde malaquita, el hidróxido de sodio, la neomicina, la anfotericina B y el ácido oxálico. Algunos autores consideran que algunos de estos compuestos reducen sensiblemente la viabilidad de las micobacterias (Camarena, 2014).

Otros agentes más eficaces son el cloruro de benzalconio y especialmente el cloruro de hexadecilpiridinio que ofrece mejores resultados en cuanto a la viabilidad de las micobacterias y es el más empleado actualmente para el aislamiento de *Map* (Camarena, 2014).

Posterior a la descontaminación, se realiza una concentración de los microorganismos por gravedad o por centrifugación, la cual parece favorecer la velocidad de crecimiento y triplica la sensibilidad del cultivo, aunque se debe tomar en cuenta que aumenta el número de contaminantes (Camarena, 2014).

7.5. Detección de DNA

Una alternativa diagnóstica mucho más rápida es la detección de secuencias específicas del DNA de *Map*, directamente sobre las muestras clínicas, lo que implica su presencia en dicha muestra. Esta detección puede llevarse a cabo mediante técnicas de hibridación *in situ*, PCR directa o incluso una combinación de ambas (Álvarez, 2008).

7.6. Prueba de PCR

La detección de genes de *Map* por medio de la técnica PCR (del inglés polimerase Chain Reaction) presenta ventajas como rapidez, identificación del agente, ausencia de contaminación y desventajas de baja sensibilidad, especificidad moderada, equipo especial, alto costo y personal calificado (Ramírez, et al., 2011).

Sin embargo debido a los desarrollos recientes, la PCR se sugiere para el tamizaje de hatos y ha sido sugerida como una posible nueva prueba de oro para la PTB (Corra, 2015).

La PCR es rápida y específica, en contraste con el diagnóstico basado en cultivo, no es necesario aplicar otro tipo de prueba para la identificación de microorganismo detectado (Corra, 2015).

El gen más comúnmente utilizado para la detección de *Map* es el elemento multicopia secuencia de inserción IS900, no obstante otras micobacterias diferentes a *Map* han sido reportadas con elementos similares a IS900 con secuencias de nucleótidos que son idénticas a la secuencia IS900 de *Map* hasta en un 94% (Corra, 2015) .

En respuesta a la incertidumbre sobre la especificidad sobre los sistemas de PCR que se dirigieron a la IS900 para la identificación de *Map*, se han propuesto otras secuencias para la identificación de *Map* por PCR: ISMap02, ISMav2, hapX, locus 255 y F57 (Corra, 2015).

La PCR se desempeña muy bien como prueba confirmatoria en cultivos pero su aplicación a muestras clínicas ha sido problemática debido principalmente a problemas asociados con la extracción de DNA de matrices complejas como la leche, heces y sangre y por presencia de inhibidores de la PCR (Corra, 2015).

7.7. Diagnóstico basado en la respuesta inmunológica del hospedador

Las pruebas diagnósticas tratan de detectar la respuesta inmunológica que se produce en el hospedador a consecuencia de la infección, se sabe que la inmunidad celular posee un papel determinante en los mecanismos de control aunque es capaz de inducir una respuesta humoral, esta última no es crucial en los procesos de contención de la infección, sin embargo, esta prueba es de utilidad para el diagnóstico en estado avanzado de la enfermedad. (Bedolla, et al., 2011).

7.8. Detección de la inmunidad celular *in vivo* **intradermorreacción**

La prueba intradérmica Johnina es una prueba de valor limitado para el diagnóstico individual, debido a su baja especificidad. Pero detecta reactores en los primeros estadios de la enfermedad, cuando hay abundantes bacilos en el intestino, por lo que se recomienda para tener un panorama general de la situación de la enfermedad en una explotación (Alfaro, et al., 2006).

La prueba se realiza mediante inoculación intradérmica de 0.1ml de antígeno en una zona esquilada o rasurada, normalmente en lateral del tercio medio del cuello. El grosor de la piel se mide con un calibrador antes de la inoculación y 72 horas después de la misma (Alfaro, et al., 2006).

7.9. Prueba de IFN- γ

Es una prueba que detecta infecciones tempranas ya que identifica una citoquina liberada por los linfocitos en el plasma sanguíneo, luego de incubarlos con el antígeno específico. Siendo útil para la identificación de animales jóvenes que se encuentran en estadios tempranos de la infección y que aún no han desarrollado anticuerpos séricos dependientes de linfocitos B (Morsella, et al., 2011).

No es una prueba sencilla de realizar, ya que la interpretación se debe realizar paralelamente junto al diagnóstico de tuberculosis y por lo tanto diferenciar ambas respuestas en la misma prueba (Morsella, et al., 2011).

La desventaja es su baja especificidad y su alto costo, esta técnica se basa en la liberación de interferón gama (IFN- γ) a partir de los linfocitos sensibilizados durante

un periodo de incubación de 18 a 36 horas con antígeno específico (Morsella, et al., 2011).

7.10. Detección de la inmunidad humoral

Se basa en la detección de anticuerpos específicos frente a diferentes tipos de micobacterias producidos como respuesta a la infección por *Map*, que se produce en fases avanzadas de la enfermedad (Camarena, 2014).

Se trata de una técnica rápida, que permite analizar un elevado número de muestras simultáneamente. Una vez que se dispone de los antígenos adecuados, la obtención de las muestras es sencilla y su procesamiento es barato, ya que no requiere de equipos complejos de laboratorio (Camarena, 2014).

Las principales citoquinas de la respuesta Th2 son la IL-4 y la IL-10 (citoquinas antiinflamatorias), las cuales ejercen un papel supresor sobre el IFN- γ .

Como efecto resultante de esa inmunosupresión, los macrófagos serían incapaces de contener las micobacterias, provocando la diseminación de la infección y su progresión hacia formas clínicas. Esta situación se asocia a un incremento de la secreción de la IL-10 y del TGF- β que se ha observado en vacas en fases avanzadas de la enfermedad, esto al comparar la expresión en vacas sanas o en fases iniciales de la misma (Royo, 2018).

El TGF- β (Factor de Crecimiento Transformante β) es otra de las citoquinas fundamentales de la respuesta humoral, al modular la respuesta inmunitaria frente a IFN- γ , ya que suprime su liberación. Los linfocitos Th2 activados estimulan la diferenciación de los linfocitos B y como consecuencia, se producen anticuerpos IgM e IgG, que son específicos frente a antígenos de *Map*. Por ello, es uno de los

indicadores en que existe una respuesta Th2 activa y es la producción de anticuerpos frente al agente (Fernández, 2016).

7.11. Fijación de complemento

La prueba de FC ha sido durante muchos años la prueba estándar para el diagnóstico de *Map*. En los bovinos, es adecuada cuando se trata de animales clínicamente sospechosos, pero esta no presenta suficiente especificidad para fiarse con fines de control en toda la población. Sin embargo a menudo es solicitada por países que importan ganado (OIE, 2018).

7.12. Prueba de Inmunodifusión en Gel de Agar

La prueba AGID es útil para confirmar la enfermedad en vacas, ovejas y cabras clínicamente sospechosas. Se basa en la precipitación de los complejos antígeno-anticuerpo al poner en contacto un suero problema con un antígeno seleccionado en un gel de agar (Álvarez, 2008).

El antígeno empleado es un extracto protoplásmico crudo de una cepa de laboratorio de *Mycobacterium avium paratuberculosis* preparado mediante la lisis celular en un lisador de células a presión hidráulica, esta se caracteriza por poseer una buena especificidad y baja sensibilidad, ya que se presentan una mayor cantidad de animales falsos negativos en comparación con la técnica de ELISA que tiene mayor sensibilidad siendo de un 86% y de especificidad un 90%. (Gallaga, et al., 2017).

7.13. Prueba de ELISA

El diagnóstico mediante ELISA se ha utilizado para la detección de animales con paratuberculosis. Hasta el momento es la prueba más sensible y específica para la detección de anticuerpos séricos contra *Map* en bovinos (Álvarez, 2008).

Presenta varias ventajas prácticas, tales como su automatización, su repetitibilidad, la interpretación objetiva de resultados, la posibilidad de analizar un número elevado de muestras en poco tiempo y la capacidad de modificar el punto de corte en función de mayor sensibilidad o especificidad deseada (Álvarez, 2008).

Además puede emplearse para analizar muestras de leche y se ha ido adaptando a distintas especies además de los rumiantes domésticos (Álvarez, 2008).

Existen trabajos donde se considera que la sensibilidad de ELISA comercial es de 8.9 a 32.1% en animales que eliminan una pequeña cantidad de bacilos en las heces y de 47.1 a 62.9% en animales que eliminan una mayor cantidad (Santillan, 2010).

VIII. CONTROL

Los programas de control de la enfermedad de Johne se basan en el conocimiento de las vías de infección de *Map*; para la persistencia del microorganismo en el medioambiente y el desarrollo de métodos para la reducción de exposición de la Paratuberculosis en el hábitat animal (Castellanos, 2010).

Los requerimientos mínimos para el control de la enfermedad incluyen la identificación de los puntos críticos de la transmisión, el desarrollo de herramientas de muestreo y el diagnóstico para la identificación de animales excretadores, además

de la presencia de fuentes con animales de remplazo libres de enfermedad. (Castellanos, 2010).

En los hatos infectados con paratuberculosis, las zonas de parto deben estar libres de estiércol, siendo separados los terneros inmediatamente de la madre después del nacimiento, para ellos se utilizará lactación artificial con calostro pasteurizado (o calostro libre de la enfermedad) (OIE, 2020).

Se deben criar por separado de los adultos por lo menos durante un año, de este modo se reduce el riesgo de transmisión de la enfermedad a la población más sensible, siendo necesaria una adecuada rotación de potreros, ya que *Map* posee sensibilidad a la luz solar (Gilardoni, et al., 2007) .

IX. TRAMIENTO Y VACUNACIÓN

La disminución de producción que ocasiona la paratuberculosis ha motivado que la industria ganadera siga estando muy interesada en buscar la forma de controlar dicha enfermedad, para evitar pérdidas e incrementar la rentabilidad de las explotaciones (Royo, 2018).

No existe un tratamiento como tal para esta enfermedad, sin embargo, se utilizan tratamientos farmacológicos en animales con alto valor genético.

Los fármacos más empleados son aquellos que se aplican en el tratamiento de la tuberculosis como: la clofazimina, la isoniazida, la rifabutina, la rifampicina y la estreptomycinina (Royo, 2018).

Existen algunas vacunas, pero su uso está limitado a situaciones bien definidas y bajo un estricto control reglamentario. Se ha observado que la vacunación de

terneros jóvenes ayuda a reducir la incidencia de la enfermedad pero no impide su propagación o la concurrencia de nuevos casos en el hato (OIE, 2020).

La vacunación puede interferir con los programas de erradicación basados en la detección y posterior eliminación de los animales infectados y la vacunación contra paratuberculosis, en particular puede interferir también con las pruebas de detección de tuberculosis bovina (OIE, 2020).

La primer vacuna descrita fue desarrollada para el ganado vacuno en 1926 por Vallée and Rinjard a partir de una cepa atenuada (viva) de *Mycobacterium avium paratuberculosis* más tres adyuvantes (parafina líquida, aceite de oliva y polvo de piedra pómez) (Royo, 2018).

En los años 80 se comercializó en Francia una vacuna viva (Neoparasec®, de Laboratorios Rhone-Merieux, en Lyon, Francia), elaborada a partir de la cepa 316F, con una concentración de 3×10^9 unidades viables por mililitro de vacuna y con un adyuvante oleoso (Royo, 2018).

En Noruega se comercializó una vacuna atenuada para el ganado caprino, paratuberkulose-vaksine®, elaborada a partir de la cepa Oslo 316F y la 2E, las vacunas atenuadas han adquirido una gran relevancia, ya que se ha comprobado que induce una respuesta protectora a nivel de las mucosas y del sistema inmunitario. Sin embargo todas ellas siguen interfiriendo en el diagnóstico de tuberculosis y, además, conllevan riesgos de bioseguridad (Royo, 2018).

Actualmente existen tres vacunas comerciales a partir de bacterias enteras o muertas: Gudair®, Mycopar® y Silirum®.

La vacuna Gudair® fue desarrollada en España en los años 90. La cepa que se empleo fue la 316F de Weybridge inactivada por calor (2.5mg de bacilos desecados) y con un adyuvante de aceite mineral. Esta vacuna ha sido ampliamente empleada en ovinos y caprinos (Royo, 2018).

Mycopar ® es una vacuna inactivada por calor comercializada en los Estados Unidos, elaborada a partir de la cepa 18 del MAC y con un adyuvante de aceite

mineral. Esta vacuna se ha empleado con éxito en bovinos y pequeños rumiantes (Cárdenas, et al., 2017).

Estudios previos demostraron que induce una rápida respuesta celular específicamente frente a *Mycobacterium avium paratuberculosis* tras la vacunación, que se mantiene estable a lo largo de 12 meses. Además, a los 6 meses post-vacunación, también produce una respuesta humoral detectable. Sin embargo, autores mencionan que interfiere en el diagnóstico de tuberculosis. (Cárdenas, et al., 2017).

Por último, la vacuna Silirum® está elaborada con la cepa 316F inactivada, al igual que la vacuna Gudair®, pero en este caso con un adyuvante de aceite mineral de alto refinamiento para reducir la formación de granulomas en el lugar de la inoculación y su uso está indicado en el ganado bovino. (Royo, 2018)

Investigadores de la UNAM Chávez Gris y su equipo planean usar la proteína P35, como una estrategia para la prevención, pues produce una respuesta inmune celular, ya que protege contra microorganismos intracelulares como el de la paratuberculosis, por lo que puede emplearse en México como un inmunógeno, para ser aplicado en animales con paratuberculosis y con una coinfección de tuberculosis, sin el riesgo de generar falsos positivos al probarlos con la tuberculina bovina (Chávez, 2012).

X. CONCLUSIÓN

La paratuberculosis es una enfermedad inscrita en la lista del código sanitario para los animales terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) en el 2020, debido a las grandes pérdidas económicas que provoca a el negocio de la industria ganadera.

En México sería necesario establecer una norma oficial sanitaria, para regular la diseminación de la enfermedad y elaborar un plan de control mediante pruebas de diagnóstico e implementar la vacunación en animales con alto valor genético que resulten positivos, ya que estudios en diferentes estados revelaron la presencia de Map en el país, principalmente en los hatos lecheros.

XI. BIBLIOGRAFÍA

Alfaro, C., Rolo, M., Clavijo, A. & Valle, A., 2006. Caracterización de la paratuberculosis bovina en ganado de doble propósito de los llanos, Monaga, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 3(24), pp. 321-332.

Álvarez, J., 2008. *CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA*. [En línea] Available at: <http://www.visavet.es> [Último acceso: 17 septiembre 2020].

Ávila, J., Blando, E. & Cruz, G., 2013. *AMMVEB*. [En línea] Available at: <https://www.ammveb.net/clinica/paratuberculosis.pdf> [Último acceso: 25 agosto 2020].

Bedolla, C. y otros, 2011. Paratuberculosis ovina. *scientia-CUCBA*, 13(1-2), pp. 74-86.

Camarena, M., 2014. *BULERIA*. [En línea] Available at: <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/5993/Tesis%20de%20Teresa%20Camarena.pdf?sequence=1&isAllowed=y> [Último acceso: 03 octubre 2020].

Cárdenas, A., Peñasola & A, 2017. *UNIVERSIDAD DE CUENCA*. [En línea] Available at: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26284/1/TESIS.pdf.pdf> [Último acceso: 09 septiembre 2020].

Castellanos, E., 2010. *UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID*. [En línea] Available at: <https://eprints.ucm.es/11626/1/T32337.pdf> [Último acceso: 18 mayo 2020].

Chávez, G., 2012. *DIRECCION GENERAL DE COMUNIDAD SOCIAL*. [En línea] Available at: https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2012_365.html [Último acceso: 21 septiembre 2020].

Corra, N., 2015. Diagnóstico de la paratuberculosis bovina. *ACOVEZ*, 44(01), pp. 12-16.

Correa, M. y otros, 2013. Caracterización molecular de *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis en bovinos y ovinos de Mexicali, Baja California, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 4(4).

Correa, N., Ramírez, N. & Fernández, J., 2015. Diagnóstico de la paratuberculosis bovina:Revisión. *Revista ACOVEZ*, 44(1), pp. 12-16.

Covarrubias, A. G. M., 2012. Desarrollo de inmuno-ensayo enzimático (ELISA) para el diagnóstico de paratuberculosis en bovinos. *Mex Cienc Pecu*, 1(3), p. 18.

Fernández, B., 2016. *REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES*. [En línea] Available at: http://repositorioubi.sisbi.uba.ar/gsd/collect/avaposgra/index/assoc/HWA_1251.dir/1251.PDF [Último acceso: 02 octubre 2020].

Fernández, F., Esteban, J., Gonzáles, J. & Palacios, J., 2005. *SOCIEDAD ESPAÑOLA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA*. [En línea] Available at: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia9a.pdf> [Último acceso: 10 septiembre 2020].

Fernández, G., 2014. *Diagnóstico de la paratuberculosis bovina: Comparación entre cultivo fecal y/o PCR sobre muestras de campo*. [En línea] [Último acceso: 07 septiembre 2020].

Fernández, M., 2017. *BULERIA*. [En línea] Available at: <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/6424/Tesis%20de%20Miguel%20Fernández.pdf;jsessionid=F2C3A49C46AACAA7ABDEA8F9784B57B9?sequence=1> [Último acceso: 16 mayo 2020].

Ferré, L., 2010. *CENTRO DE VIGILANCIA SANITARIA VETERINARIA*. [En línea] Available at: https://www.visavet.es/data/congresos/paratuberculosis_lucia_de_juan_240310.pdf [Último acceso: 17 mayo 2020].

Gallaga, É. y otros, 2017. *DIRECCION GENERAL DE INVESTIGACION Y POSGRADO*. [En línea] Available at: <https://dgip.unach.mx/images/pdf-REVISTA-QUEHACERCIENTIFICO/2017-ener->

jun/4.Situacion_epidemiologica_de_la_paratuberculosis.pdf

[Último acceso: 18 mayo 2020].

Gilardoni, M., Mundo & S, 2007. *PRODUCCIÓN ANIMAL*. [En línea] Available at: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_en_gener_al/88-infovet_102.pdf

[Último acceso: 30 mayo 2020].

Haberman, J. J., 1978. *Manual de Veterinaria para granjeros y agricultores*. 12a impresión ed. MEXICO: CONTINETAL,S.A.,MEXICO.

Herrera, M., 2014. *Tesis de Teresa Camarena*. [En línea] [Último acceso: 16 mayo 2020].

Iriondo, M., 2006. *EUSKADI.EUS*. [En línea] Available at: https://www.euskadi.eus/contenidos/documentacion/tesis_doctorales/es_agripes/djuntos/tesis_doctoral59.pdf

[Último acceso: 08 septiembre 2020].

Martínez, D., 2007. Paratuberculosis o enfermedad de John. *FRISONA ESPAÑOLA*, Issue 159, pp. 93-95.

Méndez, E. y otros, 2013. Detección de *Mycobacterium avium* paratuberculosis en caprinos ubicados en una zona semi-árida en el municipio de Tecozautla Hidalgo. *Revista de Salud Animal*, 35(3).

Morón, F. y otros, 2013. Prevalencia de la infección por *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis en rebaños de ovinos de dos municipios de San Luis Potosí, México. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 23(4), pp. 293-295.

Morsella, C., Paolicchi & F, 2011. *INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA*. [En línea] Available at: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-ptbc_en_argentina.pdf [Último acceso: 18 septiembre 2020].

Mundaca, F., 2012. *TESIS ELECTRONICAS UACH*. [En línea] Available at: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fvm966d/doc/fvm966d.pdf> [Último acceso: 25 08 2020].

Nákid, C., 2014. *UNIVERSIDAD VERACRUZANA*. [En línea] Available at: <https://www.uv.mx/personal/avillagomez/files/2012/12/Nakid->

Paratuberculosis-Tesis-2014.pdf
[Último acceso: 28 octubre 2019].

Nákid, C., 2014. *UNIVERSIDAD VERACRUZANA*. [En línea]
Available at: [Nakid-Paratuberculosis-Tesis-2014.pdf-Adobe Reader](#)
[Último acceso: 17 mayo 2020].

OIE, 2018. *ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL*. [En línea]
Available at: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.15 Paratuberculosis.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.15_Paratuberculosis.pdf)
[Último acceso: 08 junio 2020].

OIE, 2020. *ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD*. [En línea]
Available at: <https://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-los-animales/paratuberculosis/>
[Último acceso: 29 mayo 2020].

Oña, D., Cajilema & M., 2012. *UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR*. [En línea]
Available at: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/347/1/T-UCE-0014-10.pdf>
[Último acceso: 04 02 2021].

Oyarvide, L., 2013. *UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSÍ*. [En línea]
Available at: <https://ninive.uaslp.mx/xmlui/bitstream/handle/i/3405/MPA1DET01301.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
[Último acceso: 14 mayo 2020].

Peréz, V., 2018. *PRODUCCION ANIMAL*. [En línea]
Available at: <http://www.produccionanimal.com>
[Último acceso: 10 septiembre 2020].

Prieto, M., 2013. *GOBIERNO DEL PRINCIPIADO DE AUSTURIAS*. [En línea]
Available at: <https://ria.asturias.es/RIA/bitstream/123456789/3081/1/Archivo.pdf>
[Último acceso: 17 mayo 2020].

Ramírez, N., Rodríguez, B. & Fernández, J., 2011. Diagnóstico clínico e histopatológico de paratuberculosis. *REVISTAS MVZ CÓRDOBA*, Volumen 16, pp. 2744-2745.

Ramírez, R., Maldonado & J, 2013. Evasión molecular de la activación del macrófago bovino por *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis. *REVISTA .MVZ Córdoba*, 18(3), pp. 3897-3907.

Retamal, p. B. C. A. a. H., 2011. *Mycobacterium avium* subsp paratuberculosis y enfermedad de crohn: evidencias de una zoonosis. *Rev Med Chile*, 139(6).

Rocha, A., 2007. *CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN UAAAN*. [En línea]

Available at: http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2736/1444_APOLONIA%20ROCHA%20ORTIZ.pdf?sequence=1
[Último acceso: 22 septiembre 2020].

Romano, K., Cirone, S., Morsela, M. & Paolichi, F., 2007. *Mycobacterium avium* subsp.paratuberculosis: presencia en los alimentos y su asociación con la enfermedad de Crohn. *Revista Argentina de microbiología*, Issue 39, pp. 58-66.

Rovid, A., 2007. *THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH*. [En línea]

Available at: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/paratuberculosis-es.pdf>
[Último acceso: 18 mayo 2020].

Royo, M., 2018. *BULERIA UNILEON*. [En línea]

Available at: <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/9577/Tesis%20Marcos%20Royo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
[Último acceso: 09 septiembre 2020].

Santillan, M., 2010. *Tuberculosis y paratuberculosis - INAFAP*. [En línea]
[Último acceso: 16 mayo 2020].

Soberón, A., 2006. *PRODUCCION CAPRINA*. [En línea]

Available at: <https://amaltea.fmvz.unam.mx/textos/PARATUBERCULOSIS%20CAPRINA%20PAPIME.pdf>
[Último acceso: 02 octubre 2020].

Sosa, R., 2015. *CIBNOR REPOSITORIO*. [En línea]

Available at: https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/132/1/sosa_r.pdf
[Último acceso: 14 mayo 2020].

Suanes, A., Rubino & M, 2015. *CENTRO MEDICO VETERINARIO PAYSANDÚ*. [En línea]

Available at: <http://centromedicoveterinariopaysandu.com/wp-content/uploads/2015/06/Suanes-et-al.-PARATUBERCULOSIS-BOVINA-DIAGNOSTICO-RIESGOS-IMPACTO-ECONOMICO-Y-ESTRATEGIA.-2012.pdf>

[Último acceso: 21 septiembre 2020].

Vergara, R. y otros, 2019. *UNIVERSIDAD VERACRUZANA*. [En línea]

Available at: <https://www.uv.mx/personal/avillagomez/files/2019/11/2019-RCFAP-Paratuberculosis-ovina-p.999-1011.pdf>

[Último acceso: 21 septiembre 2020].

Villamar, S., 2016. *FAUBA DIGITAL*. [En línea]

Available at: <http://ri.agro.uba.ar/files/download/tesis/maestria/2016villamarmanriquesoniaandrea.pdf>

[Último acceso: 18 septiembre 2020].

Weaver, R. & Blowey, A., 1992. *Patología del ganado vacuno*. 1ra edición ed. Madrid: s.n.

Zapata, M., Maldonado, J. & Rodas, J., 2008. Paratuberculosis bovina. ¿Conocemos la situación real de la enfermedad en la ganadería colombiana?. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 21(3), pp. 421-432.