

Por **MV Gilardoni** [Área de Semiología- Medicina I; LR.]  
y **Dra. Mundo SL.** [Área de Inmunología]

# Paratuberculosis Bovina

En esta nota se explican cuáles son las características de la paratuberculosis bovina y cuál es la importancia de esta enfermedad a nivel mundial: patogenia, diagnóstico, tratamiento, vacunación y control. La Facultad cuenta con un proyecto de investigación sobre PTBC del Área de Inmunología, a cargo de la Dra. Silvia Mundo aprobado y subsidiado por la Universidad de Buenos Aires UBACyT.

La paratuberculosis (PTBC) o enfermedad de Johne fue descrita por primera vez en 1895 cuando H. A. Johne y L. Frothingham hallaron la presencia de microorganismos ácido-alcohol resistente a partir de frotis de material intestinal, durante un brote de diarrea bovina en Alemania, sin poder identificar taxonómicamente al agente. En 1923 Bergey y col. otorgaron el nombre de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (Map) al microorganismo causante de la enfermedad, como en la actualidad se lo identifica.

El Map es un patógeno intracelular obligado, ácido-alcohol resistente, de difícil cultivo en medios de laboratorio, requiriendo de micobactina como factor de crecimiento y de 8-16 semanas de incubación, debido a su baja velocidad de crecimiento. En la naturaleza, el Map puede sobrevivir en suelos ácidos, 5 meses en agua de río, 9 meses en agua de laguna, considerándose como la micobacteria que mejor resiste los factores físicos y químicos.

La PTBC es una enteritis granulomatosa crónica e infecciosa que afecta principalmente a bovinos, caprinos, ovinos, cier-

vos, camélidos y otros rumiantes, además de un amplio rango de animales no rumiantes, como equinos, cerdos, conejos, roedores, primates no humanos y especies silvestres. Se desconoce hasta el momento el significado de estos reservorios en la epidemiología de la enfermedad.

## Importancia de la enfermedad

La PTBC es endémica a nivel mundial, con altos niveles de prevalencia, fuerte impacto económico e importancia en Salud Pública.

En Argentina, la seroprevalencia en rodeos de cría de la Cuenca del Salado (provincia de Buenos Aires) se ubica entre 7,2% y 19,6%, mientras que en Sampacho (suroeste de la provincia de Córdoba), se halla en 0,3% en animales y 5,3% en establecimientos. La prevalencia en Europa oscila entre 7% - 55%, en los Estados Unidos entre 20% - 40% en rodeos con más de 300 cabezas y en rodeos lecheros de Australia entre 9% - 22%.

Las pérdidas económicas acarreadas por la infección afectan a rodeos bovinos de carne, lecheros y mixtos, por el descenso en la producción láctea, alteraciones reproductivas, mayor incidencia de mastitis, eliminación prematura de animales, pérdida del valor del animal en matadero, pérdida de potencial genético, etc. En Argentina las pérdidas económicas en el 2003 se estiman en aproximadamente 28 millones de dólares.

**En Argentina las pérdidas económicas acarreadas por la infección se estiman en aproximadamente 28 millones de dólares (Año 2003)**

El microorganismo puede sobrevivir al proceso de pasteurización de alta temperatura-corto tiempo (HTST), 71,7° C, 15 segundos. Investigadores de varios países, entre ellos los Estados Unidos de Norte América, Reino Unido, República Checa y Argentina informaron aislamientos de Map en leches comerciales y subproductos, destinadas a consumo humano. Por tales motivos la paratuberculosis es considerada una enfermedad de riesgo potencial para la Salud Pública.

La Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE) ha incluido a la paratuberculosis en la lista de enfermedades de declaración obligatoria

### Patogenia

La fuente primaria de infección son los bovinos adultos infectados y los rodeos que los albergan. La principal vía de transmisión es oro- fecal a través de calostro y leche de animales infectados, como también de pasturas y agua de bebida contaminadas con materia fecal y, en menor porcentaje, a través de placenta y semen. Los animales más susceptibles son los terneros menores de 30 días, si bien los animales de más edad pueden infectarse dependiendo de su condición sanitaria y de la carga bacteriana.

### En medicina humana se menciona la posible asociación entre Map y una ileocolitis granulomatosa crónica, denominada enfermedad de Crohn (CD).

Whitlock y Buergelt describieron en 1996 la infección con Map en cuatro estadios según los signos clínicos: estadio silencioso, subclínico, clínico y avanzado. En los dos primeros estadios, los animales no presentan signos clínicos de enfermedad pero son eliminadores de Map por materia fecal en cantidades no detectables. Los animales progresan al estadio de PTBC clínica, generalmente entre los 3 - 5 años post infección y manifiestan signos clínicos de diarrea intermitente, pérdida de peso y de producción láctea. En estadio de PTBC avanzada, el animal presenta edema submandibular, diarrea persistente, observándose deshidratación y caquexia que lo conducen a la muerte.

Se especula que sólo el 10% - 15% de animales infectados sobreviven al periodo clínico, pues la mayoría es enviado a sacrificio debido a la disminución en su productividad. Se estima que



Fuente: MV Gilardoni, 2007

por cada caso clínico de paratuberculosis, existen al menos entre 4 y 8 animales con infección subclínica.

### Importancia en medicina humana

En medicina humana se menciona la posible asociación entre Map y una ileocolitis granulomatosa crónica, denominada enfermedad de Crohn (CD). Esta enfermedad fue descrita por primera vez en 1913 por Dalziel en pacientes del Western Infirmary de Glasgow. Pero a partir de 1932, luego de la publicación de Crohn en 1932, en el J. Am. Med. Assoc., adquiere el nombre de CD, que afecta a individuos jóvenes, entre 15 y 25 años. Los signos clínicos (diarrea y pérdida de peso corporal) y las lesiones anatomopatológicas (ileocolitis granulomato-

sa) son similares en ambas patologías, PTBC y Crohn. Varios investigadores informaron el aislamiento de Map en leche materna y en biopsia intestinal de pacientes con CD, y otros la asociación entre individuos portadores de alelos heterocigotas del gen NOD2 /CARD15 con la susceptibilidad a bacterias intracelulares como el Map.

### Diagnóstico

El diagnóstico de la PTBC es un desafío pues la efectividad de las pruebas diagnósticas depende directamente del estadio clínico en el que se encuentre el animal. Los animales en el estadio silencioso y subclínicos se caracterizan por una alta respuesta inmune celular, mientras en estadios clínicos y avanzados predomina la respuesta inmune humoral. Los animales con PTBC avanzada desarrollan un estado de anergia, donde las pruebas diagnósticas son menos sensibles.

La detección directa de Map mediante cultivo microbiológico de heces, leche o tejidos es la técnica de referencia o gold Standard. Demanda de 8 a 16 semanas y requiere la descontaminación de la muestra, pudiendo afectar la viabilidad de las bacterias. Los medios de cultivo tradicionales son el Herrold con yema de huevo, 7H9 7H10, etc., todos suplementados con micobactina y piruvato. La tinción de Ziehl- Neelsen se emplea rutinariamente para diagnóstico presuntivo ya que es rápido, sencillo y barato, pero de baja especificidad. Existen otros métodos como los sistemas automáticos de cultivo líquido y el análisis inmunohistoquímico, pero costosos y con reacciones cruzadas con otras micobacterias.

Las pruebas diagnósticas en los primeros estadios basados en la respuesta inmune celular del animal son la intradermorreacción (IDR) o test de Johnina y gama interferón (IFN- $\gamma$ ). La IDR se realiza en la tabla del cuello en bovinos o en el pliegue de la

cola, realizando la lectura a las 48 horas. La detección de IFN- $\gamma$  en cultivos celulares es utilizada en animales jóvenes entre 1 y 2 años. La capacidad discriminatoria de ambas pruebas es baja por presentar reacciones cruzadas con otras micobacterias ambientales. Los resultados falsos negativos son frecuentes especialmente en terneros, novillos incluso en hembras hasta la 1<sup>o</sup> lactación (hembras en estadio silencioso o subclínicos), por lo cual los resultados son de difícil interpretación.

Los animales clínicamente infectados son grandes excretores y tienen una respuesta inmune humoral detectable por las técnicas inmunoenzimáticas (ELISA), inmunodifusión en gel de agar (AGID) y la fijación del complemento (CFT).

La prueba de ELISA para detectar anticuerpos, se aplica fundamentalmente en animales mayores de tres años y la certeza diagnóstica corresponde al estadio en el que el animal presenta signos de diarrea y edema submandibular, período donde la eliminación de Map por materia fecal y/o leche es cuantitativamente importante. Puede aplicarse tanto en suero como en leche, aunque la correlación entre ellas es moderada. La concentración de anticuerpos varía según el período de lactación, existiendo concentraciones altas al principio y al final de la lactación.

**El diagnóstico de la PTBC es un desafío pues la efectividad de las pruebas diagnósticas depende directamente del estadio clínico en el que se encuentre el animal. Los animales en el estadio silencioso y subclínicos se caracterizan por una alta respuesta inmune celular, mientras en estadios clínicos y avanzados predomina la respuesta inmune humoral. Los animales con PTBC avanzada desarrollan un estado de anergia, donde las pruebas diagnósticas son menos sensibles.**

Una nueva prueba serológica basada en Citometría de Flujo (CF), ha mostrado una sensibilidad y especificidad prometedoras al ser comparada con un ELISA comercial.

Desde el descubrimiento en el 1989 por Green del inserto atípico específico de IS900 en el genoma de Map, los investiga-



Fuente: SENASA

dores proponen la utilización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permite confirmar la presencia de Map con cantidades mínimas de DNA bacteriano.

La principal ventaja que confiere la PCR sobre el coprocultivo es la velocidad en la obtención de resultados y la capacidad de detectar la presencia de bacteria viable y no viable. Las muestras que suelen analizarse para la técnica de PCR son heces, tejidos y leche.

Debido a que la excreción de la micobacteria es intermitente y cuantitativamente no homogénea, se presenta el inconveniente de su concentración en las muestras a analizar. Esta concentración puede realizarse por sedimentación, centrifugación o separación inmunomagnética, descrita por Grant en 1998.



Fuente: MV Gilardoni, 2007

## Tratamiento- Vacunación

Se desaconseja el tratamiento antimicrobiano del animal enfermo debido a los altos costos, la prolongada duración del mismo y el mantenimiento de animales portadores de Map en el rodeo. La vacunación no evita la infección si bien previene las manifestaciones clínicas e interfiere en los programas de control de la tuberculosis.

## Control de la paratuberculosis

Los programas de control dependen fundamentalmente de la identificación y eliminación de los animales enfermos, que mantienen los potreros infectados. Estas medidas son de compleja implementación. Otras pautas de manejo consisten en la separación temprana del ternero de la madre y del potrero infectado, evitar la ingestión de calostro de hembras infectadas y el control sanitario de los animales que ingresen al establecimiento. Los mecanismos de persistencia en el ambiente, la característica subclínica de la enfermedad junto a las diferentes respuestas de las pruebas diagnósticas según el estadio en que se halle el animal, hacen dificultoso cualquier programa de diagnóstico y control.



Fuente: MV Gilardoni, 2007

## Conclusión

La paratuberculosis en el ganado presenta un período subclínico prolongado y de difícil diagnóstico, con alta prevalencia principalmente en rodeos bovinos lecheros. Es responsable de importantes pérdidas económicas y sospechosa de ser un

riesgo para la Salud Pública. Debido a sus características clínicas y las diferentes respuestas a las pruebas diagnósticas, generalmente es una enfermedad subdiagnosticada.

El mejoramiento en los métodos diagnósticos y la implementación de pautas de manejo en los establecimientos requiere del conocimiento de la enfermedad y la toma de conciencia de veterinarios y productores. Nuestro trabajo está orientado en fortalecer las herramientas diagnósticas para mejorar el control de la paratuberculosis. •

# Proyecto de investigación

El Área de Inmunología de la Facultad, a cargo de la Dra. Silvia Mundo, cuenta con un proyecto de investigación aprobado y subsidiado por la Universidad de Buenos Aires UBACyT.

Dentro de este proyecto se incluye un plan para desarrollar diferentes estrategias diagnósticas de PTBC bovina en leche, utilizando la técnica de inmunoseparación magnética con anticuerpos policlonales y monoclonales de origen murino obtenidos en el área y su combinación con PCR. Dicho plan cuenta con la co-

laboración, especialmente en el trabajo a campo, del laboratorio de bacteriología de la estación experimental de INTA Balcarce, a cargo del Dr. Fernando Paolicchi.

Proyecto: Respuesta inmunológica frente a *Mycobacterium avium subespecie paratuberculosis* en bovinos; interacción entre la bacteria y el macrófago. CECYT V038 2004-2007 / 2008-2011.