

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**DIAGNÓSTICO Y CONTROL DE PARATUBERCULOSIS**

**POR:**

**ZARAGOZA GARCÍA BERNARDO JAVIER**

**MONOGRAFÍA**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN COAH. MÉXICO**

**MAYO DEL 2001**

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA

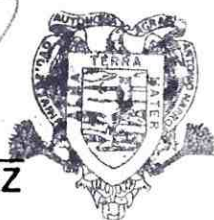
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

PRESIDENTE DEL JURADO

  
M.V.Z M.C RAMÓN A. DELGADO GLZ

COORDINADOR REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

  
M.C JORGE ITURBIDE RAMÍREZ



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal  
UAAAN - UL

TORREÓN COAHUILA, MAYO DEL 2001.

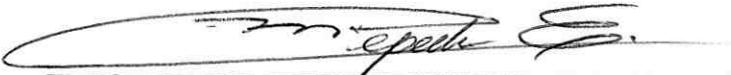
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
" ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

APROBADA POR EL COMITÉ DE MONOGRAFÍA

PRESIDENTE DEL JURADO

  
M.V.Z M.C RAMÓN A. DELGADO G.

  
VOCAL M.V.Z E.P MA. HORTENSIA CEPEDA E.

  
VOCAL M.V.Z LUIS JAVIER PRADO ORTIZ

  
VOCAL SUPLENTE M.V.Z HECTOR VILLANUEVA HDZ.

TORREÓN COAHUILA, MAYO DEL 2001

# INDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. DESCRIPCIÓN DE LA PARATUBERCULOSIS	2
3. TRANSMISIÓN	3
3.1. TIPOS DE TRANSMISIÓN	4
3.1.1. TRANSMISION PRENATAL	4
3.1.2. TRANSMISON POST NATAL	5
3.1.3. OTROS TIPOS DE TRANSMISIÓN	6
3.1.4. TRANSMISION ENTRE HATOS	6
4. PATOGENIA E INMUNOLOGIA	7
5. LESIONES	8
6. DIAGNOSTICO DE LA PARATUBERCULOSIS	9
6.1. PRUEBA GENETICA	10
6.2. PRUEBAS DE INMUNIDAD MEDIADA POR CELULAS	11
6.3. PRUEBAS DE DETECCIÓN DE Acs. EN SUERO	12
7. PREVENCIÓN Y CONTROL	15
7.1 CONTROL A NIVEL DE REBAÑO	16
7.2 CONTROL REGIONAL	17
8. VACUNACIÓN	19
9. TRATAMIENTOS	21
9.1. AGENTES QUIMIOTERAPEUTICOS	24
10. LITERATURA CITADA	31

# DIAGNÓSTICO CONTROL Y TRATAMIENTO DE LA PARATUBERCULOSIS

## 1. INTRODUCCIÓN

Desde que se descubrió la enfermedad se han utilizado diversas técnicas para el diagnóstico de la paratuberculosis y sin embargo, aún con los grandes avances de la tecnología, no se ha conseguido definir una técnica capaz de detectar animales infectados en cualquier estadio de la infección. En el presente trabajo se hace una breve revisión de las técnicas más comunes que se utilizan o que se han utilizado por mucho tiempo para el diagnóstico de brotes naturales o durante infecciones experimentales.

Los principales rubros del diagnóstico se basan en cuatro importantes grupos: El diagnóstico clínico, anatomopatológico, bacteriológico y pruebas de inmunidad. Los cuatro grupos deben ser utilizados en conjunto para el diagnóstico de la paratuberculosis y dentro de estos es recomendable la combinación de varias técnicas para abarcar el mayor número de estadios de infección posible, como cultivo bacteriológico, técnica de ELISA, PCR, entre otras técnicas.

Por otra parte, el control de la paratuberculosis se dificulta, primero porque se desconoce la epidemiología de la enfermedad en muchas regiones, en segundo término por la resistencia y persistencia del agente causal en el medio ambiente, tercero por el manejo intensivo de las explotaciones productivas y por último porque no hay un tratamiento específico para la enfermedad.

Para llevar a cabo programas de control de la paratuberculosis se deben monitorear los hatos por métodos bacteriológicos e inmunológicos periódicos para la detección y eliminación de animales infectados. No obstante, en muchos países se ha optado por la vacunación al observarse un efecto más o menos inmediato sobre la enfermedad clínica.

El objetivo de la presente monografía es dar a conocer los aspectos más relevantes del diagnóstico, los métodos más utilizados en infecciones naturales y experimentales, así como las formas de transmisión y los métodos de control, además de algunos aspectos breves sobre el tratamiento de la enfermedad.

## **2. DESCRIPCIÓN DE LA PARATUBERCULOSIS**

Las micobacterias son bacilos intracelulares facultativos, aerobios de crecimiento lento, cuyas paredes celulares contienen concentraciones elevadas de lípidos. Estos lípidos son los responsables de la tinción ácido resistente con el pigmento rojo carbol fucshina, por lo que estos microorganismos se les llama bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) (Abbas, et al., 1995).

Hay diferentes especies de micobacterias, que se diseminan a través del medio ambiente, divididos en tres grupos principales. Las micobacterias no patógenas son usualmente inofensivas al humano y a los animales y existen en el medio ambiente global y sin interacción humana. Las micobacterias patógenas obligadas causan enfermedad en humanos y algunos animales, también requieren de un medio ambiente benigno y de un animal hospedero para multiplicarse. Ejemplos bien conocidos de micobacterias que causan enfermedades en humanos son la tuberculosis y la lepra, en animales la paratuberculosis. La enfermedad causada por estos microorganismos patógenos obligados es siempre crónica, estos toman grandes cantidades de tiempo para multiplicarse, y son difíciles de erradicar. Las micobacterias patógenas potenciales pueden existir en el medio ambiente independiente de humanos y animales pero también puede causar la enfermedad si las defensas inmunes del hospedero infectado están dañadas o suprimidas por estos patógenos potenciales, que en ocasiones son oportunistas, porque llegan a producir enfermedad cuando se presenta una oportunidad (Kennedy, 1997).

La paratuberculosis, llamada también Enfermedad de Johne, es una enfermedad bacteriana que afecta a rumiantes domésticos y silvestres, y que genera pérdidas económicas muy importantes. La infección lesiona el intestino produciendo una enteritis granulomatosa, provocada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Chiodini et al., 1984 ).

El organismo causal de la Enfermedad de Johne, *M. avium* subsp *paratuberculosis* (*Map*), habita el tracto intestinal y los nódulos linfáticos mesentéricos de las vacas infectadas. Existen, nuevas evidencias que demuestran que el organismo puede diseminarse hacia sitios extraintestinales tales como el útero, nódulos linfáticos supramamarios, ubre, y órganos sexuales de toros, y puede ser excretado directamente en leche y semen (Sweeney et al, 1992).

La infección transplacentaria o in útero de fetos con *Map* fue reportada desde 1935, y estudios subsecuentes que confirman estos hallazgos han demostrado que de 20% a 40% de fetos de vacas infectadas, son infectados in útero (Sweeney et al, 1992). Generalmente estos fueron estudios de fetos obtenidos de vacas infectadas que mostraban signos clínicos de paratuberculosis (pérdida de peso y diarrea), en otras palabras, vacas con avanzado estado de la infección. Sin embargo, la mayoría de las vacas infectadas en un hato no muestran signos clínicos de la enfermedad, aún cuando estas eliminen un gran número de organismos en las heces(Sweeney, et al, 1992).

### 3. TRANSMISIÓN

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* persiste en los pastizales sin multiplicarse durante períodos prolongados conservando dichos pastos, su capacidad infectiva hasta por un año. El microorganismo es susceptible relativamente a la luz solar y desecación, a concentraciones elevadas de Ca y pH alto del suelo, y al contacto permanente con orina y heces reduce su longevidad. Otros factores que aumentan la susceptibilidad de la infección incluyen el volumen

de la dosis infectiva, edad, estrés, y agentes inmunosupresores; Los animales estabulados, están sujetos a alto riesgo de infección, debido a gran contaminación por las heces y la prolongada supervivencia de la bacteria en sitios protegidos (Blood and Rodostis, 1992). No existe tratamiento para la enfermedad, sin embargo, la vacunación contra la enfermedad ha mostrado buenos resultados con algunas controversias con respecto a su eficacia (Lisle, 1996).

### **3.1. TIPOS DE TRANSMISIÓN**

#### **3.1.1. Transmisión prenatal**

La mayor fuente de infección son las heces excretadas de animales infectados. El largo periodo de incubación de la enfermedad permite la diseminación de micobacterias en heces por animales de 18 meses antes de que los signos clínicos estén claros, pero la diseminación es particularmente alta en casos clínicos. El microorganismo *Map*, habita en el tracto intestinal y nódulos linfáticos mesentéricos de vacas infectadas. Mientras la paratuberculosis generalmente se ha considerado como una infección intestinal, evidencias muestran que el organismo puede diseminarse a sitios extraintestinales como el útero, linfonódulos supramamarios, ubre, órganos sexuales de toros y puede excretarse directamente en leche, y el semen (Chiodini, et al., 1993).

La infección transplacentaria o infección del útero que afecta a los fetos con *Map*, se informó en 1935 y estudios subsecuentes confirmaron estos hallazgos, mostrando que el 20% a 40% de fetos de las vacas se infectaban (Whitlock, et al., 1992). Generalmente, éstos fueron estudios de fetos obtenidos de vacas infectadas que mostraban señales clínicas de paratuberculosis como pérdida de peso y diarrea, en otras palabras, vacas con fases avanzadas de la infección. Sin embargo, la mayoría de las vacas infectadas en un hato no muestran señales clínicas de la enfermedad aunque estas puedan estar diseminando grandes cantidades de organismos en excremento.



### 3.1.2. Transmisión posnatal

Después de un periodo de incubación largo (años), las vacas infectadas empiezan a eliminar cantidades perceptibles de *Map*, al principio en sus heces en cantidades escasamente perceptibles, y después en números gradualmente crecientes conforme la infección se vaya estableciendo. Una vaca con signos clínicos de paratuberculosis puede eliminar billones de microorganismos por día. Los estudios han mostrado que *Map* es un organismo que puede persistir en el ambiente, incluso en la tierra, el agua, y estiércol, hasta por un año. Los cultivos de muestras del medio ambiente de los hatos con una prevalencia alta de *Map* revelan que los organismos viables están presentes en áreas críticas como salas de maternidad y así se disemina la infección hacia animales susceptibles (Whitlock et al., 1992).

Los terneros jóvenes generalmente se consideran ser muy susceptibles a la infección con *Map*, aunque el número específico de organismos para establecer una infección no ha sido determinado. Indudablemente, la probabilidad de infección está en función de la edad de los animales susceptibles y de la dosis de microorganismos ingeridos. La sugerencia de que la resistencia aumenta con la edad está basada en la observación establecida de la infección por inoculación experimental con organismos, siendo más difícil en ganado adulto que en los terneros alojados en un ambiente infeccioso. Alrededor de un año de edad aparece la resistencia igual al la del ganado adulto maduro y la exposición de ganado adulto normalmente es de menos preocupación debido al largo periodo de incubación del microorganismo. El ganado adulto se puede infectar después de los dos años de edad, debido a un exceso en el ambiente de microorganismos. La mayor susceptibilidad del recién nacido puede relacionarse al "intestino abierto" durante las primeras 24 horas después del nacimiento, en qué las macromoléculas, como inmunoglobulinas del calostro, pueden penetrar la mucosa por absorción y quizás la barrera de la mucosa contra *Map* también está reducida

durante este tiempo. En la mayoría de los hatos, se asumen generalmente que las vacas infectadas fueron infectadas lo hicieron cuando eran terneras, probablemente poco después del nacimiento en la mayoría de los casos. La transmisión postnatal de *Map* al ternero es el resultado de la ingestión oral de organismos por el ternero. Probablemente la fuente de contaminación es fecal, por la ubre, alimento, por utensilios entre otras (Sweeney, 1996).

### **3.1.3. Otras tipos de transmisión**

Otras formas propuestas de infección incluyen transmisión vía el semen de toros infectados, transmisión por transferencia de embriones, transmisión por fauna silvestre, y transmisión por procedimientos veterinarios como el examen rectal (Sweeney, 1996).

### **3.1.4. Transmisión entre hatos**

Los métodos anteriores son la mayoría de las formas en que el organismo se transmite entre los animales dentro de un hato infectado, la exposición especialmente es oral por el excremento de las vacas infectadas. La infección de *Map* se adquiere en un hato por la compra de ganado infectado. Debido al largo periodo de incubación, las vacas infectadas pueden no mostrar ningún signo de la infección en varios años, y a menudo la prueba serológica es negativa al igual que los cultivos fecales (Raymond W. Sweeney, VMD, 1996).

La transmisión de un hato a otro puede ocurrir por contacto con agua de arroyos o ríos de uso común, ya que el microorganismo puede sobrevivir por largo tiempo en este ambiente (C. J. Clarke, 1997).

#### **4.- PATOGENIA E INMUNOLOGÍA**

Tras la ingestión oral, el microorganismo se localiza en mucosa del intestino delgado, linfonódulos mesentéricos, y en menor medida, en linfonódulos suprafaríngeos. La localización primaria de la multiplicación bacteriana es la parte terminal del intestino delgado y el intestino grueso. El organismo tiene predilección por macrófagos encontrados en la lámina propia del tracto intestinal, particularmente en el íleon terminal (Sockett, et al, 1992).

Pueden existir al menos tres grupos diferentes de animales según la relación hospedador-bacteria que se establezca. En el primer grupo el animal desarrolla resistencia rápidamente, controla la infección y no se convierte en portador (infectados pero resistentes). En el segundo grupo la infección no se controla por completo, algunos animales controlan parcialmente la infección, pero portarán el microorganismo de forma intermitente, otros se convertirán en casos intermedios que se encuentran incubando la enfermedad y se convertirán en portadores del microorganismo. En un tercer grupo el microorganismo persiste en la mucosa intestinal y los casos clínicos surgen en estos animales. El microorganismo es fagocitado por macrófagos, que a su vez proliferan en gran número e infiltran la submucosa intestinal, que origina disminución de la absorción, diarrea crónica y mala absorción (Blood, et al, 1992).

El principal mecanismo de inmunidad natural frente a los microorganismos intracelulares es la fagocitosis. Las bacterias intracelulares patógenas son relativamente resistentes a la degradación dentro de los fagocitos mononucleares (Abbas K, et al , 1995).

Las bacterias son transportadas por los macrófagos a otros lugares, sobre todo al útero, feto y glándula mamaria y a los testículos y semen de los toros. La diseminación posprimaria de las lesiones es más amplia en animales adultos que

en terneras y las lesiones tempranas son más graves en los primeros, pero los microorganismos no persisten, en terneros el microorganismo prolifera lentamente sobre todo en el intestino delgado provocando infiltración celular masiva de la submucosa intestinal. En vacas adultas la infección puede alcanzar al feto y originar infección prenatal. La infección uterina es mas frecuente de lo que generalmente se cree, y se observa a menudo en pacientes clínicamente normales (Blood, et al, 1992).

## 5. LESIONES

El asiento más común de las lesiones específicas es la porción terminal del ileon, pero también se presenta en el resto del intestino delgado, intestino grueso y linfonódulos mesentéricos. Las secciones microscópicas ponen en evidencia una lamina propia de la mucosa repleta de macrófagos, células epitelioides con citoplasma abundante y espumoso, con frecuencia son multinucleadas. Dichas células infiltran y engrosan la submucosa, respetando las tunicas muscular de la mucosa y la muscular. Se encuentran nidos de estas células epitelioides en los linfonódulos mesentéricos, pero no en otros. En los cortes e improntas efectuados a partir de estas lesiones, la coloración de Ziehl-Neelsen revela gran cantidad de organismos ácidos-resistentes con forma de bastón dentro del citoplasma de las células epitelioides. Las alteraciones de la mucosa intestinal, en los casos de paratuberculosis, incluyen edema como resultado de los trastornos locales de la circulación. Es importante la ausencia de necrosis caseosa, formación de nódulos, calcificación, e incremento de la vascularización. En contraste con los bovinos, en los ovinos y caprinos se observa la formación de nódulos con necrosis y calcificación. Las lesiones macroscópicas están relacionadas directamente a la microscópicas, la pared intestinal afectada se presenta engrosada, algo edematosa y en su mucosa se observan pliegues transversales amplios y muy abundantes que resultan del engrosamiento de las vellosidades y dan a la superficie un aspecto rugoso que no desaparece cuando la mucosa intestinal se extiende (Carlton, et al., 1995).

A pesar de que con frecuencia las lesiones quedan restringidas al intestino y linfonódulos, se conoce la difusión de infecciones generalizadas en bovinos, ovinos y cabras, tanto en casos naturales como experimentales; en esos casos aparecen lesiones en el hígado, bazo, pulmones, riñones, útero, placenta y linfonódulos mesentéricos.(Carlyle, et ál , 1983).

## 6. DIAGNÓSTICO DE PARATUBERCULOSIS

La década pasada, la mayoría de los investigadores se esforzaron en desarrollar y mejorar pruebas de diagnóstico para la enfermedad de Johne. Algunas técnicas nuevas se han descrito recientemente para mejorar el cultivo y detección del agente causal, como las pruebas genéticas, así como métodos serológicos (Cox, et al, 1990).

Las pruebas de diagnóstico que existen para la paratuberculosis no son exactas. De hecho hay técnicas para detección de anticuerpos en suero, pruebas para inmunidad mediada por células, que están comercialmente disponibles. Virtualmente todas las pruebas disponibles tienen un rango falso-positivo de menos de 1.0 %. La sensibilidad de las pruebas puede parecer baja pero esto es primordialmente porque la infección de *Map* progresa lentamente. Las pruebas perfeccionadas muchas veces no pueden detectar la infección aún de animales infectados (Collins, 1996). Así mismo, la detección de anticuerpos séricos ha sido relacionada por diferentes autores con la presencia de lesiones macroscópicas características de la enfermedad (Hardin, et al, 1996).

Las heces de los animales sospechosos son utilizadas para hacer frotis, tinción de Ziehl-Neelsen y cultivo. El método tradicional para diagnosticar *Map* en el ganado requiere cultivo en un medio bacteriológico selectivo, usualmente agar Herrold con yema de huevo, a partir de muestras fecales enviadas para un diagnóstico de laboratorio, el proceso toma de 8 a 16 semanas ya que el

crecimiento del organismo es lento (Sockett, et al., 1992). El método BACTEC reduce el tiempo de detección de 4 a 7 semanas (Michael, et al., 1996). Una desventaja del diagnóstico de paratuberculosis por cultivo es que la detección es lenta. (Spangler, et al., 1992). El cultivo fecal es 100% específico y tiene una sensibilidad de 40% porque el crecimiento es lento (Sockett, et al, 1992). El cultivo fecal detecta la infección mas temprano que AGID (Spangler, et al., 1992). Un diagnóstico definitivo de la enfermedad de Johne ha sido basado en las características del cultivo del organismo aislado de las heces o tejido intestinal (Plante, et al., 1996).

La concentración de la muestra por centrifugación, sedimentación o filtración, es generalmente usada para incrementar un rango de aislamiento de *Map*, porque el número de organismos por gramo de heces es a veces bajo en los casos de los estudios efectuados (Collins, et al., 1996).

La tinción de Ziehl Neelsen y la inmunohistoquímica no son muy específicas para el diagnóstico de *Map*, sin embargo, la prueba de detección de DNA por la reacción en cadena de la polimerasa PCR usando la secuencia IS900, es un método específico y relativamente sensible para la confirmación de la enfermedad de Johne y su aplicación en tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina, puede ser provechoso para la confirmación de casos dudosos, para estudios retrospectivos y para análisis epidemiológicos (Plante, et al., 1996).

## **6.1. PRUEBAS GENETICAS**

Un método rápido para el diagnóstico es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar un fragmento de DNA de una secuencia de inserción a *Map* específica IS900, combinada con una prueba de enzimas marcadas para detectar la secuencia amplificada después de la inmovilización de una membrana, y ahora está comercialmente disponible para el diagnóstico de la enfermedad en ganado (Burnside, et al., 1994).



El potencial de la PCR para el diagnóstico de infecciones micobacteriales ha sido reconocido y la técnica ha sido aplicada a una variedad de muestras clínicas (Challorns, et al., 1994). La sensibilidad de la técnica ha sido investigada con cambios en las condiciones de la amplificación y el procedimiento para detectar el producto. Esos cambios han dado como resultado en el desarrollo de procedimientos que pueden detectar cantidades de fentogramos de DNA que corresponde a uno o algunos organismos, además altos niveles de sensibilidad han sido encontrados cuando la técnica ha sido aplicada a las muestras clínicas, y esto ha sido atribuido a la presencia de inhibidores de la PCR (Challorns, et al., 1994). Una secuencia única repetitiva de DNA (IS900) ha sido identificada en *Map* y los métodos de PCR son descritos por detección directa en tejido fresco o muestras fecales (Plante, et al., 1996).

La ventaja de la prueba de DNA es que es rápida, tiene una especificidad de diagnóstico del 100%. Las desventajas de la prueba de DNA son muchas ya que tienen una baja sensibilidad porque tiene una detección mas limitada que el cultivo fecal. A menos que los resultados falsos – positivos puedan ocurrir debido a las muestras de contaminación por producto de genes cruzados, en el laboratorio o en el transcurso de la prueba (Collins, 1996).

## **6.2. PRUEBAS DE INMUNIDAD MEDIADA POR CELULAS**

La primera y más fuerte respuesta del hospedero a las infecciones micobacteriales en humanos y animales es mediado por linfocitos T. Las llamadas pruebas de la piel, son medidas de una respuesta de Inmunidad Mediada por Células (CMI) al antígeno inyectado. Sin embargo, la prueba de la piel para la paratuberculosis, llamada como la johnina, no ha sido tan exitosa. Esto es probablemente porque el *Map* tiene más antígenos en común con la micobacterias del medio ambiente. La prueba CMI está siendo reemplazada por otras pruebas. Las citocinas son mediadores químicos o mediadores de la respuesta inmune,

muchos de los cuales son producidos por linfocitos T sensibilizados. La primera prueba de citocina para el diagnóstico de paratuberculosis fue desarrollada en Australia. La prueba usa un extracto de *Mycobacterium avium* (Michael, 1996 )

### **6.3. PRUEBAS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS EN SUERO**

Entre las pruebas serológicas disponibles para el diagnóstico de paratuberculosis en caprinos, se encuentra la de fijación del complemento (FC), inmunodifusión en gel (IDGA) y el inmunoensayo enzimático (ELISA). Estas pruebas tienen sensibilidad y especificidad variables, siendo las pruebas más utilizadas y recomendadas para el diagnóstico de la enfermedad en caprinos, (Vélez, et al, 1995; Egan, et al., 1999). La prueba de inmunodifusión en gel de agarosa, puede ser más usual en situaciones regulares ya que es más fácil que la prueba de fijación del complemento (David, et al., 1990).

ELISA detecta aproximadamente la mitad de los animales infectados en la mayoría del ganado infectado con *Map*, la detección de anticuerpos por ELISA es analíticamente más sensible que el uso de las pruebas de AGID ó CF, tan claramente demostrado en estudios donde las tres pruebas fueron aplicadas a los mismos animales infectados con *Map* (Michael, 1996).

Se ha utilizado una técnica de ELISA con lipoarabinomano (LAM ELISA), antígeno usado para detectar anticuerpos en leche y suero para diagnóstico de infección de *Map* en el ganado lechero (Sweeney, et al., 1994). La sensibilidad y especificidad de ELISA en leche no pueden ser determinadas sin una medida de l estatus verdadero de la enfermedad (Hardin, et al., 1996). Esta Prueba ha sido usada en el diagnóstico de muchas enfermedades y a mostrado alta sensibilidad y especificidad (Woodruff, et al., 1991). La LAM ELISA es mejor para predecir el estatus de eliminación de micobacterias fecales que en los tejidos infectados, sin embargo, LAM ELISA tiene sus limitaciones (Bruce, et al., 1991).



El uso de lipoarabinomanano (LAM), obtenido de *Map*, en una prueba de ELISA (LAM – ELISA) en un rebaño de ovejas infectado de paratuberculosis, resultó en un triple incremento de sensibilidad en la prueba serológica comparada con fijación del complemento (PFC) e inmunodifusión en gel de agarosa (IDGA) (Sudgen et al., 1989).

La prueba de Fijación del complemento es la mas ampliamente usada pero ha sido descrita como carente de sensibilidad (Woodruff, et al., 1991). La leche es una muestra muy conveniente ya que puede ser colectada en conjunto con los procedimientos de rutina de la leche con lo cual limita el estrés a las vacas (Hardin, et al., 1996). También la posibilidad de transmisión a las becerras vía leche infectada debería ser considerado por un programa de control. (T. K . Taylor, et al, 1981).

Para la detección de anticuerpos de paratuberculosis por la técnica de ELISA es necesario eliminar falsos positivos utilizando *Mycobacterium Phlei* para evitar reacción cruzada con anticuerpos específicos. La prueba de ELISA con *M. phlei* como absorbente de anticuerpos inespecíficos de pMAp, tiene un importante papel como prueba de diagnóstico y control de la enfermedad de Johne en el ganado (Andrew et al., 1990).

En general se han evaluado una gran cantidad de pruebas de ELISA comerciales para el diagnóstico de la paratuberculosis tanto en ganado caprino, ovino y bovino. No obstante que aun no se ha podido detectar a todos los animales infectados ya que en algunos casos primero se observan los signos clínicos de la enfermedad, que los anticuerpos circulantes en contra de la enfermedad (Cox, et al., 1991 ). Por otra parte, se ha encontrado también que ciertas pruebas de ELISA, no son muy específicas ni sensibles, teniendo problemas para realizar un buen diagnóstico (Bruce, et al. 1991).

El análisis por cromatografía de gas – líquido de ácidos grasos celulares fue usado para desarrollar una rápida identificación de *Map* y otras micobacterias (Hardin, et al., 1996). Con el uso de cromatografía de líquidos se han purificado y caracterizado antígenos “A” y “D” de *Map* y se han utilizado para pruebas de ELISA para el diagnóstico de la paratuberculosis en ovejas (Sugden, et al., 1991).

Con la finalidad de evaluar una prueba diagnóstica con la técnica de ELISA se enviaron muestras de 30 sueros bovinos (15 positivos y 15 negativos) a 8 laboratorios diferentes en Estados Unidos. Siete laboratorios (93.6%) estuvieron de acuerdo con los resultados, concluyendo que la prueba es buena (Collins, et al., 1993).

En otra evaluación se utilizó un paquete comercial de ELISA para detectar anticuerpos de *Map* en suero bovino y la prevalencia de diseminación de micobacterias en las heces fue estimada por medio de la detección de DNA con la secuencia de inserción de *Map*, IS900, usando una prueba de Kit comercial. La especificidad del diagnóstico fue evaluada usando muestras de sangre de un total de 123 cabras en 10 hatos que fueron considerados clínicamente libres de paratuberculosis. El DNA con IS900 fue detectado en 35 de 163 cabras (21%) de el hato infectado, los anticuerpos en suero a *Map* fueron detectado en 13 de 123 cabras negativas a la detección de DNA, en el hato infectado. Los resultados negativos de anticuerpos en suero a *Map* fueron confirmados para las 123 cabras de los hatos que fueron considerados clínicamente libres de paratuberculosis (Burnside. et al, 1994).

En México el diagnóstico de paratuberculosis se ha llevado a cabo en caprinos, para la detección de anticuerpos séricos, por medio de pruebas como FC, IDGA y ELISA. Estas pruebas tienen sensibilidad y especificidad variables, siendo la IDGA la prueba más utilizada y recomendada para el diagnóstico de la enfermedad en caprinos (Chávez . et al, 1995). En otros países para diagnosticar

la paratuberculosis se emplea ELISA por ser un excelente método de diagnóstico serológico ( Riviriego , 1996).

## **7. PREVENCIÓN Y CONTROL**

Pueden adoptarse varias precauciones higiénicas para restringir en lo posible la propagación del padecimiento. Son medidas adecuadas evitar la contaminación fecal del agua de bebida y de los alimentos, colocando los recipientes en posición alta, cercando pantanos y charcas, y clausurando los pastos contaminados hasta por tres años. Se debe de evitar pastar en bandas, ya que la contaminación fecal en pastos podría ser intensa. El suministro de aguas por tuberías a los animales pastando se ha relacionado con un decremento en la incidencia de la enfermedad de Johne en Inglaterra. El rastrillado frecuente de los pastizales para diseminar los montones de estiércol facilita la destrucción de las bacterias al exponerlas a la acción de la luz solar y la desecación. El abono en los establos y los corrales se extenderá solamente sobre campos cultivados. Aunque ocurra infección congénita, es todavía aconsejable criar a los terneros Lejos de las madres infectadas y, siempre que sea posible, en recintos individuales para impedir la propagación entre las crías. Si se considera la elevada frecuencia con que ocurren las infecciones cruzadas entre los bovinos, especialmente entre animales jóvenes, se verá la gran necesidad de separar las vacas parturientas y los terneros neonatos del resto del rebaño. Las vacas que están a punto de parir deben mantenerse separados del resto de los animales lecheros y dar calostro a sus terneros solamente durante 1 día, después de lo cual estos deben separarse. Los terneros de madres infectadas clínicamente no deben utilizarse nunca como animales sustitutos para otros rebaños. No se permitirá que las madres o nodrizas amamenten a las crías. Es importante coleccionar higiénicamente la leche que se administra en cubos y debe estimularse la crianza con sustitutos lácteos, en rebaños infectados, todo animal que muestre signos sospechosos debe aislarse hasta precisar su estado de salud. La adopción de estas precauciones higiénicas

ha permitido reducir la prevalencia de la enfermedad hasta una tercera parte, y la sensibilidad a la johnina en un 90 por ciento. (Blood, et al ,1992).

La falta de pruebas fidedignas y el largo periodo de inoculación de la enfermedad, hacen con frecuencia difícil el diagnóstico de la enfermedad de Johne. Dada la inexactitud de las pruebas diagnósticas disponibles no se puede, con frecuencia, erradicar la enfermedad más que por sacrificio radical e incorporación de nuevo ganado a la granja, tratando de evitar el ingreso subsiguiente de animales infectados. El otro factor que dificulta notablemente el control y la erradicación de la enfermedad de Johne es el nivel bajo de casos clínicos, la separación de los animales resistentes infectados en los estadios iniciales de los casos clínicos.

### **7.1. CONTROL A NIVEL DE REBAÑO**

Depende de la erradicación de los animales infectados, la higiene, para prevenir una diseminación adicional y en algunos casos, de la vacunación para incrementar la resistencia de la población residual.

El método conservador de la erradicación depende de la identificación de los animales portadores por las pruebas antes descritas, y su venta inmediata para su sacrificio. Se decreta cuarentena a la granja y se practican nuevas pruebas a los animales residuales, con intervalos de 6 meses, hasta obtener 2 pruebas negativas consecutivas en el rebaño. Por desgracia este método rara vez logra éxito en la erradicación de la enfermedad. Si cada uno de los animales del rebaño posee tal valor que resulta impracticable la técnica del sacrificio total, el método anterior puede reducir al mínimo las pérdidas. Una variante de este método es el de "cultivo y sacrificio". Se hacen cultivos de las heces de todas las vacas adultas cada 6 meses, los animales que resultan positivos se sacrifican junto con su descendencia. La enfermedad puede reducirse mucho con este método, pero los resultados dependen, en gran medida, el grado de contaminación ambiental. El

método tiene la virtud de que muchos animales con liberación fecal masiva de bacterias son descubiertas de inmediato lo que reduce la contaminación de los pastos; una alternativa adicional consiste en mantener separados a los rebaños infectados a los no infectados. La descendencia de las vacas infectadas se cría separadas de sus madres, y cualquier sugerencia para su incorporación al rebaño no infectado se considerará con cautela, el intento de erradicar la enfermedad puede hacerse despoblando la granja de todos los bovinos y ovinos y dejándola sin ganado de 1-3 años. Esta estrategia no suele ser aplicada por razones económicas obvias (Blood, et al , 1992).

## **7.2. CONTROL REGIONAL**

Rara vez se ha intentado la erradicación en áreas extensas por falta de una confianza en las pruebas diagnósticas disponibles y por la importancia relativa de la enfermedad de Johne en el pasado.

Pueden darse dos enfoques al problema de la erradicación, si la incidencia es suficientemente baja puede instituirse un programa de ensayo y sacrificio a nivel del rebaño, eliminando todo el ganado procedente de granjas infectadas y dejando éstas sin ocupar por rumiantes, por lo menos durante un año. Para que un programa de esta índole tenga éxito es importante contar con la población de ganaderos y autoridades. Si la incidencia es alta y ya se ha contemplado la erradicación de la tuberculosis o no se ha proyectado, puede aconsejarse la vacunación, y en la actualidad se están realizando ensayos al respecto de muchos países de Europa. Las pruebas utilizadas para describir los animales infectados no son suficientemente exactas y no es posible decretar cuarentena o impedir nuevas incorporaciones en virtud del largo período de incubación.

La mejor recomendación es garantizar la ausencia de la enfermedad en el lugar de origen pero también está expuesta a error.

Un método propuesto para calificar los rebaños individuales como libres de el *Mycobacterium paratuberculosis* incluye la eliminación de casos clínicos durante 3 años, pruebas intradérmicas negativas de Johnina en todos los bovinos de 6 meses o más (dos pruebas separadas en intervalos de 6 meses) coprocultivos negativos en todos los animales que tengan más de 2 años de edad (que se repetirán en el caso de los bovinos con reacción cutánea positiva).

En la actualidad, en la mayoría de los países la frecuencia de la Enfermedad de Johne, no justifica recurrir e implantar programas de erradicación regional intensiva, ni se dispone de pruebas diagnósticas suficientemente exactas que constituyan la base para el programa. En estas circunstancias los dueños de granjas afectadas deben ser estimulados para que adopten los métodos generales señalados, al referirnos al control a nivel del rebaño, preferentemente con asistencia técnica y financiera de las autoridades gubernamentales (Blood, et al, 1992).

Escogiendo animales positivos a la prueba, podría ser parte de algún programa de control de la paratuberculosis, la frecuencia de la prueba y el número de diferentes tipos de pruebas usadas es gobernado por muchos factores a través de los cuales son: el tipo de negocios en cual los animales son usados, la prevalencia del ganado estimado de paratuberculosis, las percepciones del dueño de la importancia de la paratuberculosis a la productividad del ganado, la capacidad del dueño para pagar por las pruebas de diagnóstico, la rapidez con la cual el dueño quiere acabar y controlar la paratuberculosis, y así el objetivo es el control ó la erradicación de la enfermedad.

Para la mayoría de los ganaderos lecheros comerciales, un ganado completo a la prueba de ELISA es el primer paso en un programa de control de paratuberculosis después a los animales positivos a ELISA son escogidos ganado, pero dentro de 12 meses, el ganado completo debería ser probado. Para esta segunda prueba de ELISA podría ser usado otra vez ó cultivos fecales, podría



ser usado al instante. ELISA es menos cara, pero el cultivo fecal puede ser de acuerdo para detectar animales que ELISA no detectó. Lo económico a favor de ELISA en un programa de control, pero los estudios de patobiología de la paratuberculosis indica que cada segunda ó tercera prueba debería ser un cultivo fecal para maximizar la probabilidad de detectar animales infectados( T.C. Michael, 1996 )

## 8. VACUNACION

La vacuna de Vallé es preparada con *M. paratuberculosis* viva en vehículo de aceite de parafinas y piedras pómez, o la de Sigurdsson con microorganismos muertos son los más utilizados, aunque también se ha utilizado en ovinos una micro vacuna por pulverización de las bacterias en un molino de bolas y suspensión anterior de las mismas en un vehículo de aceite de parafina. Con esta última vacuna hay menor reacción local que con la vacuna ovina normal de microorganismos vivos o muertos en el aceite, pero el título resultante de anticuerpos, quizás la inmunidad, se desvanecen más rápidamente que con otras vacunas.

Las vacunas que contienen células bacterianas enteras muertas tienen poder Inmunizante superior en bovinos, comparadas con las vacunas compuestas de células fraccionadas.

En bovinos sólo se practica vacunación en terneros de menos de 1 mes; desatendiendo recomendaciones anteriores la revacunación no se practica debido a que reduce el grado de protección y por el aspecto sumamente desagradable de los nódulos que ocasiona. La vacuna no brinda beneficio a algunos de los animales infectados, pero tampoco produce la enfermedad ni crea portadores ; una complicación importante consiste en que los animales vacunado reaccionan positivamente a las pruebas johnina y de tuberculina cuando se utiliza tuberculina de mamífero y aviar, pero la reacción es mucho menor cuando se recurre sólo a la

tuberculina de mamífero, la prueba positiva a la tuberculina es máxima 5 semanas después de la vacunación y desaparece por completo al cabo de 18 meses.

En ovinos se ha obtenido excelentes resultados con vacunas de Sigurdsson preparados con *M. paratuberculosis* muerto por el calor y con un vehículo de aceite mineral, disminuyendo la enfermedad a proporciones insignificantes.

El uso de la vacunación en ovinos no es impedido por interferencias con pruebas de tuberculina (Blood, et al ,1992).

Durante los últimos 60 años, vacunas de bacterias vivas y muertas han sido preparadas en muchos países para minimizar las pérdidas económicas debido a la paratuberculosis. Sin embargo, información no definida es disponible acerca del efecto de la vacunación en desechos fecales de *Mycobacterium paratuberculosis* y en pruebas de inmunodiagnóstico en grandes hatos lecheros bajo la pérdida de condiciones de manejo.

Los experimentos de vacunación han sido conducidos usando bacteria viva ó muerta, también como células rotas de *M. paratuberculosis*. Las ventajas de vacunas muertas están bien conocidas, así como sus desventajas (efecto protector moderado).

La vacuna y la infección de campo puede jugar un rol importante. Los resultados de pruebas serológicas perfeccionadas a 1 mes de edad indicó que los anticuerpos fueron pasados de vaca a becerro. Tales anticuerpos maternos podrían también proveer algún nivel de protección.

La prevalencia de paratuberculosis probado por pruebas microscópicas de haces decrementó de un 40% a 1.4% en ganado vacuno, mientras en ganado no vacuno, los niveles fueron mantenidos aproximadamente al 30%.



Los números positivos y dudosas reacciones alérgicas a bovino y tuberculina bovina contó para 43.3% mientras la respuesta a la tuberculina aviar para 56.6% de la reacción total.

Los resultados obtenidos para los toros no vacunados tendrían a mejorar de año en año. Esto fue probablemente debido a el decremento del número de bacterias vivas en su medio ambiente como un resultado del decremento de desechos fecales por becerros vacunados. Los toretes y toros fueron mantenidos en pequeños grupos de acuerdo al sexo y edad ( con 2 – 3 meses de diferencia ). Aunque la vacuna redujo esencialmente los desechos fecales y no eliminó la infección, aunque el efecto protector de las vacunas fue conocido, la influencia de la edad de las vacas y otros factores en vacunación no han sido estudiado en suficiente detalle por los métodos de diagnóstico en grandes hatos.

Después de la vacunación de becerros ó vaquillas, fue imposible distinguir entre infección con *M. paratuberculosis* y otras infecciones micobacteriales, específicamente tuberculosis por pruebas alérgicas. Todos los animales sacrificados fueron inspeccionados cuidadosamente y todos los casos sospechosos fueron examinados por métodos histológicos y bacteriológicos .

El desarrollo de vacunas más efectivas a *M. paratuberculosis*, debe ser más seguro para los factores de virulencia. La vacunación como un medio de reducción de la infección puede ser recomendado en hatos donde el sistema de manejo no puede ser cambiado (B. Kormendy, 1994).

La vacunación contra paratuberculosis de todos los animales recién nacidos ha sido perfeccionada desde abril de 1984 en hatos con una alta incidencia de casos clínicos de paratuberculosis usando una vacuna conteniendo *M. paratuberculosis* inactivada al calor en agua / emulsión de aceite mineral.

La vacunación contra paratuberculosis ha reducido el número de animales clínicamente afectados y una reducción de número de animales infectados. Wille Smith (1982 ) sugirió que la infección se puede librar después de 4 – 6 años de vacunación.

La vacuna (Central Veterinary Institute, Lely stand, The Netherland) 5Mg de la bacteria inactivada por el calor *M. paratuberculosis*, suspendida en agua / emulsión de aceite mineral. El volumen de cada dosis fue de 2 ml. y fue aplicada subcutáneamente una aplicación, a la edad de 30 días.

Una alternativa para la evaluación del efecto de una vacuna es vacunar al 50% de los becerros y dejar la otra mitad como control no vacunado.

Se debe enfatizar que las conclusiones de un experimento son restringidas a comparación de la incidencia de la infección en animales no vacunados, constituyendo una retrospectiva del grupo control dando un rango a la infección inicial, y en animales vacunados, representar el cambio en la incidencia de la infección después de la administración de la vacuna. La incidencia de cultivos positivos, alteraciones histológicas y paratuberculosis clínica es comparable con los animales no vacunados.

Después del uso de la vacuna, el porcentaje de animales positivos incrementó y la incidencia de animales infectados también incrementó. Sin embargo se encontró en otros experimentos que el porcentaje de animales con cultivos positivos por *M. paratuberculosis* decremó significativamente después de la vacunación, vacunando a los animales al primer mes de vida redujo significativamente el número de animales con paratuberculosis clínica.

Esos hallazgos apoyan los resultados de otras investigaciones usando el mismo ó una vacuna comparable ó diferentes vacunas, ambas modificadas, vivas

ó atenuadas. La administración de la vacuna puede dar valor en hatos altamente infectados para prevenir pérdidas financieras.

Para agregar, el porcentaje de animales con histología positiva por paratuberculosis fue más baja en animales vacunados ambos el porcentaje más bajo de animales con histología positiva puede indicar mejor resistencia contra infecciones con *M. paratuberculosis*, pero la infección es obviamente no prevenida por el uso de la vacunación ( Q . H. Wentik, et al, 1994 ).

## 9. TRATAMIENTOS

Paratuberculosis es invariablemente fatal, muchos compuestos antibacteriales han sido avalados como agentes potenciales terapéuticos. *Micobacterium tuberculosis*, *M. leprae*, *M. paratuberculosis* , son similares en morfología y requerimientos para crecimiento y debería ser afectado similarmente por agentes farmacológicos. Porque el organismo es intracelular, la mayoría de las drogas que han sido usadas para el tratamiento de paratuberculosis son capaces de penetrar dentro de las células, muchas de estas drogas han proveído eficacia para el tratamiento de paratuberculosis y lepra en humanos. La micobacteria crece lentamente, necesitando terapias prolongadas. Los antimicrobiales que han sido usados para manejar los casos clínicos de paratuberculosis son; la isoniaziada, rifampin, estreptomina, amikazina, kanamicina, clofazimina ( Rimiro fenancia B663 ), y dapsona ( 4:4' diamino difenil sulfuro ).

Poco es conocido del efecto de las drogas usadas para el tratamiento de paratuberculosis en semen y embrión. La isoniaziada y la clofazimina tiene un efecto feticida en ciertos animales de laboratorio cuando se administran en altas dosis. La experiencia de toros tratados con isoniaziada – rifampin sugiere que el semen viable puede ser colectado. La relación del período del embrión tratado de

madres donadoras de embriones son expuestos a la droga y también minimiza los riesgos teratogénicos de esas drogas.

## 9.1. AGENTES QUIMOTERAPEUTICOS

### ISONIAZIDA

La isoniazida es el hidrácido de ácido isonicotico. Es el bactericida contra crecimiento rápido de *M. paratuberculosis* y penetra a las células fácilmente. Los organismos inactivos no son afectados y pueden resumirse su actividad después de que la droga es inoculada. El mecanismo de acción de la isoniazida involucra los efectos del metabolismo de los lípidos, biosíntesis de los ácidos nucleicos y la glicosis. La acción primaria de la isoniazida es para inhibir la biosíntesis de ácidos micolíticos, que son importantes constituyentes de la pared micobacterial.

Los estudios fármaco cinéticos en rumiantes indica que la isoniacida es absorbida lentamente después de la administración oral, con alta difusibilidad dentro de todos los fluidos corporales y celulares. La isoniazida se administra oralmente en ganado, a dosis de 12 mg/ml de suero después de 3 horas. Por 12 horas, estos niveles decremantan a menos de 1 mg/ml. la concentración del suero de isoniazida después de la administración oral en cabras, ovejas y becerros, es más alta que en vacas dando la misma dosis.

Una dosis diaria de 20 mg/ kg de peso corporal de isoniazida ha sido reportada por ser clínicamente superior a 10 mg/kg de peso corporal en el tratamiento de tuberculosis bovina. Un periodo de tratamiento de 9 a 11 meses es superior a 7 meses.

La isoniazida es metabolizada permanentemente por acetilación e hidrólisis. Severas lesiones hepáticas han sido reportadas en humanos que reciben terapia de isoniazida, la característica patológica es necrosis hepática multilobular, por lo

tanto los animales que reciban isoniazida deberían tener evaluados sus enzimas hepáticas cada mes.

En el ganado los signos de intoxicación son pérdida del apetito, decremento en la producción láctea, cuartos tiesos ó erectos duros, son vistos a una dosis de 30 mg/kg de pesos corporal de isoniazida oralmente. Una atonia marcada es vista en una dosis oral diaria de 60 mg / kg de peso corporal y muerte a los 100 mg / kg de peso corporal. La isoniazida es disponible en tabletas de 50, 100 y 300 mg. (Guy, St Jean, 1996).

## **CLOFAZIMINA**

La clofazimina ( disponible en cápsulas de 50 y 100 mg ), inhibe la función temporal del DNA por sus bandas. La clofazimina se acumula en macrófagos y tiene buena eficacia contra organismos intracelulares. Las banda de clofazimina tienen preferencia a la micobacteriales de DNA. La clofazimina es una bacteria débil contra *M. lepra* y tiene alguna actividad contra el *M. avium* – intracelular complex. La clofazimina es activa in vitro contra 18 cepas de micobacterium. La clofazimina es conocida por tener la mitad de vida de 2 meses en humanos (Guy, St Jean, 1996)

## **RIFAMPIN**

El rifampin es un antibiótico semisintético derivado de la rifamicina B, una fermentación natural del producto de *Neocardio Mediterranei*.

Rifampin tiene un amplio espectro antibacterial y es bactericida a bajas concentraciones contra muchos microorganismos gram – negativos y gram – positivos. La mínima concentración inhibitoria de rifampin para la bacteria gram – negativo es más alta que para organismos gram – positivos porque la habilidad del rifampin para penetrar más profundamente a la membrana exterior a la más

profunda es su eficacia contra ambos microorganismos intracelulares y extracelulares. El rifampin es un líquido soluble y entra a los leucocitos. Las concentraciones terapéuticas están acabadas en todos los comportamientos del tejido incluyendo, leche, hueso, fluido cerebro espinal, exudados y tejidos blandos. La orina, heces, saliva, sudor y lagrimas pueden ser coloreados de color naranja con la presencia del rifampin y sus metabolitos.

Rifampin inhibe el DNA dependiente, el RNA polimerasa a concentración baja de suero. El desarrollo de la resistencia de la bacteria a rifampin ocurre en el proceso one – sep por alteración del sitio del blanco a RNA polimerasa.

La selección de las capas resistentes puede ser disminuido por combinación al tratamiento con antibióticos. Rifampin debería siempre ser administrado concurrentemente con algún otro agente antimicrobial para decrementar el potencial para desarrollar la resistencia.

Una de las bases de la farmacocinética y las concentraciones de suero, una dosis de rifampin de 20 mg / kg de peso corporal oralmente cada 24 horas debería proveer las concentraciones adecuadas de suero para el tratamiento de rifampin e infecciones bacteriales.

En el ganado 20 mg de rifampin / kg de peso corporal oralmente dado cada 24 horas también producirá las concentraciones terapéuticas de suero.

No hay datos en reacciones adversas que hayan sido reportados por otros animales administrados en dosis intermitentes.

El rifampin induce a las enzimas microsomales hepáticas en algunos espacios. El rifampin induce a la hepatitis, es visto raramente en pacientes con función normal hepática. El lado de los efectos no han sido reportados con la

administración de rifampin a potros, caballo adultos, ovejas u otro ganado (Guy St Jean, 1996 ).

## **DAPSONA**

La dapsona ( 4:4' - diaminodifenil sulfato ) bacteriostático, previno el crecimiento de *M. paratuberculosis* in vitro en concentraciones de 200 mg / ml. es un antagonista competitivo del ácido paraaminobenzenico, así previniendo la síntesis bacterial normal del ácido fólico. La dapsona tiene actividad contra micobacteria, aunque las sulfamidias, que tienen un mecanismo de acción similar, no lo hace, probablemente porque de las pequeñas diferencias en estructuras químicas y bandas a las enzimas responsables para la biosíntesis.

La dapsona es disponible en tabletas en contenido de 25 ó 100 mg. La droga es distribuida a través del líquido corporal total y está presente en todos los tejidos. Para tratar la paratuberculosis, dosis diaria de 77 mg de dapsona / kg de peso corporal a 600 mg total de la dosis ha sido usada en ganado.

## **AMINOGLICOSIDOS**

La estreptomycin, kanamicina y amikacina, están activos contra muchas especies de micobacteria. La estreptomycin ha sido mostrada para inhibir el crecimiento del bacilo tuberculoso. In vitro, la estreptomycin dispone de más grande actividad contra *M paratuberculosis* que la kanamicina. Los resultados de los estudios in vitro con estreptomycin demostraron que 1 mg / ml previene el crecimiento de *M. paratuberculosis* . una concentración sanguínea de estreptomycin alta para prevenir el crecimiento de *M paratuberculosis* in vitro ha sido obtenido en vacas recibiendo 55 mg de estreptomycin / kg de peso corporal parenteralmente una vez al día.



Los aminoglicósidos son bactericidas. Ellos inhiben la síntesis de proteína y decreta la fidelidad de translación del mensajero de DNA a el nivel del ribosoma. La terapia más larga es continuada, la, más grande es la incidencia de la resistencia a estreptomina. Otros antibióticos dan comúnmente con estreptomina que reduce el rango a que la micro bacteria llega a ser resistente a estreptomina. Los aminoglicosidos son cationes altamente polares y son absorbidos pobremente en el tracto intestinal. Ellos son absorbidos rápidamente en el sitio de inyección intra muscular ó subcutáneo. Porque de su naturaleza polar. Los aminoglicósidos no entran en las células vivas rápidamente y tienen limitado la actividad contra la bacteria intra celular. Todos los aminoglicosidos tienen el potencial de producir nefrotóxicos reversible e irreversible y ototoxicos. La toxicidad varía entre aminoglicosidos. El espectro de actividad antimicrobial de amikacina es la más marcada del grupo esta inactivada por algunas enzimas bacteriales. La amikacina es extremadamente activa contra muchas especies micobacteriales (Guy. St. Jean, 1996)

## **ETAMBUTOL**

El etambutol es soluble en agua y compuesto estable al calor. El etambutol es efectivo contra casi todas las cepas de *M. paratuberculosis* y otras micro bacterias . el mecanismo de acción del etambutol es desconocido. El hidroclorehidrato de etambutol es disponible en tabletas de 100 – 400 mg. Es excretado primeramente por el riñón, el etambutol se acumula en pacientes con mala función renal ( Guy. St. Jean, 1996).

## **TRATAMIENTO RECOMENDADO**

La terapia paratuberculosis clínica en el ganado ha mejorado a través de los años, se requiere de medicación diaria para largos periodos. Sin embargo es tratado en etapa temprana de la infección, ellos pueden recuperarse de la paratuberculosis. La primera droga comúnmente usada es la isoniazida a 20 mg /



kg de peso vivo. La ventaja de la isoniazida son su seguridad y efectividad y el costo mínimo. En los casos tempranos de paratuberculosis, la combinación de isoniazida ( 20 mg / kg cada 24 horas ) y rifampin ( 20 mg / kg cada 24 horas ) administrado oralmente es probablemente el tratamiento más efectivo . En casos severos que son inminentemente de por vida, un aminoglicosido debería ser agregado inicialmente por 3 ú 8 semanas para incrementar la probabilidad que los organismos de la micobacteria son sensitivos al menos a dos de las antibióticas. La administración de los antihistamínicos con johnina intravenosa podría ser intentado al principio de cada calendario de tratamiento,

El animal debería de recibir isoniazida para el resto de su vida ó hasta que los signos de toxicidad aparezcan. La terapia con rifampin puede ser interrumpida ó sustituida si los signos clínicos de la paratuberculosis desaparezcan y el costo de la terapia es juzgada en exceso. Si los signos clínicos de la paratuberculosis regresan, la terapia con rifampin debería ser inmediatamente aplicada nuevamente y el animal debería ser monitoreado para reacciones adversas causada por dosis intermitentes. La terapia profiláctica con isoniazida y rifampin debería ser considerada en animales valuados con la infección (cultivos fecales positivos ó cultivos de módulos linfáticos) pero la enfermedad no aparece (signos clínicos).

El éxito de la terapia para paratuberculosis en animales severamente afectados, usando este tratamiento, usado en toros ó vacas madres de embriones. Antes de la terapia esos animales fueron infértiles por un prolongado período de tiempo, presumiblemente por la pobre condición corporal resultante de la paratuberculosis. Un total de 154 embriones han sido colectados y 57 han sido transferidos a las vacas receptoras de las vacas donadoras de embriones que estuvieron recibiendo isoniazida para el tratamiento de paratuberculosis. Comúnmente, esos embriones han resultado en 36 confirmados como preñadas y 9 becerros normales.

El tratamiento de paratuberculosis clínica en 5 vacas con clofazimina sola a 2 mg / kg de peso vivo cada 24 horas ha sido exitosa.

Es extraordinariamente el fácil aislamiento para minimizar el potencial de transmisión del organismo de M paratuberculosis a través del hato de animales infectados a través de las heces (Guy. St. Jean, 1996)

## LITERATURA CITADA

- 1.-Abbas A.K., H.L. Andrews. , J. S. Pober. (1995): Inmunología celular y molecular. 2a. Edición, interamericana, España. 230-237
- 2.-Bruce M.W., A.H. Meek, J.R. Duncan (1991): An evaluation of selected screening tests for bovine paratuberculosis. *Can. J. Res.* 55:252-259
- 3.-Blood D.C., O.M. Rodostis. (1992): Paratuberculosis. 7ª. edición, interamericana London Ingl. , (1)777:784
- 4.-Burnside D.M. and B. O. Rowley. (1994): Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of paratuberculosis in goats. *Am. Vet. Res.* 55: 465-466
- 5.- Clarke C.J., I.A.P. Patterson (1996): Comparison of the absorbed ELISA and agar gel immunodiffusion test with clinicopathological findings in ovine clinical paratuberculosis. *Vet. Rec.* 618-621
- 6.- Collins M. T.(1996). Diagnosis of paratuberculosis. *Med. Vet. An.* 12:357-371
- 7.-Cox J.C., M.T. Collins, D.C. Sockett, S. Ridge. (1991): Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for Johnes disease. *Journal Clin. Mic.* 272-276
- 8.-Challans J.A., K. Stevenson, H.W Reid, J.M. Sharp.(1994):A rapid method for the extraction and detection of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis from clinical specimens. *Vet. Rec.* 95-96
- 9.-Chávez, G.G, Suárez-Guemes ., Collins M. T. (1995): Adaptación de una prueba de ELISA en el diagnóstico de paratuberculosis caprina en un rebaño de México. *Fac. Med. Vet. Zoot.* 38
- 10.- Egan J., E. Weavers and D. O'Grady. (1999): An evaluation of diagnostic test for Johnes' disease in cattle. *Irish Vet. J.* 52:86-89
- 11.-Guy St. J.. (1996): Treatment of paratuberculosis in cattle. *Vet. Clin. Food An. Prac.* 417-430
- 12.-Hardin L. E. and J. Garret. (1996): Comparison of milk with serum ELISA for detection of paratuberculosis in dairy cows. *J. Vet. Med.* 120-122
- 13.- Hilbink F., D.M. West, G.W de Lisle. (1994): Comparison of a complement fixation test a gel diffusion test and two absorbed and unabsorbed ELISAs for the diagnosis of paratuberculosis in sheep. *Vet. Microb.* 41:107-116

- 14.-Kennedy A. (1997): Does *Mycobacterium paratuberculosis* cause Crohns disease?. *Irish Vet. J.* 45:1-10
- 15.-Kim Y.G, Bench-Nielsen, Gordon J.C., Slemons R.D. , Spangler E. (1989): Comparison of two methods for isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine fecal samples. *Am. J. Vet. Res.* 50(7):1110-1113
- 16.-Kormendy B. (1994): The effect of vaccination on the prevalence of paratuberculosis in large dairy herd. *Vet. Microb.* 41:117-125
- 17.-Raymond W. S., R. H. W. C. L. Buckley, P. Spencer, A.E. Rosenberg, L.J. Hutchinson. (1994): Diagnosis of paratuberculosis in dairy cattle using enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against *Mycobacterium paratuberculosis* in milk. *Am. J. Vet. Res.* 55(7):905-909
- 18.-Riviriego F. J. (1996): Diagnóstico de paratuberculosis caprina por inmunoen ensayo. Estudio preliminar. *Rev. Salud Anim.* 18(2):69-76
- 19.-Sockett D.C., D. J. Carr, W. D. R. M T. Collins. (1992): A repository of specimens for comparison of diagnostic testing procedures for bovine paratuberculosis. *J. Vet. Diag. Invest.* 4:188-191
- 20.- Sockett D.C. , T. A. Conrad, Ch. B. Thomas . (1992): Evaluation of four serological test for bovine paratuberculosis. *J. Clin. Microb.* 30:1134-1138
- 21.-Spangler E., S. Bench-Nielsen and L. E. Heider. (1992). Diagnostic performance of two serologic tests and fecal culture for subclinical paratuberculosis and associations with production. *Prev. Vet. Med.* 13:185-195
- 22.- Sudgen E.A., B.W. Brooks, N.M. Young. (1991): Chromatographic purification and characterization of antigens A and D from *Mycobacterium paratuberculosis* and their use in enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis of paratuberculosis in sheep. *J. Clin. Microb.* 29(8):1659-1664
- 23.- Sweeny R. W., R. H. Whitlock, C. L. Buckley, et al. (1994): Diagnosis of paratuberculosis in dairy cattle using enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies against *Mycobacterium paratuberculosis* in milk. *Am. J. Vet. Res.* 55(7):905-909
- 24.-Taylor T.K, Wilks C.R (1981): Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from the milk of a cow with Johne's disease. *Vet. Rec.* 532-533
- 25.-Vélez Ch., G.G. Suárez-Guemes, T.M. Collins. (1995): Adaptación de una prueba de ELISA en el diagnóstico de paratuberculosis caprina en un rebaño de México. *Vet. Mex.* 35-39

- 26.-Wentik G.H.,J.H. Bongers . (1994): Incidence of paratuberculosis against M. paratuberculosis in two infected dairy herds. *J. Vet. Med.* 41:517-522
- 27.- Whitlock R.H. , A. E. Rosenberg, R. W. Sweeny, P.A. Spencer.(1996): The performance of fecal culture and serologic testing for Johne´s disease: national comparative survey of diagnostic laboratories. *School Vet. Med.* 242-247
- 28.- Woodruff T. S., W.P. Shulaw . (1991): Serodiagnosis of bovine paratuberculosis by use of a dot enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. J. Vet. Res.* 52(2): 217-221
- 29.-Yves P. , B. W. . Remenda, B. J. Chelack and D. M. Haines. (1996): Detection of Mycobacterium paratuberculosis in formalin-fixed parafin-embedded tissues by the polymerase chain reaction. *Can. J. Vet. Res.* 60:115-120