

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



***Mycobacterium avium* subesp. *paratuberculosis*
en Medicina Veterinaria**

**POR:
APOLONIA ROCHA ORTIZ**

MONOGRAFÍA

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

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

MAYO 2007

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Mycobacterium avium subesp. *paratuberculosis*
en Medicina Veterinaria

MONOGRAFÍA QUE PRESENTA LA C. APOLONIA ROCHA
ORTIZ QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DE LOS
ASESORES COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR:



MC. SERGIO T. BARRAZA ARAIZA
ASESOR PRINCIPAL

MC. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ
COLABORADOR



MC. JOSÉ LUIS SANDOVAL ELÍAS
COORDINACIÓN DE DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Mycobacterium avium subesp. *paratuberculosis*
en Medicina Veterinaria

MONOGRAFÍA QUE PRESENTA LA C. APOLONIA ROCHA
ORTIZ QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO
EXAMINADOR, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

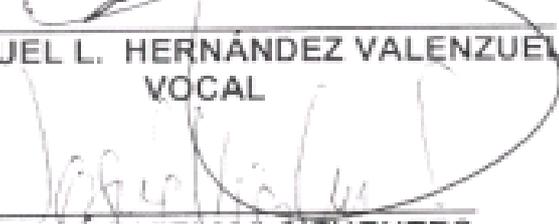
APROBADO POR:



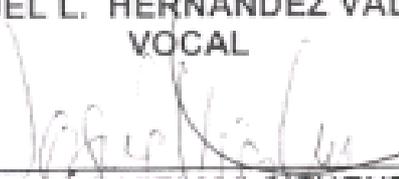
MC. SERGIO BARRAZA ARAIZA
PRESIDENTE DEL JURADO



MC. JORGE ITURBIDE RAMIREZ
VOCAL



MVZ. MANUEL L. HERNÁNDEZ VALENZUELA
VOCAL



DR. JESÚS VIELMA SIFUENTES
VOCAL SUPLENTE



MC. JOSÉ LUIS SANDOVAL ELÍAS
COORDINACIÓN DE DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL

DEDICATORIAS

A mis padres

Por darme la oportunidad de emprender este viaje, darme su apoyo sincero y por ayudarme a conseguir mis objetivos.

A mis hermanos

Por apoyo incondicional y su ayuda económica
Sin ellos no tendría una profesión.

A José Alberto con mucho muchísimo amor
por estar a mi lado siempre que lo he necesitado

A mi hija Lizett Adriana por ser mi razón
de ser, de vivir, de superarme día con día.
Todo lo hago por ti mi amor.

A mi tío Chelo porque siempre ha estado
pendiente de mí.

A mi amiga Lore por ser mi cómplice
y estar a mi lado

A mis compañeros de generación
Por soportarme durante 5 años.

AGRADECIMIENTOS

A **DIOS** por que sin el nada existe, sin su ayuda y protección no hubiera logrado mis objetivos y por poner en mi camino a José Alberto.

A mi “**ALMA TERRA MATER**” le doy las gracias por darme la oportunidad de ser uno más de sus alumnos y darme los medios para lograr ser M.V.Z.

A **MIS MAESTROS** por compartirme sus conocimientos y experiencia.

A mis asesores **MC. SERGIO I. BARRAZA ARAIZA** y **MC. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ** por el tiempo dedicado en la elaboración de este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES	2
2. IMPLICACIONES ZOONOTICAS	3
3. DEFINICIÓN	5
4. ETIOLOGÍA	5
5. HOSPEDEROS	6
6. DISTRIBUCIÓN	7
7. PÉRDIDAS ECONÓMICAS	7
8. SIGNOS	9
8.1. Bovinos	9
8.2. Ovinos y caprinos	12
9. ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD	13
10. LESIONES	14
10.1. Patogénesis	15
11. VÍAS DE TRANSMISIÓN	17
12. SUPERVIVENCIA	18
13. DIAGNÓSTICO	19
13.1. Diagnóstico presuntivo	19
13.2. Diagnóstico clínico	19
13.3. Diagnóstico definitivo o de laboratorio	19
14. PREVENCIÓN Y CONTROL	23
15. TRATAMIENTO	26
16. CONCLUSIÓN	27
17. REFERENCIAS	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Bovino con manifestaciones clínicas de diarrea y caquexia	10
Fig. 2. Bovino con edema submandibular y signos de diarrea	11
Fig. 3 Lesión granulomatosa del intestino	14
Fig. 4 Serosa intestinal edematosa y ganglios ileocecales tumefactos	15
Fig. 5 Dilatación de vasos linfáticos mesentéricos	15
Fig. 6. Engrosamiento del intestino delgado	16

RESUMEN

La Paratuberculosis o enfermedad de Johne, es una enfermedad infecciosa crónica e incurable, que afecta a rumiantes domésticos y salvajes, cuya característica principal es la pérdida de peso progresiva y la presencia de diarrea crónica, que produce deterioro de la salud y finalmente la muerte del animal. Esta enfermedad es causada por *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*; una bacteria intracelular facultativa, aerobia, Gram positiva, ácido resistente.

Esta enfermedad afecta a un amplio rango de especies animales tanto rumiantes como no rumiantes; tiene una distribución mundial y su modo de diseminación es insidioso y es responsable de generar pérdidas económicas importantes en la industria lechera, debido a que solo en algunas ocasiones existen manifestaciones clínicas su importancia real ha sido subvalorada.

Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis es la micobacteria que mejor resiste a los factores físicos y químicos; la principal vía de transmisión es ruta fecal-oral. Las pruebas serológicas actualmente disponibles para diagnosticar la enfermedad son eficaces pero a menudo de poca sensibilidad, sobre todo durante la enfermedad subclínica; su control es muy difícil de realizar por su habilidad de infectar muchas especies animales diferentes.

El tratamiento con antibióticos de los casos con paratuberculosis son imprácticos en el ganado comercial, debido al alto costo de los medicamentos.

INTRODUCCIÓN

El grupo de micobacterias conocido como complejo *Mycobacterium avium* (MAC) pertenece al género *Mycobacterium*, dentro de las no tuberculosas o ambientales. Este complejo incluye *M. avium* spp. *avium*, *M. avium* spp. *paratuberculosis*, *M. avium* spp. *silvaticum* y *Mycobacterium intracellulare*. *M. avium* es el causante de la tuberculosis en las aves y *M. intracellulare* es el antiguo bacilo de Battey, aislado por primera vez en un paciente tuberculoso en Battey, Georgia (USA). Este complejo incluye el mayor número de patógenos para los humanos, pájaros, y rumiantes (1-5). La designación de la subespecie *M. paratuberculosis* está basada en el estudio de hibridación de ADN-ADN y el análisis del numérico taxonómico (6).

Se trata de bacilos Gram positivos, ácido-alcohol resistentes y aerobios. Están encuadrados en el grupo III de la clasificación de Runyon, esto es, son de crecimiento lento y no fotocromógenos. Son ubicuos en el ambiente (han sido aislados en agua natural y de suministro, polvo, alimentos, animales, etc.) y son capaces de causar enfermedades en los animales y en el hombre, pero no hay evidencia de la transmisión de persona a persona (2).

Al hablar de la taxonomía de las micobacterias hay que señalar dos rasgos generales importantes: la velocidad de crecimiento que diferencia claramente dos grupos de especies y la identificación a nivel de especie que exige mucho más costo del que es aceptado de cara al establecimiento de un diagnóstico y a la aplicación de un tratamiento, lo que da lugar a la creación de los llamados complejos de especies. (7)

Respecto a la velocidad de crecimiento, la diferencia se define en el plazo de 7 días, con la mayor parte de las especies patógenas perteneciendo a las de crecimiento lento. *Mycobacterium avium* subesp. *paratuberculosis* (*M. avium* subesp. *paratuberculosis*) es un caso particular en cuanto a velocidad e crecimiento ya que es más de 20 veces menor que la de *E. coli* y unas 4 menor que la de *M. tuberculosis* (7).

El objetivo de este trabajo es la revisión de los aspectos más relevantes de la paratuberculosis así como su importancia en la salud pública.

1. ANTECEDENTES

A pesar que la paratuberculosis o enfermedad de Johne es una enfermedad que se reconoce desde hace más de un siglo y no había demostrado una presencia preponderante en las explotaciones de rumiantes, ha incrementado su importancia en los últimos años dependiendo de los avances que se hacen en el control de otras enfermedades, como brucelosis y tuberculosis (8).

La paratuberculosis es una enfermedad infecciosa ampliamente conocida. La antigüedad de su descripción y su amplio cumplimiento de los postulados de Koch y el hecho de que afecte a todas las especies de rumiantes domésticos en, prácticamente, todo el mundo esto es lo que le da su importancia y relevancia. La veracidad de las anteriores afirmaciones hace aún más curioso el extraordinario grado de controversia e indecisión que se genera en relación con cuestiones que afectan desde al nombre del agente hasta su potencial zoonótico, como una posible causa de la enfermedad de Crohn en el humano (7,9).

Esta fue formalmente descrita por primera vez por Johne y Frothingham en 1895 en una vaca en Alemania, en aquel trabajo se diagnosticó un cuadro clínico de diarrea y caquexia, la presencia de lesiones granulomatosas y engrosamiento de la pared intestinal, presencia de bacilos intracelulares facultativos ácido – alcohol resistentes en dichas lesiones cuyo cultivo y aislamiento fue un problema por ser una bacteria nutricionalmente exigente micobactina dependiente y de crecimiento lento, requiriendo generalmente más de 12 semanas para obtener colonias visibles (7, 10-13).

Gracias a la confirmación del tipo de lesiones y a la presencia de bacilos ácido – alcohol resistentes en un momento en el que la tuberculosis acababa de ser descrita y todavía era la estrella de la patología gracias a la brillantez de Koch, los autores asumieron que se trataba de una forma inusual de esta infección, una conclusión impecable dado el desarrollo de la patología infecciosa en aquellos momentos. Aún es más, dadas las características morfológicas de las lesiones, los autores plantearon

una hipótesis que, negada durante casi un siglo ha sido finalmente confirmada con el advenimiento de las técnicas de genética molecular (7).

Para Johnne y Frothingham el bacilo causal era una micobacteria de tipo aviar, algo que fue formalmente reconocido en 1990 cuando se publicó en un estudio que demostraba que el agente causal de la paratuberculosis formaba un conglomerado de cepas claramente diferenciado de otras similares, pero siempre dentro de los límites de variabilidad de la especie madre *Mycobacterium avium*. En consecuencia, desde entonces, el nombre oficial del agente de la paratuberculosis es *M. avium* subesp. *paratuberculosis* (6, 7).

La claridad de la descripción de la enfermedad permitió constatar rápidamente que la infección se encontraba ampliamente distribuida por todo el mundo y cuyo agente causal, al igual que la lepra, no era posible de aislar. Esta dificultad sin embargo no persistió durante largo tiempo ya que muy pronto Twort e Ingram lograron definir las condiciones en las que era posible cultivar la bacteria en medio artificial en el laboratorio y reproduciendo la enfermedad experimentalmente en ganado infectado y, así demostrar la validez de los postulados de Koch para la paratuberculosis. Estos trabajos definieron la que sería una de las dos condiciones más importantes de identificación del agente de la paratuberculosis en los años sucesivos, como es su dependencia del factor especial de crecimiento conocido como micobactina (6, 7).

El estudio de la paratuberculosis pareció recibir escasa atención al de las décadas sucesivas, excepto por los trabajos de Valleé y Rinjard, que hicieron los primeros estudios de campo con una vacuna frente a la paratuberculosis. A partir de los años cincuenta se produjo un nuevo interés en la puesta a punto de técnicas de diagnóstico y en el desarrollo de vacunas que inició un periodo de atención creciente que se extiende hasta nuestros días (7).

2. IMPLICACIONES ZONÓTICAS

La enfermedad Crohn (CD) también es una inflamación crónica del intestino distal exhibiendo una patología similar a la paratuberculosis en los rumiantes. La prevalencia

de CD se estima que es de 0.15% entre la población de los EE.UU. que produce morbilidad y costo médico. *M. avium* subesp. *paratuberculosis* se ha implicado como la causa de CD en los humanos. Actualmente, la evidencia para un vínculo permanece inconclusa ya que no se ha demostrado que las cepas compartan un papel causal o si se presenta de forma incidental por lo tanto hace casi 90 años se propuso el hecho de que ambas comparten el mismo agente etiológico (6, 8, 9, 13-30).

Para *Bernstein C.N., et. al.* 2003 las similitudes entre la enfermedad de Johne y la enfermedad de Crohn pueden ser resumidas como sigue:

1. Ambas enfermedades típicamente comienzan cuando los individuos son jóvenes.
2. Las manifestaciones clínicas de ambas enfermedades típicamente empiezan después de la madurez sexual.
3. Ambas enfermedades se presentan en grupos de familias o manadas.
4. El sitio ideal para la enfermedad es el ileon.
5. Estas enfermedades comparten respuestas del hospedero similares, tales como las descritas por histopatología.
6. Los signos clínicos de diarrea y pérdida peso son similares. Los granulomas están universalmente presentes en los animales con la enfermedad de Johne, pero ocasionalmente están presentes en aproximadamente un tercio o la mitad de los sujetos con la enfermedad Crohn. (31)

La forma de transmisión es incierta; sin embargo, algunas evidencias sugieren que los humanos pueden infectarse por leche contaminada. Actualmente, no se conoce si la pasteurización comercial mata eficazmente al *M. avium* subesp. *paratuberculosis* en la leche cruda contaminada (12, 13, 19, 32).

La relación entre ambas enfermedades ha servido como un impulso extenso para controlar la enfermedad de Johne (33).

3. DEFINICIÓN

La Paratuberculosis o enfermedad de Johne, es una enfermedad infecciosa crónica e incurable, que afecta a rumiantes domésticos y salvajes, cuya característica principal es la pérdida de peso progresiva y la presencia de diarrea crónica, que produce deterioro de la salud y finalmente la muerte del animal. Esta enfermedad es causada por *M. avium* subesp. *paratuberculosis*; una bacteria intracelular facultativa, aerobia, Gram positiva, ácido resistente, que infecta a los macrófagos de la lámina propia del intestino, ocasionando una enteropatía granulomatosa que da como resultado: deficiente absorción de nutrientes esenciales, pérdida de proteínas y en consecuencia el cuadro clínico descrito anteriormente (1, 3, 10, 14, 16, 18, 19, 20, 21, 26, 27, 30, 31, 33-55).

4. ETIOLOGÍA

M. avium subesp. *paratuberculosis* fue inicialmente denominada *Mycobacterium enteritidis chrinicae pseudotuberculosis bovis*, en el mejor estilo de denominación gráfica de los seres vivos. Sin embargo, no tardó mucho tiempo en convertirse en *Mycobacterium johnei* y, finalmente, *M. avium* subesp. *paratuberculosis*. Su proximidad a las micobacterias aviares se fue confirmando a lo largo de los años mediante estudios inmunológicos y bioquímicos, y, posteriormente genéticos (7).

Taxonómicamente, *M. avium* subesp. *paratuberculosis* pertenece al orden *Actinomycetales*, suborden *Corynebacteriae*, junto a corinebacterias, nocardias y rodococos de los que se separa en una familia (*Mycobacteriaceae*) muy homogénea en el que solo se diferencia el género *Mycobacterium* (7, 24).

La pertenencia de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* al género *Mycobacterium* ya define una serie de características comunes con todo el género, como son su ácido – alcohol resistencia, la riqueza de su ADN en Guanina + Citosina y su contenido en ácidos micólicos. Por lo demás, el género *Mycobacterium* compuesto hasta los años ochenta por 41 especies, engloba en la actualidad más de 70, y es muy difundido ya que se encuentra en todo el mundo en biotipos muy variados, entre los que

predominan los de vida libre, y no presenta peculiaridades metabólicas extraordinarias respecto de otras especies (5, 6, 7, 9, 12, 56-58).

Esta micobacteria se diferencia de otras por la presencia de la secuencia de inserción IS900 (59). El otro gran elemento diferenciador de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* es su dependencia de micobactina. Esta es un compuesto quelante del hierro que producen casi todas las micobacterias y que permite su crecimiento en medios muy pobres en este oligoelemento. Solamente, *Mycobacterium vaccae* y algunas subespecies de *Mycobacterium avium* parecen carecer de esta sustancia, y por lo tanto, ser incapaces de crecer en los medios habituales para el aislamiento de micobacterias. En realidad, este requerimiento se ha demostrado que no es absoluto ya que depende del medio, pero junto con la velocidad de crecimiento, debido a que, se trata de un bacilo de muy lento crecimiento y esto a su vez sigue constituyendo el principal carácter para identificar la especie (7, 9, 11, 23, 60-63)

5. HOSPEDEROS

Un amplio rango de especies animales es susceptible a la infección ya que puede afectar a rumiantes salvajes y domésticos entre los que se destacan a los bovinos, ovinos, cabras, ciervos, alces, bisontes, alpacas y llamas; también, puede afectar a animales no rumiantes como caballos, cerdos, conejos, zorros, armiños, comadreja, aves carroñeras, roedores, primates como los mandriles y macacos y el hombre (3, 6, 8, 9, 11, 15, 17, 25, 37, 38, 40, 43, 46, 47, 54, 56, 64-68).

La existencia e importancia de los reservorios silvestres no se ha determinado aún y como el rango de huéspedes posiblemente sea mucho más amplio que el conocido, si se presentaran ciclos salvajes se dificultarían aún más los programas de control (24, 44, 53, 56).

6. DISTRIBUCIÓN

La enfermedad tiene una distribución mundial y su modo de diseminación es insidioso. La prevalencia estimada por hato en distintos países oscila entre el 7% y 60%. A pesar de que la paratuberculosis es considerada una de las enfermedades infecciosas que afectan más gravemente a la producción animal, ya que, es responsable de generar pérdidas económicas importantes; su incidencia e impacto no han sido adecuadamente estudiados y por lo tanto ha sido subvalorada (3, 13, 15, 32, 46, 47, 60, 63, 69).

La distribución en el ambiente de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* difiere de la de *M. avium* porque este último agente produce micobactina, elemento esencial en la absorción del hierro para su supervivencia y crecimiento en el ambiente. Los suelos ácidos con alto contenido en materia orgánica contienen mayor número de micobacterias porque la solubilidad del hierro aumenta cuando el pH del suelo disminuye y por ello se registra mayor ocurrencia de la paratuberculosis en ese entorno (15)

7. PÉRDIDAS ECONÓMICAS

La paratuberculosis es responsable de generar pérdidas económicas importantes en la industria lechera a nivel mundial, debido a que solo en algunas ocasiones existen manifestaciones clínicas su importancia real ha sido subvalorada. El impacto negativo de la infección tiene importancia por su efecto sobre la economía de las explotaciones, expresada en disminución de la producción de leche, reducción del periodo de vida útil y predisposición a otras patologías (34, 60, 70).

Este trastorno causa pérdidas económicas directas por la muerte del ganado infectado, disminución en la producción de leche o carne, una elevada incidencia de mastitis y trastornos reproductivos, disminución en la producción de terneros y por el incremento en los honorarios veterinarios y costos relacionados con el diagnóstico y los medicamentos utilizados (4, 12, 15, 24, 33, 42, 52, 55).

Como esta enfermedad afecta la absorción de nutrientes, el consumo de alimentos que permanece normal está subutilizado porque la condición corporal de los animales infectados se deteriora a medida que la enfermedad progresa (24).

Otra pérdida económica está referida a la pérdida de valor y prestigio de los reproductores y como indirectas se consideran a la pérdida de mercados (24).

Existen otras pérdidas que no son evidentes y se denominan costos ocultos o inaparentes, entre ellos se pueden considerar:

- La venta prematura de los animales enfermos clínicos o infectados. Reducción en el valor de venta de animales menos productivos e incremento de la tasa de desecho.
- Reducción a la mitad de la expectativa de vida productiva.
- Reducción del porcentaje de reposición, con lo cual se limita la diversidad genética.
- Incremento de los costos de ganado.
- Período improductivo desde el desecho hasta que el animal de reemplazo comienza a producir. Sumado a la subóptima utilización de los salarios, maquinarias y edificios.
- Reducción en la producción láctea en las vacas sintomáticas de hasta un 25 % en la primera lactación.
- Reducción de la conversión del alimento.
- Pérdida de inversión en reserva de reposición que ha sido infectada o expuesta desde el nacimiento.

- Incremento en la susceptibilidad a otras enfermedades y problemas reproductivos.
- Disminución en la ganancia de peso y del valor en el frigorífico.
- Pérdida de mercadeo en los animales destinado a venta.
- Incremento de costos veterinarios (8, 15, 24, 36, 64, 71).

En un estudio realizado por *Ott, S. L., et.al., 1999* citado por *Secott T. E., 2001* determinaron que la enfermedad de Johne causa pérdidas económicas severas a la industria del ganado lechero y aseveraron que el 21.6% de las manadas de ganado lechero se infectan en los Estados Unidos con el *M. avium* subesp. *paratuberculosis*. Las pérdidas anuales en la industria ganadera debidas a la enfermedad de Johne se han estimado para ser tan altas como un billón de dólares, principalmente debido a la pérdida en producción de leche y el valor reducido de vacas de desecho clínicamente afectadas (17, 35, 46- 49).

Causa pérdidas económicas significativas a productores, sobre a todo a la industria lechera, debido al aumento en el consumo de forraje, la disminución en la producción de leche, y a la eliminación temprana debida a la salud pobre de animales afectados (55).

8. SIGNOS

8.1. En bovinos.

En los bovinos los signos clínicos de la enfermedad evidentes son la pérdida de peso, aunque el animal enfermo conserva su apetito normal, y diarrea profusa, no tratable con un nivel alto de eliminación bacteriana, que puede presentarse a intervalos irregulares y en el estadio terminal pasa a ser crónica (fig. 1). Algunos animales desarrollan fiebre de poca intensidad y edema en las zonas de declive, en especial en la región submandibular (fig. 2). En otros animales los signos observados son emaciación, debilidad general, disminución en la producción esperada de leche que va

del 5 al 25% en los estadios tempranos, desde la primera lactación y acorta la vida productiva media, incremento de la susceptibilidad a otras enfermedades infecciosas y eliminación de animales afectados. También se observan problemas reproductivos como abortos e infertilidad. Algunos animales pueden presentar aspecto normal hasta los 8 a 10 años de edad pero un porcentaje de ellos revierten la fase subclínica y se convierten en sintomáticos y eventualmente mueren (7, 12, 13, 26, 33, 35, 42, 44, 49, 57, 60, 61, 63, 72).

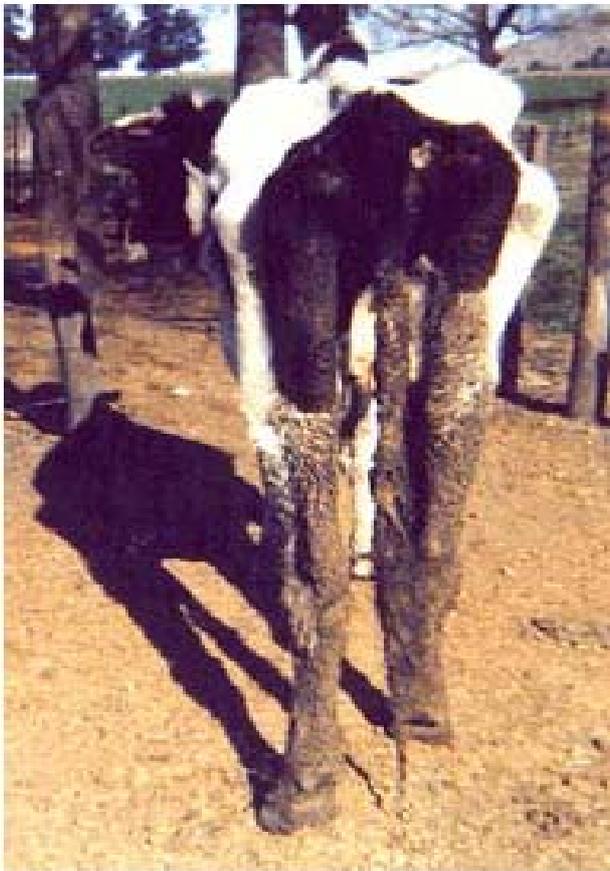


Fig. 1. Bovino con manifestaciones clínicas de diarrea y caquexia ocasionadas por la paratuberculosis (24).



Fig. 2. Bovino con edema submandibular y diarrea signos de la paratuberculosis (24)

Los animales jóvenes son más susceptibles a la infección por *M. avium* subesp. *paratuberculosis* y normalmente se infectan antes de los 6 meses de edad. Continuando con la infección las bacterias probablemente se conducen por los macrófagos por debajo de las células M en las placas de Peyer del íleon. En los macrófagos que no pueden matar la micobacteria ingerida, la infección persiste y extiende durante varios años, pero no se observan signos de la infección. Los animales crónicamente infectados empiezan a eliminar bacterias en heces cerca de los dos años o más. En algunos de estos animales infectados crónicamente la enfermedad progresa a una fase clínica con signos como pérdida de peso y diarrea. Finalmente, la progresiva enteropatía (es decir, diarrea y pérdida de peso), con pérdida de proteínas es fatal (25, 30, 48, 51, 70, 73).

Los animales infectados con síntomas clínicos excretan entre 1.3×10^5 y 5.9×10^6 organismos/g de materia fecal, mientras que los portadores subclínicos excretan entre 40 y 100 organismos/g de materia fecal. La susceptibilidad a la infección aumenta en animales jóvenes de 30 días o menos, pero los primeros signos aparecen dos a cinco años más tarde, adquiriendo por lo general la enfermedad dentro de los primeros 6 meses de vida, ya que la leche y pastos contaminados son fuentes potenciales de contagio, los signos clínicos de diarreas persistentes y pérdidas de peso se

manifiestan 2 a 5 años más tarde. En las hembras provoca un descenso en la producción láctea que va del 5 al 25% en los estadios tempranos, desde la primera lactación y acorta su vida productiva media (25, 62).

Sólo una minoría de animales infectados presentan signos clínicos y existen factores de riesgo definidos para su establecimiento, como: producción intensiva, suelos ácidos, mala nutrición, estrés relacionado al transporte, lactancia prolongada, parto, deficiencia de elementos esenciales e inmunosupresión por agentes como el de la diarrea viral bovina. Se estima que por cada caso clínico hay 25 casos inaparentes de vacas afectadas, de las cuales solo un tercio puede ser detectado con las pruebas de diagnóstico actuales (8).

8.2. En ovinos y caprinos

En los pequeños rumiantes (ovejas y cabras) la enfermedad se presenta entre el primer y el tercer año de vida. La lenta diseminación de la infección y el prolongado período de incubación, hacen que la aparición de casos clínicos sea esporádica. El adelgazamiento progresivo o caquexia se produce a pesar de mantener el apetito. En todas las especies es un signo constante que se hace más evidente en la musculatura de la grupa (enfermedad caquetizante crónica o enfermedad de la cabra seca). También es común la deshidratación y la pérdida del pelo o lana. La diarrea en los pequeños rumiantes no es frecuente aparece sólo en el 10 a 20% de los casos en ovinos, cabras y ciervos, al contrario de lo que ocurre en los bovinos. Son característicos los edemas en papada, párpados, labios y ubres en fases terminales de la enfermedad. La evolución es muy variable oscilando entre semanas o incluso meses en los que los animales llegan a debilitarse hasta la muerte, sin embargo se han descrito casos de curación espontánea (25, 71).

9. ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD

La tasa de infección depende sobre todo de las medidas de manejo, pero si no se controla incrementa hasta alcanzar el 50 % o más del hato. Por cada animal con signos clínicos hay entre 15 y 25 animales de diferentes edades que están infectados en distintos estadios de la enfermedad que se clasifican de acuerdo a su evolución en:

- Estadio I: En la primera fase subclínica, el animal está infectado pero la eliminación de *Mycobacterium avium* subesp. *paratuberculosis* en el excremento no puede ser detectado.
- Estadio II: animales asintomáticos que eliminan intermitentemente el bacilo en su excremento.
- Estadio III: enfermos clínicos que presentan diarrea y pérdida de peso como signos predominantes.
- Estadio IV: enfermos terminales (24, 35, 72, 74, 75).

De acuerdo con *Abalos P. 2006* en los rebaños infectados los animales se pueden categorizar en 4 grupos:

- **Animales clínicamente enfermos**, que son grandes diseminadores, tienen alta tasa de anticuerpos y bajo nivel de inmunidad celular.
- **Diseminadores esporádicos**, sin signos clínicos excepto por disminución en la producción, hay respuesta inmune humoral y celular intermedia. A medida que avanza la infección, aumenta la excreción, aumentan los anticuerpos y disminuye la inmunidad celular.
- **Animales portadores**, que no son detectados por pruebas serológicas o cultivo de deposiciones.
- **Animales resistentes no – infectados**, nunca se infectaron o desarrollaron inmunidad activa protectora que resultó en la eliminación completa de la bacteria (8)

10. LESIONES

El *M. paratuberculosis* se ha adaptado al entorno del intestino de los rumiantes, las primeras lesiones intestinales en la paratuberculosis normalmente son localizadas en la submucosa, entre o involucrando la cápsula de los nódulos linfoides de las placas de Peyer, son a menudo difusas y granulomatosas y se restringen típicamente al íleon y particularmente a la región de la válvula ileocecal del intestino delgado, (Fig. 3), estos granulomas causan que las vellosidades intestinales se vuelvan deformes, lo que conduce a una deficiente absorción de nutrientes esenciales y a la acelerada pérdida de proteínas lleva finalmente a la muerte. Aunque las lesiones intestinales se desarrollan durante el periodo subclínico de la infección, hay pocos signos exteriores de la enfermedad (12, 23, 28, 39, 48, 51, 61, 62, 68).

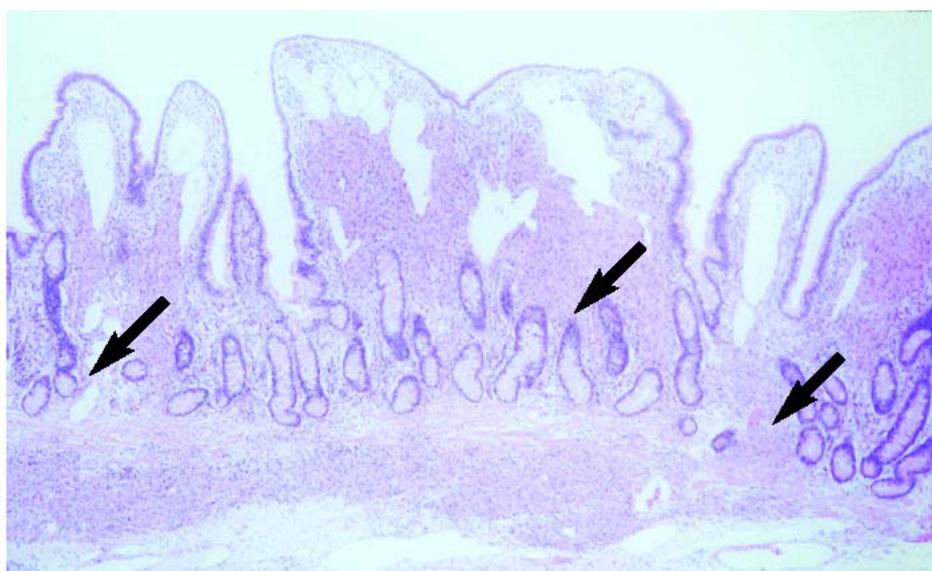


Fig. 3 Lesión granulomatosa del intestino (29)

La serosa intestinal se encuentra edematosa y a nivel de mucosa de íleon y ciego aparecen nódulos prominentes de pocos milímetros de diámetro con áreas centrales de caseificación, o a veces auténticos plegamientos de la mucosa que recuerdan al tejido cerebral. Esta última imagen es más frecuente en el ganado bovino. Los ganglios mesentéricos e ileocecales están muy aumentados de tamaño y húmedos, y a veces presentan pequeños focos de necrosis con caseificación e incluso calcificación. Los vasos linfáticos intestinales se hallan dilatados formando verdaderos

cordones que en algunos tramos contienen nódulos que pueden caseificar o calcificar (sobre todo en cabras) figuras 4 y 5 (71).



Fig. 4 Serosa intestinal edematosa y ganglios ileocecales tumefactos (71)



Fig. 5 Dilatación de vasos linfáticos mesentéricos (71)

10.1 Patogénesis

Los mecanismos patogénicos involucrados en la progresión de la enfermedad durante los períodos de incubación prolongados para que se presente la enfermedad clínicamente se comprenden poco. Se cree que el organismo generalmente para cruzar el lumen del intestino delgado en el área de las placas de Peyer usa las células M del epitelio, donde es fagocitado por macrófago locales. En la fagocitosis de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* por macrófagos, proceso normal a través de la vía endocítica que puede arrear fagosomas que contienen *M. avium* subesp. *paratuberculosis* que se funden con los lisosomas, permitiendo que *M. avium* subesp. *paratuberculosis* pueda sobrevivir y proliferar dentro de los macrófagos (9, 72).

El *M. avium* subesp. *paratuberculosis* prolifera en la región del intestino, extendiéndose eventualmente a los nódulos linfáticos mesentéricos, ciego, colon proximal, hígado, bazo, riñón, útero, mamas y posiblemente a lo largo del cuerpo a través de la ruta hematogena o linfática. En el ganado y otros rumiantes, la orientación patológica de la enfermedad es el intestino, específicamente el yeyuno, íleon, la unión ileocecal, y las áreas adyacentes (8, 29, 21,72).

La Patogénesis asociada con la infección por *M. avium* subesp. *paratuberculosis* se debe principalmente a una severa patología inmune a la infiltración crónica de macrófagos en la lámina propia a lo largo del intestino delgado lo que resulta en atrofia de vellosidades y mala absorción y a la inflamación crónica. Los nódulos linfáticos que drenan los sitios de infección por *M. avium* subesp. *paratuberculosis* a menudo sufren hiperplasia con el aumento del número de células T e infiltración de macrófagos (21, 28, 29).

Luego de la ingestión, la micobacteria penetra por endocitosis en las células de las placas de Peyer en el ileon y son transportadas en vacuolas dentro de los macrófagos. Los ácidos micólicos juegan un rol importante en los mecanismos de resistencia intracelular. En efecto, *M. avium* subesp. *paratuberculosis* resiste la degradación intracelular multiplicándose dentro del macrófago, causando la producción en cascada de una serie de citocinas como el factor de necrosis tumoral (FNT), interleucinas (IL) y derivados de γ -interferón (γ -IFN-T) que causa efectos inmunopatológicos y mantiene la inflamación crónica. Las lesiones se caracterizan por engrosamientos variables en la mucosa del intestino delgado (figura 6), con apariencia granular y edema de los nódulos linfáticos (25, 74).



Fig. 6. Engrosamiento del intestino delgado (8)

El bacilo no produce toxinas ni factores de virulencia, ya que no causa daño en las células donde se establece. El efecto de la invasión en los tejidos no es destructiva

sino solamente de multiplicación. La enfermedad está relacionada con un fenómeno de hipersensibilidad a los antígenos de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* (61).

11. VÍAS DE TRANSMISIÓN.

La vía de transmisión es en el 80 % de los casos por la ruta fecal-oral, aunque otras vías de transmisión son factibles entre ellas la uterina, la venérea, la horizontal, etc., la ingestión de alimento, agua, leche o calostro contaminado con el agente y la inseminación artificial; aunque, estas últimas son demostradas ocasionalmente y no parece que sean capaces de sostener la infección en las poblaciones sensibles en condiciones normales. Quedaría por probar la importancia de la transmisión directa por células infectadas excretadas con el calostro o la leche y que se superpone con la hipótesis dominante de contaminación fecal de estos productos y que por ser más difícil de demostrar y por exigir un cierto mayor grado de complicación teórica, ha sido poco valorada (6, 7, 21, 23-27, 29, 34, 36-38, 42, 46, 49, 50, 52, 54, 61, 62, 72).

Los suelos ácidos contienen mayor número de micobacterias, porque el hierro necesario para la multiplicación del agente aumenta la solubilidad cuando el pH del suelo disminuye y en esas regiones se registran mayor número de casos de paratuberculosis (24).

De acuerdo con los conocimientos actuales, la fuente primaria de infección son los bovinos adultos infectados y los rodeos adquieren la infección al introducir a dichos animales. La enfermedad clínica se desarrolla entre el tercer y el quinto año de edad, debido al largo período de incubación que coincide con la 2a, 3a o 4a gestación. Cuando las crías provienen de madres infectadas o de un ecosistema muy contaminado, los primeros signos clínicos aparecen entre los 12 y 18 meses. Los factores que determinan la infección son la dosis infectiva, la edad, el estrés y los agentes inmunosupresores (15).

12. SUPERVIVENCIA

Los factores que reducen el tiempo de supervivencia en el suelo son la sequía, la exposición a la luz, un pH mayor de 7 y un bajo contenido de hierro, aunque *M. avium* subesp. *paratuberculosis* es la micobacteria que mejor resiste a los factores físicos y químicos. En las heces la supervivencia del agente oscila entre 152 y 330 días, mientras que, en la orina bovina sólo sobrevive 7 días porque ésta le es un medio hostil. En agua de río sobrevive 160 días y en agua de lagunas 270 días, con límites extremos de 17 meses en condiciones de laboratorio. Estos resultados sugieren que el *M. avium* subesp. *paratuberculosis* sobrevive bien en condiciones encontradas en muchas granjas lecheras (13, 15, 24, 25, 52).

La pasteurización de alta temperatura y corto tiempo (HTST) (71.7°C por 15 s) resultaba en una alta mortalidad, pero según algunos informes, pueden ocurrir sobrevivientes por lo tanto no se asegura la inactivación de todos los *M. avium* subesp. *paratuberculosis* viables presentes en los alimentos, debido a la concentración y elevada tolerancia térmica del agente y a la composición del producto pasteurizado; este factor acarrea un riesgo potencial de transmisión al hombre (3, 6, 15, 29, 30). Como consecuencia, el queso y otros productos lácteos hechos a partir de leche cruda o pasteurizada pueden albergar a sobrevivientes que pueden ser un riesgo para los consumidores (13).

La exposición a la luz solar directa, calor y desinfectantes específicos inactivan al microorganismo (24). Los desinfectantes deben actuar por lo menos 10 minutos siendo los de elección la formalina al 5%, cresol 1:32, cresol 1:40 todos idealmente junto a un buen detergente (8). El tiempo que se exige para la erradicación del organismo en el ambiente es desconocido. Se ha sugerido que por lo menos 6 meses a un año se exige dar las pasturas seguras después de que fue pastoreado ganado infectado. Los datos en la resistencia del organismo se informaron en 1944 cuando el excremento de una vaca con paratuberculosis fue tirado en un lugar abierto expuesto en Londres, Reino Unido, y cultivado a intervalos. El organismo sobrevivió durante aproximadamente 9 meses (27).

13. DIAGNÓSTICO

13.1. Diagnóstico presuntivo.

Un diagnóstico presuntivo de la infección micobacterial bovina en los animales sacrificados se hace en base a la histopatología de los nódulos linfáticos y exhibición de muestras de tejidos tales como las lesiones de tuberculoides y bacilos ácido resistentes (4).

13.2. Diagnóstico clínico.

El diagnóstico clínico se realiza por los signos, los cuales se confirman por pruebas de laboratorio que pueden estar destinadas a la identificación del agente o a detectar la respuesta inmune celular o humoral. Pero es muy difícil identificar a los animales infectados sin manifestaciones clínicas, por la naturaleza de la enfermedad, la eliminación intermitente del agente y la variación de la respuesta inmune; solamente un resultado positivo es útil como diagnóstico individual y un resultado negativo no es prueba que el animal no esté infectado. Un diagnóstico con una certeza aceptable requiere una combinación de pruebas y la selección de estas debería realizarse de acuerdo a la prevalencia en el hato (24).

13.3. Diagnóstico definitivo o de laboratorio.

El diagnóstico definitivo entonces requiere de la identificación de especies de micobacterias (4). La detección de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* por medio del cultivo de heces (o tejidos) ha sido el método tradicional de diagnóstico por casi 100 años y sigue siendo el método más ampliamente utilizado para diagnosticar la infección (10).

Sin embargo, el aislamiento y cultivo de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* a partir de excremento o restos de tejido es el método de detección más contundente pero aún puede resultar en falsos negativos por los bajos niveles de colonización en tejidos o la insignificante e intermitente salida de los microorganismos en las heces, además el

cultivo en un medio agar sólido requiere de 8-16 semanas de incubación antes de que ocurra el crecimiento de la colonia, resultando en un prolongado tiempo hasta que se pueda hacer un apropiado diagnóstico, si a esto le agregamos lo laborioso que resulta realizar los cultivos (tomando en cuenta la preparación del medio), la contaminación del cultivo por otros agentes bacterianos y fúngicos por lo que se tienen grandes desventajas para la realización de pruebas de laboratorio a partir de muestras fecales (9, 14, 16, 19, 38, 41-43, 66, 76).

Por lo tanto el aislamiento de esta bacteria se debe realizar en un medio apropiado, siendo el más ampliamente difundido el Medio de Herrold con yema de huevo y micobactina J (HEYM), en tubos de agar inclinado. El cultivo fecal con este medio posee una especificidad superior al 99% si se realiza correctamente, eliminándose el riesgo de resultados falsos positivos. Sin embargo, la sensibilidad es baja, alcanzando aproximadamente a un 50%, lo cual depende fundamentalmente de las técnicas empleadas, tanto para descontaminar la muestra fecal (eliminación de la microflora contaminante) como del método empleado para concentrar selectivamente el agente en la muestra. A pesar de que el cultivo fecal es una técnica ampliamente utilizada en todos los países, no existe un protocolo de cultivo internacionalmente estandarizado, existiendo muchas diferencias entre laboratorios respecto a la eficiencia para aislar *M. avium* subesp. *paratuberculosis* (10, 23, 33, 60-62).

A pesar de las continuas mejoras en los métodos, los cultivos son frecuentemente negativos. El perfeccionamiento de las técnicas radiométricas ha reducido el tiempo que se toma para la detección de micobacterias pero no resuelve el problema crucial de sensibilidad, mientras requiere de equipo especial y el uso de medios radioactivos (4).

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de paratuberculosis como inmunodifusión en gel de agar, el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA), y la fijación de complemento son relativamente fáciles de realizar pero sufren de una falta de especificidad y sensibilidad (14, 33, 76). Estas pruebas se han desarrollado para detectar los anticuerpos contra el *M. avium* subesp. *paratuberculosis* en el suero animal. Dependiendo de los antígenos usados, estas pruebas podrían producir resultados falsos positivos y no pueden detectar los animales infectados de forma

consistente en las fases tempranas de enfermedad. De aquí, que se reconoce que la identificación de antígenos específicos bien definidos de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* serían de gran utilidad para el desarrollo de pruebas inmunológicas específicas, y quizás más sensibles para el diagnóstico de la enfermedad de Johne (57).

La fijación de complemento (FC) ha sido usada en bovinos, y la inmunodifusión en gel de agar (ID) es la prueba más eficiente en ovinos. En 1985 Yokomizo *et al.*, introdujeron una variante al ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), modificado por Cox *et al.* (1999), que consiste en absorción previa con antígeno soluble de *M. phlei* para aumentar la especificidad, eliminando reacciones cruzadas con otras micobacterias y organismos relacionados: mide sólo anticuerpos IgG1 contra antígeno protoplasmático de *M. avium subsp. paratuberculosis*. Tiene una sensibilidad desde 40 a 75% y una especificidad de 90%, dependiendo de los diferentes ensayos y prevalencias (25).

ELISA detecta animales infectados 3 a 4 meses antes que los métodos de cultivo convencionales; Sweeney *et al.* (1994), demostraron que ELISA fue capaz de detectar 75 % de los animales diseminadores. Debido a su alta especificidad, ELISA no tiene resultados falsos positivos, lo que la hace un muy buen método de eliminación en los comienzos de los programas de control (16, 25, 42).

La inmunidad celular y diseminación fecal preceden a la típicamente humoral, consecuentemente, las pruebas serológicas como ID, FC y ELISA detectan animales en períodos avanzados de la enfermedad. Los casos clínicos, con lesiones visibles, usualmente poseen altos niveles de anticuerpos IgG e IgM en el suero. ELISA, FC e ID poseen sensibilidades desde 87 a 100% en ovinos con signos clínicos, cayendo a 20% o menos en individuos con enfermedad subclínica (25).

La FC no es considerada útil en los pequeños rumiantes debido principalmente a las reacciones cruzadas con corinebacterias y otras micobacterias; ID detecta anticuerpos 3 a 9 meses después de la diseminación fecal; la sensibilidad de 50% en la enfermedad clínica cae a 27-29% en los casos subclínicos, la especificidad es de alrededor de 100% (25).

La prueba de reacción en cadena de polimerasa (PCR) basada en la detección de la secuencia de inserción IS900 de los tejidos y heces ha demostrado que es altamente sensible y específica. PCR se ha usado para mejorar la identificación de microorganismos, sobre todo donde los métodos tradicionales para la detección microbiológica tienen serias limitaciones. Sin embargo, PCR tiene también limitaciones, y mientras es capaz hipotéticamente de detectar un solo genoma en una muestra, este nivel de sensibilidad, raramente se logra. Las posibles causas de estos problemas incluyen lo siguiente:

1. Excesivo ADN no específico derivado del hospedero u otros microbios.
2. Sustancias en las muestras clínicas que inhiban la amplificación de PCR.
3. La calidad genómica de la preparación de ADN (14, 19, 38, 47).

Actualmente las pruebas serológicas comercialmente disponibles para diagnosticar la enfermedad son eficaces pero a menudo de poca sensibilidad, sobre todo durante la enfermedad subclínica (65)

Hoy se cuenta con otra prueba que tiene una mayor eficiencia y que se basa en la detección del interferón gamma bovino que puede ser usada en el período subclínico de la infección donde predomina la respuesta inmune celular; sin embargo, varía en su capacidad de detección de animales infectados en fases tempranas de la enfermedad. Aunque este método originalmente fue desarrollado para detectar tuberculosis bovina, también ha sido aplicado para el diagnóstico de paratuberculosis. La sensibilidad está alrededor de 70 a 94% y la especificidad de 97 a 99%, cuando es usado como método de descarte. Comparado con ELISA pre-absorbido, γ -IFN fue capaz de detectar más porcentaje de vacas con enfermedad clínica y subclínica mientras que ELISA detectó un gran porcentaje de animales clínicamente enfermos y fue relativamente insensible para los afectados subclínicos. (8, 25, 55)

La prueba intradérmica superficial evalúa la reacción de hipersensibilidad del tipo retardado de un animal por la inyección de extractos de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* para estimular una reacción inmune del hospedero; sin embargo, se inclina a dar resultados falsos positivos debido a la reacción cruzada con proteínas

similares que presentan otras micobacterias por lo que se ha limitado su utilidad (57, 76).

Otro método de identificación presuntiva, en los primeros estadios de la enfermedad, es la prueba tuberculínica intradérmica comparativa, realizada en la tabla del cuello, utilizando PPD-bovino (PPD-B) y PPD-aviar (PPD-A) de mayor poder discriminatorio que la simple. La induración de la piel que se mide en milímetros con un calibre de plástico, a las 72 horas, es una respuesta alérgica debido a acumulación celular de tipo retardado. Si bien la misma tiene bajo poder predictivo positivo, del orden del 22% (probabilidad de que un bovino positivo a la prueba, esté realmente infectado), posee, sin embargo, un buen poder discriminatorio negativo, del 95% (probabilidad de que un bovino negativo a la prueba, no esté infectado) (23, 61, 62).

Los métodos de tinción clásicos utilizando las tinciones de Zielh- Neelsen y Auramina O, son formas de diagnóstico rápido, sin embargo, estos dos métodos de tinción no son capaces de distinguir entre las diferentes especies micobacteriales (8, 38).

Las técnicas inmunohistológicas aplicadas directamente a las muestras clínicas son más sensibles que la tinción de Ziehl-Neelsen, pero la especificidad permanece en discusión y puede ocurrir alteración antigénica debido a la pobre fijación o conservación de esta manera se pueden alterar los resultados de la prueba (4).

La tinción inmunohistoquímica de tejido sospechoso utiliza anticuerpos producidos contra *M. avium* subesp. *paratuberculosis* proporciona un medio más específico de detección que la tinción química y puede diferenciar muestras de tejido que contiene *M. avium* subesp. *paratuberculosis* de aquellos que contienen otros patógenos. Además la tinción inmunohistoquímica de tejidos fijados se ha reportado que es más sensible que la tinción ácido resistente (38).

14. PREVENCIÓN Y CONTROL

La prevención se realiza a través de la vacunación, aunque, esta no necesariamente prevendrá la multiplicación y eliminación de *M. avium* subesp. *paratuberculosis* en los

animales, pero el predominio de la enfermedad clínica disminuye en hatos que son vacunados. Por consiguiente, una vacuna que previene que los animales se infecten sería la meta ideal (6, 17, 38, 49, 55, 70).

En Noruega la enfermedad es controlada por vacunación, desde 1967 al 2001 con una vacuna viva y desde 2001 con una vacuna inactiva. En el ganado, la paratuberculosis clínica ocurre sólo esporádicamente, sin que surjan casos desde 1979. En el período 1996–99, fue de 9,456 bovinos de 754 manadas se examinaron los anticuerpos contra el *M. avium* subesp. *paratuberculosis* como la parte de una vigilancia nacional y del programa para el control de la paratuberculosis (37).

En los Estados Unidos todavía se considera que la vacunación es una herramienta de manejo controversial. En general, la vacunación puede interferir con las pruebas de diagnóstico, puede causar notables granulomas en el sitio de la vacunación, y puede presentar un riesgo para la salud de los veterinarios que administran la vacuna debido a las punciones accidentales (6).

El control de la paratuberculosis ha demostrado ser excepcionalmente difícil de realizar principalmente debido las infecciones naturales de *M. avium* subsp. *paratuberculosis*. Los animales son infectados a una edad temprana ingiriendo los organismos eliminados en el excremento o en la leche de los animales adultos. Aunque la infección, requiere de varios años antes de que los animales la manifiesten y eliminen la micobacteria en su excremento. La base del control de esta enfermedad es la identificación y eliminación de los animales infectados, sin embargo, el carácter subclínico de la enfermedad y la baja sensibilidad de los métodos de laboratorio dificultan el diagnóstico, no existiendo, hasta el momento, ningún método 100% seguro para detectar a todos los animales infectados, especialmente los jóvenes (36, 43).

Otro factor que afecta el control de la enfermedad de Johne es su habilidad de infectar muchas especies animales diferentes. El rango de hospederos de *M. avium* subsp. *paratuberculosis* con potencial para transmitir la enfermedad no se limita a rumiantes (4, 6, 14, 19, 27, 33, 45-47, 54, 55, 61, 65, 66, 76).

La implementación de un conjunto de medidas enérgicas y continuadas que se detallan a continuación, son necesarias para tener éxito en el control de la paratuberculosis.

1) Caracterizar el problema mediante la detección de animales infectados por la prueba de ELISA realizada a todo el hato o tomando una muestra estratificada por edad. De cada estrato se toma un número de animales de acuerdo con la prevalencia esperada y el tamaño del hato.

2) Confirmar el diagnóstico clínico o serológico por cultivo fecal.

3) Eliminar a los animales reaccionantes positivos a cualquiera de las pruebas efectuadas.

4) Destinar para la parición los potreros más secos y libres de contaminación de materia fecal de animales adultos

5) En hatos lecheros retirar las crías inmediatamente después de la parición y colocarlas en lugares no contaminados con materia fecal de animales enfermos. Suministrar calostro de madres no infectadas y reemplazar el suministro de leche por sustituto lácteo o leche de hembras sanas, este manejo en hatos de cría es poco factible.

6) Realizar un manejo separado de los terneros y animales jóvenes. Los animales adultos pueden compartir pasturas e instalaciones con los animales jóvenes a partir del año de edad, nunca antes.

7) Destinar las hijas de madres negativas a la reproducción y las hijas de madres positivas a engorda y posterior venta. Los lotes se deben manejar por separado.

8) Identificar a los animales infectados o enfermos mediante las pruebas diagnósticas y venderlos con destino a sacrificio.

9) Mantener el hato cerrado o ingresar animales con serología negativa.

10) No utilizar la materia fecal como abono en las pasturas destinadas a rumiantes.

11) Lavar cuidadosamente todos los equipos, bebederos, comederos y pisos con agua a presión y detergente, y luego aplicar desinfectantes como fenol al 5 %, formol al 5%, hipoclorito de calcio 1:50 o hipoclorito de sodio en contacto durante una hora como mínimo con las superficies mencionadas y sol directo con una exposición mínima de 100 horas.

12) Otras actividades complementarias son: lavar los automóviles que visitan el establecimiento y cercar lagunas y sectores de agua estancada (6, 24, 50).

15. TRATAMIENTO

El tratamiento con antibióticos de los casos con paratuberculosis son imprácticos en el ganado comercial, debido al alto costo de los medicamentos; las opciones para el control se limitan a reducir el predominio por la extensión de prueba y eliminación, manejo o cambiando las prácticas de manejo de las granjas. La alternativa es despoblación de manadas o rebaños que contienen ganado infectado, esperando a través de un largo período de desinfección, y reabasteciendo entonces con individuos no infectados. El éxito de despoblación y desinfección en las granjas con múltiples especies que pastan depende de la segregación de infección dentro de las especies individuales y puede también depender de la ausencia de reservorios de animales salvajes (24, 34, 46, 50, 53, 54, 61, 64).

Aunque tratándose de animales con alto potencial genético se puede administrar el tratamiento el cual por lo general siempre es combinado, con tres a cinco fármacos activos según la gravedad del caso, pudiendo incluir al etambutol, una rifamicina (rifampicina o rifabutina), un macrólido (preferentemente la claritromicina), un aminoglucósido (amikacina) los dos primeros meses y, en los adultos, una fluoroquinolona o isoniacida (2, 6, 15).

CONCLUSIÓN

A pesar que la paratuberculosis o enfermedad de Johne es un trastorno que se reconoce desde hace más de un siglo y no había demostrado una presencia preponderante en las explotaciones de rumiantes, ha incrementado su importancia en los últimos años debido a los avances que se hacen en el control de otras enfermedades, como brucelosis y tuberculosis.

El hecho de que afecte a todas las especies de rumiantes domésticos en, prácticamente, todo el mundo esto es lo que le da su importancia y relevancia. La veracidad de las anteriores afirmaciones hace aún más curioso el extraordinario grado de controversia e indecisión que se genera en relación con cuestiones que afectan desde al nombre del agente hasta su potencial zoonótico, como una posible causa de la enfermedad de Crohn en el humano.

Actualmente, la evidencia para un vínculo entre la paratuberculosis y la enfermedad de Crohn permanece inconclusa ya que no se ha demostrado que las cepas compartan un papel causal o si se presenta de forma incidental por lo tanto hace casi 90 años se propuso el hecho de que ambas comparten el mismo agente etiológico. La relación entre ambas enfermedades ha servido como un impulso extenso para controlar la enfermedad de Johne.

La paratuberculosis es responsable de generar pérdidas económicas importantes en la industria lechera a nivel mundial, debido a que solo en algunas ocasiones existen manifestaciones clínicas su importancia real ha sido subvalorada. El impacto negativo de la infección tiene importancia por su efecto sobre la economía de las explotaciones, expresada en disminución de la producción de leche, reducción del periodo de vida útil y predisposición a otras patologías.

REFERENCIAS.

1. Berger S, Hinz D., Bannantine J.P., Griffin J.F. 2006. Isolation of High-Affinity Single-Chain Antibodies against *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Surface Proteins from Sheep with Johne's Disease. *Clinical And Vaccine Immunology*.13 (9):1022–1029.
2. Santos M. y Gobernado M. 2007. *Complejo Mycobacterium Avium: Aspectos Microbiológicos*. www.seimc.org/control/revi_Micobac/mac1.htm.
3. Collins D.M., Zoete M.D., Cavaignac S. M. 2002. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Strains from Cattle and Sheep Can Be Distinguished by a PCR Test Based on a Novel DNA Sequence Difference. *Journal Of Clinical Microbiology*.40 (12): 4760–4762
4. Coetsier C., Vannuffel P., Blondeel N., Deneff J-F., Cocito C., Gala J-L 2000. Duplex PCR for Differential Identification of *Mycobacterium bovis*, *M. avium*, and *M. avium* subsp. *paratuberculosis* in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissues from Cattle. *Journal of Clinical Microbiology*. 38 (8): 3048–3054
5. Paustian M.L., Kapur V. y Bannantine J.P. 2005. Comparative Genomic Hybridizations Reveal Genetic Regions within the *Mycobacterium avium* Complex That Are Divergent from *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Isolates. *Journal of Bacteriology*.187 (7): 2406–2415
6. Harris B.N. y Barletta G.R. 2001 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Veterinary Medicine. *Clinical Microbiology Reviews*. 14(3): 489–512
7. Juste, R.A., Garrido, J.M. y Anduriz, G. 2000. Un siglo de progreso y controversia sobre la paratuberculosis: I. La situación actual del conocimiento sobre la infección. *Med Vet*. 17(5): 88-101.

8. Abalos P. 2006. Actualidad en Paratuberculosis. www.veterinaria.unchile.cl/publicación/Jornadas/Enf_animales/paratuberculosis.pdf.
9. Kurade N. P., Tripathi B. N., Rajukumar K. y Parihar N. S. 2004. Sequential Development of Histologic Lesions and Their Relationship with Bacterial Isolation, Fecal Shedding, and Immune Responses during Progressive Stages of Experimental Infection of Lambs with *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*. *Vet. Pathol.* 41:378–387.
10. Soto J. P., Kruze J., Leiva S. 2002. Aislamiento de *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* de fecas en rebaños lecheros infectados mediante el Método de Cornell modificado. *Arch. Med. Vet.* 34 (2): 275-282.
11. Buergelt C. D., Layton W., Ginn P. E., Taylor M., King J. M., Habecker P. L., Mauldin E., Whitlock R., Rossiter C., Collins M. T. 2000. The Pathology of Spontaneous Paratuberculosis in the North American Bison (*Bison bison*). *Vet Pathol* 37:428–438
12. Stabel J. R. 2000. Johne's Disease and Milk: Do Consumers Need to Worry?. *J Dairy Sci* 83:1659–1663
13. Spahr U., Schafroth K. 2001 Fate of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Swiss Hard and Semihard Cheese Manufactured from Raw Milk. *Applied And Environmental Microbiology*.67(9): 4199–4205
14. Strother M., Amonsin A., Byrum B. 2003. Molecular Epidemiology of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: Evidence for Limited Strain Diversity, Strain Sharing, and Identification of Unique Targets for Diagnosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 41 (5): 2015–2026
15. Holzmann C.B., *et.al.* 2004. Estudio del comportamiento epidemiológico de la paratuberculosis bovina mediante series cronológicas en Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 23 (3): 791-799

16. Fang Y., Wu W.H., Pepper J.L., Larsen J.L., Marras S. 2002. Comparison of Real-Time, Quantitative PCR with Molecular Beacons to Nested PCR and Culture Methods for Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Bovine Fecal Samples. *Journal Of Clinical Microbiology*. 40 (1):287–291
17. Grewal S. K., Rajeev S, Sreevatsan S, y Michel F. C. 2006. Persistence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and Other Zoonotic Pathogens during Simulated Composting, Manure Packing, and Liquid Storage of Dairy Manure. *Applied And Environmental Microbiology*. 72 (1): 565–574.
18. Olsen I., Reitan L.J., Holstad G., Wiker H.G. 2000. Alkyl Hydroperoxide Reductases C and D Are Major Antigens Constitutively Expressed by *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*. *Infection And Immunity*. 68 (2): 801–808
19. Khare S., Sangeeta Khare,¹ Ficht T.A., Santos R.L., Romano J., Ficht A.R. 2004. Rapid and Sensitive Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Bovine Milk and Feces by a Combination of Immunomagnetic Bead Separation-Conventional PCR and Real-Time. PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 42 (3):1075–1081.
20. Collins M. T., Lisby G., Moser C., Chicks D., Christensen S. 2000. Results of Multiple Diagnostic Tests for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Patients with Inflammatory Bowel Disease and in Controls. *Journal of Clinical Microbiology*. 38 (12): 4373–4381
21. Coussens P.M., Colvin C.J., Guilherme J. M., Perez J., Elftman M. D. 2003. Evidence for a Novel Gene Expression Program in Peripheral Blood Mononuclear Cells from *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*-Infected Cattle. *Infection And Immunity*. 71 (11): 6487–6498
22. Ghadiali A.H., Strother M., Naser A. S., Manning E., Sreevatsan S. 2004. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Strains Isolated from Crohn's

Disease Patients and Animal Species Exhibit Similar Polymorphic Locus Patterns *Journal of Clinical Microbiology*. 42 (11): 5345–5348

23. Martinis D. S., Cicuta M. E., Boehringer S.I., Paolicchi F., Morsella C. Paratuberculosis en ganado lechero de Corrientes. www.unne.edu.ar/cyt/2000/4_veterinarias/v-034.
24. Jorge M.C., Traversa M.J., Schettino D.M., Fresneda K., Mendivil M. 2005. Epidemiología e Importancia Económica de la Paratuberculosis Bovina. www.produccionbovina.com.ar.../infecciosas/bovinos_en_general/70_paratuberculosis_bovina.htm.
25. Bernardelli *et al.* 2002. Paratuberculosis ovina en Corrientes, Argentina. www.unne.edu.ar/cyt/2002/04_veterinarias/v_058.
26. Stratmann J., *et al.* 2004. A 38-Kilobase Pathogenicity Island Specific for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Encodes Cell Surface Proteins Expressed in the Host. *Infection And Immunity*. 72 (3): 1265–1274
27. Whittington R.J., Marshall D.J., Nicholls P.J., Marsh I. B., Reddacliff L.A. 2004. Survival and Dormancy of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* in the Environment. *Applied And Environmental Microbiology*. 70 (5): 2989–3004
28. Coussens P.M., Verman N., Coussens M.A., Elftman M.D., McNulty A. M. 2004. Cytokine Gene Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells and Tissues of Cattle Infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: Evidence for an Inherent Proinflammatory Gene Expression Pattern. *Infection And Immunity*. 72 (3): 1409–1422
29. Ellingson J., Cheville J. C., Brees D, Miller J. M., Cheville N. F., 2003. *Absence of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis Components from Crohn's Disease Intestinal Biopsy Tissues*. *Clin. Med. & Research*. 1 (3): 217-226

- 30.A. Gao, L. Mutharia, S. Chen, K. Rahn, J. Odumeru. 2002. Effect of Pasteurization on Survival of *Mycobacterium paratuberculosis* in Milk J. Dairy Sci. 85:3198–3205
31. Bernstein C.N., Nayar G., Hamel A., Blanchard J.F. 2003. Study of Animal-Borne Infections in the Mucosae of Patients with Inflammatory Bowel Disease and Population-Based Controls. J. Clinical Microbiology. 41 (11): 4986–4990
32. Jorge M.C., Traversa M. J., Schettino D. M., Holzmann C. B., Medina L. 2006. Epidemiología de la paratuberculosis bovina. www.exopol.com/general/circulares/190.html.
33. Alifiya S. Motiwala, Megan Strother, Natalie E. Theus, Roger W. Stich, Beverly Byrum, William P. Shulaw, Vivek Kapur Srinand Sreevatsan. 2005. Rapid Detection and Typing of Strains of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from Broth Cultures. J. Clin. Microbiology. 43 (5): 2111–2117
34. Alfaro C., Rolo M., Clavijo A., y Valle A. 2006. Caracterización de la paratuberculosis bovina en ganado doble propósito de los llanos de Monagas, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 24(3): 321-332.
35. Bannantine P.J., Huntley J.F., Miltner E., Stabel J.R., Bermudez L.E. 2003. The *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* 35 kDa protein plays a role in invasion of bovine epithelial cells. *Microbiology*. 149: 2061–2069.
36. Soto J. P., Kruze J., Leiva S. 2002. Comparación de tres métodos de diagnóstico de Paratuberculosis bovina en rebaños lecheros infectados *Arch. Med. Vet.* 34(2): 265-273
37. Tryland M., 2004. Serologic Survey For Antibodies Against *Mycobacterium Avium* Subsp. *Paratuberculosis* In Free-Ranging Cervids From Norway. *Journal of wildlife diseases*. 40(1): 32–41.

38. Huntley J. F. J., Whitlock R. H., Bannantine J. P., Y Stabel J. R. 2005. Comparison of Diagnostic Detection Methods for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in North American Bison. *Vet Pathol* 42:42–51
39. Sigurdardottir O´. G., Press C. M., Evensen Ø. 2001. Uptake of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* through the Distal Small Intestinal Mucosa in Goats: An Ultrastructural Study. *Vet Pathol* 38:184–189.
40. Davidson W. R., Manning E.J.B., Nettles V.F. 2004. Culture and Serologic Survey for *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* Infection among Southeastern White-tailed Deer (*Odocoileus virginianus*) *Journal of Wildlife Diseases*, 40(2): 301–306.
41. Jungersen G., Huda A., Hansen J. J., Lind P. 2002. Interpretation of the Gamma Interferon Test for Diagnosis of Subclinical Paratuberculosis in Cattle. *Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology*. 9(2): 453–460
42. Stabel J. R., Wells S. J., Wagner B. A. 2002. Relationships Between Fecal Culture, ELISA, and Bulk Tank Milk Test Results for Johne’s Disease in US Dairy Herds. *J. Dairy Sci.* 85:525–531
43. Speer C. A. 2006. A Novel Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Infections (Johne’s Disease) in Cattle. *Clinical And Vaccine Immunology*. 13 (5): 535–540
44. Marco I., Ruiz M., Juste J., Garrido J.M., Lavin S. 2002. Paratuberculosis in Free-Ranging Fallow Deer in Spain. *J. Wildlife Diseases*, 38(3):629–632.
45. Koo H. C., Park Y.H., Ahn J., Waters W.R., Hamilton M.J. 2004. New Latex Bead Agglutination Assay for Differential Diagnosis of Cattle Infected with *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*. *Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology*. 11(6): 1070–1074

46. Beard P. M. 2001. Paratuberculosis Infection of Nonruminant Wildlife in Scotland. *Journal Of Clinical Microbiology*. 39(4): 1517–1521
47. Motiwala A. S., Amonsin A., Strother M., Manning E., Kapur V. 2004. Molecular Epidemiology of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Isolates Recovered from Wild Animal Species. *Journal of Clinical Microbiology*. 42 (4): 1703–1712
48. Secott T. E., Lin T. L., Wu C. C. 2001. Fibronectin Attachment Protein Homologue Mediates Fibronectin Binding by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Infection And Immunity. 69(4): 2075–2082
49. Mortensen H., Nielsen S. S., Berg P. 2004. Genetic Variation and Heritability of the Antibody Response to *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Danish Holstein Cows. *J. Dairy Sci*. 87:2108–2113.
50. Whittington R. J., 2000. Use of Pooled Fecal Culture for Sensitive and Economic Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Infection in Flocks of Sheep. *Journal of Clinical Microbiology*. 38 (7): 2550–2556
51. Secott T. E., Lin T. L., Wu C. C. 2002. Fibronectin Attachment Protein Is Necessary for Efficient Attachment and Invasion of Epithelial Cells by *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*. *Infection And Immunity*. 70(5): 2670–2675
52. Raizman E. A., Wells S. J, Godden S. M., Bey R. F., Oakes M. J., Bentley D. C., Olsen K. E. 2004. The Distribution of *Mycobacterium avium* ssp. *Paratuberculosis* in the Environment Surrounding Minnesota Dairy Farms *J. Dairy Sci*. 87:2959–2966.
53. Beard P. M.,. 2001. Experimental Paratuberculosis in Calves following Inoculation with a Rabbit Isolate of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* *Journal of Clinical Microbiology*. 39(9): 3080–3084

54. Whittington R. J., Hope A. F., Marshall D. J., Taragel C. A., Marsh I. 2000. Molecular Epidemiology of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: IS900 Restriction Fragment Length Polymorphism and IS1311 Polymorphism Analyses of Isolates from Animals and a Human in Australia. *Journal of Clinical Microbiology*. 38(9): 3240–3248
55. Koo H. C. 2004. Analysis of the Immune Response to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Experimentally Infected Calves. *Infection And Immunity*. 72(12):6870–6883
56. Stabel J. R., Palmer M. V., y Whitlock R. H. 2003. Immune Responses After Oral Inoculation Of Weanling Bison Or Beef Calves With A Bison Or Cattle Isolate Of *Mycobacterium Avium* subsp. *Paratuberculosis*. *Journal of Wildlife Diseases*. 39(3): 545–555.
57. Paustian M.L., Amonsin A., Kapur V., y Bannantine J.P. 2004. Characterization of Novel Coding Sequences Specific to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: Implications for Diagnosis of Johne's Disease. *Journal of Clinical Microbiology*. 42(6): 2675–2681
58. Secott T. E., Lin T. L., Wu C. C. 2004. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Fibronectin Attachment Protein Facilitates M-Cell Targeting and Invasion through a Fibronectin Bridge with Host Integrins. *Infection And Immunity*. 72(7): 3724–3732
59. Stevenson K., Hughes V.M., Juan L., Inglis N.F., Wright F. *et. al.* 2002. Molecular Characterization of Pigmented and Nonpigmented Isolates of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*. *J. Clinical Microbiology*. 40(5): 1798–1804
60. Chávez G., Trigo F. J., Svastova P., Pavlik I. 2004. Identificación del polimorfismo genético de aislamientos de *M. avium* subsp. *paratuberculosis* de caprinos del centro de México. *Vet. Mex.* 35(1): 75 - 82I.

61. Martinis D.S., Cicuta M. E. Boehringer S. I. Paratuberculosis en el Ganado Lechero de Corrientes. www.unne.edu.ar/cyt/veterinarias/v-049.pdf.
62. Martinis D.S., Cicuta M. E. Boehringer S. I. Morsella, C. Paolicchi F. 2002. La Paratuberculosis y los bovinos lecheros de la provincia de Corrientes www.unne.edu.ar/cyt/2002/04-veterinarias/v-059.pdf.
63. Amonsin A. 2004. Multilocus Short Sequence Repeat Sequencing Approach for Differentiating among *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Strains *Journal of Clinical Microbiology*. 42(4): 1694–1702
64. Manning E.J.B. y Collins M.T. 2001. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: el patógeno, su patogenia y su diagnóstico. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 20 (1): 133-150
65. Alexander D., Turenne C. Y., Haas, P., Overduin P., Semret M. 2005. Genomic Polymorphisms for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Diagnostics. *J. Clinical Microbiology*, 43 (8): 3704–3712
66. Enosawa M. 2003. Use of Loop-Mediated Isothermal Amplification of the IS900 Sequence for Rapid Detection of Cultured *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*. *Journal Of Clinical Microbiology*. 41(9): 4359–4365
67. Waters W. R., Miller J. M., Palmer M. V., Stabel J. R., Jones D. E., Koistinen K. A. 2003. Early Induction of Humoral and Cellular Immune Responses during Experimental *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* Infection of Calves. *Infection And Immunity*. 71(9): 5130–5138
68. Coussens P. M. 2004. Model for Immune Responses to *Mycobacterium avium* Subspecies *paratuberculosis* in Cattle. *Infec. And Imm.* 72(6): 3089–3096
69. Bull T.J., Hermon-Taylor J., Pavlik I., El-Zaatari F., Tizard M. 2000. Characterization of IS900 loci in *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* and development of multiplex PCR typing. *Microbiology*. 146: 2185–2197.

70. Koets A.P. 2001. Differential Changes in Heat Shock Protein-, Lipoarabinomannan-, and Purified Protein Derivative-Specific Immunoglobulin G1 and G2 Isotype Responses during Bovine *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Infection. *Infection And Immunity*. 69(3): 1492–1498
71. Perea A., Arenas A., Maldonado A., Tarradas C., Sánchez P., Quezada M., Carrasco L. Patología de los pequeños rumiantes en imágenes (II). Enfermedades de los adultos (enfermedades infecciosas). www.colvet.es/infovet/oct99ciencias_v/articulo.htm.
72. Aho A.D., McNulty A.M., Coussens P.M. 2003. Enhanced Expression of Interleukin-1 α and Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated Protein 1 in Ileal Tissues of Cattle Infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Infection And Immunity. 71(11): 6479–6486
73. Koets A. 2002. Progressive Bovine Paratuberculosis Is Associated with Local Loss of CD4 $^{+}$ T Cells, Increased Frequency of $\gamma\delta$ T Cells, and Related Changes in T-Cell Function. *Infection And Immunity*. 70(7):3856–3864
74. Khalifeh M. S., Stabel J. R.. 2004. Effects of Gamma Interferon, Interleukin-10, and Transforming Growth Factor β on the Survival of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Monocyte-Derived Macrophages from Naturally Infected Cattle Infection And Immunity. 72(4):1974–1982
75. Stabel J. R., Goff J. P., Kimura K. 2003. Effects of Supplemental Energy on Metabolic and Immune Measurements in Periparturient Dairy Cows with Johne's Disease. *J. Dairy Sci*. 86:3527–3535.
76. Bannantine J.P., Hansen J.K., Paustian M.L., Amonsin A., Li L-L., Stabel J.R., Kapur V. 2004. Expression and Immunogenicity of Proteins Encoded by Sequences Specific to *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*. *Journal Of Clinical Microbiology*. 42(1):106–114