Paratuberculosis: aproximación al diagnóstico

A. Villa, B. Moreno y A. Navarro.
Exopol (Zaragoza)

La Paratuberculosis o Enfermedad de Johne es una enfermedad crónica del tracto intestinal que afecta principalmente a rumiantes, aunque ha sido descrita en otras especies tales como cerdos, caballos, conejos, aves, roedores, primates, zorros, comadrejas o armiños.

El agente etiológico es *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map), un bacilo ácido-alcohol resistente intracelular, no esporulado e inmóvil, que es resistente al calor, al frío, a la desecación, que puede sobrevivir por largos periodos en el suelo (más de un año) y aún más en el agua, que fue descrito por primera vez en Alemania hace más de cien años.

La paratuberculosis presenta una distribución mundial y es considerada de gran importancia por motivos económicos, especialmente en bovinos, ovinos y caprinos, debido a las pérdidas que provoca, así como por su posible carácter zoonótico, ya que Map ha sido relacionado, en ocasiones, con la enfermedad de Crohn.

La transmisión de la enfermedad suele ocurrir con la introducción de animales asintomáticos en la explotación, siendo los animales jóvenes los más sensibles, especialmente sobre los seis meses. Las vías de infección son fecal-oral, por heces, calostro o leche, así como por vía transplacentaria, mediante inseminación artificial o monta directa o transferencia de embriones.

La infección ocurre principalmente por vía oral en los primeros meses de vida, si bien la clínica aparece sobre todo a partir del año de vida. No obstante, se ha descrito, de forma esporádica, enfermedad clínica en terneros recién nacidos, considerándose que nacen infectados. A este respecto, se ha estimado un porcentaje aproximado de un 9% de infección intrauterina a partir de animales subclínicos y de un 39% de animales con clínica.

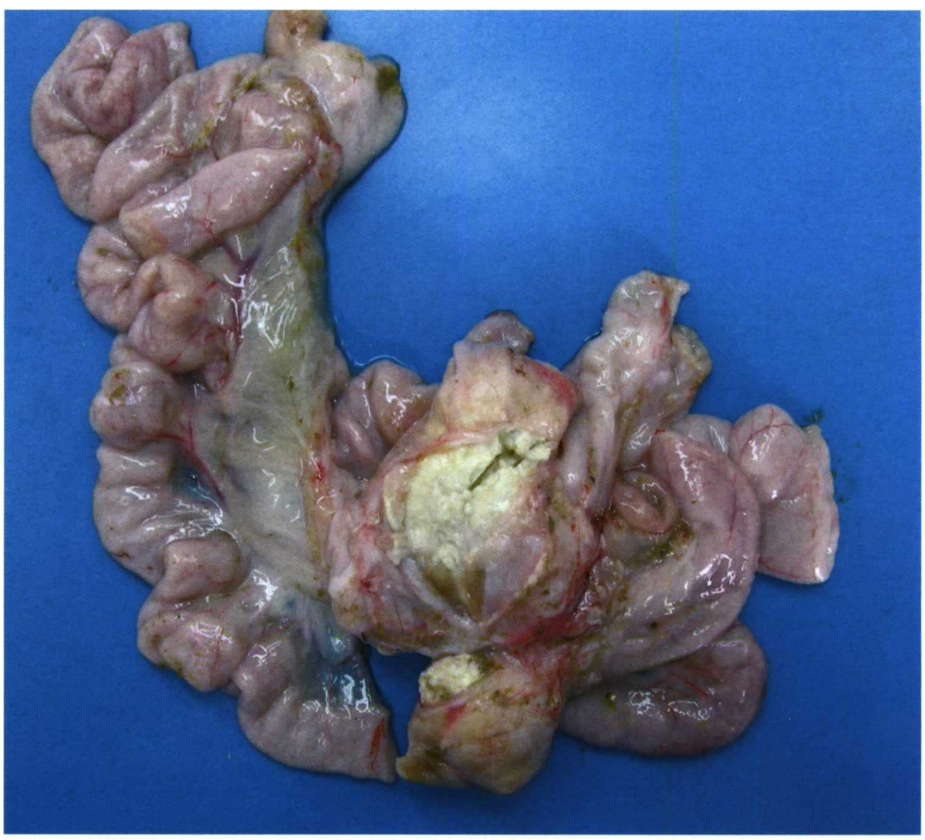


Foto 1. Intestino delgado y ganglios mesentéricos de una cabra con Paratuberculosis. Se observa un moderado engrosamiento del intestino delgado y una intensa necrosis en ganglio que ocupa la mayor parte del mismo. Microscópicamente, se observó una enteritis y linfoadenitis granulomatosas con numerosos macrófagos y extensa necrosis en el ganglio. Mediante la tinción de Ziehl-Neelsen se observaron numerosas bacterias ácido-alcohol resistentes y mediante inmunoperoxidasa abundante positividad en ambos órganos.

Síntomas y lesiones

Clínicamente se caracteriza principalmente por diarrea crónica, que puede ser intermitente, con adelgazamiento progresivo y muerte. Habitualmente,

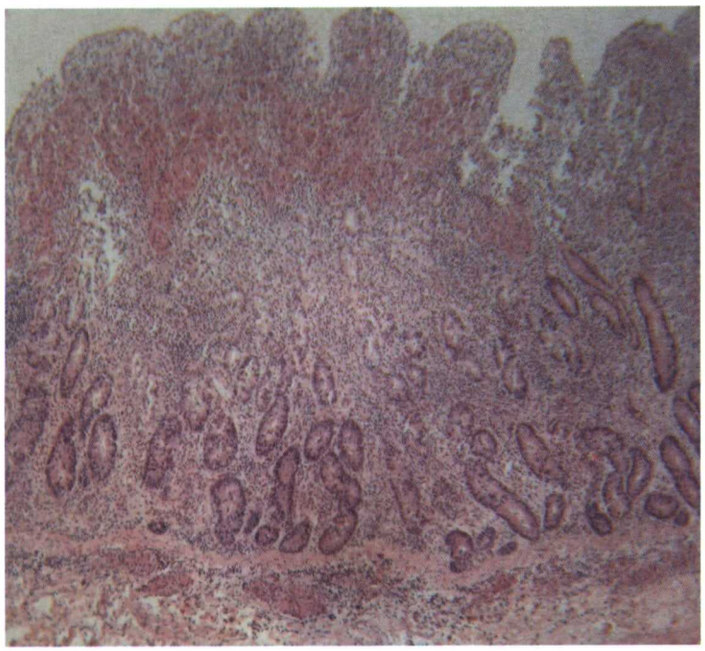


Foto 2. Intestino delgado de oveja con Paratuberculosis. Se observa una enteritis granulomatosa con numerosos macrófagos en la lámina propia. H-E x100.

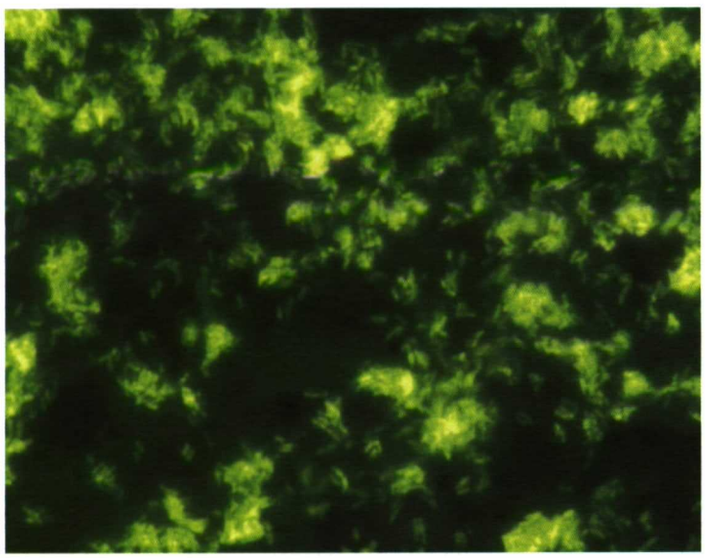
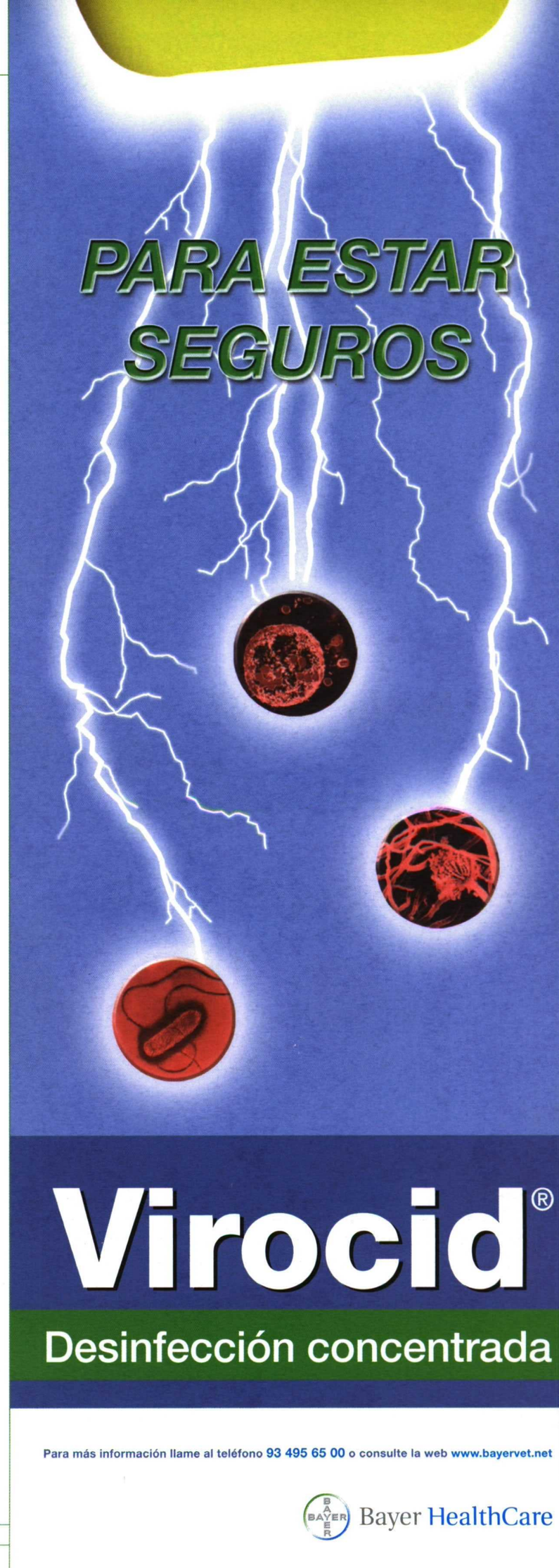


Foto 3. Marcaje fluorescente de Mycobacterias. En la foto de una impronta de intestino se ven muchísimas Mycobacterias en comparación con la **foto 4** teñida con Ziehl Neelsen.

los signos aparecen tras procesos estresantes como el parto o la lactación. Es importante destacar que en rebaños con Paratuberculosis clínica, existe un elevado porcentaje de animales subclínicos. La infección subclínica se ha asociado con infertilidad y descenso en la producción de leche. A nivel lesional, se observa una enteritis granulomatosa con engrosamiento de la pared y tumefacción ganglionar. Microscópicamente, se describe una variación entre dos formas clásicas, una con predominio de linfocitos y escasas micobacterias, y otra con abundantes macrófagos y numerosas micobacterias, ambas expresadas en lesiones macroscópicas. También existen formas focales y multifocales, sólo detectables tras el estudio histológico. La importancia y prevalencia de cada forma varía según la especie e individuo, y están relacionadas con diferentes respuestas inmunológicas.



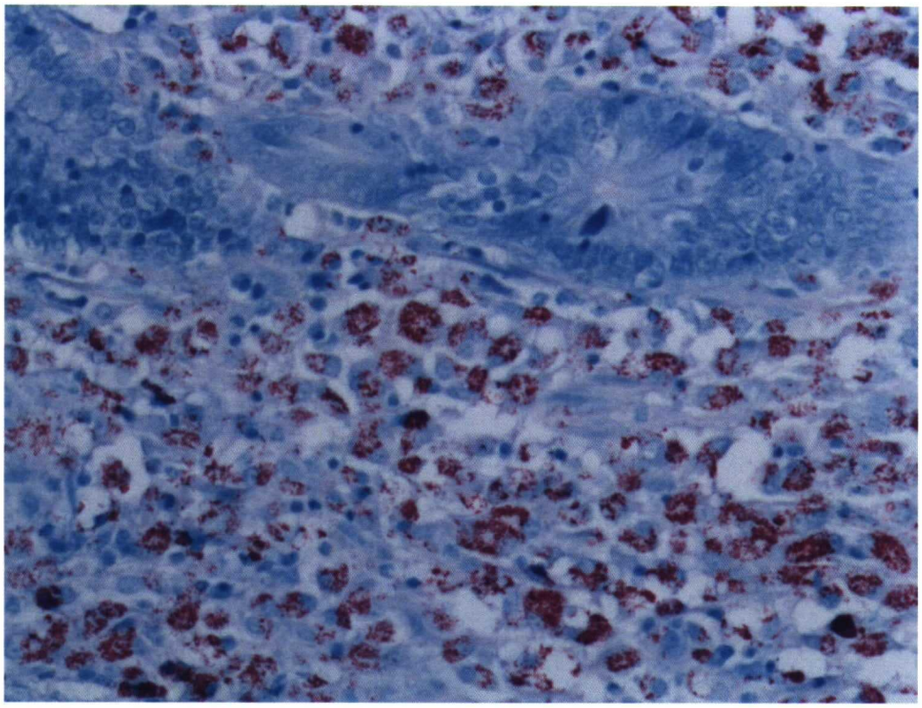


Foto 4. Intestino de oveja con Paratuberculosis. Pueden observarse numerosos bacilos ácido-alcohol resistentes en macrófagos de la lámina propia. Z-N x200.

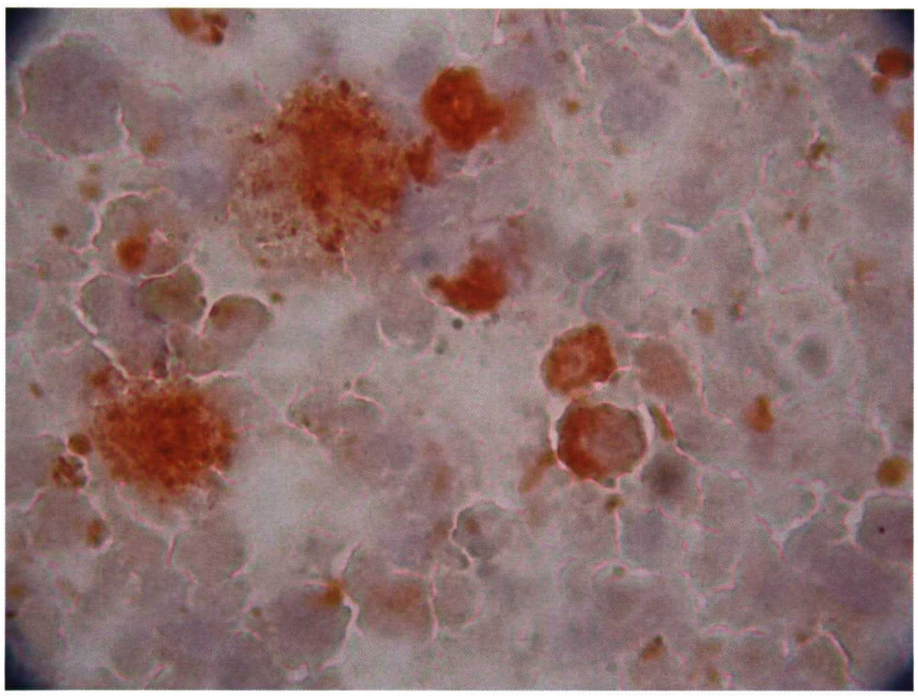


Foto 5. Mycobacterium paratuberculosis detectado en células de una válvula ileocecal de bovino adulto mediante inmunoperoxidasa indirecta. Se empleó un anticuerpo monoclonal específico para *M. avium paratuberculosis*. Sustrato AEC en DMF. Contraste Hematoxilina de Mayer. Campo claro 1000X. Se observan grupos de bacilos teñidos de color rojo intenso dentro y fuera de las células, sobre fondo azul rosa pálido o incoloro.

Es importante destacar que en rebaños con Paratuberculosis clínica, existe un elevado porcentaje de animales subclínicos

Diagnóstico

Un buen diagnóstico es fundamental para el control adecuado de la enfermedad, sin embargo, las características de la infección, como un largo periodo de incubación, animales infectados subclínicamente, eliminación intermitente del agente o la variación de la respuesta inmune, hace que sea dificultoso. Un diagnóstico aceptable requiere la combinación de diferentes pruebas laboratoriales.

Los programas de erradicación, con medidas a nivel de rebaño, se basan generalmente en el uso del cultivo junto con análisis serológicos. Si bien el diagnóstico estrella es el cultivo, su complejidad técnica, así como su lentitud en producir resultados, hace que se realice en pocos laboratorios. A nivel individual, por otra parte, se pueden hacer diferentes analíticas, como estudio lesional, tanto macroscópico (**Foto 1**) como microscópico (**Foto 2**) (útil en formas lesionales no visualizables macroscópicamente como las focales o multifocales), y técnicas rápidas tales como la tinción fluorescente de auramina (**Foto 3**), más sensible que la de Ziehl-Neelsen (**Foto 4**), el uso de anticuerpos monoclonales para inmunofluorescencia e inmunoperoxidasa (**Foto 5**) o técnicas moleculares de PCR.

Respecto a las técnicas serológicas, están las que nos permiten medir la inmunidad celular (intradermoreacción y gamma interferón), útiles en el diagnóstico precoz de la infección, y las que determinan la inmunidad humoral como la FC, AGID y ELISA, útiles para animales con enfermedad clínica pero de limitado valor para infecciones subclínicas excepto en animales eliminadores. El AGID presenta una elevada sensibilidad, sobre un 99%, para detectar animales con signos clínicos. Con ELISA, los animales positivos son los mayores eliminadores pero es insuficiente para los estadios iniciales de la infección. Los animales positivos deben ser confirmados con métodos directos de detección del agente etiológico. La sensibilidad es muy buena para el ganado no infectado, por ello la utilidad práctica del ELISA es el screening del rebaño para confeccionar su historial respecto a la Paratuberculosis. El test de FC es la prueba oficial recomendada por la OIE para la importación y exportación de animales y muestra una sensibilidad y especificidad intermedias entre el AGID y el ELISA. ●