

## Nota de investigación

### LA ENFERMEDAD "JOHNE" EN UNA VAQUERÍA DE PUERTO RICO: INFORME DE UN CASO CLÍNICO<sup>1,2</sup>

La enfermedad "Johne" o paratuberculosis, una enfermedad infecciosa crónica que ataca al ganado vacuno salvaje y doméstico, causada por *Mycobacterium paratuberculosis*, está difundida extensamente en Estados Unidos y en otros países.<sup>3,4,5</sup> Este microorganismo, un bacilo, no produce esporas y es grampositivo. Habita principalmente en la mucosa del área de la válvula ileocecal y los nódulos linfáticos mesentéricos adyacentes.<sup>6</sup> El bacilo es viable por 11 meses en el suelo, por 8 meses en las heces y por 5 meses en agua estancada.<sup>7</sup>

*M. paratuberculosis* también está asociado con la enfermedad de "Crohn," que

causa una diarrea crónica en los humanos que sufren del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).<sup>8</sup>

Todas las razas vacunas son susceptibles a la enfermedad y generalmente las reses suelen infectarse cuando son jóvenes, por medio del contacto oral con heces. En la vaca preñada infectada, el bacilo de la paratuberculosis es capaz de infectar el embrión o el feto intrauterinamente.<sup>9,10</sup> Durante el desarrollo postnatal los animales también pueden infectarse en edificios o pastos contaminados.<sup>8</sup> Es raro que el ganado adulto se infecte. El ganado lechero sufre una incidencia más alta de la enfermedad

<sup>1</sup>Manuscrito sometido a la Junta Editorial el 9 de mayo de 1989.

<sup>2</sup>Se agradece la ayuda prestada y consejos ofrecidos por el asesor, Sr. Rubén Caro; al Ayudante Técnico, Héctor Santana, de la Subestación de Gurabo, por la ayuda ofrecida en la toma de muestras fecales y sanguíneas de los animales.

<sup>3</sup>Rieman, H. P., M. R. Zaman, R. Ruppamer, O. Ashlund, J. B. Jorgensen, H. Worsaae and D. Behvmer, 1979. Paratuberculosis in Cattle and Free-Living Exotic Deer, *JAVMA* 174: 841-43.

<sup>4</sup>Hagan, W. A. and D. W. Bruner, 1981. The Infectious Diseases of Domestic Animals, 7th ed, Comstock Publ. Assoc., Ithaca, NY, pp 267-76.

<sup>5</sup>Rivera-Reams, R., 1988. Animal Diseases Diagnosed in Puerto Rico via the Veterinary Diagnostic Laboratory (during fiscal year 1988). Presented August 26, 1988 to the Puerto Rico College of Veterinarians at their Second Annual Convention.

<sup>6</sup>Merkal, R. S., A. E. Larsen, D. L. Whipple, J. M. Sacks and G. R. Snyder, 1987. Prevalence of *Mycobacterium paratuberculosis* in Ileocecal Lymph Nodes of Cattle Culled in the United States. *JAVMA* 190 (6): 676-80.

<sup>7</sup>True, C. K. and A. J. Roussel, 1987. Paratuberculosis: A review. *Southwest. Vet.* 38 (1): 27-30.

<sup>8</sup>Hamilton, H. H., D. M. Follett, L. M. Siegfried and C. J. Czuprynski, 1989. Intestinal Multiplication of *Mycobacterium paratuberculosis* in Athymic Nude Gnotobiotic Mice (In press.).

<sup>9</sup>Thoen, C. O. and C. C. Muscoplat, 1979. Recent Development in Diagnosis of Paratuberculosis (Johne's Disease). *JAVMA* 174: 848-40.

<sup>10</sup>Larsen, A. B. and K. E. Kopecky, 1970. *Mycobacterium paratuberculosis* in Reproductive Organs and Semens of Bulls. *Am. J. Vet. Res.* 31: 255-58.

que el ganado para carne debido posiblemente a que el hato lechero requiere agrupar más las vacas.<sup>11</sup>

Los primeros síntomas de la enfermedad "Johne" son diarrea crónica y pérdida gradual de peso, aunque el apetito no se afecta mucho. Las vacas afectadas se debilitan gradualmente, disminuyen su producción lechera, se les reseca la piel y el pelo se les pone áspero.<sup>12</sup> Los síntomas ocurren predominantemente entre los 2 y los 5 años, pero se han observado en becerras lecheras jóvenes de diez meses y en vacas lecheras de 9 años. En animales viejos los síntomas se observan cuando están en situaciones estresantes, tales como partos, mudanza o cambio de una finca a otra y padecimiento de otras enfermedades.<sup>4,13,14</sup>

Las pérdidas causadas por paratuberculosis no son fáciles de estimar. Los informes indican que las vacas lecheras infectadas generalmente producen menos leche que las no infectadas. Además, las vacas in-

fectadas subclínicamente están más predispuestas a mastitis e infertilidad.<sup>13,15,16</sup> Los oficiales regulatorios de Wisconsin estiman que las pérdidas anuales causadas por la enfermedad "Johne" en el estado ascienden a más de \$53 millones.<sup>17</sup> En todos los estados de Nueva Inglaterra combinados la pérdida anual sobrepasa los \$15.4 millones.<sup>18</sup>

Es difícil diagnosticar la enfermedad "Johne". Hay que diferenciarla de parasitismo, desnutrición, gastritis traumática crónica, disentería de invierno, pielonefritis, salmonelosis y diarrea viral de bóvidos.<sup>18</sup> El diagnóstico de paratuberculosis usando las pruebas en vivo de Inmunidad Mediada Intradermal e Intravenosamente por la célula Johnin no es una práctica común. Las pruebas sólo son moderadamente sensitivas y específicas y requieren más de una visita a las fincas.<sup>11,16,22</sup>

Las pruebas de laboratorio *in vitro*, tales como la Prueba de Inmunodifusión de Agar-Gel ("AGID")<sup>14,23</sup> y Prueba Inmunoabsor-

<sup>11</sup>McKee, T. J. and P. C. McCoy, 1988. How to Diagnose Johne's Disease. *Vet. Med.* 83: 301-06.

<sup>12</sup>Larsen, A. B., 1986. Johne's Disease - Current Veterinary Therapy II: Food Animal Practice (J. L. Howard, Ed.) W. B. Sanders. Philadelphia, PA, pp. 601-03.

<sup>13</sup>———, R. S. Merkal and R. C. Cutlip, 1975. Age of Cattle as Related to Resistance to Infection with *Mycobacterium paratuberculosis*. *Am. J. Vet. Res.* 36: 255-57.

<sup>14</sup>Merkal, R. S., A. B. Larsen and G. D. Booth, 1975. Analysis of the Effects of Inapparent Bovine Paratuberculosis. *Am. J. Vet. Res.* 36: 837-38.

<sup>15</sup>Buergelt, C. D. and J. R. Duncan, 1978. Age and Milk Production Data of Cattle Culled From Dairy Herd with Paratuberculosis. *JAVMA* 173: 478-80.

<sup>16</sup>Sherman, D. M. and R. J. F. Markham, 1984. Current Concepts in Johne's Disease. *Vet. Med.* 80: 77-84.

<sup>17</sup>Arnoldi, J. M. and S. Hurley, 1983. Johne's Disease in Wisconsin Cattle—A Survey of Cull Cows. Proc. Int. Colloq. Res. Paratuberculosis, Ames, Iowa. June: 16-21.

<sup>18</sup>Chodini, R. J., H. J. Van Kruiningen and R. S. Merkal, 1984. Ruminant Paratuberculosis (Johne's Disease) - The Current Status and Future Prospect. *Cornell Vet.* 74: 218-62.

<sup>19</sup>Hines, S. A., C. M. Buergelt, J. H. Wilson and E. L. Bliss, 1987. *Disseminated Mycobacterium paratuberculosis* Infection in a Cow. *JAVMA* 190: 681-83.

<sup>20</sup>Larsen, A. B., T. H. Vardaman and A. H. Groth, 1950. Preliminary Studies on the Effect of Streptomycin and other Agents on *Mycobacterium paratuberculosis*. *Am. J. Vet. Res.* 11: 364-77.

<sup>21</sup>———, 1953. The effect of Isonicotinic Acid Hidrazide on *Mycobacterium paratuberculosis*. *JAVMA* 122: 309-10.

<sup>22</sup>——— and R. S. Merkal, 1963. An Extended Study of a Herd of Cattle Naturally Infected with Johne's Disease - I. The Significance of the Intradermic Johnin Test. *Am. J. Vet. Res.* 24: 91-3.

<sup>23</sup>Sherman, D. M., R. J. F. Markham and F. Bates, 1984. Agar Gel Immunodiffusion Test for Diagnosis of Clinical Paratuberculosis in Cattle. *JAVMA* 185 (2): 179-82.

bente de Enzima Enlazada ("ELISA")<sup>24</sup> son confiables, pero, igual que otras pruebas, tienen algunas limitaciones. La Fijación de Complemento (FC), la prueba serológica tradicional para la enfermedad "Johne," tiene sensibilidad y especificidad moderada, por lo que se está poniendo en duda su valor en el programa de eliminación y erradicación de la enfermedad.<sup>11,16,25</sup>

El cultivo de *M. paratuberculosis* de las heces es una prueba confiable para diagnosticar la enfermedad "Johne" en un programa de eliminación y erradicación.<sup>11</sup> Sin embargo, resulta impráctico para confirmar casos clínicos debido a que el procedimiento de laboratorio toma como 2 meses en completarse.<sup>16</sup> Además, el valor residual de los animales sospechosos disminuye considerablemente durante ese largo período de espera.

Al presente no hay un agente quimioterapéutico eficaz contra la enfermedad "Johne".<sup>26,27</sup> La prevención parece ser la única manera de evitar un brote de la enfermedad. Sherman<sup>19</sup> ha recomendado que los ganaderos críen sus reemplazos o los compren de hatos certificados como negativos a paratuberculosis. Se recomienda también usar inseminación artificial, criar los reemplazos separados de sus madres y efectuar rutinariamente estrictos procedimientos sanitarios.

Los cercados para pastar donde se haya mantenido animales infectados tienen que ararse y dejarse sin usar por lo menos un año.<sup>26</sup>

A partir del 2 de septiembre de 1986, la vaca Holstein núm. 1033, de la Subestación de Gurabo, padeció de diarrea persistente. Aunque mantuvo buen apetito, perdió 90 kg. en 5 semanas, estaba enflaquecida y murió al mes y medio (16 de octubre de

1986) después de observarse los primeros síntomas.

El 3 de octubre de 1987 la vaca Holstein núm. 1025 padeció de una diarrea persistente. En esa ocasión no se siguió el protocolo completo para el diagnóstico de la enfermedad "Johne".<sup>19</sup> Sólo se efectuó un examen físico y se examinaron las heces para parásitos gastrointestinales, que dio un resultado negativo. Se enviaron al Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios ("NVSL") en Ames, Iowa, muestras de sangre para análisis por la técnica de Fijación de Complemento (FC), así como muestras fecales para cultivo bacteriano (CBHF).

Se recibió el 23 de octubre de 1987 información de que la técnica FC en las muestras de sangre de dicha vaca. Fue positiva en una dilución de 1:64. El animal enflaqueció rápida y progresivamente con pérdida de 363 kg. y murió el 12 de noviembre de 1987, 3 meses después de haberse remitido las muestras para análisis y pruebas.

El 4 de diciembre de 1987 se obtuvo por venipunción muestras de 10 ml. de sangre de cada una de 167 reses de la Subestación de Gurabo. La sangre se mantuvo en frascos esterilizados.

Se obtuvo aproximadamente media onza de heces del recto de cada animal con un guante desechable seco, nuevo en cada ocasión y se almacenó cada muestra en una bolsa "Whirlpack." Las muestras sanguíneas y fecales se mantuvieron separadas en un envase plástico no refrigerado y se enviaron al laboratorio "NVSL" para analizarlas por los métodos de Fijación de Complemento (C) y Cultivo Bacteriano de Heces (CBHF).

El 18 de diciembre de 1987, dos semanas después, el "NVSL" remitió los resultados

<sup>24</sup>Yokomizo, Y., R. S. Merkal, and P. A. S. Lyle, 1983. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Bovine Immunoglobulin G Antibody to a Protoplasmic Antigen of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Am. J. Vet. Res.* 44: 2205-07.

<sup>25</sup>Sherman, D. M. and K. E. Kopecky, 1965. Studies on the Intravenous Administration of Johnin to Diagnose Johne's Disease. *Am. J. Vet. Res.* 26: 673-75.

<sup>26</sup>Wilson, G. S. and A. A. Miles, 1964. Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity, 5th ed., Vol. II, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, MD 21202.

<sup>27</sup>Callihan, D., 1988. New York Diag. Lab., Cornell Univ., Ithaca, N.Y., Personal communication.

de las pruebas de FC. El 37% (63) de las 167 muestras de sangre reaccionaron y las restantes 104 (63%) no. De las 63 muestras que reaccionaron, 26 (41%) fueron positivas, se aislaron y 12 se vendieron para la matanza.

De las 12 vacas positivas, que fueron sacrificadas el 13 de abril de 1988, a 11 se le extrajeron los nódulos linfáticos ileocecales y se enviaron al laboratorio "NVSL" para cultivo bacteriano. Es en la unión ileocecal que los nódulos linfáticos deben mostrar la presencia de *M. paratuberculosis* si está realmente presente en el animal. Las restantes 14 vacas positivas se mantuvieron aisladas para observarlas por más tiempo.

Los resultados de los cultivos bacterianos de muestras de las 11 vacas se recibieron del "NVSL" el 25 de agosto de 1988, cuatro meses después de haberse remitido los nódulos linfáticos ileocecales. En 6 de las 11 vacas positivas (55%) no se aisló *M. paratuberculosis* y en las restantes 5 (45%) se aisló un bacilo del género *Mycobacterium*, similar al *M. paratuberculosis*, pero con colonias morfológicamente distintas o aberrantes. Al recibirse los resultados negativos del cultivo bacteriano de los nódulos linfáticos de 6 de las vacas supuestamente positivas al método de FC, las 14 vacas positivas por el método CF se reincorporaron al hato.

El resultado completo y final del cultivo bacteriano de las heces recogidas en 167 animales de la Subestación de Gurabo el 4 de diciembre de 1987 se recibió el 10 de junio de 1988. Sólo una vaca (0.6%) fue positiva a "Johne" en el análisis bacteriano de las heces. En otra vaca se aisló una colonia de micobacterias después de cultivar las heces 20 semanas. No obstante, el escaso crecimiento produjo micobactina en cantidad insuficiente, lo que no propició identificar definitivamente el microorganismo como *M. paratuberculosis*. Estas dos vacas se aislaron y se sacrificaron. De ambas se obtuvieron sus nódulos linfáticos ileocecales, los cuales se enviaron a "NVSL" para evaluación. Los estudios histopatológicos y los cultivos bacterianos de estos nódulos no revelaron la presencia de *M. paratuberculosis*.

Las 26 vacas positivas para la enfermedad "Johne" o paratuberculosis por la

prueba de FC fueron negativas para *Mycobacterium* sp. en cultivos bacterianos de sus heces.

Los resultados y hallazgos de estos análisis nos llevan a la conclusión de que la prueba de FC no es confiable para diagnosticar la enfermedad "Johne" en el ganado. El método no es suficientemente sensitivo o específico y su empleo fue una pérdida de esfuerzo y dinero.

El diagnóstico de la enfermedad "Johne" no es fácil. La única vaca positiva por el cultivo bacteriano de las heces no mostró la presencia del agente etiológico de sus nódulos linfáticos ileocecales.

El método más confiable para diagnosticar paratuberculosis al presente es el cultivo bacteriano de las heces.

Las primeras dos vacas Holstein que murieron de la enfermedad "Johne" en Puerto Rico y la vaca Holstein diagnosticada positiva por el método de cultivo bacteriano de sus heces se importaron de Estados Unidos. Hasta el presente ninguna vaca nacida en Puerto Rico se ha diagnosticado positiva para paratuberculosis por el método de cultivo bacteriano de las heces.

Todos los animales con diagnóstico negativo para la enfermedad "Johne" se están reevaluando por el método de cultivo bacteriano de las heces cada 6 meses, tres veces consecutivas.

Si los resultados de cultivos bacterianos de las heces en estas tres pruebas semestrales consecutivas resultaran negativos, se continuará su evaluación anual sucesivamente hasta tanto se identifiquen y eliminen del hato todas las que resulten positivas como "portadoras fecales enmascaradas" ("shedders".)

*Delfín de León*

*Veterinario*

*Teodoro Ruiz*

*Ayudante de Investigaciones*

*Greisha Stevens*

*Ayudante de Investigaciones*

*Rachel Reams Rivera*

*Veterinaria*

*Laboratorio Diagnóstico Veterinario*

*Departamento de Agricultura de*

*Puerto Rico*

*Hiram Amundaroy*

*Veterinario y Asesor*