



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**Escuela Nacional de Estudios Superiores
CUAUTITLAN**

**PARATUBERCULOSIS BOVINA EN MEXICO,
CASOS CLINICOS PRESENTADOS EN LA FACULTAD DE
ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN Y SU
CONFIRMACION A NIVEL DE LABORATORIO**



Departamento de
Exámenes Profesionales

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

Médico Veterinario Zootecnista

P R E S E N T A :

PATRICIA PALACIOS PEREZ

Asesor: M.V.Z. A. Enrique Esperón Sumano



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

El trabajo realizado en este estudio clínico de Paratuberculosis se hizo en bovinos del hato de producción pecuaria de la F.E.S. Cuautitlán mismos que son empleados para practicas de los estudiantes; y su confirmación a nivel de laboratorio para determinar la presencia de bacilos ácido-resistentes.

Se analizó la información de 2 casos de Paratuberculosis y se describen los métodos más utilizados para su diagnóstico a nivel de laboratorio. En el caso No. 1 se diagnosticó clínicamente, aun cuando no presentaba una manifestación típica de la enfermedad, ya que en ningún momento se consigna la presencia de diarrea sin embargo, el animal presentó lesiones macroscópicas características del padecimiento en aparato digestivo a nivel de mucosa intestinal y ganglios regionales. En el caso No. 2, se diagnostica clínicamente la enfermedad ya que únicamente se consideró la presencia de diarrea como una manifestación típica del padecimiento.

En ambos casos se realizaron pruebas para determinar las lesiones histológicas de Paratuberculosis; en el caso No. 2 se ratifica aún más la presentación de la enfermedad con el examen complementario de laboratorio bacteriológico que es la técnica ácido-resistentes a 2 muestras de raspado de mucosa rectal y 1 de heces, resultando positiva esta prueba.

La Paratuberculosis no es un padecimiento espectacular, pero si de propagación lenta y de curso crónico que originan pérdidas económicas periódicas en la producción pecuaria en México y en el Mundo.

Se concluye que en la F.E.S. Cuautitlán se ha determinado la presencia de Paratuberculosis en bovinos utilizados para la producción y prácticas de los estudiantes.

I N D I C E

I.	INTRODUCCION Y REVISION DE LA LITERATURA CITADA	1
1.-	INTRODUCCION	1
1.1.	Etiología	2
1.2.	Transmisión	4
1.3.	Patogenesis	6
1.4.	Diagnóstico	7
	A) Examen clinico	10
	B) Diagnóstico inmunológico	11
	B.a. Métodos basados en inmunidad celular	11
	B.b. Métodos basados en-inmunidad homoral	14
	1. Pruebas de fijación del complemento	14
	2. Prueba de hemoaglutinación	16
	3. Prueba de precipitación	16
	4. Prueba de inmunofluorescencia	17
	5. Prueba de floculación de bentonita	17
	6. Prueba inmunoabsorbente ligado a la enzima ELIASA	18
	C) Diagnóstico bacteriológico	18
	C.a. Examen microscópico	18
	C.b. Cultivo	22
	D) Diagnóstico por necropsia	22
II.	MATERIAL Y METODOS	26
III.	RESULTADOS Y DISCUSION	27

IV. CONCLUSION 36

V. BIBLIOGRAFIA 38

I.- INTRODUCCION Y REVISION DE LA LITERATURA CITADA.

1.0 INTRODUCCION

La Paratuberculosis es una enfermedad de curso crónico ampliamente distribuida en todo el mundo, que afecta principalmente a los bovinos, aunque también se encuentra en ovinos y caprinos, se caracteriza por el adelgazamiento progresivo de todas las especies afectadas. En bovinos la principal alteración es la diarrea crónica y el engrosamiento y corrugación de la pared del intestino, siendo rara la enfermedad en equinos y porcinos (4,16,22,31).

Es posible encontrarla en ruminantes salvajes y experimentalmente se puede reproducir la enfermedad en ratones, conejos y hamster (11,14,25,34,46).

Tiene importancia primordial en bovinos y ovinos en zonas tropicales y climas benignos y algo húmedos. La frecuencia del padecimiento es mayor en animales situados en condiciones climáticas y domésticas inmejorables. Es difícil calcular el porcentaje de morbilidad dado lo incierto del diagnóstico, pero las cifras de mortalidad anual en rebaños y vacadas infectadas pueden llegar al 10%. Si bien las pérdidas por defunciones no son altas, cuando se agregan a éstas las ocasionadas por los periodos prolongados de enfermedad y por disminución de la productividad, el padecimiento puede causar grandes problemas económicos en las vacadas enfermas. La enfermedad de Johne no es un padecimiento espectacular, su propagación lenta y su curso crónico, originan pérdidas económicas periódicas. Asimismo los bovinos infectados tienen tasa más alta de mastitis y esterilidad que los no infectados. Esta enfermedad es más -

frecuente en bovinos y en menor proporción en ovinos y caprinos, cuando se establece lo que es aconsejable a veces la inmunización y en ovinos la mayor importancia del padecimiento radica en que pueden actuar como portadores de la infección a los bovinos. En los cerdos - que conviven con bovinos infectados se comprueba a menudo agrandamiento de los ganglios linfáticos mesentéricos. Los cerdos infectados experimentalmente desarrollan enteritis granulomatosa y linfadenitis, lo mismo que los caballos (4).

1.1 ETIOLOGIA

El agente etiológico es una bacteria ácido-resistente facultativa intracelular denominada Mycobacterium paratuberculosis. Es un bastoncito corto y grueso que mide 0.5 micras de diámetro y de 1 a 2 micras de longitud. Se considera el más pequeño de los bacilos tuberculosos. En las preparaciones, a partir de mucosas infectadas, aparece en forma de grumos, aunque puede encontrarse ejemplares aislados diseminados por la preparación; esta disposición es útil para su identificación. Persiste el agente en el pasto por largos periodos sin multiplicación, pero con poder de infección por más de un año (10).

El microorganismo es relativamente susceptible a la desecación, luz solar, concentraciones elevadas de calcio y al pH.- alto del suelo; el contacto permanente con heces y orina disminuye su longevidad. La alcalinidad del suelo puede influir también en la gravedad de los signos clínicos. En los grupos de bovinos situados sobre los suelos alcalinos, especialmente en zonas ricas de piedras calizas, se observa frecuentemente

elevada de infección pero pocos casos clínicos del padecimiento. Los bovinos adultos procedentes de esas -- vacadas padecen con frecuencia la enfermedad de Johnegrave y mortal cuando se desplazan a territorio donde el suelo es ácido (4).

Puede reproducirse esta enfermedad experimentalmente por administración de dosis bucales o por inyección intravenosa del microorganismo en todos los rumiantes, pero el período de incubación es más corto y el curso clínico más agudo que en casos naturales. Los animales jóvenes son más susceptibles, apareciendo la mayor parte de infecciones al principio de la vida para surgir en la mayor parte de los casos la etapa clínica después de los dos años de edad. No se dispone de detalles exactos relativos al efecto de la exposición a la infección en adultos, pero es probable que en algunos animales expuestos por primera vez, como ocurre con frecuencia en adultos aparezca la enfermedad clínica mientras que en otros se observa solamente sensibilidad a johnina por períodos breves. Si bien estos últimos animales pueden convertirse en portadores de la enfermedad sin presentar signos clínicos manifiestos, quizá influyan en la aparición de manifestaciones clínicas las situaciones de stress; entre ellas: parto, transporte, carencias nutricionales o exceso de cualquier género. La posibilidad de protección cruzada --- entre tuberculosis y enfermedad de Johnegrave ha dado origen al supuesto de que la erradicación de la tuberculosis pudiera aumentar la susceptibilidad de la población bovina a la enfermedad de Johnegrave (4).

La mayor incidencia se presenta en zonas de industria pecuaria intensiva, sobre todo en zonas húmedas y calurosas. Según las experiencias de Miessner, -

la enfermedad se haya muy difundida en la Prusia Oriental y en general en el norte de Alemania, comprobando su existencia Lange y Berge (1915). La enfermedad de Johne se halla ampliamente distribuida entre bovinos en Europa y ha sido llevada a casi todos los países del mundo por la exportación de grupos de animales de raza pura. Es frecuente en ovinos, sobre todo en Islandia donde fue introducida por un pequeño número de carneros procedentes de Alemania. En los Estados Unidos prevalece especialmente en el sureste del país afectando las comunidades lecheras. La enfermedad bovina, es más común en la región Norte de las Montañas Rocosas (10).

En México fue reportada por primera vez en 1936, por Unzueta en forma clínica. El aislamiento y detección de anticuerpos e identificación de reactores a Mycobacterium paratuberculosis, corresponde a Bustamante y Garibay en 1974. El aislamiento e identificación de reactores a Mycobacterium paratuberculosis se realizó en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos por Ramírez, Trigo, Suárez y Merkal en 1979 (6,10,42,50).

1.2 TRANSMISION

En condiciones naturales se transmite este padecimiento por ingestión de alimentos y bebidas contaminadas por heces de animales infectados. Dado lo largo del período de incubación, los animales enfermos pueden eliminar microorganismos en las heces durante 15 a 18 meses antes de presentar signos clínicos alguno. Asimismo, animales criados en medio infectado pueden convertirse en portadores temporales o permanentes de la enfermedad sin manifestación clínica de ningún género. En

los genitales y semen de toros infectados, se ha aislado el microorganismo, el cual sobrevive a la adición de antibióticos y la congelación; como consecuencia -- puede ocurrir una infección intrauterina, aunque desconocemos su importancia en la transmisión de la enfermedad. Aunque se ha encontrado ocasionalmente Mycobacterium paratuberculosis, en la leche de casos clínicos, -- no es probable que este líquido represente fuente importante de infección (4).

Además de las condiciones antihigiénicas de los alojamientos, la disminución de la resistencia, como consecuencia de una alimentación insuficiente y las -- carencias de minerales, dan como resultado la existencia y persistencia de la infección (4).

En rebaños el contagio se produce ya en los corderos, siendo este casi siempre por vía digestiva. La gran receptibilidad de los animales jóvenes parece que es debido al hecho de ser más permeable su mucosa intestinal a los bacilos ácido-resistentes. Donde la paratuberculosis no se difunde rápidamente en un rebaño, sólo unos cuantos animales muestran síntomas al mismo tiempo. La cronicidad es la característica más sobresaliente de la enfermedad. La infección persiste en los rebaños durante años por esta causa, probablemente pasan desapercibidos muchos casos. Es posible que se transmita la enfermedad del ganado lanar al vacuno y viceversa. Esto parece indicar que el mal es el mismo en ambas especies sin embargo hay pocos casos donde -- haya aparecido la enfermedad simultáneamente en dichas especies en la misma granja. La infección puede ser -- producida por inyección intravenosa, así mismo en ratones por medio de la inyección intraperitoneal o intravenosa (10).

1.3 PATOGENESIS

En un medio ambiente infectado, la mayor parte de las crías de bovinos se hallan infectadas también; unos se curan espontáneamente en pocos meses, otros se convierten en portadores de Mycobacterium paratuberculosis, germen que persiste en la pared intestinal; de este último grupo surgen casos clínicos de la enfermedad. Las bacterias causales se localizan y multiplican en la mucosa del intestino delgado, ganglios linfáticos vecinos y, en menor extensión, en amígdalas y ganglios linfáticos suprafaríngeos. La diseminación posprimaria de las lesiones es más amplia en animales adultos que en becerros y las lesiones tempranas son más graves en los primeros, pero los microorganismos no persisten. En becerros el Mycobacterium paratuberculosis prolifera lentamente, sobre todo en el intestino delgado, dando origen a infiltración celular masiva de la submucosa intestinal que produce hipermotilidad, disminución de absorción y diarrea crónica. En vacas adultas, el proceso infeccioso puede penetrar al feto dando origen a infección prenatal, la infección uterina es más frecuente de lo que generalmente se cree y se observa a menudo en pacientes clínicamente normales. De las observaciones experimentales en ovinos y becerros cabe deducir que la vacunación contra la enfermedad de Johne no impide la infección, pero atenúa la respuesta celular a la misma en la pared intestinal y evita así el comienzo clínico del padecimiento. Como caracteres importantes en la evolución natural de la enfermedad de Johne, procede señalar el largo período de incubación de dos años o más y la aparición de sensibilidad a la jhonina y a la tuberculina aviaria y de

mamíferos. Surge esta sensibilidad en la etapa preclinica, pero en la mayor parte de los casos desaparece en el momento en que comienza a surgir los signos clínicos. Por otra parte, suele ser tardía la presencia de anticuerpos fijadores del complemento que en general aumentan con el incremento de la gravedad de las lesiones. Tal hecho permite suponer la existencia de dos anticuerpos independientes involucrados en las dos reacciones. (4)

1.4 DIAGNOSTICO

Con frecuencia surgen dificultades para el diagnóstico de la enfermedad de Johne en animales por la falta de confianza en las pruebas disponibles; sin embargo las pruebas en vacadas pueden proporcionar información valiosa adicional. La índole crónica de la enfermedad suele ser suficiente para diferenciarla de las otras enteritis frecuentes en bovinos. La salmonelosis, coccidiosis y parasitismo suelen ser agudos y las dos últimas se observa principalmente en animales jóvenes, pudiendo diferenciarse por las heces de oocistos y huevos de helmitos, respectivamente. Suele confundirse con la enfermedad de Johne la intoxicación crónica por molibdeno en bovinos, pero casi siempre es un problema regional que afecta gran número de animales y responde bien a la administración de cobre. El parasitismo en ovinos es susceptible de confusión con la enfermedad de Johne aunque la diarrea es mucho más frecuente en el primero. La consunción debida a la carencia de cobalto puede resultar difícil de diferenciar de la enfermedad de Johne en ovinos (4).

El diagnóstico de la paratuberculosis se inicia

con los estudios de Twort e Ingram en 1910 y 1913, --- quienes aislaron y cultivaron el Mycobacterium paratuberculosis por primera vez y posteriormente prepararon johnina a partir de un extracto de los bacilos cultivados, con el fin de realizar un diagnóstico inmunológico, con base en las observaciones de Bang, quién notó que los animales infectados reaccionaban a la tuberculina aviar inyectada intradérmicamente (3,49).

En el año de 1933, Hagan y Zeissig, adaptaron la prueba de fijación del complemento para el diagnóstico de la enfermedad (17).

En México en 1936 Unzueta diagnóstico la presencia de la enfermedad por primera vez en bovinos, utilizando la aplicación de johnina y tuberculina aviaria y también mediante observaciones del bacilo al microscopio (50).

Subsecuentemente, se han aportado numerosas contribuciones en el área del diagnóstico, mediante la -- utilización de diversos métodos inmunológicos con el -- fin de detectar sobre todo a los animales subclínicamente enfermos; dichos métodos se resumen en el Cuadro No. 1. Es importante señalar que todas estas pruebas -- tienen sus limitaciones, ya que no siempre detectan a los animales infectados, o bien detectan a los animales expuestos que no están infectados y además en muchas ocasiones no diferencian entre infecciones por -- Mycobacterium paratuberculosis y otras micobacterias -- (48).

CUADRO No. 1

MÉTODOS UTILIZADOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA PARATUBERCULOSIS

A) Examen clínico

B) Diagnóstico

B.a. Métodos basados en inmunidad celular:

- 1) Prueba de johnina.
- 2) Prueba doble comparativa (bovina-
y aviaria).
- 3) Transformación linfocitaria in --
vitro.

B.b. Métodos basados en inmunidad humoral:

- 1) Prueba de fijación del complemen-
to.
- 2) Prueba de hemoaglutinación.
- 3) Prueba de precipitación.
- 4) Prueba de inmunofluorescencia.
- 5) Prueba de flocubación de bentoni-
ta.
- 6) Prueba de inmunoabsorbente ligado
a la enzima (ELISA).

C) Diagnósticos bacteriológicos:

C.a. Examen microscópico.

C.b. Cultivo.

D) Diagnóstico por necropsia (48).

Los métodos de diagnóstico incluyen:

A) Examen clínico

En bovinos no se observan signos clínicos antes de los dos años de edad y son más frecuentes en el grupo de dos a seis años (4).

En la presentación típica de la paratuberculosis en los bovinos, tal vez el signo clínico más característico es la diarrea crónica intermitente acompañada de pérdida progresiva de peso. Las heces presentan una consistencia acuosa y algunas veces tienen olor fétido (16).

La fiebre y la toxemia están ausentes y el apetito permanece normal. Después de un curso de meses de la enfermedad en que el animal no responde al tratamiento quimioterapéutico, se observa una severa emaciación y deshidratación; en algunos casos se aprecia además edema submandibular. Este edema tiende a desaparecer al comenzar la diarrea (48).

Se comprueba también disminución de la producción de leche y falta de fiebre y de toxemia. Los animales se alimentan bien durante todo el tiempo pero tienen sed excesiva. Las heces son blandas y líquidas, con aspecto de puré de chícharo, homogéneas y sin mal olor; destaca la ausencia de sangre, restos epiteliales y moco en los mismos. La diarrea puede ser continua o intermitente con tendencia manifiesta a mejorar al final de la gestación para reaparecer agravada poco después del parto. Se registran a veces mejorías pasajeras cuando se retiran los animales de los campos, de pastoreo y se les administra piensos secos. El curso de la enfermedad varía de semana a meses, pero siempre termina por deshidratación grave, adelgazamiento y debilidad progresiva, signos todos los que obligan al --

sacrificio del paciente. Se observa casos sólo en forma esporádica por virtud del ritmo lento de diseminación de esta enfermedad (4).

En los estudios avanzados de la infección, la debilidad y caquexia impiden que el animal se mueva con naturalidad y llega a postrarse para no levantarse más (9).

En ovinos y caprinos se manifiesta la enfermedad de Johne por adelgazamiento progresivo aunque a veces se observa caída de la lana, tornandose seca y quebradiza. La diarrea no es grave aunque las heces pueden ser suficientemente blandas para perder su aspecto normal de bolas o pelotas (4,18).

Siendo el signo principal la pérdida de condición acompañada de edema submandibular, la diarrea es menos frecuente y esta presente únicamente en casos terminales (26).

En el curso agudo, que es raro, los animales están apáticos y permanecen mucho tiempo echados; llaman la atención la palidez de las mucosas (9).

De acuerdo con Larsen, el ganado expuesto al contacto con Mycobacterium paratuberculosis, puede ser clasificado en cuatro categorías: animales clínicamente enfermos, animales asintomáticos pero que eliminan bacilos, animales portadores que no eliminan bacilos y animales no infectados (27).

B) Diagnóstico inmunológico.

B.a. Métodos basados en inmunidad celular:

Las pruebas in vivo, de inmunidad celular - fueron las primeras que se emplearon en el diagnóstico de la paratuberculosis, utilizando tuberculina aviar y posteriormente johnina, en inoculación intradérmica. - Estas pruebas de hipersensibilidad cutánea son más eficaces durante la fase preclínica de la enfermedad; --- pero una vez que los signos aparecen, su confiabilidad decrece. La prueba se efectúa inyectando 0.2 ml. de -- johnina o su PPD (derivado proteico purificado), del medio de cultivo de Mycobacterium paratuberculosis, -- intradérmicamente en la región cervical. La prueba se lee a las 48 horas y un aumento mayor a 5 mm. de diámetro se considera positiva. La prueba intradérmica con johnina no debe ser utilizada como criterio para mandar animales aparentemente sanos al rastro, ya que de acuerdo con Merkal por cada animal aparentemente sano aunque infectado que responde a la inoculación, tres o más animales no infectados también van a responder y tres o más animales infectados no responden (39).

La tuberculina aviaria aplicada en forma intradérmica, también ha sido utilizada para el diagnóstico de paratuberculosis y cuando se utiliza junto con la tuberculina mamífera ofrece la posibilidad de un diagnóstico diferencial entre paratuberculosis y tuberculosis, dependiendo de cual de ambas inoculaciones responde más enérgicamente (16).

Las inoculaciones intradérmicas han sido modificadas por la administración intravenosa de tuberculina aviar o johnina (17,30).

La inoculación intravenosa de 10 ml. de tuberculina aviaria; donde se considera positiva la reacción-

cuando se eleva 1°C la temperatura del animal al cabo de cinco a ocho horas de la administración. Asimismo - en la inoculación intravenosa de 3 a 4 ml. de johnina; se considera positiva cuando se eleva la temperatura - de 39°C a 40°C de tres a siete horas y media después - de la aplicación (4).

De las pruebas celulares in vitro para el diag-- nóstico de paratuberculosis, la de transformación de - linfocitos ha mostrado resultados halagadores. Esta -- prueba consiste en la estimulación de linfocitos sen-- sibilizados con antígenos específicos de micobacterias; sin embargo la tecnología y el equipo requerido para - realizarla limitan su utilización en la práctica ----- (1, 2, 5).

Las tres pruebas disponibles adolecen del inco-- veniente de que los animales en etapa preclínica y --- avanzada poseen sensibilidad cutánea mínima y los que padecen tuberculosis aviaria o bovina o están vacuna-- dos contra la enfermedad de Johnne puede dar reacciones sospechosas o positivas. Estas pruebas solo tienen va-- lor cuando se practican en grupos o vacadas. No es mu-- cha la diferencia en cuanto a eficacia entre las prue-- bas de jhnina intradérmica única, de tuberculina avia-- ria intradérmica doble y de tuberculina aviaria intra-- venosa, aunque puede producirse reacciones generales - después de inyección intravenosa de tuberculina avia-- ria en bovinos infectados (4).

La prueba de johnina intradérmica única, es la-- más conocida y además bastante exacta, aunque no lo -- suficiente para basar en la misma un método de diagnós-- tico en animales aislados por virtud de la escasa sen-- sibilidad que la infección despierta. Durante un perí-- do de más de tres meses después de la inyección, hay -

desensibilización local de la piel en el sitio de la -
 inyección y si se necesita practicar nuevas pruebas, -
 el cuello brinda mejores condiciones para ello que el -
 pliegue caudal. En la prueba con tuberculina aviaria, -
 a la elevación de temperatura suele acompañar reacción
 general que incluye anorexia, depresión, disnea, erec-
 ción del pelo y diarrea intensa (4).

B.b. Métodos basados en inmunidad humoral:

1) Prueba de fijación del complemen- to.

Uso de la prueba de fijación del
 complemento para el diagnóstico de paratuberculosis. -
 La utilización de la prueba de fijación del complemen-
 to como diagnóstico ha sido muy discutida y comparada-
 con pruebas alérgicas, como la prueba doble comparati-
 va intradérmica a la tuberculina mamífera aviaria y/o-
 johnina. Sigurdsson en el año 1954, reportó que la ---
 prueba de fijación del complemento es menos variable -
 en el resultado que la prueba de johnina y que no es -
 raro que de un resultado falso positivo; otros inves-
 tigadores como Vigffusson y Theodrs, asientan que las-
 pruebas serológicas son mucho más seguras que las ----
 pruebas alérgicas. Existen países como Nueva Zelanda -
 que emplean comunmente la prueba serológica como diag-
 nóstico presuncional. Hagan y Zeissing, observaron que
 el valor de la prueba es restringido en ovinos sensi-
 bilizados por organismos ácido-resistentes, incluyendo
 el bacilo tuberculoso. Sigurdsson y colaboradores, de-
 cubrieron un antígeno precipitado por el sulfato amóni-
 co y el ácido tricloro acético, aislado de la pared --
 intestinal de ovinos infectados con el Mycobacterium--
paratuberculosis. Observaron que era valioso este anti-
 geno en el diagnóstico, realizado por medio de la prue-

ba de fijación del complemento. Chanler en el año de 1956, reportó un antígeno preparado con un cultivo de Mycobacterium paratuberculosis de bovino, el cual daba un 80% de eficiencia en la prueba de fijación del complemento. Blood-Henderson, menciona que la prueba de fijación del complemento nos refleja la gravedad de las lesiones, más que los síntomas clínicos y recomienda la realización alterna de la prueba serológica y la alérgica (3-4 veces), con intervalo de tres meses. Armstrong, en el año de 1956 en Nueva Zelanda, pronosticó que la combinación de la prueba serológica y cultivo de heces fecales dará un resultado más preciso -- (6).

Los anticuerpos fijadores del complemento se pueden desarrollar hasta que la infección está bien establecida pudiendo fluctuar de nuevo una vez que la infección está presente en casos clínicos avanzados -- (33).

Por su parte, los becerros pueden desarrollar títulos temporales, por los anticuerpos recibidos en el calostro de madres infectadas. Como desventaja de esta prueba, se menciona las reacciones cruzadas que produce con otras micobacterias incluyendo, Mycobacterium bovis y Mycobacterium avium (44).

Asimismo puede presentarse reacción cruzada con antígenos comunes del género Corynebacterium (13).

En Estados Unidos la prueba de fijación de complemento es utilizada en forma rutinaria, considerando como positivo un título 1:32 (Merkal 1978)&. En general los investigadores procuran obtener sus antígenos a partir de los microorganismos, más que del medio de

cultivo; debido a que tanto la johnina como la tuberculina y sus derivados purificados son antígenos pobres para esta prueba (6, 20, 38, 46).

En los animales tuberculosos se obtienen reacciones positivas a estas pruebas por lo que no deben utilizarse más que en vacadas exentas de esta enfermedad. Se recomienda el uso paralelo de las pruebas de fijación del complemento e intradérmica como el método más adecuado para identificar y reconocer casos tempranos así como también el uso reiterado de la prueba de fijación del complemento con dos o tres semanas de intervalo para identificar la elevación del título y las probabilidades de infección tempranas. Se dispone de una prueba de anticuerpos fluorescentes aunque no permite la diferenciación entre los antígenos de Mycobacterium avium y Mycobacterium paratuberculosis (4).

2) Prueba de hemoaglutinación.

Esta se basa en la absorción de un antígeno adecuado sobre eritrocitos, para buscar posteriormente su aglutinación por un suero inane (32).

Esta prueba también se considera el título 1:32 como positivo y presenta las mismas limitaciones que la prueba de fijación del complemento para detectar animales en etapas iniciales de la infección (33).

3) Prueba de precipitación.

De acuerdo con Merkal et al., en ovinos infectados experimentalmente los anticuerpos precipitantes se desarrollan primero, seguido de los hemoaglutinantes y por último de los fijadores del complemento (40).

Dichas precipitantes continúan aumentando con la infección y decrecen conforme los animales se van recuperando. Se han registrado observaciones similares en caprinos (19).

Utilizando el método de difusión en gel, se observa en ovinos y caprinos una correlación positiva entre el progreso de la infección y el desarrollo de las líneas de precipitación. Esta técnica no es adecuada para el diagnóstico de la infección en bovinos (37).

4) Prueba de inmunofluorescencia.

Gilmour et al., han utilizado esta prueba para detectar anticuerpos específicos en el suero de ovinos y bovinos con infección preclínica (12, 13, 15, 16).

Gondswaard, en cambio, la utilizó para identificar caprinos infectados (14).

Los animales infectados experimentalmente por vía oral desarrollaron anticuerpos detectables por esta prueba entre 3 y 12 meses. Además se estima que esta prueba es específica para detectar infecciones por Mycobacterium paratuberculosis, o por Mycobacterium avium. Se consideran títulos positivos los superiores a 1:16 (15).

5) Prueba de floculación de bentonita.

Wallace et al., utilizaron como antígeno partículas de bentonita sensibilizadas con tuberculina de Koch. La dilución final del suero que aglutina a las partículas se toma como título de anti-

cuerpos. Se considera que esta prueba no diferencia a las infecciones de tuberculosis (51, 52).

6) Prueba inmunoabsorbente ligado a la enzima (ELISA).

Esta prueba ha sido utilizada en el diagnóstico de la tuberculosis humana (41).

En bovinos, esta prueba parece ser más sensible que la prueba de fijación del complemento; sin embargo aún se ignora si presenta reacción cruzada con otras micobacterias (23).

Merkal et al., efectuaron muestreos serológicos en bovinos infectados y no infectados con paratuberculosis, con el objeto de comparar diferentes pruebas; encontrando que el 45% de los casos positivos fue detectado con la prueba de fijación del complemento y -- 55% con la prueba de difusión en gel siendo satisfactoria para cabras y ovejas mientras que en bovinos tiene poco valor para detectar los infectados, obteniendo un 23% y 44% de reactores falsos positivos respectivamente. (4, 45).

Por otro lado, Gilmour et al., opinan con base en sus experimentos, que en bovinos la prueba de anticuerpos fluorescentes es tres veces más eficiente que la fijación del complemento (13, 15).

C) Diagnóstico bacteriológico.

C.a Examen microscópico:

El examen microscopico de organismos ácidos resistentes en heces provenientes de animales infectados, es uno de los métodos más rápidos y segu--

ros para diagnóaticar la enfermedad; sin embargo, tiene múltiples desventajas, esto es, que sólo aquellos animales que arrojan grandes cantidades de bacilos --- pueden ser detectados, también en ocasiones se requiere de examinar bastantes laminillas para identificar a los microorganismos y, por último, se requiere de cierta experiencia para diferenciar Mycobacterium paratuberculosis, de Mycobacterium phlei. Este último es un germen saprófito del intestino que por lo general es un poco más largo que el Mycobacterium paratuberculosis y se colorea menos intensamente; además, tiene una menor tendencia a formar acúmulos de bacterias. Por otro lado, si se desea afectar raspados de mucosa --- para identificar dichos gérmenes, la porción del ileón es la más recomendable o los ganglios linfáticos mesentéricos, a la necropsia (32).

En el año 1979 en México, se ha aislado e identificado el Mycobacterium paratuberculosis. Debido a la poca información que se tiene sobre esta enfermedad Ramírez y col., en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, indican que realizan actualmente --- estudios con el fin de conocer la importancia de esta enfermedad en nuestro medio, siendo necesario primeramente efectuar el aislamiento de Mycobacterium paratuberculosis, para así contar con cepas nacionales a --- partir de las cuales se pueden producir antígenos que serán utilizados en pruebas de diagnóstico inmunológico. Durante el desarrollo del aislamiento e identificación de Mycobacterium paratuberculosis, se recolectaron treinta y dos muestras de intestino delgado (porción ileocecal) y nódulos linfáticos mesentéricos de - bovinos holstein adultos sacrificados en el rastro de Tulancingo, Hgo.

Dichas muestras se dividieron en dos porciones con el objeto de realizar estudios bacteriológicos e -

histopatológicos (42).

De las treinta y dos muestras trabajadas solo 2 presentaron crecimiento de Mycobacterium paratuberculosis, representada por la presencia de pequeñas colonias (1 a 5 mm. de diámetro) firmes y de color blanco brillante. Dicho crecimiento se observó únicamente en los medios de cultivo que habían sido adicionado -- con micobactina férrica. Microscópicamente se apreciaron pequeños bacilos ácido-resistentes, los cuales mostraban una tendencia a formar acúmulos. Las lesiones histológicas observadas en dichas secciones estuvieron caracterizadas por la presencia de algunas células --- epiteloides, conteniendo bacilos ácido-resistentes en su interior; además, la mucosa intestinal presentaba -- una infiltración severa por células mononucleares, donde predominaban linfocitos, seguidos de macrófagos y células plasmáticas. Los nódulos linfáticos mesentéricos se encontraban edematosos y con una marcada hiperplasia linfoide, aunque sin mostrar cambios inflamatorios (42, 45)

En las lesiones histopatológicas, en cortes --- únicos del intestino, las células infiltrantes penetran en la muscularis mucosae para acumularse en la -- submucosa y cuando se produce un amplio engrosamiento del intestino, ello se debe principalmente a esta infiltración de la submucosa, que produce un amplio sinticito de células epiteloides típicas. Casi de modo invariable hay linfocitos en las masas celulares, pero -- con una distribución difusa de células aisladas y formando focos microscópicos. Las células gigantes son -- también bastantes constantes, con una típica distribución en forma de herradura de sus múltiples núcleos, -- mientras que otras tienen pocos núcleos que obviamente son productos de la fusión de cierto número de grandes

células epiteloideas. Los focos de necrosis aparecen en estas masas celulares, en los bovinos no hay nunca caseificación ni calcificación. Quizá el 25% de los óvidos y cápridos desarrollan focos de caseificación parecidos a los de la tuberculosis, con cierta calcificación en la mucosa, submucosa, cubierta peritoneal del intestino, linfáticos y ganglios. Es común que el germen pueda demostrarse en gran número tanto intracelular como extracelularmente en las lesiones, empleando métodos apropiados de tinción para ácido-resistentes, pero este hecho no es invariable y cuando el microorganismo muestra un número escaso se pone mejor en evidencia por procedimientos de fluorescencia. Esta última técnica es aplicable a los tejidos, pero no a las heces, puesto que éstas son autofluorescentes. Como es de esperar, las infiltraciones son progresivas; forman zonas foliculares o difusas de células epiteloideas y gigantes, que finalmente pueden sustituir a gran parte de la corteza. Como se ha indicado anteriormente, cuando se produce una formación de tubérculos en el intestino de óvidos y cápridos, también se forman en los ganglios linfáticos y ciertamente pueden alcanzar un tamaño suficiente para sustituir a la mayor parte del ganglio. Entre otros órganos y tejidos en los que suelen encontrarse bacilos, sólo se han descrito lesiones en el hígado, amígdalas y ganglios linfáticos. Estas lesiones son de tipo característico. En el hígado son minúsculas y pasan fácilmente inadvertidas, pero observadas con cuidado se ve que consisten en focos de células epiteloideas y linfocitos en los espacios porta e indiscriminadamente en los lobulillos. Estas lesiones contienen bacilos que pueden ser puestos de manifiesto de modo evidente (24).

C.b. Cultivo:

El cultivo de heces proveniente de animales infectados es un útil medio de diagnóstico; - sobre todo como criterio para eliminar animales; aun-- que tiene la considerable desventaja de que se requie-- ren tres meses para la confirmación y se necesita que-- el animal en cuestión elimine de 50 a 100 microorganismos por gramo de heces para tener cultivos positivos - (36, 45).

Mycobacterium paratuberculosis es el agente --- etiológico de la enfermedad de Johne, y es considerado por muchos investigadores ser extremadamente difícil - para cultivarlos y, por lo tanto, es raramente incluido en estudios de micobacterias (39).

D) Diagnóstico por necropsia.

Las partes suelen ser la porción terminal - del intestino delgado, el ciego y la primera parte del colon y el recto. Es característico el engrosamiento - de la pared intestinal hasta tres o cuatro veces de lo normal con arrugamiento de la mucosa. La válvula ileo- cecal esta frecuentemente afectada, con lesiones que - varían desde una simple hiperemia de los pliegues hasta edema y engrosamiento pronunciado. Además los gan-- glios linfáticos mesentéricos se encuentran edematosos y alargados, los vasos linfáticos locales presentan en casos avanzados una linfangitis. Una diferencia significativa con la tuberculosis bovina, es la ausencia de ulceración y necrosis con calcificación en el tracto - digestivo, así como en los ganglios linfáticos locales en los casos de paratuberculosis bovina. Las lesiones- histológicas de la paratuberculosis son aquellas de -- una inflamación granulomatosa. El engrosamiento de la-

mucosa se debe en parte a la infiltración de las vellosidades con macrófagos y células gigantes que contienen en su interior numerosos bacilos ácido-resistentes (24).

En casos severos de paratuberculosis, la reacción inflamatoria granulomatosa se puede extender a lo largo de los vasos linfáticos hacia la submucosa, capa muscular, serosa y mesenterio adyacente. Los vasos linfáticos se pueden encontrar ocluidos con macrófagos y células gigantes; desarrollándose incluso reacciones granulomatosas en la corteza de los ganglios linfáticos mesentéricos. No se ha informado de lesiones macroscópicas o microscópicas en otros tejidos, aunque el bacilo ha sido aislado de numerosos tejidos como ganglios linfáticos, bazo, pulmón, aparato reproductor glándula mamaria, placenta y fetos (7, 8, 16, 25, 29)

Se ha observado con frecuencia elevada arteriosclerosis en casos avanzados de enfermedad de Johne, -- con evidente correlación entre las lesiones vasculares y los cambios macroscópicos en el intestino. Las lesiones macroscópicas en la autopsia son a menudo mínimas en animales que mostraron en vida signos clínicos intensos. En estos pacientes brindan confirmación satisfactoria del diagnóstico la presencia de linfadenitis de los ganglios linfáticos intestinales y los cambios histológicos característicos. No se producen lesiones en el feto infectado, pero puede aislarse el microorganismo en sus víceras, así como en placenta y útero (4).

De todos los métodos de diagnóstico presentados con anterioridad es fácilmente deducible que no existe uno ideal, por lo cual deben complementarse para reali

zar un diagnóstico más eficiente. La combinación de -- pruebas de inmunidad humoral, amplía el espectro diagnóstico, ya que se piensa que el animal infectado con paratuberculosis pasa por una fase de hipersensibilidad retardada con johnina o tuberculina aviar y podría corresponder a la fase preclínica. Por otro lado, la fase clínica corresponde a la respuesta humoral. Estas dos fases pueden entremezclarse en algunos animales, -- siendo factible la demostración de ambas pruebas de inmunidad durante todo el curso de la infección ----- (28, 35).

Merkal (1978) & sugiere la combinación de pruebas intradérmicas (johnina o tuberculina aviar), --- junto con una prueba serológica (fijación del complemento), para efectuar diagnósticos a nivel de hato -- donde se tiene que hacer además un diagnóstico diferencial con tuberculosis. La eliminación de animales en particular, sobre todos aquellos que no presentan signos clínicos, debe de estar basada en cultivos de heces.

La información existente en México sobre esta enfermedad en bovinos es pobre, ya que se desconocen -- datos, inclusive los básicos, como es la prevalencia -- en las principales cuencas lecheras del país, información que de existir daría una imagen aproximada de la difusión de la misma en nuestro medio y permitiría a la vez decidir si se justifica o no las investigaciones más profundas y medidas de control. Finalmente, el diagnóstico de la paratuberculosis mediante la utilización de pruebas inmunológicas, debería de implementarse en diferentes laboratorios que realizan funciones --

& Comunicación personal de Merkal a Trigo, Francisco J.

de diagnóstico, ya que en la actualidad la enfermedad se detecta únicamente en aquellos animales que presentan signos clínicos sugestivos mediante la observación microscópica de los bacilos o bien al examen posmortem e histológico (6, 10).

De interés resulta también mencionar la alta -- difusión que la paratuberculosis parece tener en el -- ganado de Lidia Mexicano, debido a las peculiaridades de explotación de los animales; donde la estrecha convivencia y pastoreo del hato aunado al tardío destete de los becerros, favorece la infección de los animales jóvenes o de nueva introducción (48).

En 1985, Ramírez, C.C., González, R.A.S. y Palafox, I.A., confirman la presencia de Mycobacterium paratuberculosis, en una explotación de ganado de lidia en el Estado de Michoacán, empleando las pruebas de -- intradermoreacción (johnina) y cultivo de heces, --- para lo cual se utilizó un hato de vacas de lidia que se sospechaba padecían paratuberculosis con base en -- los siguientes signos clínicos: diarrea profusa, con emaciación progresiva y deshidratación; finalmente lograron aislar al Mycobacterium paratuberculosis a partir de heces y confirmando asimismo el diagnóstico --- clínico del padecimiento (43).

II.- MATERIAL Y METODOS

El desarrollo de los estudios realizados, se llevó a cabo en la Facultad de Estudios Superiores --- Cuautitlán, ubicada en Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Para el estudio se utilizarón hatos de vacas de producción de dos períodos, que se sospechaba padecían de paratuberculosis con base en los siguientes -- signos clínicos: diarrea profusa, con emaciación progresiva y deshidratación.

Los hatos en estudio, cuentan con una población de 140 animales, 12 de ellos estaban expuestos en el año de 1980 y en 1983, otros con 98 animales, 50 se encontraban expuestos con una morbilidad del 2%. De -- los animales expuestos se sacrificó 1 de ellos por cada periodo; asimismo la recolección y procesamiento de muestras es de acuerdo a la técnica de rutina del manual de necropsias de patología.

Las instalaciones donde se encuentran los animales son de concreto y tubular, el piso de cemento y el techo de lámina, la ventilación es deficiente, exceso de humedad y la higiene es regular. Se les alimenta con silo de maíz ad libitum y en algunas ocasiones se les proporciona alfalfa, en comederos de cemento y -- agua de pozo

III. RESULTADO Y DISCUSION.

Los resultados arrojados del análisis de la información de los casos trabajados es la siguiente: reseña del caso No. 1; raza-holstein, sexo-hembra, edad-5 años, peso-320 kgs., identificación-número 40, en 1980 en el cual no se reporta diarrea persistente. Se vacunó con la cepa 19 de Brucella abortus, desconociendo la fecha exacta; sin embargo está se debió aplicar entre los 3 a 6 meses de edad. Se trabajo la prueba de tuberculosis, resultando negativa, se desparasito el 13 de septiembre de 1979, contra Nematodos gastrointestinales.

Los animales del hato inician con problemas respiratorios, dejan de comer, bajan de peso y comienzan con postración. Se les administró tratamiento sintomático: Dextrosa al 50%, Dianebo, Aricil y Complejo B; donde la respuesta a este tratamiento fue casi nula

Los signos clínicos del animal con número de identificación 40, en noviembre de 1980, comenzó a bajar de peso progresivamente con apetito variable, sus movimientos eran lentos, había postración, aparentemente manifestaba dificultad al caminar, presentaba secreción nasal blanquecina, de color no muy desagradable por el ollar izquierdo; tos y estertores secos a la auscultación a nivel de la 6ª y 7ª costilla del lado izquierdo, se le aplicó el mismo tratamiento que a los demás animales pero volvió a decaer después de una ligera mejoría, temperatura rectal fue de 38.9°C, frecuencia respiratoria de 92 por minuto y un movimiento ruminal por minuto

Diagnóstico clínico: en este se reporta a la paratuberculosis, reticulopericarditis y desnutrición, -

aún cuando no presentaba una manifestación clínica ---- característica del padecimiento, como se puede observar en el párrafo anterior.

A la necropsia el animal presentó lo siguien-- te: a la inspección externa, el estado de carnes era -- malo; su pelo estaba sucio con excremento y al lado de-- recho de la columna vertebral, a nivel de la 4ª y 7ª, - vertebra lumbar una zona alopecica de aproximadamente - 15 por 3 cm. bien delimitada; de los orificios nasales- escurría una cantidad pequeña de secreción sero-mucosa- y opaca.

Incisión primaria: el ganglio preescapular de- recho externamente y a la superficie de corte se obser- vó de color rojo intenso en ambas zonas, con ligero es- currimiento de líquido transparente (congestión y ede- ma).

Incisión secundaria: del lado derecho del pul- món a nivel del lóbulo cardíaco y parte anterior del -- diafragmático había adherencias hacia la pared costal - de 1 a 2.5 cm., de largo abarcando aproximadamente el - 10% de la superficie de cada lóbulo.

Aparato respiratorio: en tráquea se encontró - un exudado espumoso de burbuja grande, blanquecina en - cantidad moderada mezclado con líquido ruminal, en bron- quios se continuaba con el exudado espumoso, pero ya -- sin contenido ruminal. En los lóbulos apical y cardíaco del pulmón izquierdo se observó una mancha color rojo - obscuro, ligeramente deprimida con respecto al resto -- parenquima pulmonar de 6 cm., de diámetro cada uno; --- estas manchas se continuaban en la superficie de corte. Había adherencias en los lóbulos pulmonares diafragmá--

ticos de ambos lados al pericardio de apariencia --- bien consolidada (pleuritis crónica). En el saco pericardico habia aproximadamente 10 ml., de líquido amarillento transparente. Los ganglios linfáticos mediastínicos con un puntilleo negro muy fino (antracosis ---- leve).

Aparato digestivo: la mucosa del duodeno se encontraba de color rojo intenso y el contenido era blanquecino-amarillento, espeso y pegajoso (enteritis hemorrágica purulenta), la del yeyuno con manchas rojas --- poco abundantes e íleon corruga moderadamente, de rojo intenso (enteritis hemorrágica). La válvula ileocecal --- estaba fuertemente enrojecida y con ulceras; también en la mucosa se encontraba enteritis ulcerativa. La mucosa del intestino grueso corrugada y de color blanquecino. Los ganglios mesentéricos en su mayoría estaban ---- aumentados de tamaño varias veces (4-6 veces aproximadamente), midiendo 8-15 cm., por 1.5-2 cm., al corte --- abundante líquido seroso transparente y la zona cortical habia manchas rojas de 2-4 mm., de diámetro, entre 1 a 6 manchas por ganglio (edema y hemorragia). El hígado al corte se sentía duro, en los bordes del lóbulo (no se anoto cual), con dos manchas de color blanco, -- deprimidos con respecto al resto de la superficie (infarto y cambio graso).

Aparato urinario: manchas blancas sobre la superficie de ambos riñones, que se continuaban al parenquima, con un diámetro de 3 mm., y su curso era radical hacia el parenquima, (nefritis intersticial).

Aparato genital: hipoplasia en todos los órganos genitales, y la entrada del cervix se observó particularmente estrecha.

Glándulas endocrinas: no se revisaron.

ticos de ambos lados al pericardio de apariencia --- bien consolidada (pleuritis crónica). En el saco pericardico habia aproximadamente 10 ml., de liquido amarillento transparente. Los ganglios linfaticos mediastinicos con un puntilleo negro muy fino (antracosis ---- leve).

Aparato digestivo: la mucosa del duodeno se encontraba de color rojo intenso y el contenido era blanquecino-amarillento, espeso y pegajoso (enteritis hemorrágica purulenta), la del yeyuno con manchas rojas --- poco abundantes e ileón corruga moderadamente, de rojo-intenso (enteritis hemorrágica). La válvula ileocecal - estaba fuertemente enrojecida y con ulceras; también en la mucosa se encontraba enteritis ulcerativa. La mucosa del intestino grueso corrugada y de color blanquecino. Los ganglios mesentéricos en su mayoría estaban ---- aumentados de tamaño varias veces (4-6 veces aproximadamente), midiendo 8-15 cm., por 1.5-2 cm., al corte -- abundante liquido seroso transparente y la zona cortical habia manchas rojas de 2-4 mm., de diámetro, entre 1 a 6 manchas por ganglio (edema y hemorragia). El hígado al corte se sentía duro, en los bordes del lóbulo- (no se anoto cual), con dos manchas de color blanco, -- deprimidos con respecto al resto de la superficie (infarto y cambio graso).

Aparato urinario: manchas blancas sobre la superficie de ambos riñones, que se continuaban al parenquima, con un diámetro de 3 mm., y su curso era radical hacia el parenquima, (nefritis intersticial).

Aparato genital: hipoplasia en todos los órganos genitales, y la entrada del cervix se observó particularmente estrecha.

Glándulas endocrinas: no se revisaron.

Sistema nervioso: el encéfalo moderadamente congestionado.

Sistema muscular esquelético: la articulación -- tibio-tarsiana de ambos miembros abultada, al corte escurría abundante líquido seroso amarillento aproximadamente 20 ml., de cada articulación.

El resto de los órganos sin cambios patológicos-aparentes.

Diagnóstico a la necropsia:

Enteritis hemorrágica ulcerativa subaguda
Enteritis hemorrágica purulenta
Linfoadenitis mesentérica
Nefritis intersticial subaguda
Pleuresía crónica
Pericarditis crónica

Reseña del caso No. 2 en 1983, es la siguiente:-- raza-holstein, sexo-hembra, edad-3 años, peso-350 kgs., identificación-número 366, en el cual si se reporta diarrea acuosa persistente. Las condiciones de las instalaciones son similares a las descritas en el caso anterior.

Donde la sintomatología del hato es relativamente igual al primer caso; así como la sintomatología individual. Se reportó que a partir del 15 de octubre de 1982 se observó diarrea acuosa, abundante y efervescente; el 16 de octubre del mismo año se "seco" por baja producción; con pérdida de peso progresivo (100 kgs., al 15 de diciembre de 1982).

No se administro tratamiento alguno.

Diagnóstico clínico: paratuberculosis.

Teniendo como signos vitales temperatura 38°C, - frecuencia cardíaca 59 por minuto, frecuencia respiratoria 24 por minuto, movimientos ruminales 2 por minuto

A la necropsia el animal presentó lo siguiente: - a la inspección externa, el estado de carne era malo, - mostraba pelo hirsuto y poca elasticidad en piel (deshidratación y caquexia).

Incisión primaria: el tejido subcutáneo era escaso, los ganglios explorables presentaban resistencia al corte y una coloración café pardo de distribución homogénea. No se apreciaba la delimitación entre la corteza y la médula.

Incisión secundaria: en aparato digestivo en retículo se encontraron dos fragmentos de alambre sobre la mucosa. Se observó enrojecimiento de la serosa en -- ileon, ciego y colon, contenido líquido, mucosa enrojecida y con gran cantidad de pliegues que a la palpación eran protuberantes y firmes. La válvula ileo-cecal estaba enrojecida, corrugada y edematosa. Los ganglios mesentéricos aumentados de tamaño, al corte salida de líquido y superficie de color amarillo pálido sin distinguirse la corteza de la médula. El hígado presentó tres pequeños focos de necrosis caseosa de aproximadamente - 0.5 cm., de diámetro distribuido dentro del parenquima. Con ligera calcificación de la vena suprahepática.

Aparato respiratorio: adherencias entre los diferentes lóbulos pulmonares y además en lóbulos cardíaco y diafragmático con nodulos de aproximadamente 2-3 - cm., de diámetro, firmes al corte y consistencia arenosa.

sa, bien encapsulada. Exudado amarillento, sin cambios patológicos aparentes en sistema cardiovascular, aparato urinario, y aparato genital.

No se revisaron glándulas endocrinas.

Diagnóstico morfológico:

Enteritis catarral crónica
 Edema intestinal
 Linfadenitis de ganglios mesentéricos.
 Linfadenitis granulomatosa de ganglios bronquiales.
 Hepatitis granulomatosa
 Neumonía granulomatosa
 Pleuresía

El diagnóstico morfológico a la necropsia mencionan 3 hallazgos en Aparato digestivo, sin embargo no se tomanen cuenta algunas lesiones específicas encontradas a nivel de mucosa intestinal y ganglios regionales que pudieran evidenciar la presencia de Paratuberculosis, como son los casos de enrojecimiento de la serosa en ileon, ciego y colon y gran cantidad de pliegues que a la palpación eran protuberantes y firmes; válvulas ileo-cecal estaba enrojecida, corrugada y edematosa. Ganglios mesentéricos aumentados de tamaño, al corte salida de líquido y superficie color amarillo pálido sin distinguirse la corteza de la médula.

Comentarios: las lesiones encontradas a nivel del tracto intestinal posterior son características de Paratuberculosis, las lesiones encontradas en ganglios bronquiales, parenquima pulmonar e hígado son sugestivos de tuberculosis.

Discusión: en el caso No. 1, en primera instancia se determina la presentación de Paratuberculosis -- como diagnóstico clínico, aún cuando no presentaba una manifestación característica del padecimiento, ya que -- ningún momento se consigna la presencia de diarrea en -- este caso.

Sin embargo el animal presentó 7 lesiones macroscópicas características de Paratuberculosis en Aparato digestivo a nivel de mucosa intestinal y ganglios regionales, mismas que no se tomaron en cuenta para determinar la presencia de la enfermedad ya que no se menciona en la relación de padecimientos diagnosticadas a la necropsia.

No se realizó examen complementario como es la prueba de ácido-resistentes (Ziehl-Neelsen) en este caso.

En el caso No. 2, se determina la presencia de Paratuberculosis, como diagnóstico clínico, ya que se considera a la diarrea una manifestación característica del padecimiento: la cual se puede confirmar con los hallazgos específicos de la enfermedad en Aparato digestivo a nivel de mucosa intestinal y ganglios regionales los cuales no se tomaron en cuenta en la relación de padecimientos diagnosticados a la necropsia.

Por otra parte se ratifica aún más la presentación de la enfermedad con el examen complementario de laboratorio bacteriológico que es la técnica ácido-resistentes a 2 muestras de raspado de mucosa rectal y 1 de heces, resultando positiva esta prueba.

En ambos casos se realizaron pruebas para determinar las lesiones histológicas de Paratuberculosis.

Ver fotografías Nos. 1,2,3,4,5,6.

El clínico no debe de contemplar a la Paratuberculosis como la única o más común causa de diarrea y -- emaciación intratable: ya que hay numerosos padecimientos que puedan, simular el cuadro clínico muy exactamente ; lo mismo sucede con padecimientos esporádicos e -- incidentales.

Todo esto hace insoluble el problema de asegurar un diagnóstico antes de la muerte o preclínico aun en los casos con clara sintomatología.

Cabe mencionar que la gravedad de las lesiones -- no guarda relación con diarreas y la emaciación, ya que en realidad algunos animales con lesiones graves pueden aparecer clínicamente normales mientras que muchos gravemente afectados clínicamente no muestran lesiones macroscópicas definidas.

Esta enfermedad en los animales con un cuadro -- crónico muchas veces son asintomáticos y aparentemente su estado general es bueno. Asimismo, son de cuidado -- por su gran capacidad de contagio, por eso es importante un diagnóstico diferencial adecuado.

En la actualidad estos portadores " aparentemente sanos ", pueden ser eliminados mediante la prueba -- alérgica doble comparativa intradérmica (bovina y aviaria), principalmente se trabaja en ovinos y sacrificando a los que tienen el cuadro clínico definido.

Cabe mencionar que en 1960, se diagnóstico por -- pruebas microscópicas como es la histopatológica, la -- presencia de Paratuberculosis en cabras en la Facultad -- mencionada, con sintomatología característica del pade-



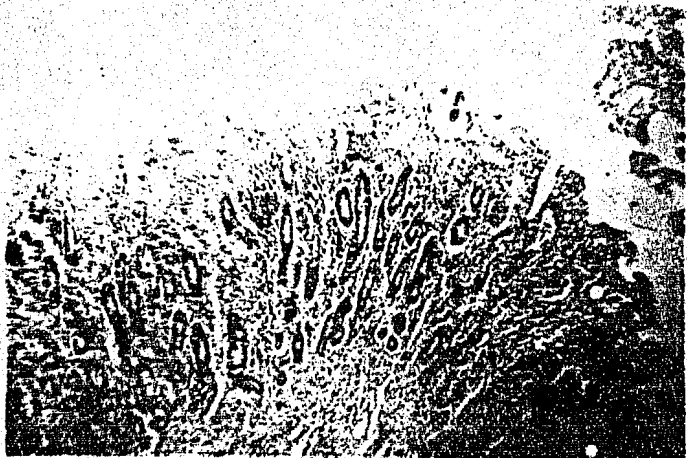
- 1.- INTESTINO GRUESO (COLON).- CG- Células gigantes de Lahghans, M- Infiltración de células mononucleares, F- Fibroblastos y CL- Criptas de Lieberkuhn



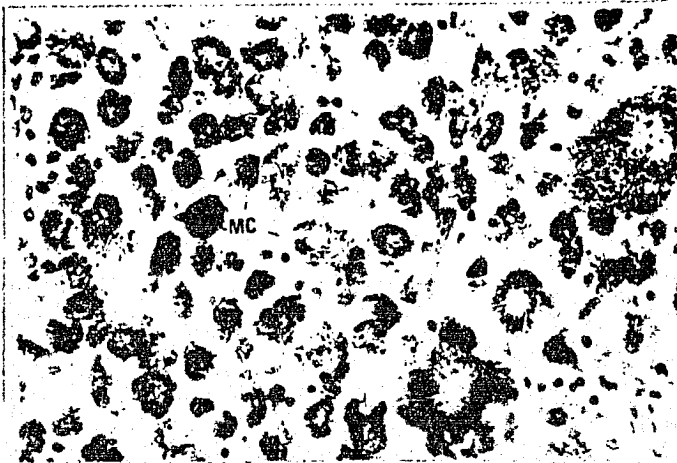
- 2.- ACERCAMIENTO DE LA ANTERIOR.- CL- Criptas de Lieberkuhn, CG- Células gigantes tipo Lan---ghans con núcleos dispuestos en forma de he---rradura, M- Células mononucleares y F- Fibroplastos.



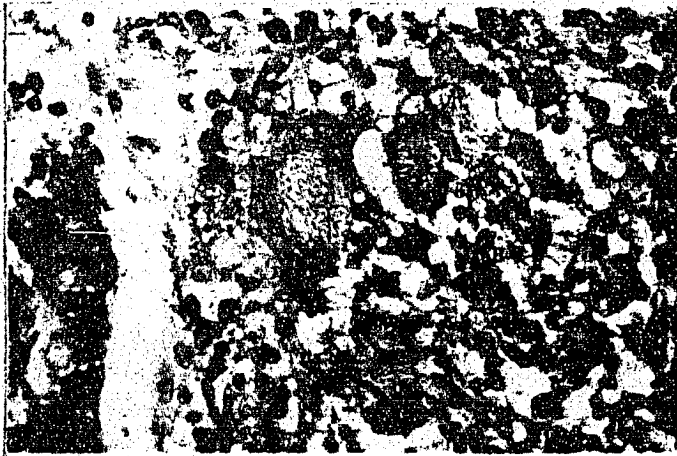
3.- INTESTINO.- CG- Mayor número de células gigantes de tipo Langhans, Cl- Glándulas o criptas de Lieberkuhn.



4.- CORTE DE INTESTINO.- Engrosamiento de mucosa.



5.- CORTE DE NODULO MESENTERICO.- MC- Macrófagos-
dentro de estos, B- Bacilos ácido-resistentes
(Ziehl-Neelsen).



6.- ACERCAMIENTO DE LA ANTERIOR.- MC- Macrófagos-
y B- Bacilos ácido-resistentes.

cimiento. Sin embargo con esta prueba no se puede asegurar si el agente involucrado es de la especie bovina o caprina, por lo tanto no se realizó un diagnóstico bacteriológico (47).

IV.- CONCLUSION

La veracidad del diagnóstico es de primordial -- importancia, ya que es un elemento determinante que nos da la pauta para implementar un programa de erradica--- ción que nos permitirá eliminar la enfermedad de Johne- en las explotaciones pecuarias; evitandose de esta mane- ra la propagación.

En base a los resultados obtenidos, mediante las pruebas realizadas en los casos número 1 y 2; se consi- deran como métodos más utilizadas en el diagnóstico del padecimiento:

- 1.- Diagnóstico clínico
- 2.- Lesiones macroscópicas (necropsia)
- 3.- Lesiones microscópicas (frotis de muco- sa rectal y heces con coloración de --- Ziehl-Nelseen y histológicas en mucosa- intestinal y nódulos mesentéricos.

Asimismo dichas pruebas se pueden contemplar con otras del tipo celular y humoral, dando un elevado gra- do de seguridad en el diagnóstico, como son:

- 1.- Intradérmica alérgica con fijación del- complemento en infecciones preclínicas.
- 2.- Fijación del complemento con extensio--- nes fecales en casos clínicos.

Como sugerencia al médico encargado de atender - un caso de Paratuberculosis, debe de tomar en cuenta --

cada uno de los signos clínicos manifiestos en el paciente así como los hallazgos en la necropsia que nos este dando una clara evidencia de la presencia del padecimiento.

Así como al emitir cualquier diagnóstico preclínico o clínico, debe quedar bien establecido en base a que y como se llegó a determinar la enfermedad.

Por otra parte es importante mantener un control de esta enfermedad, en las diferentes especies afectadas, sobre todo en ovinos y caprinos, que se encuentran en diferentes áreas a nivel nacional.

Los animales clínicamente enfermos deben separarse de los sanos y eliminarse inmediatamente de la explotación. Los restantes deben someterse nuevamente a otras pruebas alérgicas con intervalos de 3 meses hasta obtener dos pruebas colectivas negativas en sucesión -- cada 6 meses y después cada año, con la finalidad de -- desechar reactores positivos a Mycobacterium paratuberculosis.

Las medidas higiénicas serán las más importantes para prevenir un nuevo brote, esto aunado a la separación de los animales jóvenes y adultos (esto se debe -- llevar a cabo como medida preventiva para cualquier enfermedad), y si es posible por sexo, finalidad zootécnica etc...., adicional a que cada semana se limpie y enlaxe la unidad.

V.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Alhaji, I. Johnson, D.W. Muscoplat, C.C. and Toen, C.O.: Diagnosis of Mycobacterium bovis and Mycobacterium paratuberculosis, infections in cattle by in vitro lymphocyte immunostimulation. Am.J.Vet.Res. 35:725-727 (1974).
- 2.- Alibasoglu, M., Dunne, H.W. and Guss, S.B.: Naturally occurring arteriosclerosis in cattle affected with Johne's disease, Am.J.Vet.Res. 23:49-57 (1962)
- 3.- Bang, O.: Das Gefluegeltuberkulin als diagnostisches Mittel bei der chronischen pseudotuberkuloesen Dermenzuedung des Rindes. Zentbl. Bakt Parasitkde Abt.I. 51:450-455 (1909).
- 4.- Blood, D.C. y Henderson, J.A.: Medicina Veterinaria, 4ª ed. — Nueva Editorial Interamericana, México, D.F., (1974).
- 5.- Buergelt, C.D., Delisle, G., Hall, C.E., Merkal, R.S., and — Duncan, J.R.: In vitro lymphocyte transformation as a her — survey method for bovine paratuberculosis. Am.J.Vet.Res.: 39:-591-595 (1978).
- 6.- Bustamante, X.: Detección de anticuerpos a Mycobacterium paratuberculosis por medio de la prueba de fijación de complemento. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. (1974).
- 7.- Doyle, T.M.: Foetal infection in Johne's disease. Vet.Rec. 70: 238-242 (1958).
- 8.- Doyle, T.M.: Isolation of Johne's bacille from the udders of — clinical affected cows. Brit.Vet.J. 110:215-218 (1954)
- 9.- Frappe, M.C.R.: Manual de infectología veterinaria. Enfermedad des bacterianas y micoticas. Editor y Distribuidor: Francisco-Méndez Oteo, México, D.F. (1961).

- 10.- Garibay, V.M.: Prueba doble comparativa intradérmica a la tuberculosis aviaria y mamífera para la identificación de reactores a Mycobacterium paratuberculosis, en un hato de ovinos. -- Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. (1974)
- 11.- Gilmour, N.J.L., Campbell, J. and Brotherston, J.G.: The pathogenesis of Mycobacterium johnei in orally dosed hamsters. J. Comp.Path. 73:98-106 (1963).
- 12.- Gilmour, N.J.L., Gardner, A.C. and Angus, K.W.: Detection of antibodies to Mycobacterium johnei by immunofluorescence. J. Comp.Path. 78:107-113 (1968)
- 13.- Gilmour, N.J.L., and Goudwaard, J.: Corynebacterium renale as a cause of reactions to the complement fixation test for Johne's disease. J.Comp.Path. 82:333-337 (1972).
- 14.- Goudswaars, J.: Johne's disease in the goat: srvey of some investigations into the immunogenic and chemotherapeutical prophylaxis and serodiagnosis of this disease. Tijdschr Dierge neesk. 97:827-834
- 15.- Goudswaard, J., Gilmour, N.J.L., Diskstra, R.G. and Van Beek, J.J.: Diagnosis of Johne's disease in cattle: A comparison of five serological test under field conditions. Vet.Rec. 98: 461-462 (1976).
- 16.- Hagan, W.A., Bruner, W.D. y Gillespie, J.H.: Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 3ª. ed. La Prensa Médica Mexicana; México, D.F. (1970).
- 17.- Hagan, W.A. and Zeissing, A.: Studies on the control of Johne's disease. J.An.Vet.Med.Ass. 82:391-407 (1933).
- 18.- Hiepe, TH.: Enfermedades de la oveja. Ed. Acribia 1ª.ed. en español, p.p. 192-196 (1972).

- 19.- Hirsch, A.: Infection of hamsters and rabbits with Mycobacterium johnei. J.Comp.Path. 66:260-269 (1956)
- 20.- Hole, N.H.: Johne's disease. I present day diagnosis and a preliminary note on an investigation into the value of a serological method. Vet.Rec. 64:601-603 (1952).
- 21.- Jennings, A.R.: Patología Animal. 1ª.ed. La Prensa Médica Mexicana, México, D.F., (1975).
- 22.- Jorgensen, J.B.: Paratuberculosis in pigs. Experimental infection by oral administration of Mycobacterium paratuberculosis. Acta.Vet. Scand. 10:275-287 (1969).
- 23.- Jorgense, J.B. and Jensen, P.T.: Enzymelinked immunosorbent assay (ELIASA) for detection of antibodies to Mycobacterium paratuberculosis in cattle. Acta.Vet.Scand. 19:310-312 (1978).
- 24.- Jubb, KV.F. and Kennedy, P.C.: Pathology of Domestic Animal — Academic Pres Inc. New-York 161-167 (1970).
- 25.- Kopecky, K.E.; Larsen, A.B. and Merkal, R.S.: Uterine infection in bovine paratuberculosis. Am.J.Vet.Res. 28:1043-1045 (1967).
- 26.- Landau, M.; Peled, D.; and Nobel, T.: Paratuberculosis of sheep in Israel. Veterinarit. 16:209-213 (1959).
- 27.- Larsen, A.B.: Johne's disease, immunization and diagnosis. J.-Am.Vet.Med.Ass. 163:902-904 (1972).
- 28.- Larsen, A.B.: Paratuberculosis: the status of our knowledge. J.Am.Vet.Med.Ass. 161:1539-1541 (1972).

- 29.- Larsen, A.B.; and Kopecke, K.E.: Mycobacterium paratuberculosis in reproductive organs and semen of bulls. Am.J.Vet.Res.—
31:255-258 (1970).
- 30.- Larsen, A.B.; and Kopecky, K.E.: Studies on the intravenous —
administration of Johnin to diagnose Johne's disease. Am.J.Vet
Res. 26:673-675 (1965).
- 31.- Larsen, A.B. Moon, H.W.; and Merkal, R.S.: Susceptibility of —
horses to Mycobacterium paratuberculosis. Am.J.Vet.Res. 33:—
2185-2189 (1972).
- 32.- Larsen, A.B., Vardaman, T.H.; Kopecky, K.E. and Merkal, R.S.:—
An extended study of a herd of cattle naturally infected with—
Johne's disease. The significance of the haemagglutination —
test. Am.J.Vet.Res. 26:254-257 (1965).
- 33.- Lominski, I., Cameron, J., and Roberts, G.B.S.: Experimental—
Johne's disease in mice. J.J.Pathol., and Bacteriol. 71:211—
222 (1956).
- 34.- Majeed, S., and Goudswaard, J.: Aortic lesions in goats with—
Mycobacterium johnei. J.Comp.Path. 81:571-574 (1971).
- 35.- Larsen, A.B., Vardaman, T.H., and Merkal, R.S.: An extended —
study of a herd of a herd of cattle naturally infected with —
Johne's disease. II. the significance of the haemagglutination
test. Am.J.Vet.Res. 24:948-950 (1963)
- 36.- Merkal, R.S.: Diagnostic methods for detection of paratubercu-
losis (Johne's disease). Procc. 74th. Annual Meet. U.S. Animal
Health Association. 620 (1970).
- 37.- Merkal, R.S.: Laboratory diagnosis of bovine paratuberculosis —
J.Am.Vet.Med.Ass. 163:1100-1102 (1973).

- 38.- Merkal, R.S.: Separation and serologic identification of fractions from the culture filtrate of Mycobacterium paratuberculosis. Am.Rev.Resp.Dis. 84:52-59 (1961).
- 39.- Merkal, R.S., Larsen, A.B., Kopecky, K.E. and Nease, R.D.: Comparison of examination and test methods for early detection of paratuberculosis in cattle. Am.J.Vet.Res. 29:1533-1538 (1968).
- 40.- Merkal, R.S., Larsen, A.B., Kopecky, K.E., Kluge, J.P., Monlux W.S., Lehman, R.P. and Quinn, L.: Experimental paratuberculosis in sheep after oral, intratracheal or intravenous inoculation: Serologic and intradermal test. Am.J.Vet.Res. 29:963-970 (1968).
- 41.- Nassau, E., Parsons, E.R., and Johnson, G.D.: The detection of antibodies to Mycobacterium paratuberculosis by microplate enzymelinked immunosorbent assay (ELIASA) tubercle. (Edinb). 57: 67-70 (1976).
- 42.- Ramírez, P.C., E.T. Trigo, G.G. Suárez y R. Merkal: Aislamiento e identificación de Mycobacterium paratuberculosis en México. Tec.Pec.Mex. 36:74-75 (1979).
- 43.- Ramírez, C.C., González, R.A.S. y Palafox, I.A.: Paratuberculosis en el rancho de Ganado de Lidia. Revista Veterinaria, México. 16:109-112 (1985).
- 44.- Rice, C.E., Koust, H., and Smith, A.N.: Studies of Johne's disease in cattle IV, complement fixation test on imported cattle. Can.J.Com.Med. 22:289-293 (1958).
- 45.- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos., Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. Memorias de la Reunión de Investigaciones Pecuarias en México. 177-181 (1982).

- 46.- Sigursson, B.: Aspecific antig recovered from tissue infected with, Mycobacterium paratuberculosis (Johne's bacillus). III. - Further studies on the nature of the antigen and on methods for damasking it.: J.Immonol. 55:131-139 (1947).
- 47.- Tórtora, J.: Lesiones posmortem producidas presuntamente por paratuberculosis en cabras. VI Congreso Nacional de Buiatría y pequeños rumiantes. Mérida, Yuc. (1980).
- 48.- Trigo, F.J.: Diagnóstico de la Paratuberculosis (enf. de Johne). Revista Veterinaria, México. 10:239-245 (1979).
- 49.- Twort, F.W. and Ingram, L.L.Y.: A method for isolating and cultivating the Mycobacterium entereditis chronicae pseudotuberculosis bovis. and some experiments on the preparation of a diagnostic vaccine for pseudotuberculous enteritis of bovines. Vet.J. 68:353-365 (1912).
- 50.- Unzueta, R.J.: Contribución al estudio de la enteritis paratuberculosa bovina en México. Tesis de Licenciatura Esc. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1936).
- 51.- Wallace, R. Carriere, J., Diena, B.B., and Greenberg, L.: The bentonite flocculation test in the serology of tuberculosis in cattle. Can.J.Microbiol. 14:887-890 (1968).
- 52.- Wallace, R., Carriere, J., Diena, B.B., Greenberg, L.: The sero-diagnosis of paratuberculosis: Am.J.Vet.Res. 32:670-674 (1971)