

5  
1Ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

ESTUDIOS DE PARATUBERCULOSIS (*Mycobacterium paratuberculosis*) EN UNA EXPLOTACION OVINA COMERCIAL EN EL MUNICIPIO DE VISITACION, MEXICO

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A :

SILVIA ALEMON REYES

DIRECTOR DE TESIS: M.V.Z. PH. D. ROBERTO ARNULFO CERVANTES

ASESOR: M.V.Z. CITLALI HERNANDEZ VALLE

COASESOR: M.V.Z. GUILLERMO OVIEDO FERNANDEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1988

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **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.

# I N D I C E

	Página
Introducción .....	1
Objetivos .....	21
Material y Métodos .....	22
Resultados .....	26
Discusión .....	38
Conclusiones .....	40
Bibliografía .....	41

## R E S U M E N

El presente estudio fue realizado en un rebaño comercial, el cual consta de 140 animales, ubicado en Visitación, Municipio de Melchor Ocampo, Edo. de México y el Laboratorio de Referencia en Salud Animal en Santa Ana Tecamac.

Se llevaron a cabo tres métodos de diagnóstico: clínico, serológico y post-mortem.

Dentro del diagnóstico clínico se observaron los siguientes signos: pérdida de peso, emaciación, diarrea intermitente, lana revuelta, edema submandibular y apetito inalterado.

En el diagnóstico serológico fueron utilizadas las pruebas de doble inmunodifusión en gel y contraelectroforesis, en las que fueron analizados 140 sueros, resultando una prevalencia del 9.28% en las dos pruebas que mostraron tener sensibilidad igual.

El examen post-mortem fue efectuado en cinco animales, - - siendo los hallazgos encontrados indicativos de Paratuberculosis.

## I N T R O D U C C I O N

### Importancia económica.-

De las especies domésticas explotadas en México la especie ovina ocupa el último lugar en cuanto a importancia económica. Han sido muchas las causas que no han permitido el desarrollo de esta especie, entre éstas podemos mencionar el monopolio español durante la colonia, no dando apoyo a la industria textil y otra la revolución industrial inglesa, quien tampoco permitió que se establecieran en América ya que no era posible competir económica y tecnológicamente (Arbiza, 1984).

El estado actual de la producción ovina en México, no cumple con las funciones dentro del sector ganadero, como lo son: el proveer de alimentos y materias primas en cantidad y calidad; que su adecuada producción permita mejorar el nivel de vida en la población rural y a su vez ser una fuente de divisas que impulse el mejoramiento de la ovinocultura.

En general los factores que frenan su desarrollo son: la deficiente y heterogénea estructura productiva, la baja calidad de los recursos naturales, obstáculos en los procesos de comercialización, la insuficiente investigación agropecuaria y los sistemas de tenencia de la tierra.

En forma específica se podrían mencionar las siguientes causas: la ausencia de regionalización productiva del territorio nacional, el hecho de que se les de mayor apoyo a otras especies

lidad del ganado, lo que acarrea una baja productividad, la falta de planeación, asistencia técnica, apoyo político, financiamiento y mala administración, la presencia de intermediarios y precios poco atractivos que limitan los ingresos del productor, ésto no estimula el mejoramiento de la producción en cantidad y calidad, dando lugar a una disminución en la oferta, siendo necesarias las importaciones para cubrir la demanda (Pérez, 1981).

#### Antecedentes de la Enfermedad de Johne.-

El descubrimiento del Mycobacterium smegmatis, en el año de 1885 da inicio al estudio de las bacterias saprófitas alcohol-ácidorresistentes, cuya importancia recae en las reacciones positivas a la tuberculina en animales no enfermos de tuberculosis, siendo en realidad casos de paratuberculosis (Unzueta, 1936).

En 1895 Johne y Frothingham en Alemania, informan del primer caso de paratuberculosis en un bovino suponiendo que se trataba de un caso atípico de tuberculosis aviar (Ramírez y Col., 1979). Ocho años más tarde Markus científico holandés, hizo un reporte en el sentido de haber observado casos idénticos al mencionado por el profesor Johne. En 1906 Bang es el primero en reproducir la enfermedad típica (Unzueta, 1936). En 1912 Twort e Ingram cultivaron y aislaron el organismo en forma pura, para posteriormente producir un antígeno (Johnina) y es así como se inicia el diagnóstico de la paratuberculosis (Ramírez y Col., 1979; Trigo, 1979; Unzueta, 1936).

En 1917 Hastings introduce a los Estados Unidos el uso de

la Johnina, para el diagnóstico de la paratuberculosis. En 1933 Hagan y Zeissig adaptaron la prueba de fijación de complemento para el diagnóstico.

En México se han realizado varios trabajos, el primero fue realizado por Unzueta (1936) quién diagnosticó la enfermedad -- por primera vez en vacas lecheras, utilizando las pruebas de la Johnina y tuberculina aviar, además de la observación del bacilo al microscopio; Bustamante y Garibay (1974) realizaron las pruebas diagnósticas en ovinos de fijación de complemento y la prueba doble comparativa intradérmica con resultados del 17.7% y 23.9% respectivamente; Ramírez y Col. (1979) lograron el primer aislamiento del Mycobacterium paratuberculosis a partir de ganglios mesentéricos e intestino delgado de vacas lecheras; - Ramírez y Col. (1982) hacen el aislamiento del M. paratuberculosis a partir de heces e ileon de cabras; De Lucas (1984) utiliza la inmunodifusión, cultivo bacteriológico e intradermorreacción en cabras, obteniendo resultados de 44%, 20% y 82.85% respectivamente; Praxedis (1985) utilizó la prueba de inmunodifusión en gel y cultivo de heces en ovinos y caprinos, encontró resultados de 0.8% a 4.4% y del 1.2% a 8.4% respectivamente en ovinos y caprinos sin éxito en el cultivo.

La paratuberculosis se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo (Ramírez y Col., 1979). Se considera enzootica en algunos países de Europa como Holanda (Houthius, 1932; - Huitema, 1968), Bélgica, Francia, Dinamarca, URSS e Inglaterra (Desmecht, 1969; Fouguet, 1960; Jorgenson, 1969; Ovdienko, 1971)

y es un problema extenso en Canadá y Estados Unidos (Doyle, - - 1951; Kopecky, 1973; citados por Julian, 1975).

La paratuberculosis es considerada una de las enfermedades más serias que afectan la industria ganadera en el tiempo presente, causando pérdidas económicas acumulativas por baja producción y muerte (Worthington, 1963 citado por Julian, 1975; Kopecky, Larsen, Merkal, 1967 citados por Riemann, 1979; Lench, - 1964, Withers, 1959 citados por Summers, 1981).

Debido a que esta enfermedad no afecta al hombre, ha recibido poca atención en el pasado más sin embargo, su importancia se dirige al decremento en la producción de alimento, de aquí - la demanda para su control y de toda aquella enfermedad que reduzca la productividad ganadera (Bendixen, 1978 citado por Riemann, 1979).

#### Definición.-

La paratuberculosis (Enfermedad de Johnne) es una enfermedad, infecto-contagiosa de curso crónico, que afecta a los ruminantes, principalmente bovinos, ovinos y caprinos, causada por el bacilo Mycobacterium paratuberculosis y manifestada en ovinos y caprinos por emaciación severa, pérdida en la producción de lana (Bendixen, 1977; Bruner, 1973; Kumar, 1984; Sherman, -- 1980; Summers, 1981; Trigo, 1979) y apetito inalterado (Blood y Henderson, 1986; Jubb y Kennedy, 1970).

#### Etiología.-

El agente etiológico es el Mycobacterium paratuberculosis, bacteria grampositiva, alcohol-ácidoresistente, no esporulada,

facultativa, intracelular, tiene tendencia a formar acumulos - tanto en tejidos como en las heces (Jensen, 1982; Trigo, 1979). Persiste en los pastizales por períodos prolongados conservando su capacidad infecciosa (Larsen, 1956; Lowell, 1944, citados -- por Riemann, 1979), es susceptible a la desecación, luz solar, concentraciones elevadas de calcio y pH elevado del suelo (Blood y Henderson, 1986). Varias cepas pueden producir la enfermedad, la primera cepa es la clásica bovina que posee escasa patogene- cidad para los ovinos, la segunda ha sido aislada de ovinos en varias partes del mundo y puede infectar a los bovinos, la ter- cera cepa también ha sido encontrada en los ovinos, se caracte- riza por producir un intenso pigmento color naranja en tejidos y cultivos, una cuarta cepa noruega la cual es patógena en ca - prinos (Blood y Henderson, 1986; Jubb y Kennedy, 1970).

El M. paratuberculosis, es considerado extremadamente diffi- cil de cultivar (Merkal, 1974), el cual requiere de micobactina férrica (Merkal, 1970 citado por Ramírez y Col, 1979), sus colo- nias son pequeñas (1 a 5 mm de diámetro), lisas, húmedas, conve- xas, firmes y de color verde brillante (Merkal, 1974; Ramírez y Col., 1979).

#### Susceptibilidad.-

La mayor susceptibilidad ocurre en los animales jóvenes, - adquiriendo la infección en los primeros seis meses de vida - - (Blood y Henderson, 1986; Jubb y Kennedy, 1970; Chandler, 1961, citado por Taylor, 1979; Julian, 1975; Thoen, 1979; Mc Queen, - 1978). Aunque muchos autores han encontrado que la enfermedad

clínica se presenta a los dos años o después (Blood y Henderson, 1986; Thoen, 1979), se han encontrado casos de corderos de 6 meses (Prudvi, Reddy et al., 1984) lo que indica posible infección congénita.

Se ha visto que los animales viejos también son susceptibles, pero son necesarias grandes cantidades del microorganismo y aún así la infección es superada, aunque depende de la resistencia del hospedador (Pay, 1961 citado por Benedictus, 1985).

Las especies susceptibles son: bovinos, ovinos, caprinos, - es rara en equinos y cerdos (Hagan, 1970; Jorgensen, 1969; Larsen, 1963 citados por Trigo, 1979; Larsen, 1972; Thoen, 1979), - también se ha encontrado en ruminantes salvajes y experimentalmente en conejos, ratones y hamsters (Chandler, 1961; Lominski, 1956; Hirsch, 1956; Gilmour, 1963 citados por Trigo, 1979).

#### Transmisión.-

La enfermedad es transmitida principalmente por ingestión del organismo por medio de agua y alimentos contaminados con heces infectadas (Blood y Henderson, 1986; Jensen, 1982; Jubb y Kennedy, 1970; Julian, 1975; Larsen, 1973 citado por Sherman, 1980).

El microorganismo ha sido aislado de leche de animales infectados, lo que indica una probable vía de infección (Taylor, 1981). Hay reportes de infección congénita (Alexejeff, Goloff, 1935; Pearson y Mc Clelland, 1955; Lawrence, 1956; Schaff y Beerwerth, 1960; Kopecky, 1967; Mc Queen y Russell, 1979 citados por Taylor, 1981), también se ha encontrado en semen es así como son consideradas otras rutas de infección (Thoen, 1979).

#### Factores predisponentes.-

Entre los factores que influyen en la presencia de la enfermedad se encuentran al parto, elevado rendimiento lacteo, transporte, carencias nutricionales, enfermedades intercurrentes (Blood y Henderson, 1986; Jensen, 1982; Jubb y Kennedy, 1970); edad y dosis del organismo (Julian, 1975), además hay que considerar el tipo de suelo rocoso, arenoso, suelos deficientes en contenido de fósforo y suelos ácidos (Kopecky, 1977; Morin, 1947 citados por Prudvi, 1984).

#### Período de incubación.-

Es prolongado e irregular, algunos autores lo consideran de aproximadamente 2 años (Blood y Henderson, 1986), aunque ha sido determinado de 2 meses (Hole, 1958 citado por Benedictus, 1985). Aún así es difícil definirlo, ya que algunos animales nunca llegan a desarrollar signos clínicos, aunque una posibilidad de determinarlo es por medio de la presencia del organismo en las heces (Jubb y Kennedy, 1970).

#### Patogenia.-

Posterior a la ingestión del organismo, tiende a localizarse en la mucosa intestinal (porción terminal del ileon, ciego y colon) y ganglios linfáticos mesentéricos, donde prolifera lentamente (Bendixen, 1977; Gilmour, 1975; citado por Riemann, 1979; Jensen, 1982; Thoen, 1979). Estados agrupados del organismo aparecen en la mucosa actuando como cuerpos extraños, produciendo una inflamación específica, seguida de una infiltración masiva de células en la mucosa y submucosa intestinal (Blood y

Henderson, 1986; Larsen, 1973 citado por Sherman, 1980), lo cual va a provocar aumento en la motilidad del intestino, disminuye el tiempo de tránsito, reduce la absorción (Seaman, 1984; citado por Dent, 1985) e incremento en la pérdida de proteína (Blood y Henderson, 1986; Julian, 1975), la respuesta del hospedador será de acuerdo a su resistencia, algunos animales presentan la infección y otros son portadores o diseminadores (Buergelt, 1976; Hole, 1958 citados por Benedictus, 1985), permaneciendo en ellos la bacteria en mucosa intestinal y ganglios linfáticos sin que lleguen a presentar signos clínicos, aunque tengan desarrolladas lesiones menores y eliminan en forma intermitente al organismo (Gilmour, 1976; Larsen, 1973 citado por Sherman, 1980).

#### Signos clínicos.-

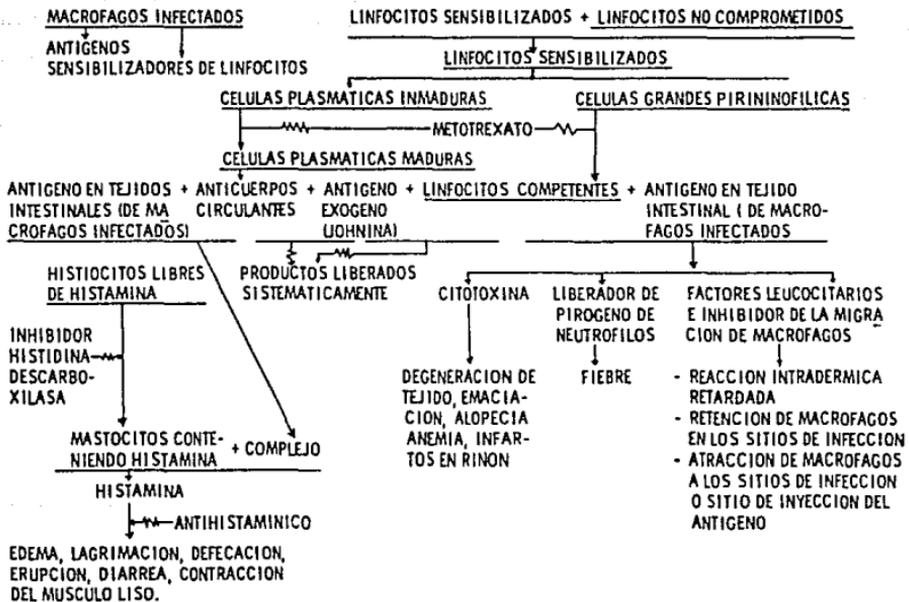
La manifestación de los signos clínicos ocurre después de haberse desarrollado las lesiones en el intestino (Thoen, 1979), que corresponden a los estados tardíos de la enfermedad, aunque estos signos son más o menos específicos (Fodstad y Eggert, 1979).

En ovinos y caprinos los signos principales son la emacia - ción progresiva, pérdida de peso, edema submandibular (Dent, - - 1985; Fodstad y Eggert, 1979; Jensen, 1982; Julian, 1975; Landau, 1959 citado por Trigo, 1979; Prudvi, 1984), baja en la producción de leche, debilidad, lana revuelta o pérdida completa (Kumar, 1984), la diarrea no es común aunque si hay cambio en la consistencia de las heces a pastosas (Dent, 1985), más tarde el animal se deshidrata y muere, otro signo importante es que su apetito permanece inalterado (Blood y Henderson, 1986; Jensen,-

1982; Jubb y Kennedy, 1970; Julian, 1975).

Respuesta inmune.-

Posibles reacciones inmunológicas de la enfermedad de Johne.



(Woolcock, J. B., citado por De Lucas, 1984).

### Diagnóstico.-

Dentro del diagnóstico los animales caen dentro de 4 categorías:

- 1) Animales clínicamente enfermos.
- 2) Portadores sanos que eliminan bacilos.
- 3) Portadores sanos que no eliminan bacilos.
- 4) Animales no infectados.

1).- Los animales que presentan signos de la enfermedad, - eliminan bacilos en las heces. Se ha encontrado que el 80% de - los animales con signos clínicos reaccionan a la Johnina intravenosa (Larsen y Kopecky, 1973).

2).- Estos animales están eliminando bacilos en las heces en forma constante o intermitente y representan una gran proporción del hato.

3).- Son animales que no eliminan cantidades suficientes - bacilos para su cultivo, pudiendo hacerse de tejidos post-mortem.

No se puede detectar esta categoría ya que algunos animales reaccionan a la Johnina intravenosa o intradérmica y otros son negativos a todas las pruebas, debido a ésto esta categoría es una amenaza para la industria ganadera.

4).- Son animales que pueden reaccionar a pruebas de la -- piel o serológicas, en cultivos a partir de tejidos son negativos, es posible que sean reactores recuperados de una infección leve, lo cual no es bueno económicamente ya que esos reactores son mandados al sacrificio (Larsen, 1973).

Dentro de los métodos de diagnóstico se incluyen:

I.- Exámen clínico.

Tiene valor limitado ya que los signos de la enfermedad son no específicos, pudiendo ser confundida con: malnutrición, gas - tritis traumática, abscesos en el hígado, parasitismo, linfoadenitis interna y deficiencias de cobalto (Blood y Henderson, 1986; Jensen, 1982; Jubb y Kennedy, 1970; Larsen, 1973).

II.- Métodos inmunológicos.-

1.- Inmunidad celular.

a).- Prueba de la Johnina y la tuberculina aviar.

Las pruebas de hipersensibilidad cutánea son eficaces en las etapas preclínicas (Hole, 1959 citado por Julian, 1975; Kumar, 1984; Trigo, 1979), aunque la Johnina ha mostrado ser más sensible y específica que la tuberculina aviar (Kumar et al., 1982). De la Johnina intravenosa e intradérmica, la intravenosa es más confiable (Larsen, 1965 citado por Amstel, 1984), es de valor para diferenciar la enfermedad clínica de otras con diarrea crónica (Larsen, 1973).

A pesar de ser utilizadas ampliamente resultan no ser confiables en hatos infectados ya que hay un alto número de falsos positivos (Paliwal, 1984; Thoen y Charles, 1979).

b).- Transformación linfocitaria in vitro.

Esta prueba ha mostrado buenos resultados, surgiendo por la necesidad de pruebas rápidas, parece ser más eficaz que el cultivo fecal y ofrece ventaja sobre la fijación de complemento e in-

munodifusión en gel ya que éstas presentan resultados falsos-positivos y falsos-negativos (Buergelt, 1977; Johnson, 1978 citados por Thoen, 1979), sin embargo tiene la limitante en cuanto a tecnología y equipo por lo que es poco práctica (Trigo, 1979).

## 2.- Inmunidad humoral.

### a).- Radioinmunoensayo.

Identifica animales con carga bacteriana baja para cultivo (Merkal, 1984). Es conveniente, rinde resultados en 48 horas y pueden analizarse 50 sueros por día (Worsae, 1978).

### b).- Prueba inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA).

Parece ser más sensible en bovinos (Jorgensen, 1978 citado por Trigo, 1979). Identifica animales con carga bacteriana baja para cultivo y puede ser utilizada para mandar sacrificar animales antes de que difundan la enfermedad (Merkal, 1984).

### c).- Inmunofluorescencia.

Esta prueba ha sido utilizada para detectar la infección en estado preclínico, siendo más eficiente que la fijación de complemento, hemoaglutinación e inmunodifusión (Gilmour, 1976; Paliwal, 1984). Cuando la enfermedad progresa es igual de eficiente que la fijación de complemento y no presenta reacción cruzada (Gilmour, 1976; Goudsward, 1976). Ha sido considerada de valor diagnóstico ya que detecta la enfermedad en todos los estados de ésta y además muestra estrecha correlación entre las lesiones macroscópicas e histológicas (Paliwal, 1984).

### d).- Hemoaglutinación.

Es más sensible que la fijación de complemento, detectando

animales en etapas iniciales de la infección, pero es menos específica (Larsen, 1965 citado por Julian, 1975), además presenta las mismas limitaciones que la fijación de complemento por las reacciones cruzadas (Trigo, 1979).

e).- Fijación de complemento.

Es de utilidad cuando la enfermedad está avanzada (Gilmour, 1976; Larsen, 1963), aunque solo refleja la gravedad de las lesiones, más que la manifestación clínica (Blood y Henderson, -- 1986), es de amplia demanda, aunque se ha considerado de valor limitado ya que tiene la desventaja de dar resultados falsos positivos, debido a reacciones cruzadas con otras micobacterias y el Corynebacterium renale (Fodstad y Eggert, 1979; Gilmour, -- 1976; Rice, 1968 citado por Trigo, 1979).

f).- Inmunodifusión en gel.

Esta prueba ha demostrado ser sensitiva y específica en -- ovinos y caprinos (Merkal, 1973 citado por Julian, 1975), detectando a los animales más gravemente infectados y afectados clínicamente (Goudswaard, 1972; Merkal, 1968 citados por Sherman, -- 1980; Merkal, 1984). Se ha reportado que refleja el progreso -- de la infección más exactamente que otras pruebas como son fijación de complemento y hemoaglutinación (Trigo, 1979). En estudios recientes se encontró que es de igual sensibilidad y especificidad que el cultivo bacteriológico en infecciones clínicas y no clínicas, además ofrece grandes ventajas prácticas ya que es rápida, de bajo costo y la reacción cruzada es menor al 6% -- (Larsen, 1947; Ridell, 1977 citados por Sherman, 1980; Thomas, 1983 citado por Sherman, 1984).

g).- Contraimmunolectroforesis.-

Ha sido utilizada para detectar la infección en bovinos, -  
ovinos y caprinos, ha mostrado ser más sensitiva que la immuno-  
difusión además de tener la ventaja de ser más rápida, mostrando  
resultados en 30 minutos (Muhammed et al., 1978).

h).- Floculación de bentonita.

Se ha utilizado bentonita sensibilizada con tuberculina -  
como antígeno y se determinó que no diferencía las infecciones  
de tuberculosis (Wallace et al., 1968, 1971 citado por Trigo, -  
1979).

III.- Método bacteriológico.

1.- Examen microscópico.

La examinación de los organismos alcohol-ácidorresistentes  
por medio de improntas (frotis) o raspados de heces y mucosa in  
testinal, es una técnica de diagnóstico, valiosa y rápida (Dent,  
1985; Julian, 1975; Kumar, 1984) la desventaja es que detecta -  
solo aquellos animales que eliminan grandes cantidades de orga-  
nismos y aun así puede haber errores ya que si no se tiene la -  
experiencia no es posible distinguir al bacilo de Johnne de los  
bacilos saprófitos como el Mycobacterium phlei, el cual es más  
largo, además de que se colorea menos intenso y su tendencia a  
formar acumulos es menor (Merkal, 1968 citado por Julian, 1975;  
Sherman, 1984; Thoen, 1979; Trigo, 1979).

2.- Cultivo bacteriológico.

Es un método útil, reportado 100% específico y sensitivo,-  
detecta animales aparentemente sanos de hatos infectados (Merkal,  
1973 citado por Julian, 1975), identifica animales vacunados que

son diseminadores, puede ser usado para calificar un hato libre y ver progresos de la infección (Merkal, 1984) y como diagnóstico confirmativo (Sherman, 1980). Ha sido considerado el mejor método de diagnóstico en un animal vivo (Merkal, 1968; Larsen y Kopecky, 1970 citados por Kumar et al., 1982) y el más -- confiable método de diagnóstico post-mortem (Fodstad y Eggert, 1979). Puede hacerse a partir de heces, mucosa intestinal y nódulos linfáticos, con el inconveniente cuando es de heces de -- que se requieren de 50 a 100 microorganismos por gramo de heces (Merkal, 1970 citado por Trigo, 1979), además de requerir de 6 a 12 semanas de incubación y la necesidad de un medio especializado (Gilmour, 1976; Merkal, 1973 citado por Julian, 1975; Larsen, 1973 citado por Sherman, 1984; Dep. Agr., 1974; Willepit, 1977 citado por Thoen, 1979).

### 3.- Biopsia de nódulos linfáticos mesentéricos.

Su uso puede dar un diagnóstico definitivo en todos los casos (Pemberton, 1979 citado por Amstel, 1984), tanto en la infección clínica como en la no clínica, con el inconveniente de la dificultad para encontrarlos ya que se hallan incrustados en la grasa, el diagnóstico se realiza por medio de histopatología o improntas (Duergel, 1976 citado por Benedictus, 1985; Pemberton, 1979 citado por Summers, 1981).

## IV.- Exámen post-mortem.

### 1.- Lesiones macroscópicas.

La examinación post-mortem es muy importante para auxiliar el diagnóstico de la enfermedad de Johnne, aunque las investiga-

ciones indican que los cambios macroscópicos en intestino y nódulos linfáticos mesentéricos son de valor limitado e inespecífico o no son observados lo cual puede corresponder a las fases tempranas de la enfermedad (Fodstad y Eggert, 1979) por lo que es considerado útil en las fases tardías (Kumar, 1984).

Las lesiones se localizan por lo general en la parte posterior del aparato digestivo y nódulos linfáticos vecinos. Región del ileon, válvula ileocecal, ciego y primera parte del colon, aunque en casos avanzados se presentan de duodeno a recto (Blood y Henderson, 1986; Jensen, 1982; Buergelt, 1975 citado por Benedictus, 1985; Hagan y Bruner citado por Trigo, 1979; Julian, 1975).

Se ha observado en los animales en etapas terminales: palidez, caquexia, edema intermandibular, atrofia gelatinosa de la grasa y fluido seroso en todas las cavidades (Jubb y Kennedy, 1970; Kumar, 1984; Prudvi, 1984).

La mucosa intestinal muestra engrosamiento difuso, congestión, moco viscoso (Amstel, 1984; Jubb y Kennedy, 1970; Kumar, 1984; Prudvi, 1984), la corrugación no es común (Blood y Henderson, 1986).

En la válvula ileocecal se observan lesiones que van desde hiperemia hasta edema y engrosamiento (Kumar, 1984; Trigo, 1979).

Los nódulos se encuentran edematosos, agrandados, con procesos de caseificación y/o calcificación, congestionados (Amstel, 1984; Dent, 1985; Jubb y Kennedy, 1970; Kumar, 1984; Prudvi, 1984).

## 2.- Lesiones microscópicas.

El ileon muestra una severa pérdida de células epiteliales, hay una enteritis granulomatosa que ocasiona el engrosamiento de la mucosa y submucosa la cual se debe a la severa proliferación e infiltración de células epitelioides, células gigantes conteniendo bacilos alcohol-ácidoresistentes, además se encuentran linfocitos, células plasmáticas, macrófagos y ocasionalmente eosinófilos (Dent, 1985; Jensen, 1982; Jubb y Kennedy, 1970; Paliwal, 1981; Ramírez y Col, 1979). En casos severos la reacción inflamatoria se extiende a lo largo de vasos linfáticos hacia la submucosa, capa muscular, serosa y mesenterio adyacente (Trigo, 1979).

Los nódulos linfáticos presentan hiperplasia linfoide (Ramírez et al., 1979), granulomas epitelioides focales en la corteza macrófagos, células gigantes conteniendo abundantes bacilos, la caseificación y/o calcificación son observados en estados tardíos de la enfermedad (Fodstad y Eggert, 1979; Prudvi, 1984).

### Control.-

Es de gran importancia que sea llevado a cabo ya que esta enfermedad causa un serio problema económico, la dificultad para ello es la falta de una prueba diagnóstica, rápida, confiable de alta sensibilidad y específica que detecte a los animales en estado preclínico (Paliwal, 1984; Worsae, 1978).

El control se puede efectuar por medio de manejo, vacunación y tratamiento.

Manejo sugerido.-

1).- Separar animales jóvenes de adultos (Julian, 1975; -- Buergelt, Duncan, 1978 citados por Taylor, 1981).

2).- Llevar a cabo la crianza en zonas de pastoreo no contaminadas (Julian, 1975; Taylor, 1981).

3).- En caso de compra de un animal, hacerlo de hatos libres de paratuberculosis, determinado por 3 cultivos bacteriológicos de los animales adultos en intervalos de 6 a 12 semanas o por la prueba de ELISA.

4).- Evitar la alimentación de las crías por madres infectadas subclínicamente de un hato infectado, pudiendo hacerse -- con calostros pasteurizados o de animales negativos (Taylor, -- 1981), para recién nacidos, posteriormente utilizar leche comercial o pasteurizada.

5).- Animales jóvenes de un hato infectado, no considerarlos libres, aún cuando sus padres hayan sido vacunados y sean -- negativos a pruebas serológicas o bacteriológicas.

Todo animal expuesto vacunado o no, es un diseminador potencial de la enfermedad (Merkal, 1984).

6).- Evitar tensión y causas predisponentes, parasitismo, -- proveer de una buena alimentación, en suelos ácidos poner cal -- (Delanne, 1963, 1966 citado por Julian, 1975).

#### Vacunación.-

La vacunación no es muy eficaz en todos los casos (Hore, -- 1971 citado por Julian, 1975), ha mostrado prevenir la enfermedad clínica en hatos positivos y reduce el número de organismos eliminados (Doyle, 1960, 1966, Huitema, 1968; Spear, 1959; -- --

Stuart, 1965 citados por Julian, 1975), inhibe la multiplicación intracelular del organismo (Gilmour, 1976; Larsen, 1973).

La vacuna con Mycobacterium paratuberculosis, vivo o muerto, con adyuvante proporciona protección contra la enfermedad clínica, no elimina la infección pero reduce la eliminación del organismo (Gilmour, 1976) pero los animales vacunados no pueden ser considerados libres de la enfermedad (Merkal, 1975 citado por Merkal, 1984).

Estas vacunas proporcionan inmunidad adquirida la cual se caracteriza por el aumento en la capacidad de los macrófagos para inhibir la multiplicación intracelular del organismo (Youmans 1969 citado por Larsen, 1973).

Tiene dos inconvenientes:

1).- Provocan la formación de un nódulo fibrocaseoso en el sitio de inoculación, en algunos casos desbridan, cuando llegan a persistir no causan molestias (Huitema, 1968; Larsen, 1973).

2).- Desarrollan hipersensibilidad a las pruebas de la Joh nina y tuberculina aviar y mamífera (importante en bovinos) - - (Gilmour, 1976; Larsen, 1973; Larsen, 1978 citado por Merkal, 1984).

Tratamiento.-

La bacteria vive dentro de los macrófagos en la lámina propia y nódulos linfáticos y dependen del metabolismo del hospedador.

Han sido utilizadas drogas como estreptomina, iso-hidrazol de ácido nicotínico, viomicina, 4-4 diamino difenilsufona - (Larsen, 1950, 1952 y 1953), sin efectos terapéuticos signific

tivos. Riminofenacina, reduce la infección en ratones y borregos (Gilmour, 1966, 1968, 1970, 1971 citado por Julian, 1975). Corticotrofin y esteroides anabólicos, sin ningún efecto (Allen, 1968).

El sulfato de Amikacin reduce el número de organismos eliminados, pero es demasiado caro. Clofacimina elimina diseminados, aun es estudiado y no es aprobado para su uso en los Estados Unidos (Merkal, 1984).

A la fecha no se ha encontrado medicamento específico para la enfermedad de Johne (Julian, 1975).

La mejor medida aunque poco práctica económicamente, es despoblar la granja totalmente dejándola sola de uno a tres años, ya que sería necesario apoyo gubernamental, financiero y asistencia técnica (Blood y Henderson, 1986).

## O B J E T I V O S

- 1).- Diagnosticar la enfermedad dentro del rebaño.
- 2).- Determinar la prevalencia dentro del mismo.
- 3).- Comparar tres métodos de diagnóstico de la enfermedad dentro del rebaño (clínico, serológico y necropsia).
- 4).- Determinar la sensibilidad de los métodos de diagnóstico serológicos utilizados.

## MATERIAL Y METODOS

El presente estudio se realizó en una explotación ovina comercial rancho "La Palma", ubicado en Visitación, Municipio de Melchor Ocampo, Estado de México.

Dicha explotación tiene una población de 250 ovinos distribuidos de la siguiente manera:

- Hembras adultas .....	136
- Corderos (hembras y machos).....	110
- Sementales .....	4

La población esta compuesta por hembras criollas (encastadas con sementales raza Suffolk, Corriedale y Rambouillet), los sementales son 2 raza Suffolk y 2 Rambouillet.

Manejo reproductivo:

- Empadre continuo (todo el año).

Manejo alimenticio:

- Cuatro horas de pastoreo en repelo de alfalfa por día y en ocasiones suplemento con rastrojo de maíz o paja de avena.

- Sales minerales.

- Agua ad libitum.

Manejo sanitario:

- Se realizan muestreos mensuales coproparasitoscópicos, para determinar el criterio de su tratamiento.

- Se realiza un control estricto de estrosis ovina (en base

a tratamiento, determinado este por medio del cuadro clínico - del rebaño).

- No se lleva a cabo ningún tipo de vacunación.

El muestreo se realizó en las 136 hembras y los sementales, éste fue de sangre (suero), por medio de punción yugular, se obtuvieron aproximadamente 7 ml de sangre en tubo vacutainer, posteriormente se centrifugaron (1500 RPM) 5 minutos para la obtención del suero, el cual fue congelado para llevar a cabo las siguientes pruebas serológicas:

- 1).- Doble inmunodifusión en gel.
- 2).- Contraimmunolectroforesis.

Los casos clínicos sugestivos, se siguieron hasta sus últimas consecuencias efectuando su exploración clínica general y - especial, checando sus constantes fisiológicas, cambios de peso, apetito, diarrea y condición. Para ello el material empleado - fue: estetoscopio, termómetro y báscula romana. Cinco de estos animales se sacrificaron para realizarles un estudio patológico completo, consistiendo en la necropsia con el fin de comprobar la presencia de las lesiones macroscópicas presentes a nivel de aparato digestivo, específicamente la mucosa del intestino delgado en las porciones del yeyuno e ileon y nódulos linfáticos mesentéricos, también observar las lesiones microscópicas por medio de la histopatología de los órganos antes mencionados.

Los 3 métodos de diagnóstico se realizaron en el Laboratorio de referencia en Salud Animal, en Santa Ana Tecamac, Méx. y en la explotación comercial.

Para las pruebas serológicas se requiere preparar lo siguiente:

Solución buffer de boratos a un pH de 8.6 :

- Acido bórico.
- Tetraborato de sodio.

Solución buffer de Veronal a un pH de 8.6:

- Dietil barbiturato de sodio.
- Acido dietil barbitúrico (barbituratos).

Preparación del gel:

Se utiliza agar purificado, se le agrega agua destilada y buffer de boratos (pH 8.6).

Técnica de doble inmunodifusión en gel o técnica de Ouchterlony.-

Para esta técnica se utilizan cajas de petri, preparadas con agar; se hacen series de siete pozos en cada una y en el pozo central, se depositan con la micropipeta 35 microlitros de antígeno compuesto por protoplasmas de Mycobacterium paratuberculosis\* y en los pozos periféricos se depositan los sueros problema, incluyendo un control positivo y un control negativo, la primera lectura se hace a las 3 horas y se consideran positivos aquellos que presenten una o más líneas de precipitación, se lee nuevamente a las 24 y 48 horas.

\* Proporcionado por el Dr. Merkal, R.S.

### Técnica de contraimmunoelectroforesis.-

En esta técnica se utiliza una placa de acrílico preparada con ocho portaobjetos y agar, se elaboran pozos distribuidos en cada portaobjeto, en tres series de cuatro pares cada una, se depositan con la micropipeta 15 microlitros de antígeno en todos los pozos de la izquierda de cada una de las series y en los pozos de la derecha se depositan los sueros problema incluyendo un control positivo y un control negativo, se mete la placa a la cámara la cual es llenada previamente con buffer de Veronal (pH 8.6) y se pone a una corriente de 200 volts durante 45 minutos, posteriormente se hace la primera lectura tomando como positivos aquellos que presentan una o más líneas de precipitación, se lee nuevamente a las 24 horas (Bach, 1984).

Para el diagnóstico clínico se siguieron durante 8 semanas 10 animales seleccionados del rebaño que presentaban signos clínicos sugestivos de la enfermedad. A estos animales se les hizo la exploración general y especial, observando sus constantes fisiológicas, peso y presencia de diarrea.

## RESULTADOS

### Diagnóstico serológico:

De los 140 sueros que fueron analizados por las técnicas - de doble inmunodifusión en gel y contrainmunolectroforesis en dos ocasiones, se obtuvieron 13 sueros positivos en las dos técnicas, éstos se analizaron en dos ocasiones más dandonos positivos para así tener una prevalencia del 9.28% (Cuadro No 1).

Cuadro No. 1

Resultados serológicos de las pruebas de doble inmunodifusión en gel y contrainmunolectroforesis.

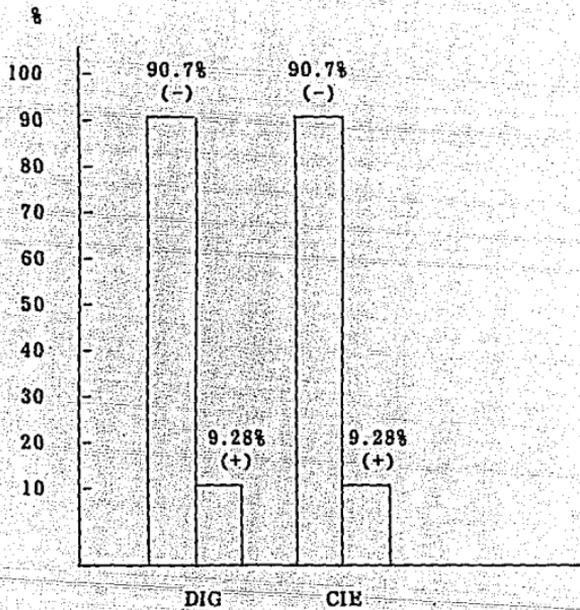
	DIG	CIE	%
Total de			
Sueros	140	140	100.00
Negativos	127	127	90.72
Positivos	13	13	9.28

Dentro de estos 13 sueros positivos solo uno de ellos pertenece a un animal clínicamente positivo.

Los 12 sueros restantes corresponden a animales que no mostraron cuadro clínico (Gráfica 1).

GRAFICA 1

Representación porcentual de positivos  
y negativos de las pruebas serológicas.



**Diagnóstico clínico:**

Los 10 animales seleccionados por presentar cuadro clínico que sugiere la enfermedad, se siguieron durante ocho semanas -- consecutivas, efectuando su exploración clínica general y especial, tomando sus constantes fisiológicas y cambios de peso -- (Cuadros Nos. 2 y 4), observándose además los siguientes signos clínicos: emaciación marcada, pérdida de la lana, edema submandibular, cambio en la consistencia de heces (Cuadro No. 3), debilidad, deshidratación y apetito inalterado.

Cuadro No. 2

Promedio y desviación standar de las constantes fisiológicas y del peso vivo, tomados durante ocho semanas de los animales -- que mostraron cuadro clínico.

Borrega No.	Edad años	F.C.		F.R.		T°C		Peso (Kg)	
		$\bar{X} \pm$	D.S.						
118	1	112.4	14.1	37.2	29.6	40.1	1.25	32.5	1.73
180	1	83.3	12.3	36.1	34.3	39.7	0.66	27.8	1.92
167	2	95.9	11.6	97	20.5	40.1	0.41	35.1	1.06
165	4	88	8.5	65.6	26.6	39.8	0.42	38.8	1.6
77	3	92.2	15.7	78.1	36.7	39.8	0.33	37.1	0.69
168	3	91.6	11.4	58	16.8	39.9	0.41	31.6	1.98
172	3	98.5	14.9	80.7	27.1	40.4	0.44	34.8	0.69
133	2	80.5	11.0	55.8	21.5	39.6	0.51	31.8	1.56
309	2	97.8	12.9	79.5	30.1	40.2	0.29	33.8	1.21
232	3	102.4	20.5	66.4	40.8	40.0	0.50	41.8	2.95
X	2.4	94.2	13.2	65.4	28.4	39.9	0.52	34.5	1.54

Como se observa no hubo alteración alguna en las constantes fisiológicas (Gráficas II, III y IV).

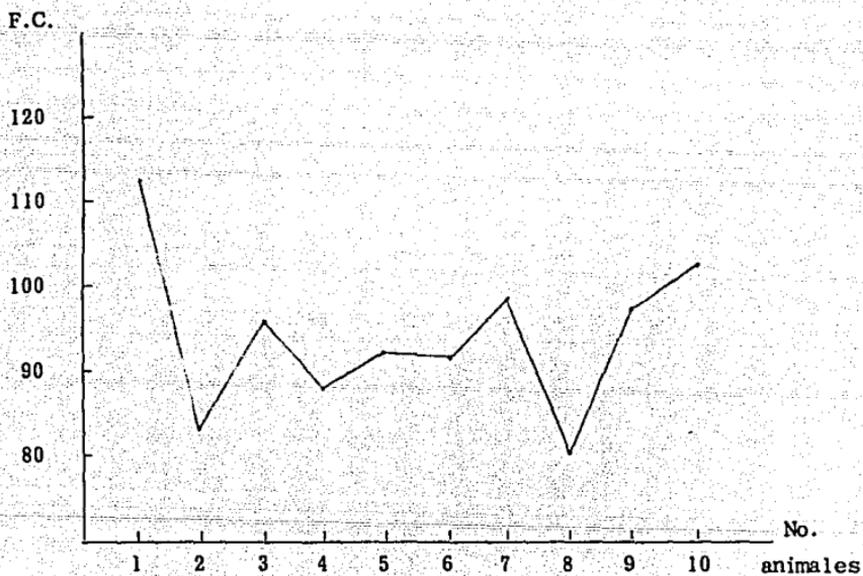
F.C. = Frecuencia cardíaca.

F.R. = Frecuencia respiratoria.

T°C = Temperatura.

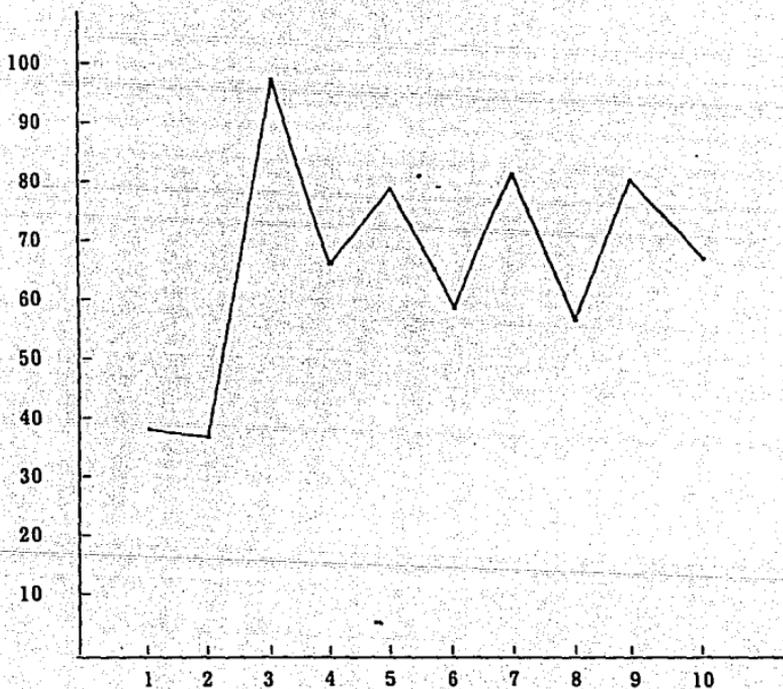
GRAFICA II

Promedio de la frecuencia cardíaca de los 10  
animales seleccionados y seguidos 8 semanas.



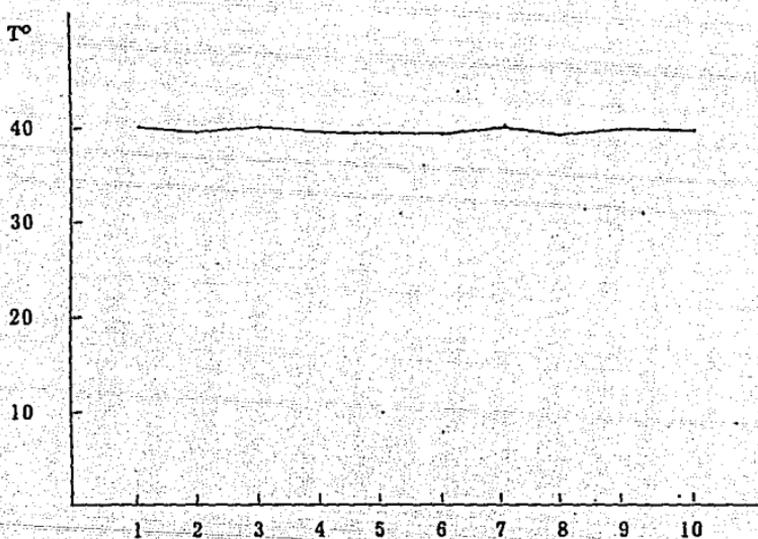
GRAFICA III

Promedio de la frecuencia respiratoria  
de los 10 animales seleccionados.



GRAFICA IV

Promedio de la temperatura corporal de  
los 10 animales seleccionados.



Cuadro No. 3

Resultados de la presencia de diarrea durante ocho semanas.

Borrega No.	Semanas								Observaciones
	1	2	3	4	5	6	7	8	
118	+	+	+	+	+				Edema y muerte (5a. sem.)
180	-	+	-	-	-	+			Muerte (6a. sem.)
167	-	+	-	-	-	-	+	+	
165	-	+	-	+	-	+	+	+	
77	+	+	+	+	-	-	+	+	
168	+	+	+	+	+	+	+	+	
172	-	-	-	+	-	-	+	+	
133	+	+	+	-	-	+	+	+	Edema submandibular
309	+	+	-	+	+	+	+	+	
232	-	+	-	-	+				Muerte (5a. sem.)

En este cuadro es evidente la presencia de diarrea en todos los casos, la cual se acentúa conforme avanza el curso de la enfermedad e incluso se observa que estuvo siempre presente en algunas borregas, una de las cuales llegó a desarrollar edema y murió posteriormente, pero en general es una diarrea intermitente.

Cuadro No. 4

Resultados del peso vivo (kg) de los  
10 animales seleccionados.

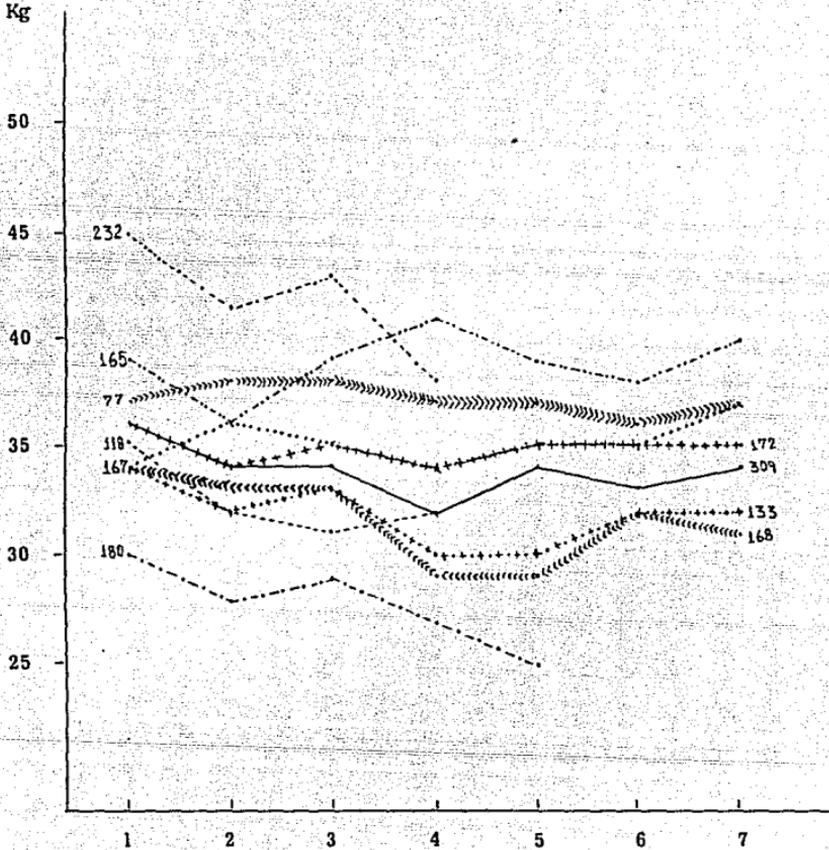
Borrega No.	Semanas						
	1	2	3	4	5	6	7
118	35	32	31	32	—	—	—
180	30	28	29	27	25	—	—
167	34	36	35	34	35	35	37
165	39	36	39	41	39	38	40
77	37	38	38	37	37	36	37
168	34	33	33	29	29	32	31
172	36	34	35	34	35	35	35
133	34	32	33	30	30	32	32
309	36	34	34	32	34	33	34
232	45	41.5	43	38	—	—	—

Como se observa es evidente la pérdida de peso, aunque también hubo una ligera mejoría, debido a que se les cambió la alimentación (Gráfica V).

No fue posible seguirlos hasta la fase final ya que fueron vendidos algunos de ellos.

GRAFICA V

Peso semanal de los 10 animales seleccionados.



ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

**Exámen post-mortem:**

Se llevó a cabo en 5 animales, 3 fueron realizados en el Laboratorio de Tecamac y 2 en el rancho.

No fue posible hacerlo en todos los animales con manifestación clínica ya que fueron vendidos.

**Necropsia:**

- Diagnóstico morfológico: atrofia serosa de la grasa epicárdica y mesentérica, hidrotorax.

- Diagnóstico etiológico: Desnutrición crónica asociada a Paratuberculosis.

- Comentario: En impronta de mucosa de ileon, teñida con Ziehl Neelsen se observaron bacilos alcohol-ácidorresistentes.

- Histopatología: Visceras y ganglios.

- Intestino porción del ileon: entre la mucosa y submucosa se observaron zonas focales de necrosis con calcificaciones rodeadas de tejido fibroso y células gigantes de tipo Langhans. Además la mucosa se ve infiltrada por células epitelioides, leucocitos mononucleares en la capa muscular.

- Ganglios: se observaron zonas localizadas de necrosis -- con calcificaciones, edema, en la luz de algunas arterias se observaron trombos y éstas a su vez estaban rodeadas por reacción inflamatoria. También se encontraron varias células gigantes - distribuidas difusamente e infiltración de células epitelioides.

- Diagnóstico morfológico: moderada a severa enteritis granulomatosa difusa crónica.

Moderada a severa linfadenitis  
granulomatosa difusa crónica.  
Moderada tiflitis erosiva.

- Diagnóstico etiológico: Paratuberculosis.

- Bacteriología: Se aisló Corynebacterium pseudotuberculosis.

/ - Diagnóstico integral: Linfadenitis caseosa y Paratuberculosis.

## D I S C U S I O N

De acuerdo a lo observado en este estudio respecto al cuadro clínico, los signos principales fueron: Pérdida de peso, -- emaciación y diarrea intermitente, lo cual concuerda con lo encontrado en los trabajos de Fodstad y Eggert (1979), Sherman -- (1980) y Dent (1985), la presencia de edema submandibular fue -- otro signo que se presentó en algunos animales, dicho signo fue poco frecuente en los estudios de Prudvi y Kumar (1984). Las -- constantes fisiológicas no presentaron alteración alguna, Ju -- lian (1975) menciona que hay fiebre aunque no siempre está presente y Jensen (1982) indica que hay diarrea febril. El apetito permaneció inalterado, lo que se contrapone con lo mencionado por Riemann (1979) quién observó que cuando da inicio la diarrea hay pérdida del apetito.

Aunque varios autores como Thoen indican que la manifestación clínica de la enfermedad se presenta después de los dos -- años, en este estudio se observó que se presenta desde el primer año de edad lo que corresponde a lo encontrado por Prudvi -- (1984).

De las pruebas serológicas utilizadas la doble immunodifusión en gel fue sensible para diagnosticar la enfermedad en fases avanzadas como lo fue para los trabajos de De Lucas (1984)- y Praxedis (1985) quienes lo encontraron útil tanto en borregos como cabras, además de ser barata, fácil y rápida, dando resultados en 48 horas como lo citan Merkal (1984) y Sherman (1984).

La técnica de contraimmunoelectroforesis mostró igual sen-

sibilidad y especificidad que la técnica de doble inmunodifusión, ya que los sueros que resultaron positivos fueron los mismos en las dos técnicas, ésto cabe mencionarlo ya que en el estudio de Muhammed (1978) la contraimmunoelectroforesis resultó ser más sensitiva que la doble inmunodifusión, de modo que la única ventaja de la contraimmunoelectroforesis es la rapidez con la que se obtienen resultados observándose éstos en 45 minutos, pero requiere de equipo más especializado además de haber un gasto mayor de antígeno.

De los 13 animales que resultaron serológicamente positivos 12 corresponden a animales que no presentaron la enfermedad clínica, los cuales podrían caer dentro de la categoría cuatro según la clasificación de Larsen (1973) para el diagnóstico; que indica que son animales normales que pueden reaccionar a las pruebas serológicas, siendo animales que posiblemente tuvieron una infección leve y se recuperaron.

Resultan de gran utilidad para el diagnóstico, los hallazgos a la necropsia e histopatología, aunque éstos sean de valor limitado e inespecíficos, ya que haciéndolos en relación con un cuadro clínico y una historia clínica será muy certero el diagnóstico. Los hallazgos encontrados en las necropsias realizadas en este estudio son muy similares a los encontrados en los trabajos de Ramírez y Col. (1979), Paliwal (1981), Kumar y Prudvi (1984). Aunque siempre es necesario considerar el diagnóstico diferencial con otras enfermedades que den un cuadro clínico similar.

## CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

El apetito inalterado, la diarrea intermitente, las constantes fisiológicas sin cambios y la emaciación son los principales signos clínicos que manifestaron los animales de la explotación.

La prevalencia de la paratuberculosis dentro del rebaño fue del 9.28%.

Las pruebas serológicas utilizadas mostraron igual sensibilidad y especificidad.

La eficiencia del diagnóstico está dada por la suma del cuadro clínico, las pruebas serológicas y la necropsia.

Dada la limitante para el diagnóstico serológico, debido a que en México no se produce el antígeno, es necesario se lleve a cabo su elaboración, para así continuar buscando una prueba rápida y eficaz de diagnóstico.

Es importante incrementar estos estudios para conocer la distribución de la paratuberculosis en nuestro país, para cientizarlos dándole así la debida importancia y tratar de erradicarla.

B I B L I O G R A F I A

- ANSTELL, Van S.R. (1984). Observations on the symptomatology --  
and diagnosis of clinical cases of Johne's disease. J.  
South African Vet. Ass. 55 (1) 45-46.
- ARBIZA, A.S. (1984). Estado actual de la ovinocultura en México.  
Memorias del curso Bases de la cría ovina. F.E.S.C. --  
U.N.A.M. pp. 28-36.
- BACH, J., F. (1984) *Immunología*. Ed. Limusa, 1a. ed. México, --  
D.F.
- BENDIXEN, P.H. (1977). Application of the direct leucocyte mi --  
gration agarose test in cattle naturally infected with  
Mycobacterium paratuberculosis. Am. J. Vet. Res. 38 --  
(2) 2027-2028.
- BENEDICTUS, G. and Bosma J. (1985). Paratuberculosis: a surgi -  
cal method of diagnosis in practice. Vet. Quaterly. 7-  
(3): 217-221.
- BLOOD, D.C. and Henderson, J.A. (1986). *Veterinary Medicine*. --  
6a. edition. Bailliere Tindall, London, page 643-649.
- BUSTAWANTE, J.J. (1974). Detección de anticuerpos a - - - - -  
Mycobacterium paratuberculosis por medio de la prueba  
de fijación de complemento. Tesis de licenciatura. - -  
F.M.V.Z. U.N.A.M.
- DE LUCAS, T.J. (1984). Comparación de 4 formas de diagnóstico -  
de paratuberculosis en caprinos. Tesis de licenciatura.  
F.E.S.-C. U.N.A.M.
- DENT, C.H.R. (1985). Complications in field diagnosis of Johne's  
disease in sheep. Aus. Vet. J. 62 (5): 171.

- FODSTAD, F.H. and Eggert, G. (1979). Post-mortem examination in the diagnosis of Johne's disease in goats. *Acta Vet. Scand.* 20, 157-167.
- GARIBAY, V.M.E. (1974). 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. F.M.V.Z. - - U.N.A.M.
- GILMOUR, N.J.L. (1976). The pathogenesis, diagnosis and control of Johne's disease. *Vet. Rec.* 27 (99): 433-434.
- GILMOUR, N.J.L., Singleton L. and Ross G.W. (1969). Studies on the hypersensitivity and immunity caused by M. johnei BK/O/J adjuvant vaccine in sheep. *J. Comp. Path.* 79, - 341-346.
- GOUDSVAARD, J., Gilmour, N.J.L., Dijkstra, R.G. and Van Beek, -- J.J. (1976). Diagnosis of Johne's disease in cattle: A comparison of five serological test under field conditions. *Vet. Rec.* 98 (23): 461-462.
- HUITEMA, H. (1968). Johne's disease in cattle and vaccination. *Neth. J. Vet.Sci.* 1 (2): 189-197.
- JENSEN, R. and Swift B.L. (1982). *Disease of sheep*. 2nd Ed. Lea and Febriger, Philadelphia. pp. 194-196.
- JUEB, K.V. y Kennedy, P.C. (1970). *Patología de los animales domésticos*. Ed. Labor. México, D.F. Tomo II pp. 161-167.
- JULIAN, R.J. (1975). A short review and some observations on -- Johne's disease with recommendations for control. *Can. Vet. J.* 6 (2): 33-43.

- KUMAR, A. (1984). Diagnosis of paratuberculosis in sheep. *Modern Vet. Prac.* 65 (2): 139-141.
- KUMAR, A., Sharma, S.N. and Vyas, C.B. (1982). Studies on paratuberculosis in russian merino sheep comparison of four diagnostic test. *Ind. Vet.* 59 (5): 352-357.
- LARSEN, A.B. (1973). Johne's disease - Immunization and diagnosis. *J. Am. Med. Ass.* 163, 902-903.
- MERKAL, R.S. and Curran, B.J. (1974). Growth and metabolic characteristics of Mycobacterium paratuberculosis. *Applied Microbiology.* 28 (2): 276-279.
- MERKAL, R.S. (1984). Paratuberculosis: Advances in cultural, serologic and vaccination methods. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 184 (8): 939-943.
- MUHAMMED, S.I., Tadayon, R.A. and Cheema, A.H. (1978). Detection of antibodies to Mycobacterium johnei by counterimmuno electrophoresis. *Vet. Rec.* 102, 401-403.
- PALIWAL, O.P., Rajya, B.S. and Krishna, S.G. (1984). Comparative evaluation of diagnostic test for paratuberculosis in goats, *Ind. J. Anim. Sci.* 54 (7): 657-659.
- PALIWAL, O.P. and Rehbinder, C. (1981). Ultrastructural studies of paratuberculosis (Johne's disease) in goats. *Acta-Vet. Scand.* 22, 180-188.
- PRAXEDIS, M.J. (1985). Determinación de la prevalencia de paratuberculosis en ovinos y caprinos sacrificados en cuatro rastros periféricos al D.F. Tesis de licenciatura. F.E.S.- C. U.N.A.M.
- PEREZ, I.A. (1981). Situación actual de la ovinocultura en Méxi

- xico. Memorias del curso de actualización "Aspectos de Producción Ovina". F.M.V.Z. U.N.A.M. 1-12.
- PRUDVI, R. K., Sriraman, P.K., Copal Naidu, N. R. and Rama, R.P. (1984). Pathology of Johne's disease in sheep. Ind. Vet. J. 179-184.
- RAMIREZ, P. C., Tenorio, V.G., Valero, G. E., Ramírez, C. C. Trigo, T.E. y Merkal, R. S. (1982). Presencia de anticuerpos contra Mycobacterium paratuberculosis en ovinos y caprinos. Memorias de la reunión de investigación pecuaria en México. I.N.I.P. U.N.A.M.
- RAMIREZ, P. C., Trigo, T. E., Suárez, G. T. y Merkal, R. S. (1979). Aislamiento e identificación de Mycobacterium paratuberculosis en México. Nota de investigación. Tec. Pec. Mex. 36, 74-76.
- RIEMANN, H., Muhammed, R. Z., Roger, Aclund, J., Berg, W., Helle, B. (1979). Paratuberculosis en cattle and free living exotic deer. J. Am. Vet. Med. Ass. 174 (8): 841-842.
- SHERMAN, M. D., Markhan, R.J.F. and Bates, F. (1984). Agar gel immunodiffusion test for diagnosis of clinical paratuberculosis in cattle. J. AM. Vet. Med. Ass. 185 (2): 179-182.
- SHERMAN, M. D. and Horace, M. G. (1980). Comparison of agar gel immunodiffusion and fecal culture for identification of goats with paratuberculosis. J. Am. Vet. Med. Ass. 177, 1208-1211.
- SUMERS, B.A. (1981). Laboratory diagnosis of Johne's disease:

- a potential source of error. Vet. Rec. 21, 166-167.
- TAYLOR, T.K., Wilks, C. R. and Mc Queen, D. S. (1981). Isolation of Mycobacterium paratuberculosis from the milk of a cow with Johne's disease. Vet. Rec. 109, 532-533.
- THOEN, Ch. O. And Muscoplat, Ch. C. (1979). Recent developments in diagnosis of paratuberculosis. J. Am. Vet. Med. -- Ass. 174 (8): 838-840.
- TRICO, J. F. (1979). Diagnóstico de la paratuberculosis (Enfermedad de Johne). Estudio recapitulativo. Vet. Mex. 10: 239-244.
- UNZUETA, R. J. (1936). Contribución al estudio de la enteritis paratuberculosa bovina en México. Tesis de licenciatura. F.M.V.Z. U.N.A.M.
- WORSÆ, H. (1978). Radioimmunoassay for antibodies against - - Mycobacterium paratuberculosis using <sup>125</sup>I- Labelled - PPD. Acta Vet. Scand. 19 (1): 153-155.