Paratuberculosis

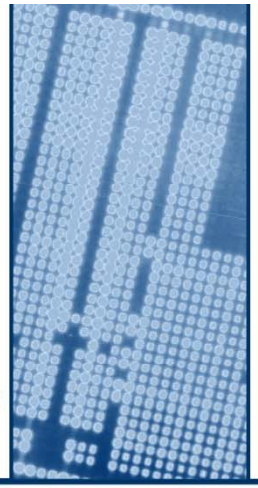
Lucía de Juan Ferré
Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET)
Departamento de Sanidad Animal
Facultad de Veterinaria
Universidad Complutense de Madrid

Bioseguridad Nivel 3

Salud Animal

Salud Pública

Seguridad Alimentaria



Medio Ambiente

Universidad Complutense

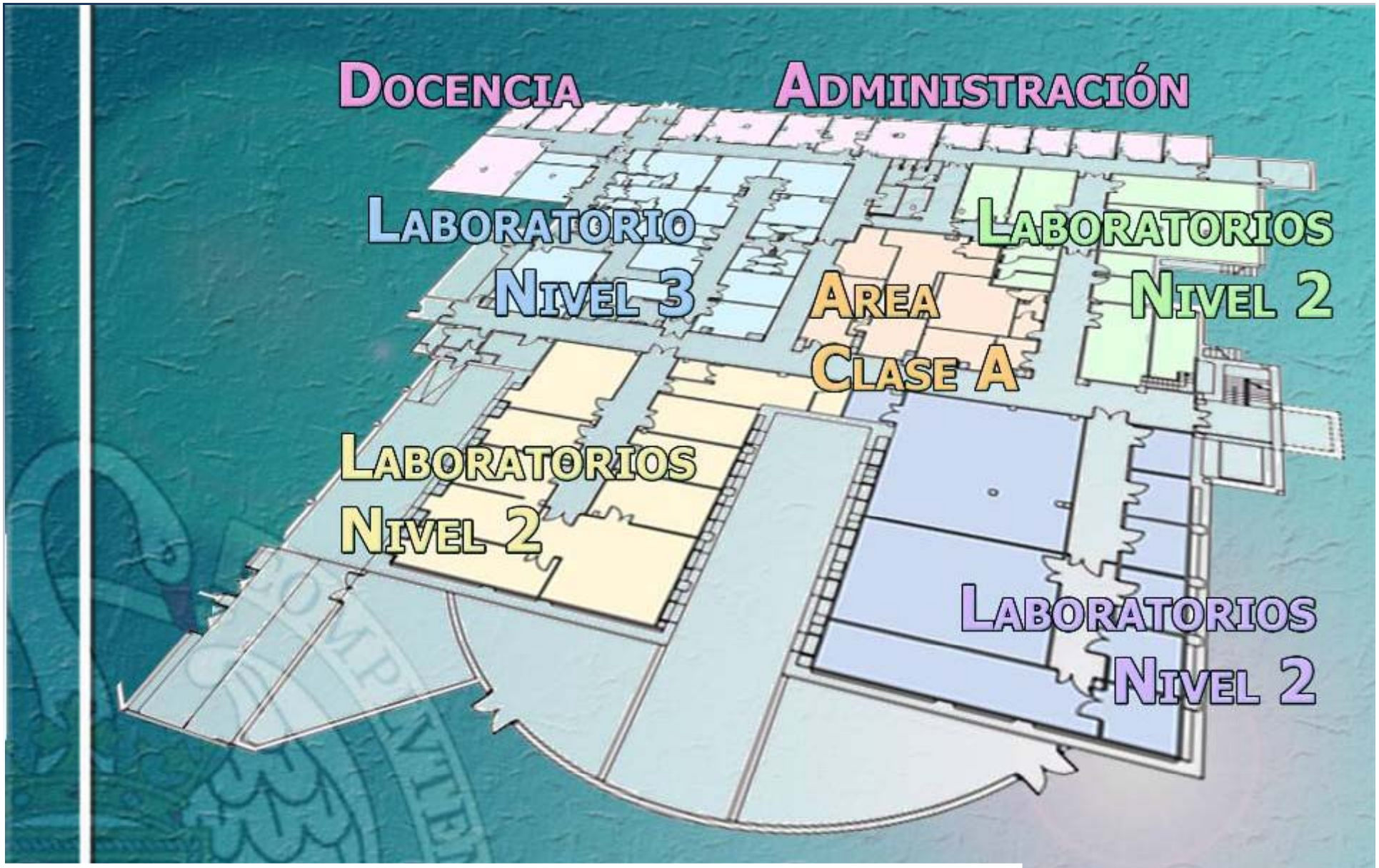
Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria
VISAVET

Centro de
Vigilancia Sanitaria Veterinaria
Universidad Complutense

Avda. Puerta de Hierro s/n.
28040 Madrid
Spain
Tel.: 913 944 083
FAX: 913 943 795
visavet@vet.ucm.es
www.vigilanciasanitaria.es

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE OF MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA



INSTALACIONES

www.visavet.com

UNIDADES DE INVESTIGACIÓN

- Micobacterias (MYC)
- Laboratorio Comunitario de Referencia de la Tuberculosis Bovina (CRL Bovine Tuberculosis)
- Servicio de Vigilancia de Zoonosis de Transmisión Alimentaria y Resistencia a Antimicrobianos (ZTA)
- Servicio de Inmunología Viral y Medicina Preventiva (SUAT)
- Servicio de Diagnóstico, Identificación y Caracterización Molecular (DICM)
- Servicio de Zoonosis Emergentes de Baja Prevalencia y Agresivos Biológicos (NED)
- Servicio de VISAVET Asistencia

Paratuberculosis (Enfermedad de Johne)

- Enfermedad crónica que da lugar a grandes pérdidas económicas directas (250 millones de dólares/año EEUU).
- Importancia en Salud Pública? (¿agente zoonótico? enfermedad de Crohn)
- Interferencia en el diagnóstico de la tuberculosis

Complejo *Mycobacterium tuberculosis*:

- *M. bovis*
- *M. caprae*
- *M. tuberculosis*
- *M. africanum*
- *M. pinnipedii*
- *M. microti*
- *M. bovis* BCG

Etiología

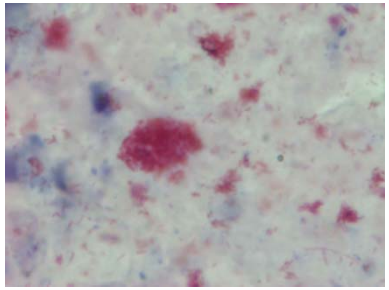
Complejo *Mycobacterium avium* (MAC):

- *M. a. paratuberculosis* → **Paratuberculosis**
- *M. a. avium*
- *M. a. silvaticum*
- *M. a. hominissuis*
- *M. intracellulare*

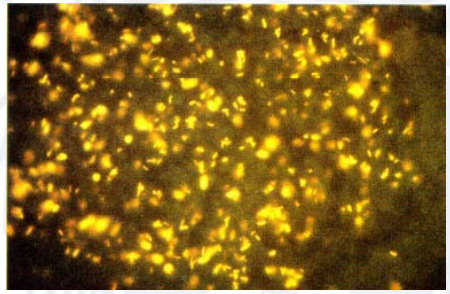
Características generales

- Bacilos filamentosos rectos
- Inmóviles
- No esporulados
- Lípidos complejos en su pared celular
- Crecimiento lento
- Gram positivos - tinciones específicas:

Ziehl-Neelsen



Fluorescencia



- Aerobios estrictos
- Amplio rango de requerimientos nutritivos: suero animal, albúmina de huevo, glicerina
- Pared celular compleja:

  Glicolípidos y lipopolisacáridos
  Ácido micólicos
  Polímeros de arabinosa y galactosa
  Glicopéptido o peptidoglicano

- Ácido-alcohol resistentes
- Resistentes a condiciones adversas: desinfectantes, desecación

M.a.p en conejos (*Orytolagus cuniculus*)

- Primera descripción en 1997 en Escocia.

1. Transmisión fecal oral:

- Contaminación de pastos con heces de conejo.
- Comportamiento de las vacas: 90% contacto con zonas contaminadas.

2. Infección de vacas con aislados de *M.a.p* de conejos:

- Lesiones histológicas y cultivo microbiológico.
- Mismos resultados que vacas infectadas con aislado de *M.a.p* bovino.

3. Estudio epidemiológico en Escocia:

- Relación entre historia de paratuberculosis en ganado vacuno y paratuberculosis en conejos.

Alpaca (*Lama pacos*)
Antílope (*Antelope* sp.)
Arrui sahariano (*Ammotragus lervia*)
Cabra de las rocosas (*Oreamnos americanus*)
Cebú (*Bos indicus*)
Gran Kudú (*Tragelaphus strepsiceros*)
Jimela topi (*Damaliscus lunatus jimela*)
Llama (*Llama llama*)
Muflón (*Ovis musimon*)
Muflón de las Rocosas (*Ovis canadensis*)
Ñu (*Connochaetes albojubatus*)
Yak (*Box grunniens*)

Alce (*Alces alces*)
Ciervo Axis (*Axis axis*)
Ciervo común (*Cervus elaphus*)
Ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*)
Ciervo pudú (*Pudu pudu*)
Ciervo Sika(*Pseudaxis sika*)
Corzo (*Capreolus capreolus*)
Gamo (*Dama dama*)
Reno (*Rangifer tarandus*)

Camello bactriano o (*Camelus bactrianus*)
Dromedario (*Camelus dromedarius*)

Macacos de cola de cerdo (*Macaca arctoides*)
Mandril (*Papio sphinx*)

Armiño (*Mustela erminea*)
Comadreja (*Mustela nivalis*)
Hurón (*Mustela putorious furo*)
Tejón (*Meles meles*)

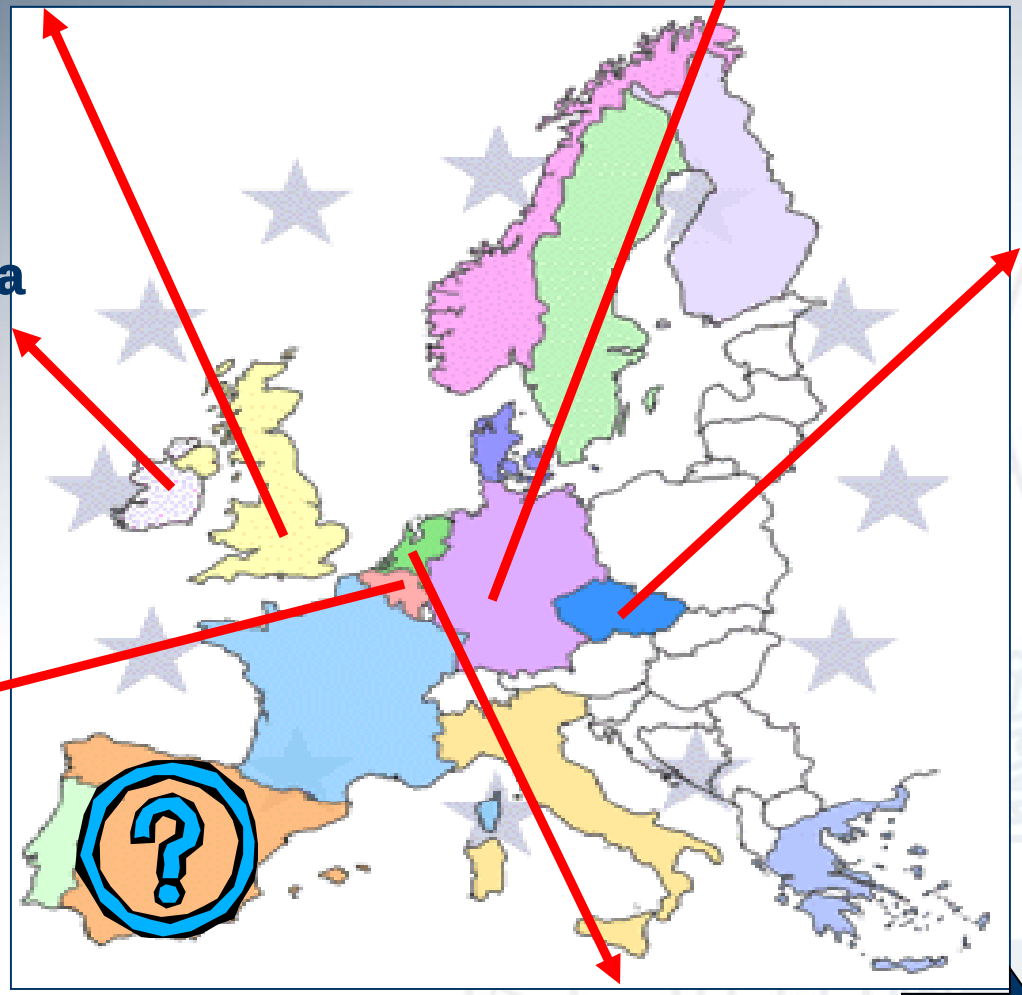
Zorro (*Vulpes vulpes*)

Rata común (*Rattus norvegicus*)
Ratón de campo (*Apodemus sylvaticus*)

Conejo (*Orytolagus cuniculus*)
Liebre (*Lepus europaeus*)

Cuervo (*Corvus corone*)
Graja (*Corvus frugilegus*)
Grajilla (*Corvus monedula*)

Estudios Previos:



U.K → Zorro, Conejo, Armiño, Ciervo

Alemania → Ciervo, Cabra, Muflón

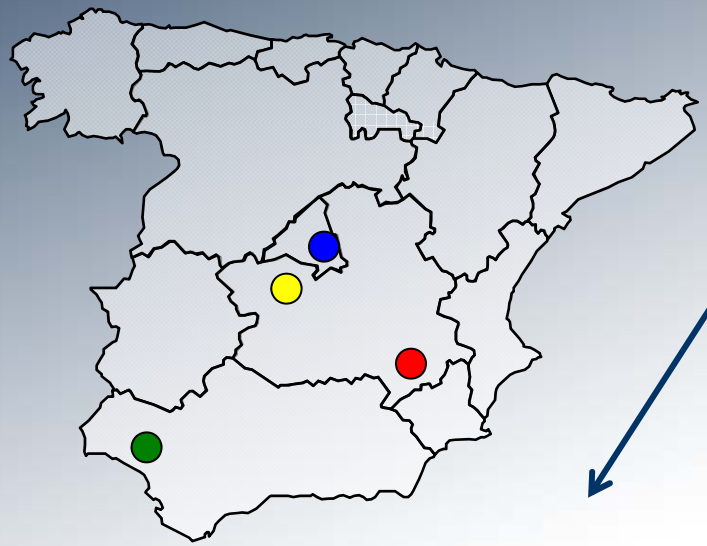
Irlanda → Ciervo

Rep. Checa → Ciervo, Antílope, Cabra, Muflón, Gamo, Jabalí

Bélgica → Pudu

Holanda → Asno Enano

Zonas de muestreo de fauna salvaje para recogida de muestras de paratuberculosis



1. Albacete
2. Andalucía
3. Madrid
4. Toledo

Albacete

Especie animal	Número animales
Perdiz *(Alectoris rufa)*	10
Urraca *(Pica pica)*	7
Abublilla *(Upupa epops)*	3
Paloma torcaz *(Columba palumbus)*	2
Pato *(Anas platyrhynchos)*	2
Zorzal *(Turdus spp.)*	1
Liebre *(Lepus granatensis)*	10
Conejo *(Oryctolagus cuniculus)*	2
Ratón *(Mus domesticus)*	2
Ciervo (*Cervus elaphus)*	6
Jabalí (*Sus scrofa)*	8

Andalucía

Especie animal	Número animales
Ciervo (*Cervus elaphus)*	101
Gamo (*Dama dama)*	94
Jabalí (*Sus scrofa)*	65
Mangosta (*Herpestes ichneumon*)	1
Zorro (*Vulpes vulpes)*	2
Tejón (*Meles meles)*	1

Madrid

Especie animal	Número animales
Arrendajo *(Garrulus glandarius)*	1
Gallina *(Gallus domesticus)*	4
Gorrión *(Passer domesticus)*	2
Lavandera *(Motacilla blanca)*	1
Pato *(Anas platyrhynchos)*	1
Tórtola *(Streptopelia turtur)*	3
Picogordo *(Coccothraustes coccothraustes)*	1
Urraca *(Pica pica)*	38
Paloma (*columba livia*)	6

Toledo

Especie animal	Número animales
Rata (*Rattus norvegicus*)	2
Tórtola (*Streptopelia turtur*)	2
Gorrión (*Passer domesticus*)	1
Ratón (*Mus domesticus*)	1
Gato (*Catus felis*)	1

Número total: 375
POSITIVOS: 1 gamo y 1 jabalí

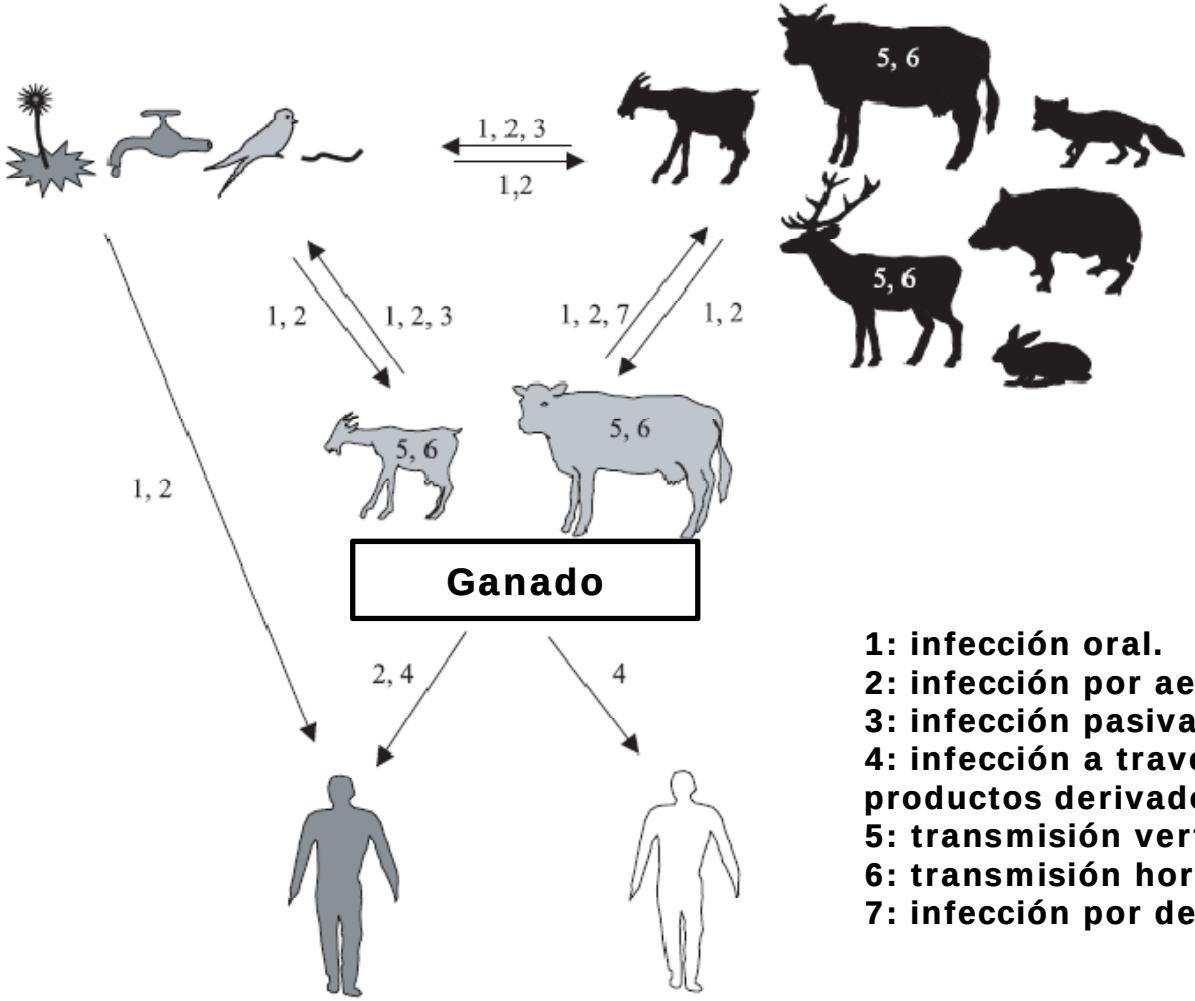
***M. avium* subsp. *paratuberculosis* está presente en las poblaciones de jabalíes y gamos en España, aunque con una baja prevalencia**

Conclusiones

- **Bajas prevalencias en la mayoría de especies de vida salvaje estudiadas (excepción: conejos en Escocia)**
- **Acción patógena en rumiantes de vida salvaje**
- **Importancia relativa como fuente de infección:**
  - **Granjas recientemente saneadas**
  - **Granjas libres próximas a explotaciones infectadas**

Reservorios ambientales: Plantas, agua, aves, insectos…

Animales salvajes



Ganado

1: infección oral.
2: infección por aerosoles.
3: infección pasiva.
4: infección a través de productos derivados.
5: transmisión vertical.
6: transmisión horizontal.
7: infección por depredación

Inmunocomprometido - Inmunocompetente Hombre

Adaptado de Biet *et al*. 2005

Salud Pública

Lancet 2004: 364: 1039-44

Culture of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from the blood of patients with Crohn's disease

Saleh A Naser, George Ghobrial, Claudia Romero, John F Valentine

Summary

Background Crohn's disease, a form of inflammatory bowel disease, resembles some aspects of tuberculosis, leprosy, and paratuberculosis. The role of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) in Crohn's disease is controversial.

Methods We tested for MAP by PCR and culture in buffy coat preparations from 28 individuals with Crohn's disease, nine with ulcerative colitis, and 15 without inflammatory bowel disease.

Findings MAP DNA in uncultured buffy coats was identified by PCR in 13 (46%) individuals with Crohn's disease, four (45%) with ulcerative colitis, and three (20%) without inflammatory bowel disease. Viable MAP was cultured from the blood of 14 (50%) patients with Crohn's disease, two (22%) with ulcerative colitis, and none of the individuals without inflammatory bowel disease. Current use of immunosuppressive medication did not correlate with a positive MAP culture. Sequencing of PCR products from MAP cultures confirmed the presence of the MAP-specific IS900 fragment. Among 11 MAP isolates assessed, we identified nine strains that were not identical.

Interpretation We detected viable MAP in peripheral blood in a higher proportion of individuals with Crohn's disease than in controls. These data contribute to the evidence that MAP might be a cause of Crohn's disease.

Introduction

In 1913, Dalziel[1] reported the histopathological and clinical similarities of animal paratuberculosis, intestinal tuberculosis, and human chronic granulomatous enteritis that later became known as Crohn's disease.[2] Paratuberculosis, also known as Johne's disease, is a chronic enteritis that affects cattle and other species and is caused by *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP).[3] Because of the similarities with Johne's disease, a mycobacterial cause of Crohn's disease has been sought for many years.[4] Early studies did not detect MAP in tissues from patients with Crohn's disease by conventional staining and culture techniques. Chiodini and colleagues[5] isolated cell-wall-deficient cells, also known as spheroplasts, from tissue samples from patients with Crohn's disease after several months of incubation. The spheroplasts were subcultured and later developed a cell wall that stained positively with Ziehl-Neelsen staining; they were classified as a *Mycobacterium*-like organism. These isolates were confirmed as MAP by DNA hybridisation,[6] leading to renewed interest in a mycobacterial origin of Crohn's disease.[7,8] The unusual nature of cell-wall-

two of four controls; the two controls with MAP were patients with ulcerative colitis. We cultured MAP in Mycobacterial Growth Indicator Tube (MGIT, Becton Dickinson, Franklin Lake, NJ, USA) culture media after 10–12 weeks of incubation from seven of eight tissue samples from patients with Crohn's disease and none from three controls.[12] By use of the same protocol, MAP was isolated from breastmilk samples from two lactating mothers with Crohn's disease and not from five without the disease.[14] During the early weeks of culture in MGIT, MAP isolated from human milk contained cell-wall-deficient cells, which later reverted to bacillary form and stained positively with Ziehl-Neelsen staining.[15] The association between *CARD15* (formerly *NOD2*) mutations and risk of Crohn's disease provides evidence for a pathogen-host interaction.[16–17] Most recently, viable MAP from MGIT culture of biopsy samples has been reported in 92% of patients with Crohn's disease and 26% of controls.[18] In this study, we investigated the presence of viable MAP in the peripheral blood of patients with Crohn's disease.

Methods

INFLAMACIÓN GASTROINTESTINAL

El Mundo

La enfermedad de Crohn puede tener un origen bacteriano

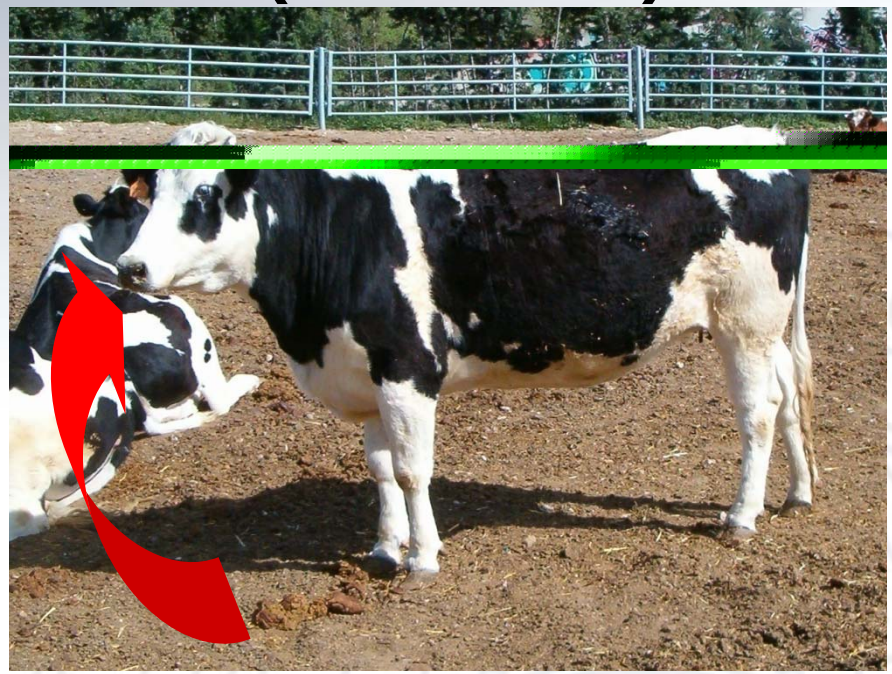
- **Enfermedad de Johne – enfermedad de Crohn.**
- **Características clínicas e histopatológicas.**
- **Aislamiento de *M.a.paratuberculosis* mediante cultivo en pacientes de Crohn.**
- **Posible vehículo de transmisión: leche y productos lácteos.**
- **Estudios de termorresistencia y aislamiento de *M.a.paratuberculosis* de leche.**

No existen evidencias suficientes para confirmar o negar que *M.a.paratuberculosis* es el agente etiológico de la enfermedad de Crohn en el hombre.

Infección de los animales

Tuberculosis (aerógena)

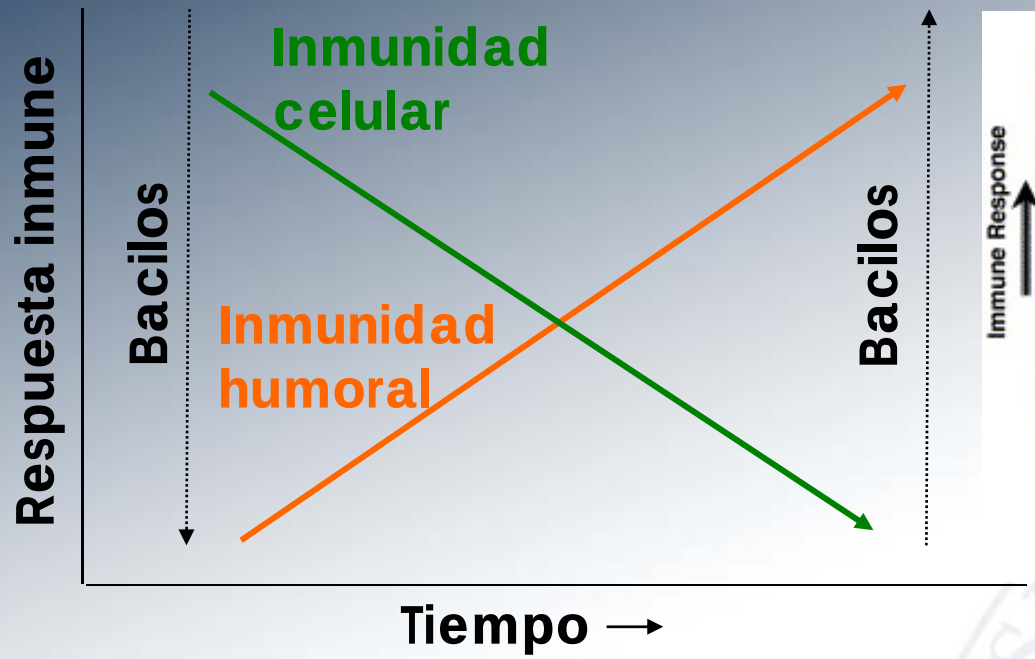
Paratuberculosis (fecal-oral)

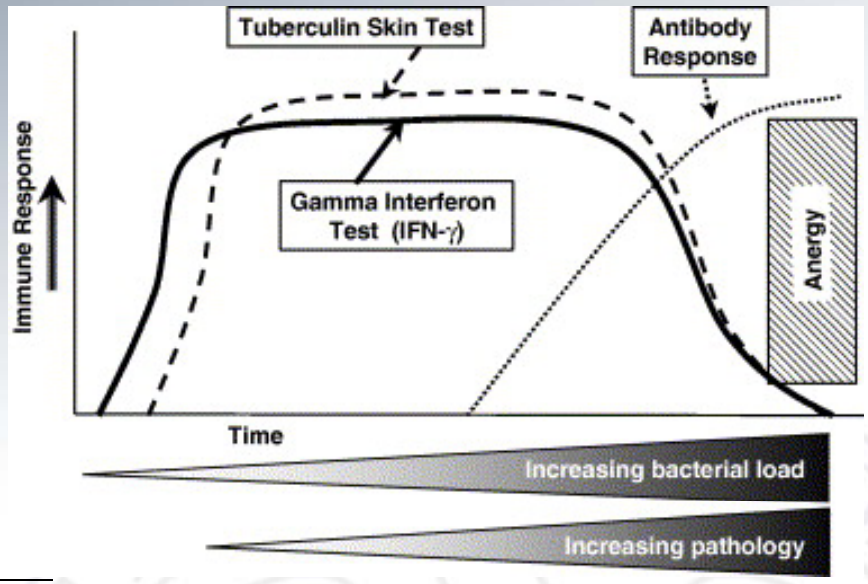


Otras: calostro-leche, útero, semen, ambiente

Lesiones Paratuberculosis

2) Diagnóstico inmunológico





- Inmunidad de base celular
  - Intradermotuberculinización (IDTB): simple / comparada
  - Técnica de gamma-interferon
- Inmunidad de base humoral: Detección de anticuerpos

3) Diagnóstico *postmortem*

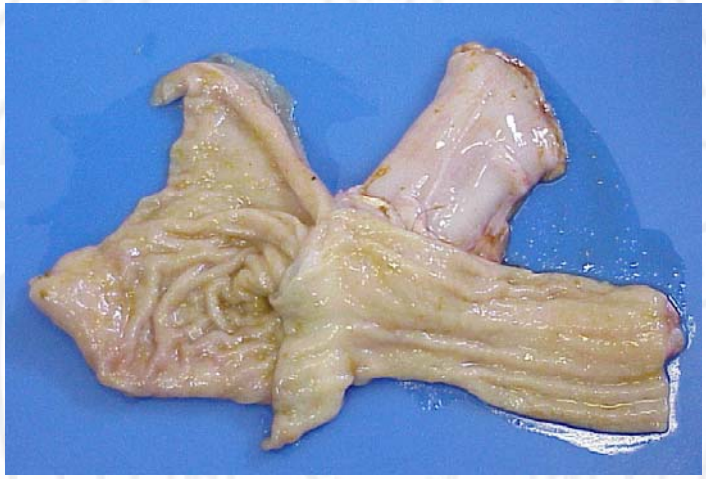
- Lesiones macroscópicas
- Lesiones anatomopatológicas (lesión granulomatosa, localización, intensidad y distribución, tipo celular, presencia bacterias):
  - Lesiones focales
  - Lesiones multifocales
  - Lesiones multibacilares difusas
  - Lesiones multifocales
  - Lesiones linfocíticas difusas
  - Lesiones intermedias difusas

4) Diagnóstico microbiológico

Toma de muestras

· **Tuberculosis**: ln. retrofaríngeo, mediastínico, bronquial y/o cervical superficial.

· **Paratuberculosis**: válvula ileocecal, intestino, ln. ileocecal y/o mesentéricos.

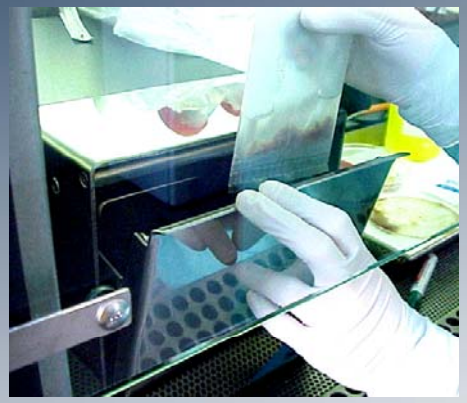


Conservación de las muestras

4ºC, 24-36 horas

-20ºC, >36 horas

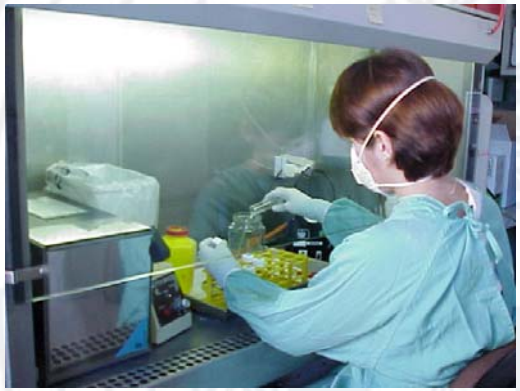
- **Homogeneización de la muestra**

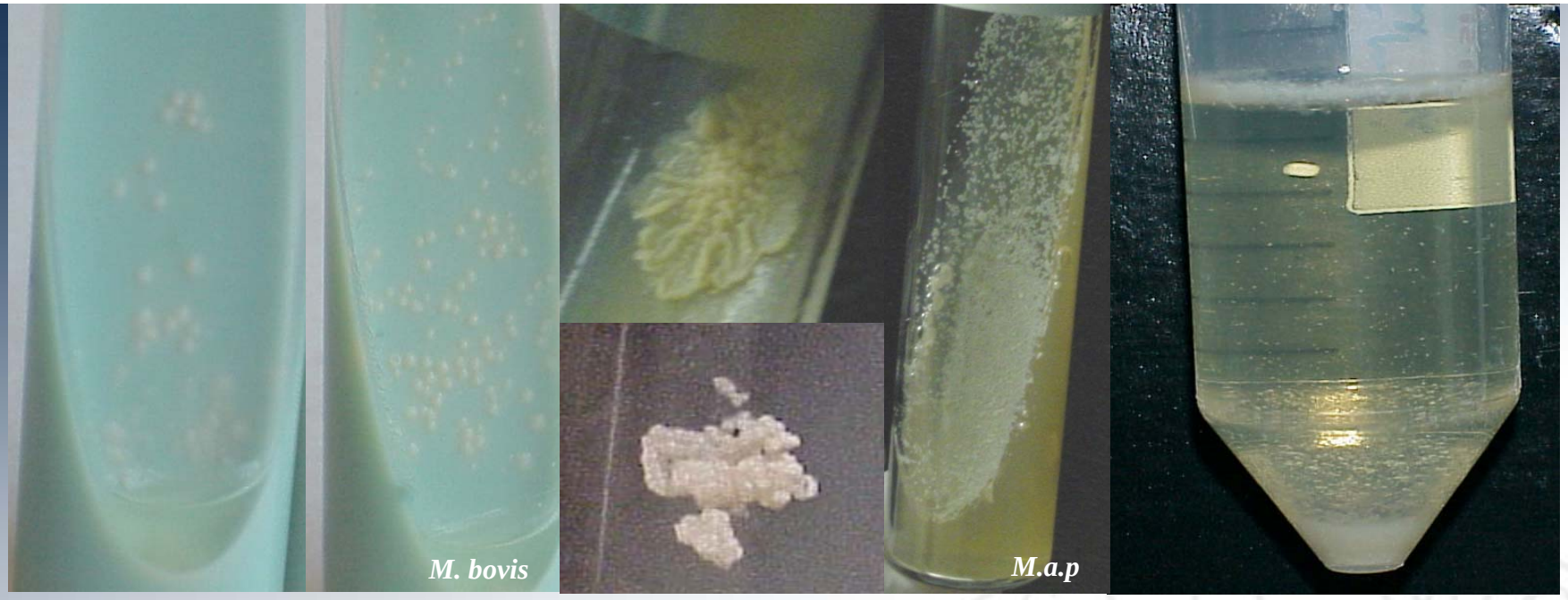


- **Descontaminación HPC**
  TBC 0,75% 1h / PTB 1,5% 18h

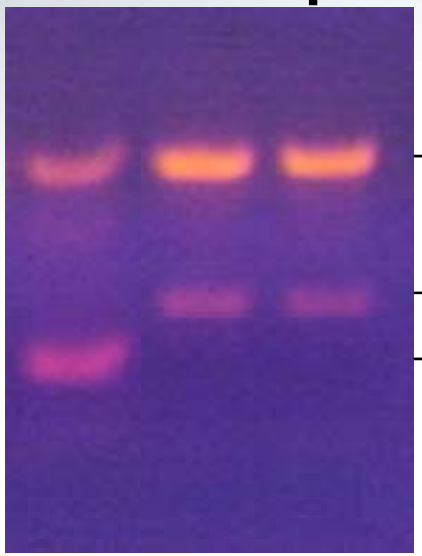
- **Medios de cultivo:**
  TBC: Coletsos, Löwenstein-Jensen
  PTB: HEYM, Middlebrook 7H11, LJ

- **Incubación:**
  TBC: 3 meses
  PTB: 6 meses





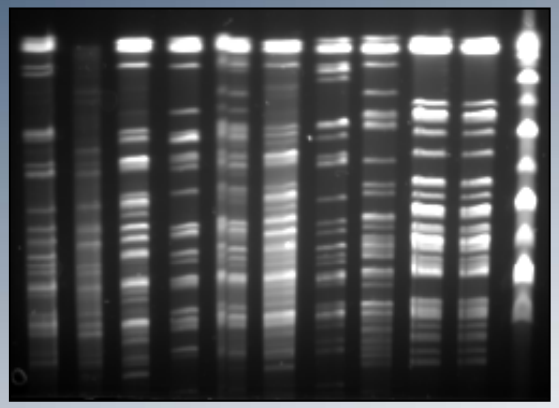
PCR Múltiple

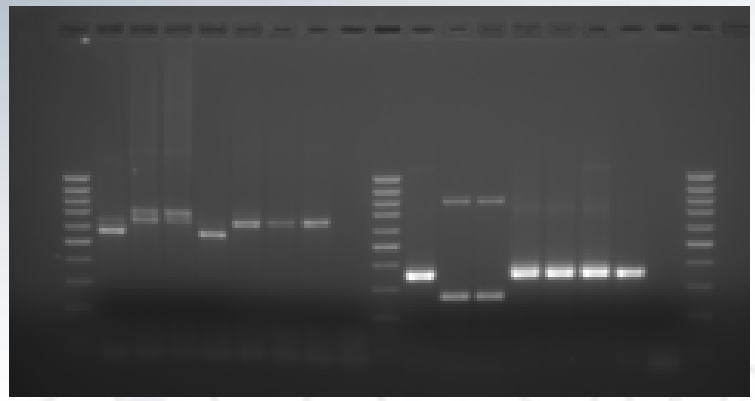


Identificación por PCR

- Género *Mycobacterium*
- Complejo *Mycobacterium tuberculosis*
- *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

PTB: Caracterización molecular de *M.a.p*

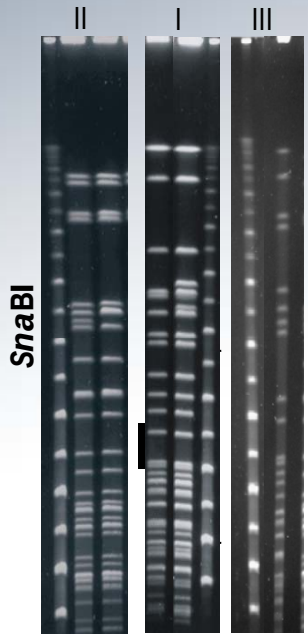


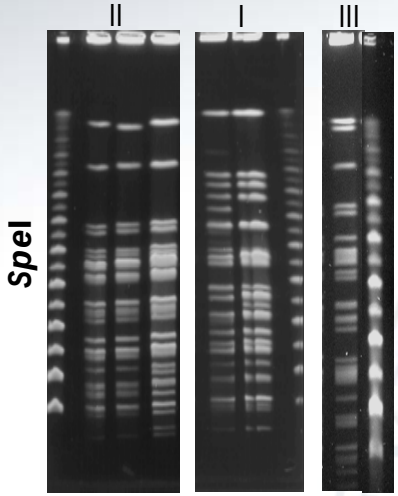


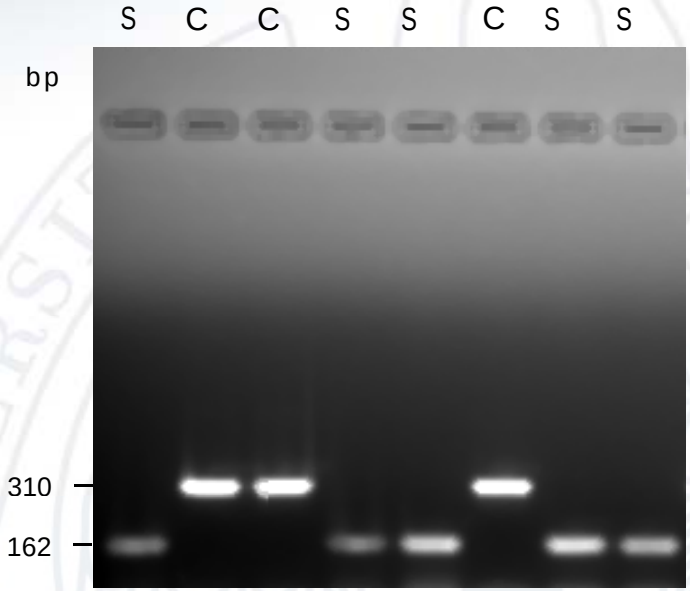
- **Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)**
- **Restriction Length Fragment Polymorphisms (RFLP)**
- **Variable Number Tandem Repeat (VNTRs)**

Clasificación de cepas de *M.a.paratuberculosis*

IS*900*-RFLP	PFGE	IS*1311*PCR-REA	DMC-PCR	RDA-PCR
Bovino	Tipo II	Bovino, Visón	Bovino	Tipo II
Ovino	Tipo I	Ovino	Ovino	Tipo I
Intermedio	Tipo III			







¿Qué cepas de *M.a.p* tenemos en España?

158 aislados de *M.a.p*

- **74 de vacas**
  - **45 Tipo II (60,8%)**
  - **29 Tipo I/III (39,2%)**
- **14 explotaciones**
  - **13 Tipo II (92,9%)**
  - **2 Tipo I/III (7,1%)**
    1 infección mixta
- **81 de cabras**
  - **61 Tipo II (75,3%)**
  - **20 Tipo I/III (24,7%)**
- **23 explotaciones**
  - **14 Tipo II (60,9%)**
  - **9 Tipo I/III (39,1%)**

El contacto directo o indirecto con ovejas no es el único factor para identificar vacas o cabras infectadas con cepas de Tipo I/III

158 aislados de *M.a.p*

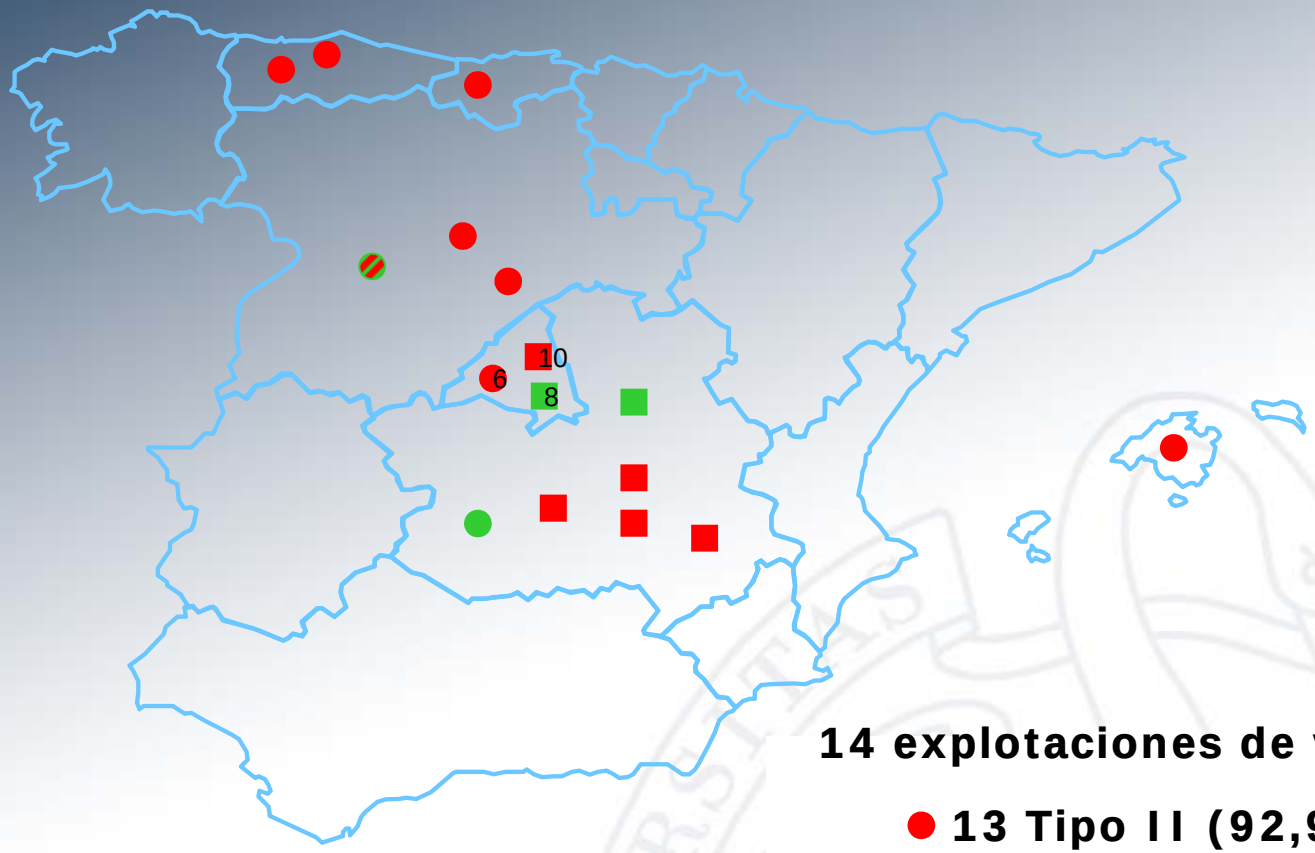
74 de vacas
- **45 Tipo II (60,8%)**
- **29 Tipo I/III (39,2%)**

14 explotaciones
- **13 Tipo II (92,9%)**
- **2 Tipo I/III (7,1%)** →
  1 infección mixta

81 de cabras
- **61 Tipo II (75,3%)**
- **20 Tipo I/III (24,7%)**

23 explotaciones
- **14 Tipo II (60,9%)** →
- **9 Tipo I/III (39,1%)**

Tipo I/III ➡ Razas autóctonas ➡



Distribución geográfica *M.a.p*

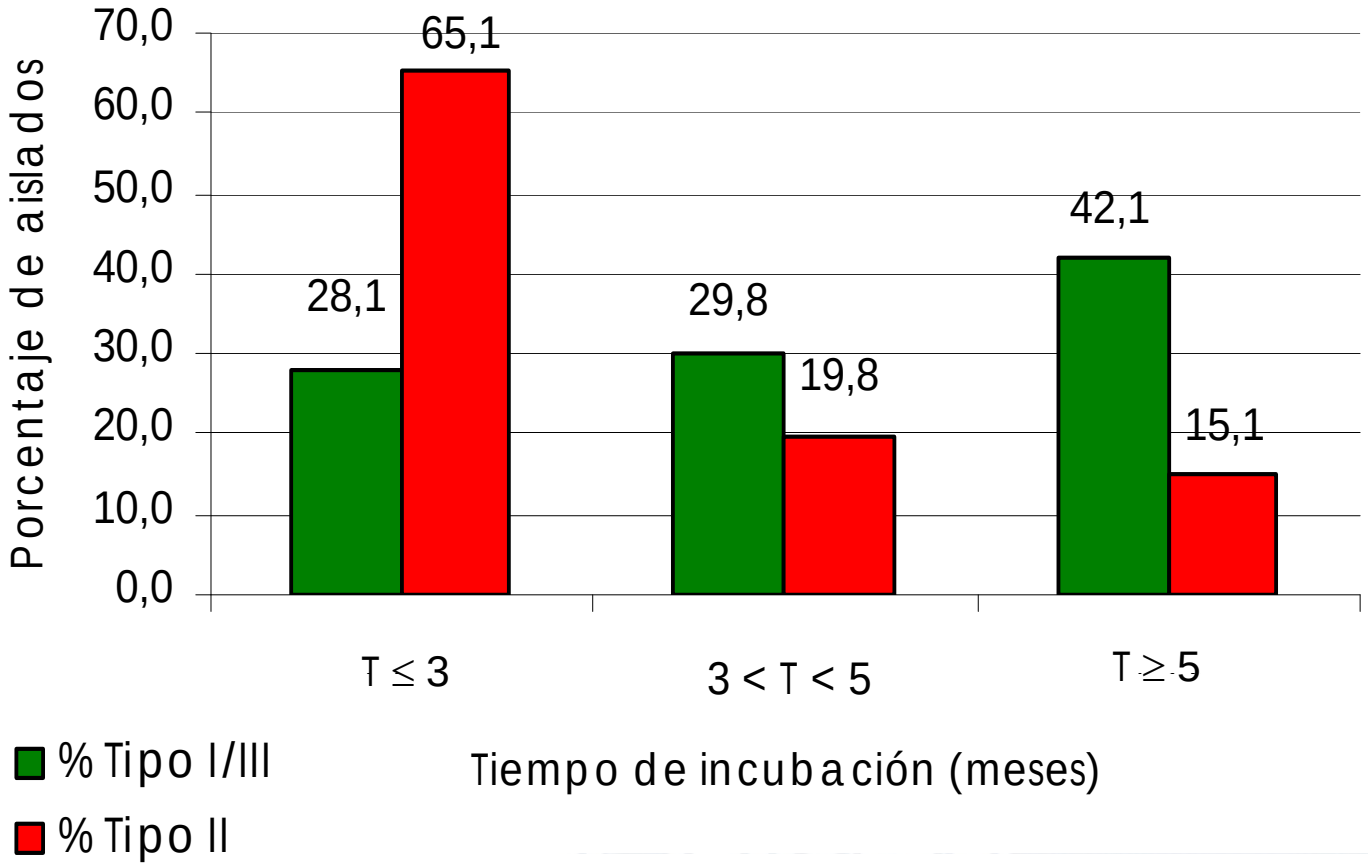
14 explotaciones de vacas

- 13 Tipo II (92,9%)
- 2 Tipo I/III (7,1%)

23 explotaciones de cabras

- 14 Tipo II (60,9%)
- 9 Types I/III (39,1%)

Tiempo de incubación



Tipo I / III: más difíciles de aislar mediante cultivo microbiológico medios específicos (Löwenstein-Jensen y Middlebrook)

- **Prevalencia elevada de cepas de tipo I/III.**

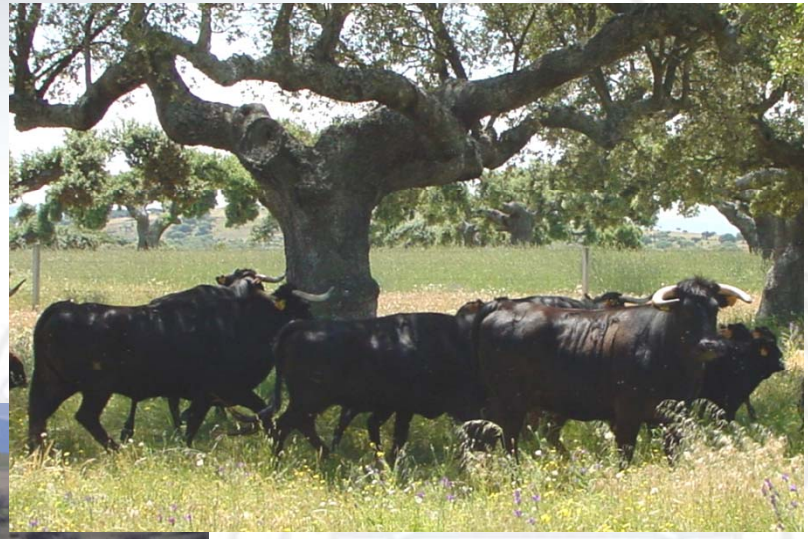
- **Importancia de la caracterización de los aislados de *M.a.p* como rutina para estudios epidemiológicos.**

- **Las necesidades para el aislamiento de *M.a.p* dependen del tipo de cepa y no de la especie animal.**

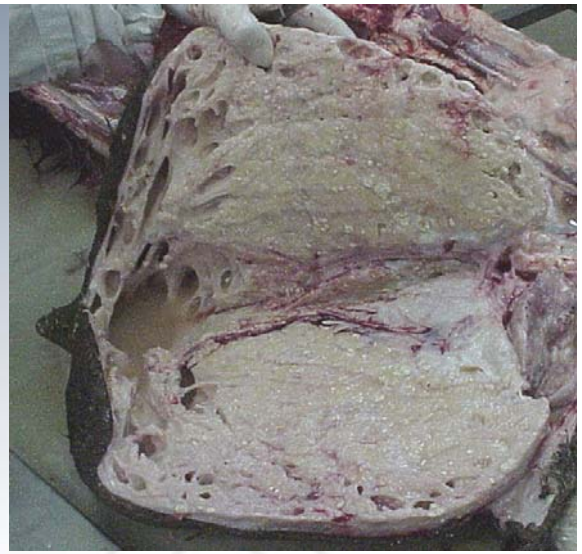
- **Medio de cultivo específico para cepas de Tipo I/II (LJ & M) y Tipo II (HEYM).**

Importancia de la aplicación de programas de control y erradicación de la paratuberculosis

Internacional – Nacional – Regional - Explotación
Salud Pública - Sanidad Animal – Bienestar Animal



Salud Pública
M. bovis – M. caprae



TUBERCULOSIS:

Zoonosis

Transmisión animales ↔ hombre:

- <u>Contacto directo</u>: veterinarios

- <u>Productos alimentarios</u>: quesos artesanales?

PARATUBERCULOSIS:

Zoonosis? Enfermedad de Crohn?

Transmisión animales ↔ hombre:

- <u>Leche y productos lácteos.</u>

Sanidad Animal
Bienestar Animal

- Pérdida progresiva de peso
- Descenso en la producción láctea
- Pérdidas económicas
- Disminución de la fertilidad
- Muerte de los animales (sacrificio temprano)
- Mayor susceptibilidad a otras enfermedades
- Disminución del valor de los animales en matadero
- Gastos veterinarios
- Riesgo para otros animales domésticos:
  - Animales de la misma explotación
  - Animales de otras explotaciones (transporte de animales, venta)
  - Campañas de erradicación de la tuberculosis bovina
- Pérdida potencial genético
- Alta tasa de reposición

Factores a tener en cuenta antes de la aplicación de un programa de control:

- Vacunación de paratuberculosis (cabras/ovejas).

- Técnicas sensibles de diagnóstico para detectar todos los animales infectados.

- Animales salvajes.

- Falta de explotaciones de suficiente calidad genética para la reposición.

- Vías de transmisión de la enfermedad y etapa más susceptible.

- Interferencia diagnóstica por otras micobacterias: infecciones mixtas.

- Características de la explotación: superficie.

- Colaboración activa del ganadero/trabajadores.

- Estrategia a largo plazo.

Factores de riesgo

***M.a.p* en heces / vía fecal-oral / animales jóvenes**

1. **Parideras (contacto estrecho con madres y otras vacas)**
2. **Uso de leche y calostro**
3. **Criar terneros con animales en fases tardías de infección**
4. **Contacto con heces de animales adultos**

+

1. **Dificultad de saber cuando ocurre la infección**
2. **Largo periodo de incubación**
3. **Falta de técnicas diagnósticas adecuadas**

Relationships between the presence of Johne's disease and farm and management factors in dairy cattle in England". Cetinkaya et al. 1997.

- **Cuestionario a 3772 explotaciones lecheras.**

- **Estudio de los siguientes factores:**
  - **Manejo durante el periodo de cría**
  - **Manejo de los terneros**
  - **Raza, tamaño, localización, otras especies**

CRÍA

2.2.2.1. Management at calving.

Season of birth: the effect of different seasons in which birth took place in the presence of the disease was investigated. Five categories were included — spring, summer, autumn, winter and all-year round.

Calving place when the cows were at grass: farmers were asked where calving took place when the cows were at grass and these included three categories — outside, inside in groups and inside in individual calving pens.

Calving place when the cows were housed: farmers were also asked about the calving place when the cows were housed and two categories were used — in groups or individual calving pens.

Length of winter housing: this variable was categorised into (a) farms where cows were never housed in winter, (b) those that housed for up to 6 months and (c) those that housed for more than 6 months.

Type of winter housing: farms were divided into three categories according to the type of housing. These were cubicles, loose yards or other types of housing systems (e.g., shippon).

Period that calves stayed with dams: this variable was divided into three categories — the first 10 days of life was taken as the critical time (0, 1–10 days and more than 10 days).

Period that calves were fed colostrum or cows milk: this was also categorised into three groups, using the first 10 days as the critical period as described above.

Pooled milk: this was included as a binary variable according to whether or not calves were fed pooled milk.

TERNEROS

2.2.2.2. Management of calves.

Period that calves stayed in individual pens: farms were categorised into three groups — those that never kept calves in individual pens, and those that kept calves in individual pens for the first 30 days or for more than 30 days.

Calf groupings: farmers were asked whether they grouped calves according to age, sex or size, when they first mixed them together. Where size was the criterion, the number of animals in each group was requested and farms were categorised into those that kept 10 or less calves and more than 10 calves in these groups.

Period that calves stayed in the calf groups: this variable was divided into three categories according to whether calves were never kept in groups, kept in groups for the first month or for longer than the first month.

Age of mixing heifer calves together: this variable was also divided into three categories according to whether the calves were never mixed, mixed during the first month or after the first month.

The use of milk replacer: here, the first three months of life was considered to be the critical period and the variable was divided into three categories — farms that never used milk replacer, farms that used milk replacer in the first 12 weeks and those that used it for more than 12 weeks.

Age of offering hay: this variable was categorised into (a) farms that never fed hay, (b) those that fed hay within the 10 days of life and (c) those that fed hay from the 10th day of life.

Age of offering concentrates: the same criterion as the one for hay was used for this variable.

Type of concentrate feeds: farms were categorized into five groups according to the type of concentrate feeds they used. The types of concentrates included here were home mix ration, purchased pellets, purchased coarse mix, protein supplement and other (e.g., barley).

Bedding type: farms were divided into two categories according to whether they used straw or other bedding (e.g., sawdust) in calf pens.

Frequency of adding fresh bedding: this variable was included as a binary variable according to whether farmers added fresh bedding each week or not.

Pen cleaning: farmers were asked how many times they cleaned the calf pens in a year. This variable was divided into two categories: farms where the pens were cleaned 1–2 times a year and those where the pens were cleaned more than two times a year.

2.2.2.3. Breeding of dairy cattle and other general variables.

Breed: farmers were asked what the predominant breed was. This included cross-breeds, pure breeds and some minor breed types that account for a very small proportion of the National herd (e.g., Red Poll, South Devon). Farms were categorised into those on which the predominant breeds were (a) Friesian or its crosses, (b) Channel Islands (Jersey and Guernsey) or their crosses, or (c) other breeds. Breed was included as a binary variable in the final model (i.e., Channel Islands against all the other breeds).

Source of dairy herd replacements: farms were divided into five groups according to the source of replacements — homebred, purchased from markets, purchased from dealers, purchased privately or other (e.g., herd dispersal sales).

Replacement rate: farms were categorized into those that had a replacement rate of up to 10%, between 11–20% or more than 20%. It was included as a binary variable in the final model (≤ 20 and > 20).

Breeding dairy herd replacements: farms were categorised into those that used artificial insemination (AI) or bulls for breeding replacement dairy cattle and this was included as a binary variable. The breeds of bull was also determined to check their association with disease.

Breeding beef crosses: the same criteria were used as those for dairy replacements.

Herd size: farmers were asked what the total herd size (milking and dry cows and heifers over the age of 2 years) was at the beginning of 1993 and 1994 and at the end of 1994. This variable was divided into three categories: farms with a herd size between 1–50, 51–100 and more than 100 cows.

Region: the sample was stratified into three regions and the differences between them were checked. North (the region with the lowest prevalence) was selected as the reference category (OR = 1.00).

The presence of other species on the farm: four different species were checked for their association with clinical disease in dairy cattle, such as beef cattle, sheep, goats and farmed deer.

Raza: Jersey y Guernsey

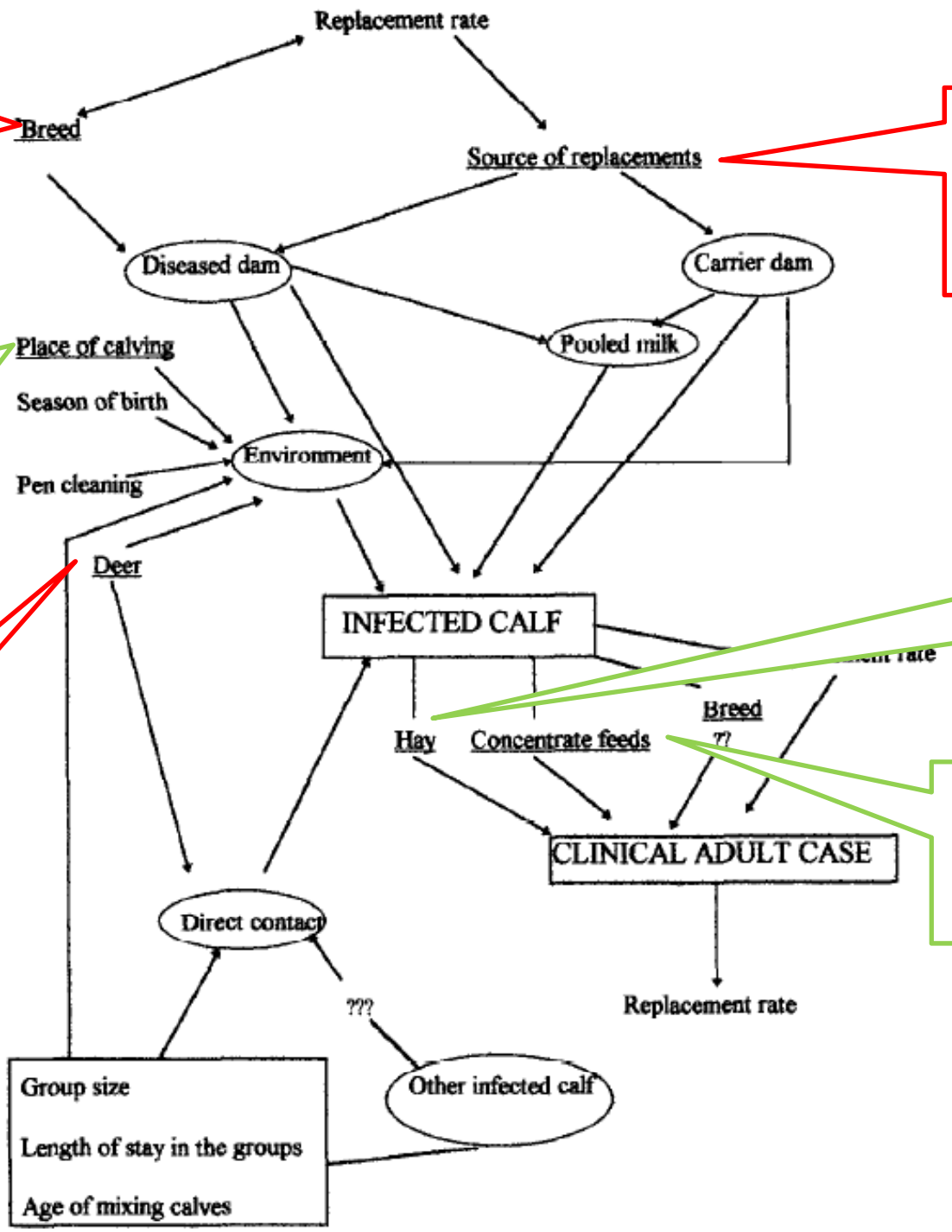
Reposición: privada

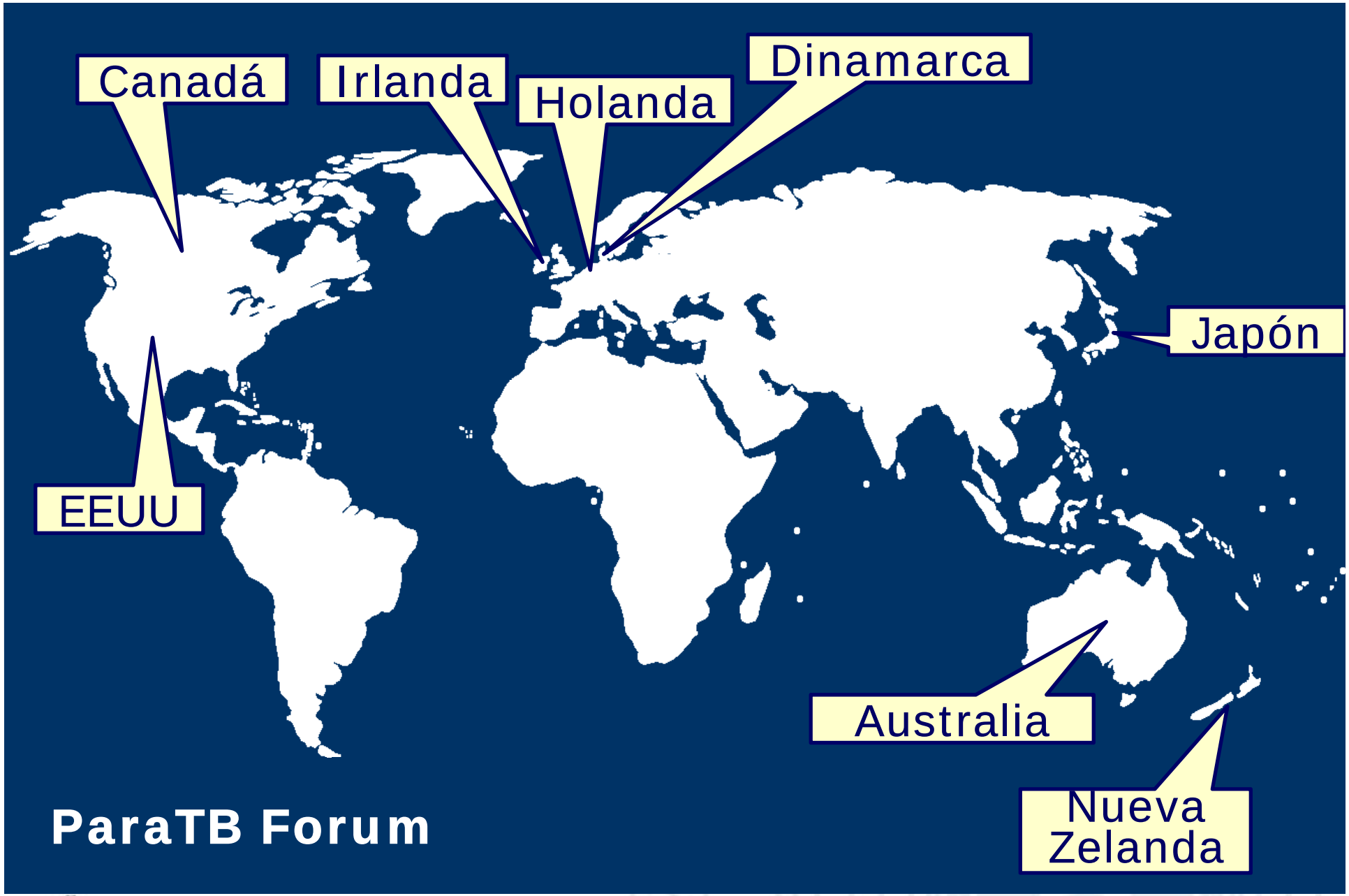
Cría en cubículos cuando vacas extensivo

Heno terneros

Otros animales: ciervo

Comprar concentrado




Canadá
Irlanda
Holanda
Dinamarca
Japón
EEUU
Australia
Nueva Zelanda
ParaTB Forum

Algunos países no instauran programas de control por:

a) **No consideran que la paratuberculosis ocasiona grandes pérdidas.**

b) **Programas de sacrificio no son efectivos y requieren cambios en el manejo que son difíciles de implementar.**

c) **Técnicas diagnósticas efectivas son caras.**

d) **El programa de control no es siempre "cost-effective".**

Programa de control en Dinamarca "Operation Paratuberculosis"

- Antes del programa:
  - · **Cultivo de muestras fecales** y sacrificio de animales eliminadores ("high shedders")
  - · Protección de terneros de heces de todos los animales adultos (**separación de terneros** inmediatamente después del parto)
  - · **Cría en establos especiales** con limpieza después de cada grupo.

- Empezó en 2006.
- **Objetivos:**
  - · Ofrecer a los ganaderos herramientas para controlar las infecciones por *M.a.paratuberculosis*.
  - · Reducir la prevalencia de paratuberculosis a nivel nacional.

- **Estructura del programa**:
  - · Federación Danesa de ganado bovino + cuatro centros de control regionales.
  - · Consejo asesor (veterinarios clínicos, veterinario asesor, asesores científicos, personal de administración, personal de comunicación, personal de laboratorio, representantes Federación y centros regionales): comunicación, información, aplicación de nuevas herramientas.
  - · Los ganaderos cubren los gastos de diagnóstico (7 euros/vaca/año) + tasa anual (35 euros) + asesores.
  - · Programa voluntario (2009: 1255 expl. lecheras).
  - · ELISA en leche (mismo laboratorio y muestra de leche que control de calidad en leche): se reduce coste de muestreo. Muestras codificadas con código de barras.
  - · Después de análisis → datos en base de datos (programa especial) → disponible ganadero y por carta.

- **Resultados de base de datos**:

1. Listados para el manejo de terneros y alimentación, dividiendo los animales en altos o bajos eliminadores (vacas rojas y amarillas).

2. Informe con los 6 últimos resultados de cada vaca.

3. Resumen calculando la pérdida de producción láctea y la estimación de la prevalencia.

4. Lista de sacrificios basada en resultados de pruebas diagnósticas.

-**Patogenia**:

1. Infección con *M.a.p* vía entérica e inicio de la respuesta inmune.

2. Inicialmente, **respuesta inmune de tipo celular** para controlar la infección.

3. A medida que progresa la infección predomina la **respuesta inmune de tipo humoral**. *M.a.p* se multiplica y se considera que la infección ya no está bajo control: eliminación de *M.a.p*, reducción producción láctea, diarrea, emaciación y muerte.

4. El periodo de mayor eliminación de *M.a.p* es a los **2,5-5 años** de edad (aunque ocurre durante toda la infección).

5. Se detecta a lo animales mediante ELISA si se realizan **diagnósticos frecuentes**.

-**Patogenia**:

1. Infección con *M.a.p* vía entérica e inicio de la respuesta inmune.

2. Inicialmente, **respuesta inmune de tipo celular** para

3. a la se bajo cción láctea, diarrea, emaciación y muerte.

4. El periodo de mayor eliminación de *M.a.p* es a los **2,5-5 años** de edad (aunque ocurre durante toda la infección).

5. Se detecta a lo animales mediante ELISA si se realizan **diagnósticos frecuentes**.

ELISA en leche
Cuatro análisis/año

Table 1. Risk levels and categories of cows subsequent to testing by an ELISA§ for detection of antibody in milk samples.

Nielsen *et al.* 2007

Risk level	"Cow type"	"Infection group"	Definition
Low	Green	0	Repeatedly negative (min. two times)
		1	Negative, but only one sample obtained
		3	Negative, but have been positive more than three samples ago (potentially false-positive?)
High	Yellow	5	Interchangeably positive and negative on repeated tests. Last test was negative
	Yellow	2	Last test was positive, with all previous tests being negative
	Red	9	Repeatedly (minimum last two tests) positive.

Tipos de vacas:

- **VERDE: no infectadas.**
- **AMARILLO: controlan la infección. Pueden ser rojas o en fase inicial de no controlar la infección.**
- **ROJO: no controlan la infección.**

El control y la erradicación de *M.a.p* es posible si se reduce la transmisión

- Animales más susceptibles: terneros
- Estudio de los riesgos específicos de cada explotación

-Vacas rojas deberían sacrificarse antes de siguiente paridera y no deberían estar cerca de la zona de cría.

-Vacas amarillas pueden críar pero deben limpiarse las instalaciones. Los terneros de una vaca amarilla deberían separarse inmediatamente.

- Los terneros deberían estar alejados de la zona de cría y no estar en contacto con adultos.

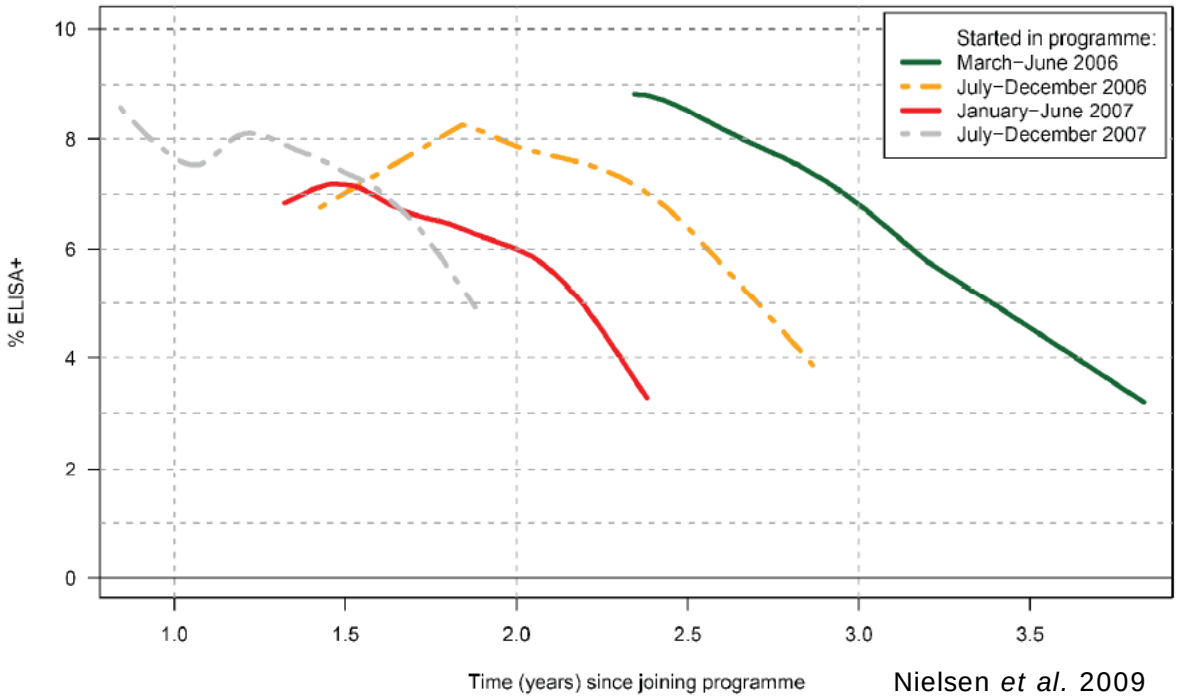
- Leche de una vaca roja o amarilla no debería usarse.

- Sacrificio de vacas rojas: nivel de anticuerpos, calidad leche, diarrea, edad, etc.

Table 2: Danish farmers' ability to implement 5 major recommendations for reduction of within-herd transmission of MAP. Based on data from 1113 questionnaires sent to the 1265 participants in the Danish control programme in December 2008

Management routine	No.	Percent	Recommendation[b]
1. Calvings of Red[a] and Yellow[a] cows separated from calvings of Green cows			
a) No Red calvings; Green separated from Yellow cows	54	5%	R
b) Green[a] separated from Red and Yellow	275	25%	R
c) Green separated from Red, not Yellow	285	26%	(R)
d) Green, Yellow and Red not separated at calving	499	45%	N
2. Removal of calves from high-risk dams within 2 hours after calving			
a) No Red calvings; Removed from Yellow cows	107	10%	R
b) Removed from Red and Yellow	645	58%	R
c) Removed from Red, not Yellow	192	17%	(R)
d) Not removed	169	15%	N
3. Cleaning of calving facilities after calvings			
a) After Red and Yellow cows' calving	285	26%	R
b) After Red, not after Yellow cows' calving	216	19%	(R)
c) Not cleaned after Red or Yellow cows' calving	612	55%	N
4. Use of colostrum			
a) Only from Green cows, not from Red and Yellow	598	54%	R
b) Used from Yellow, not from Red	282	25%	(R)
c) Used from Red, not from Yellow	112	10%	N
d) Used from Red, Yellow and Green	121	11%	N
5. Use of waste milk and milk from cows with high somatic cell count			
a) Only from Green cows, not from Red and Yellow	745	67%	R
b) Used from Yellow, not from Red	219	20%	(R)
c) Used from Red, Yellow and Green	149	13%	N
Total responders	1113		

- Control de *M.a.p* en un rebaño es un proceso lento (6-8 años).
- Motivación muy importante (estimación de las pérdidas de producción, comparación de prevalencias con otras explotaciones).
- Información y comunicación constante (manuales, revistas, portales internet, DVD).
- Formación continua de los asesores incluidos en el programa.



Nielsen *et al.* 2009

Situaciones posibles:

TBC PTB **Explotación con tuberculosis y paratuberculosis.**

PTB **Explotación con paratuberculosis y sin tuberculosis.**

TBC **Explotación con tuberculosis y sin paratuberculosis.**

Explotación sin tuberculosis y sin paratuberculosis.

Casos prácticos:

1. Programa de control de tuberculosis y paratuberculosis en una explotación de ganado de lidia con fauna salvaje.

2. Programa de control de tuberculosis y paratuberculosis en una explotación de cabras.

Diseño del estudio

Estudio epidemiológico de la explotación

↓

Análisis:
- Tuberculina comparada (aviar, bovina)
- Sangre para pruebas inmunológicas (IFN-γ, Serología ptb)

↓

Evaluación de los resultados

Separación del rebaño
- Rebaño A "BUENO"
- Rebaño B "MALO"

Repetir análisis

Control animales salvajes

Sacrificio de animales

↓

Estudio bacteriológico
Epidemiología molecular

↓

Evaluación de los resultados

Separación domésticos y salvajes

Bases del programa de control en cabras

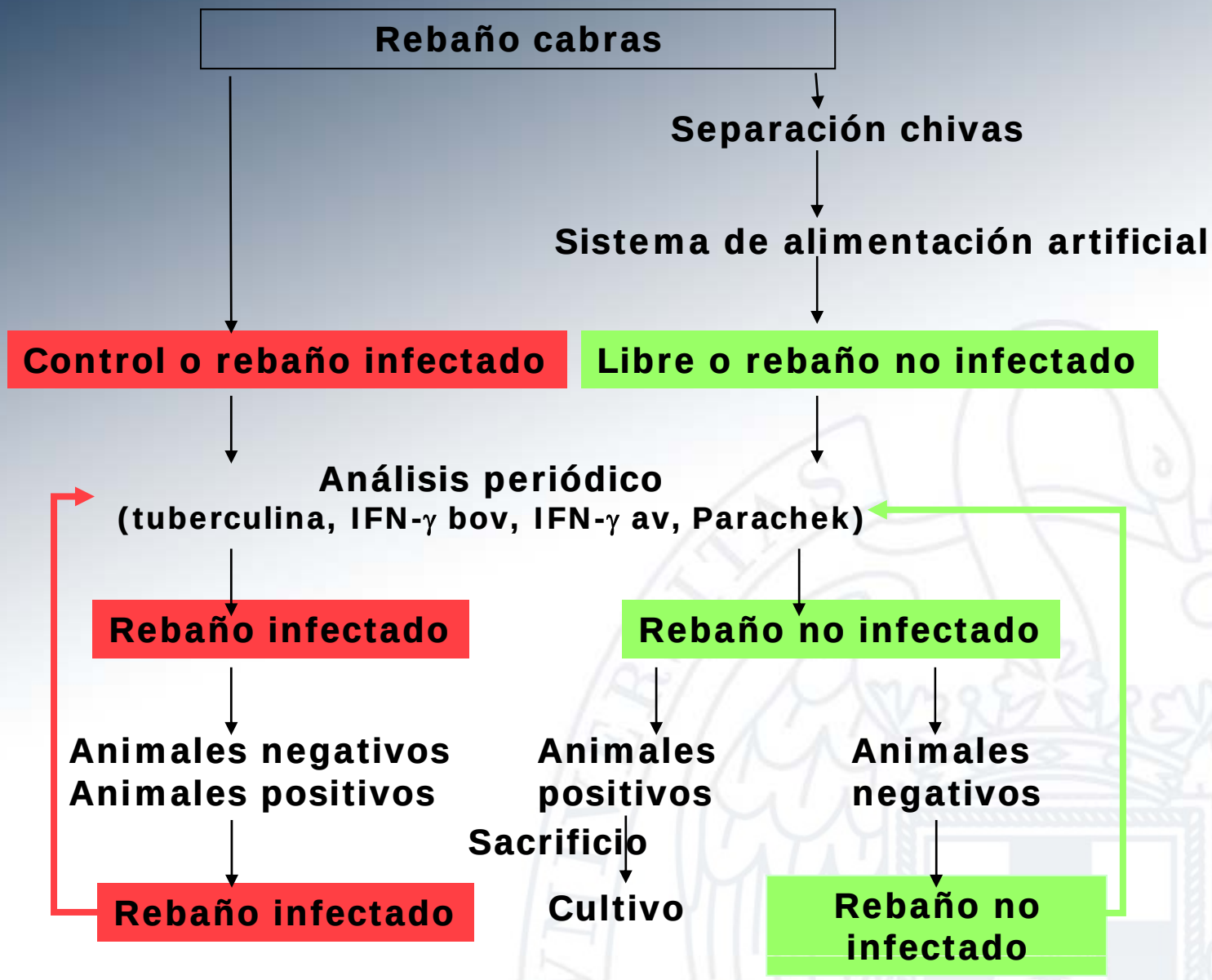
1. Instauración de pautas estrictas de control y manejo.

2. Análisis periódico de todo el rebaño mediante pruebas inmunológicas:
   - Intradermotuberculinización
   - gamma-interferon
   - serología paratuberculosis

3. Separación física de animales positivos y negativos.

4. Estudio microbiológico.

5. Separación de los animales recién nacidos (calostro artificial).


Rebaño cabras
Separación chivas
Sistema de alimentación artificial
Control o rebaño infectado
Libre o rebaño no infectado
Análisis periódico
(tuberculina, IFN-γ bov, IFN-γ av, Parachek)
Rebaño infectado
Rebaño no infectado
Animales negativos
Animales positivos
Animales positivos
Animales negativos
Sacrificio
Cultivo
Rebaño infectado
Rebaño no infectado

Vacunación

Ventajas:

- **Disminución de animales con sintomatología clínica.**

- **Disminución del número de animales con lesiones intestinales o positivos a cultivos bacteriológicos.**

- **Reducción del número de excretores fecales (repercusión en el nivel de contaminación ambiental).**

Inconvenientes:

- **No confiere protección absoluta por lo que no se elimina la infección (desarrollo enfermedad y/o excreción en heces).**

- **Formación de nódulos fibrocaseosos en punto de inoculación.**

- **Inoculación accidental de la vacuna en personas.**

- **Interferencia diagnóstica con las pruebas serológicas de paratuberculosis y pruebas oficiales de tuberculosis → vacuna prohibida en ganado bovino en España.**

MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN