

Diagnóstico de la paratuberculosis bovina: Revisión

Nathalia M. Correa Valencia.
MV, MSc (est),
Nicolás F. Ramírez Vásquez.
MV, MSc, Dr. An Sci,
Jorge A. Fernández Silva.
MV, MSP, Dr. Med Vet.

Epidemiología y Salud Pública Veterinaria, Centauro, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia
jorge.fernandez@udea.edu.co



Palabras claves: *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, *paratuberculosis*, pruebas diagnósticas.

Resumen

La paratuberculosis (PTB) o enfermedad de Johne (EJ) es una enfermedad infecciosa causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), el cual afecta rumiantes domésticos y salvajes, además de otras especies. Se caracteriza por diarrea y caquexia progresiva, la cual conduce a la muerte del animal. La PTB es una enfermedad endémica a nivel mundial, con altos niveles de prevalencia, fuerte impacto económico en la producción de carne y leche e importancia en salud pública, debido a su posible asociación con la enfermedad de Crohn. Aunque la prueba de referencia es la identificación de MAP en cultivo bacteriológico, existen diferentes pruebas diagnósticas para detectar animales o hatos infectados. La correcta elección y aplicación de cada una de estas pruebas asegura el éxito del diagnóstico y permite establecer un programa de control. La presente revisión pretende exponer las alternativas diagnósticas disponibles actualmente para la detección del agente y de la enfermedad, definiendo sus características, aplicaciones, ventajas y desventajas.

Abstract

Paratuberculosis (PTB) or Johne's disease (JD) is an infectious disease caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), affecting domestic and wild ruminants and some other species. It is characterized by diarrhea and progressive cachexia, which may cause the death of the animal. The PTB is endemic worldwide, with high prevalence levels, strong economic impact in meat and milk production, and public health relevance because of its possible association with Crohn's disease. Although the current reference diagnostic test is the identification of MAP in the bacterial culture, there are different diagnostic tests to identify infected individuals or herds. The correct choice and application of each of these diagnostic tests will ensure their success and may allow establishing a control program. The aim of the present review is to expound the currently available diagnostic alternatives for the detection of the agent and the disease, describing their characteristics, applications, advantages, and disadvantages.

Key words: diagnostic tests, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, *paratuberculosis*.

Introducción

La paratuberculosis (PTB) o Enfermedad de Johne (EJ), causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), es considerada como uno de los problemas más serios que afectan la población mundial de rumiantes, además de su efecto en la economía global y la controversia que existe alrededor de su efecto patógeno en humanos (Whittington et al., 2011; Chiodini et al., 2012). La EJ se describe como una enfermedad intestinal

crónica, contagiosa y fatal, caracterizada por una enterocolitis granulomatosa crónica con linfadenitis y linfangitis regional (Clarke, 1997). Los signos cardinales de la PTB bovina incluyen pérdida crónica y progresiva de peso, acompañado de diarrea crónica o intermitente refractaria al tratamiento. La enfermedad clínica puede ser precipitada por el parto, la lactancia u otro tipo de estrés (Carvalho et al., 2009). La PTB pertenece a la lista de enfermedades de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), dada su distribución internacional y su potencial zoonótico, lo cual representa no solo riesgo para la salud pública y animal, sino también restricciones comerciales (Nielsen y Toft, 2009; Turenne y Alexander, 2010). Existe evidencia de la presencia de MAP en alimentos de origen animal para consumo humano y en tejidos afectados de pacientes con la Enfermedad de Crohn, confirmando su asociación a la enfermedad, mas no su causalidad (Cirone et al., 2007). Las vacas infectadas con MAP eliminan la micobacteria principalmente en heces, las cuales contaminan directamente la leche y las canales en el pos-sacrificio (Carvalho et al., 2009; Chiodini et al., 2012). En Europa, Estados Unidos y en algunos países de Suramérica se ha demostrado que el 3-5% de las vacas y alrededor del 50% de los hatos lecheros están infectados por MAP (Wells y Wagner, 2000; Paolicchi et al., 2003; Holzmann et al., 2004; Ristow et al., 2007; Fry et al., 2008; Nielsen y Toft, 2009; Fernández-Silva et al., 2012). Estudios en Latinoamérica y el Caribe revelan una prevalencia del 16,9% y del 75,8% en el ganado a nivel animal y hato, respectivamente (Fernández-Silva et al., 2014). En la industria lechera, las pérdidas económicas por PTB no sólo están definidas por los costos de los medicamentos y la atención veterinaria, sino también por las pérdidas en producción de leche, descarte prematuro de animales clínicos o infectados, susceptibilidad a otras enfermedades y a problemas reproductivos, pérdida de peso en ganado joven, aumento de la tasa de reemplazos y el bajo costo de la canal del animal descartado (Nielsen y Toft, 2008; Lombard, 2011; Over et al., 2011). El control de la enfermedad se basa en la detección y remoción de los animales, lo cual está fundamentado en el diagnóstico de los

individuos infectados, afectados y/o eliminadores de MAP. Los métodos disponibles para el diagnóstico incluyen la aplicación de técnicas clínicas, serológicas, microbiológicas y moleculares. La presente revisión pretende exponer las alternativas diagnósticas disponibles actualmente para la detección del agente y de la enfermedad, definiendo sus características, aplicaciones, ventajas y desventajas.

Diagnóstico clínico y hallazgos post-mortem

Los bovinos son más susceptibles a la infección por MAP antes del nacimiento o tempranamente después de nacer (Sweeney et al., 1992; Clarke, 1997). Sin embargo, no se observan signos clínicos antes de los dos años de edad, siendo más frecuentemente observados entre los 2 y 6 años de edad (Blood y Radostis, 1992). Factores como la nutrición deficiente, el estrés de transporte, lactancia, parto e inmunosupresión son detonantes de la fase clínica de la infección (Salem et al., 2013). La fase clínica inicial puede ser imperceptible para el productor, ya que se limita a una pérdida de peso leve, disminución en la producción láctea, con apetito normal. A medida que el microorganismo prolifera en la mucosa intestinal las lesiones se hacen más extensas y se desarrolla el síndrome de mal absorción, durante el cual el animal inicia la diarrea intensa (Dirksen et al., 2005; Tiwari et al., 2006). Varias semanas después del inicio de la diarrea se nota un edema submandibular, en la mayoría de los casos, debido a la pérdida de proteínas desde el torrente sanguíneo hacia el tracto intestinal (Manning y Collins 2001). Más tarde el edema puede desaparecer y la sed se incrementa, como resultado de la pérdida de fluidos por la diarrea. Normalmente los animales no presentan fiebre, tienen apetito normal, mientras que las heces son acuosas, homogéneas y sin olor ofensivo, ni sangre, debris epitelial o moco. El animal afectado llega a una deshidratación severa y caquexia (Figura 1; Blood y Radostis, 1992; Tiwari et al., 2006). De acuerdo a Andrews et al. (2004) cualquier enfermedad debilitante que resulte en emaciación se puede confundir con PTB. Sin embargo, en ésta enfermedad la diarrea profusa contiene frecuentemente burbujas lo cual la diferencia de otras enfermedades emaciantes como *Fasciola hepatica* (mariposa del hígado), enfermedades metabólicas, reticuloperitonitis traumática o desnutrición (Butler, 1993). En relación al diagnóstico post-mortem, las lesiones en bovinos quedan restringidas a la parte posterior del aparato digestivo, principalmente íleon, y linfonodos mesentéricos e ileocecales (Blood y Radostis, 1992; Gasque, 2008; Manning y Collins 2001). La mucosa del íleon, ciego y algunas veces el colon esta congestiva y blanda a la manipulación, y usualmente se observa una superficie rugosa y unos linfonodos agrandados y prominentes (Manning y Collins 2001; Andrews et al., 2004). En Colombia varios estudios han reportado casos clínicos de PTB en bovinos (Huber, 1954; García, 1957; Ramírez-Vásquez et al., 2011; Ramírez-García y Maldonado-Estrada, 2013).



Figura 1. Vaca con diarrea crónica y pérdida progresiva de la condición corporal.

Diagnóstico serológico

Entre los métodos para el diagnóstico indirecto de la EJ se incluye el diagnóstico serológico, el cual se basa en la detección de anticuerpos tipo IgG producidos por el animal como respuesta a la exposición a MAP y usando diferentes antígenos de esta micobacteria (Nielsen, 2010). Dentro de las pruebas de diagnóstico serológico el ELISA (del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), el cual detecta anticuerpos en suero sanguíneo o leche, es una de las pruebas serológicas más usadas para el diagnóstico de la PTB (Harris y Barletta, 2001). En el mercado mundial se dispone de varios kits comerciales de ELISA para el diagnóstico de PTB, los cuales han sido usados y evaluados en diferentes estudios independientes mostrando importantes variaciones en su sensibilidad y especificidad (Kohler et al., 2008; Fry et al., 2008; Nielsen y Toft, 2008). En general, la sensibilidad del ELISA para la detección de anticuerpos contra MAP es baja pero aumenta con la edad del animal. En general, la especificidad se estima por encima del 95% para la mayoría de los kits comerciales disponibles (Nielsen y Toft, 2008). La habilidad del ELISA para detectar animales infectados depende de la frecuencia de aplicación de la prueba, de la prueba como tal, y del punto de corte escogido con el fin de determinar si la prueba es positiva o negativa (Nielsen, 2010; Stevenson, 2010). La sensibilidad del test en animales con cuadro clínico y/o excretando grandes cantidades de MAP en la materia fecal es alta (Kohler et al., 2008; Nielsen y Toft, 2008). Algunas vacas infectadas producen anticuerpos muchos años antes de comenzar con la excreción de una cantidad detectable de MAP en materia fecal; por el contrario, en algunos animales los anticuerpos contra MAP pueden no ser detectables durante las fases tempranas cuando la excreción fecal de MAP es mínima (Nielsen, 2010). Dentro de las principales ventajas de las pruebas serológicas están sus bajos costos, se adaptan fácilmente al trabajo rutinario de alto volumen de pruebas y los resultados pueden estar disponibles en pocos días o semanas (Nielsen, 2010). Una de las mayores desventajas de este tipo de pruebas es que éstas no arrojan una medida directa de la infección por MAP, grado de infecciosidad

o de estar afectado por una infección debida a MAP (Nielsen, 2010). En América Latina y el Caribe, ELISA ha sido la prueba diagnóstica más usada para determinar la frecuencia de PTB en bovinos, cabras y ovejas (Fernández-Silva et al., 2014). En Colombia varios estudios han empleado la técnica de ELISA para el diagnóstico de PTB en bovinos (Patiño y Estrada, 1999; Mancipe et al., 2009; de Waard, 2010; Fernández-Silva et al., 2011a, Fernández-Silva et al., 2011b).

Diagnóstico microbiológico

El cultivo y la identificación de MAP se considera como el diagnóstico definitivo de la EJ en el animal individual y en el hato (Whittington, 2010). Sin embargo, aunque el cultivo aún se considera como la prueba de oro (prueba de referencia), su sensibilidad puede ser 30% en animales subclínicos (Nielsen y Toft, 2008) debido principalmente a la intermitencia en la excreción de microorganismos y a algunas características de las técnicas de cultivo (Whitlock et al., 2000). Esto quiere decir que la sensibilidad del cultivo fecal es alta en animales sintomáticos, pero puede ser baja para la detección de animales subclínicos. Por otro lado, se considera que la especificidad es 100% si los aislamientos obtenidos efectivamente se confirman como MAP (Nielsen y Toft, 2008). Las principales desventajas del cultivo son la lenta detección -generalmente 12 a 16 semanas en muestras clínicas que contienen cepas de origen bovino-, la detección es posible únicamente en animales infectados que estén excretando MAP en materia fecal y el costo relativamente alto en comparación con otras pruebas, como por ejemplo las pruebas serológicas (Collins, 1996). Para el cultivo se utilizan tanto medios líquidos como medios sólidos (Figura 2), pero no todos los medios soportan adecuadamente el crecimiento de los diferentes tipos de cepas (de Juan et al., 2006; Cernicchiaro et al., 2008; Whittington et al., 2011). En América Latina y el Caribe, el cultivo ha sido la prueba diagnóstica más usada después del ELISA para determinar la frecuencia de PTB en bovinos, cabras y ovejas (Fernández-Silva et al., 2014). En Colombia varios estudios han empleado el cultivo para el diagnóstico de PTB en bovinos (Isaza, 1978; Góngora y Perea, 1984; Fernández-Silva et al., 2011a, Fernández-Silva et al., 2011b; Zapata et al., 2010).

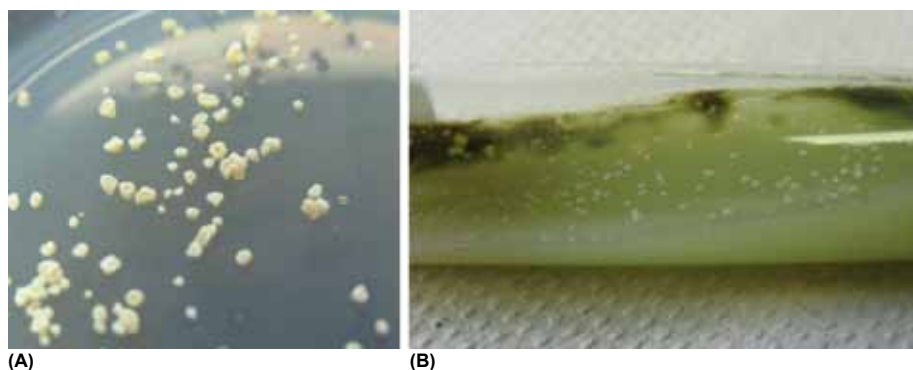


Figura 2. Cultivo de MAP. (A) colonias de la cepa de referencia K-10 (ATCC® BAA-968™) de MAP cultivada sobre agar Middlebrook 7H10 (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) suplementado con micobactina J (Allied Monitor, Inc. Fayette, USA). (B) colonias de aislamientos colombianos de MAP de materia fecal bovina inoculada sobre agar Herrold con yema de huevo (Herrold's Egg Yolk Agar) suplementado con anofetericina, ácido nalidíxico, vancomicina y micobactina J (Becton Dickinson, Heidelberg, Alemania).

Diagnóstico molecular

La detección de genes de MAP por PCR (del inglés Polymerase Chain Reaction) ha mostrado ventajas: rapidez, identificación del agente, ausencia de contaminación, así como desventajas: sensibilidad moderada, alto costo, equipo especial y personal calificado requerido (Collins, 1996). Sin embargo, debido a los desarrollos recientes, la PCR se sugiere para el tamizaje de hatos (Collins et al., 2006; Anonymous, 2010), y ha sido sugerida como una posible nueva prueba de oro para la PTB (Stevenson, 2010). Por otro lado, la técnica de PCR es rápida y específica y en contraste con el diagnóstico basado en cultivo, no es necesario aplicar otro tipo de pruebas para confirmar la identidad del microorganismo detectado (Collins, 1996). El gen más comúnmente utilizado para la detección de

MAP es el elemento multicopia secuencia de inserción 900 (IS900, Bull et al., 2003; National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods, 2010; Bolske y Herthnek, 2010; Stevenson, 2010; Gill et al., 2011). Sin embargo, otras micobacterias diferentes a MAP han sido reportadas con elementos similares a IS900 con secuencias de nucleótidos que son idénticas a la secuencia IS900 de MAP hasta un 94% (Englund et al., 2002). Algunos sistemas de PCR que están dirigidas a IS900 pueden dar resultados falsos positivos con ADN de micobacterias diferentes de MAP y con ADN de otro tipo de organismos (Möbius et al., 2008). En respuesta a la incertidumbre sobre la especificidad de los sistemas de PCR que se dirigen a la IS900 para la identificación de MAP, se han propuesto otras secuencias para la identificación de MAP por PCR: ISMap02, ISMav2, hspX, locus 255 y F57. La PCR se desempeña muy bien como prueba confirmatoria en cultivos pero su aplicación a muestras clínicas ha sido problemática debido principalmente a problemas asociados con la extracción de ADN de matrices complejas como leche, heces y sangre y por la presencia de inhibidores de la PCR (Stevenson, 2010). Los límites de detección, la sensibilidad y la especificidad varían con la secuencia blanco y la elección de los cebadores o primer, la matriz evaluada y el formato o tipo de PCR utilizado, como son convencional (Figura 3), transcriptasa reversa, PCR en tiempo real y PCR múltiple (NACMCF, 2010). Los diferentes formatos de PCR y las técnicas para el enriquecimiento o concentración de MAP son variables presentando ventajas y desventajas dependiendo de las matrices utilizadas para la detección de MAP y la forma como se aplican las técnicas (Möbius et al., 2008; Bolske y Herthnek, 2010; Stevenson, 2010). En Colombia varios estudios han empleado la PCR para el diagnóstico de paratuberculosis en bovinos (Zapata et al. 2010; Ramírez-García y Maldonado-Estrada, 2013; Fernández-Silva et al. 2011a, Fernández-Silva et al. 2011b).

Conclusiones y recomendaciones generales

El diagnóstico clínico definitivo ante y post-mortem es realizado según los sig-

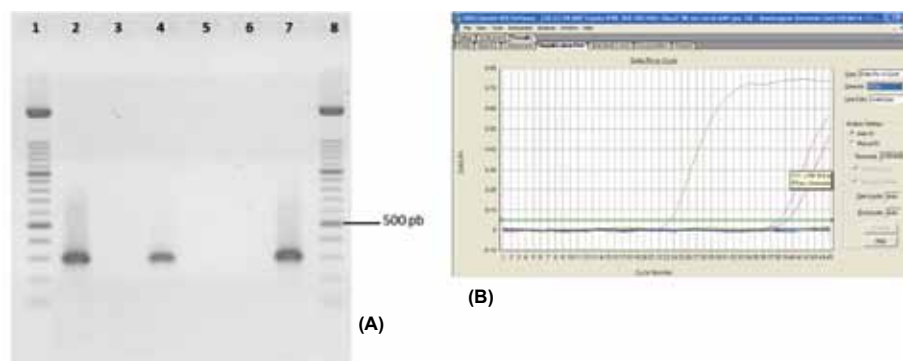


Figura 3. PCR de MAP. (A) Resultados de una PCR convencional anidada para la detección de IS900 de MAP en muestras de materia fecal bovina, mostrando el producto de 294 pares de bases obtenido con los cebadores TJ1 a TJ4 según el método de Bull et al. (2003). (B) Gráfico de amplificación de una PCR en tiempo real para la detección de F57 e ISMav2 de MAP en muestras de materia fecal bovina según el método de Schönenbrücher et al 2008.

nos encontrados en el animal y en el tracto gastrointestinal al momento de la necropsia, lo cual requiere la experticia y conocimiento por parte del clínico. Otra alternativa diagnóstica es la evaluación de la respuesta humoral frente a MAP, cuya sensibilidad y especificada va a depender a su vez del estadio de la enfermedad. La respuesta humoral contra MAP en animales subclínicos puede variar considerablemente a través del tiempo, incluso día a día, probablemente por fluctuaciones en la producción de anticuerpos. La sensibilidad de estas pruebas aumenta a medida que aumenta la magnitud de la eliminación fecal de MAP y el grado de afección clínica. Por su parte, la detección de MAP por medio del cultivo en medio sólido es aún la prueba de referencia o prueba de oro, dado que permite categorizar los animales según el grado de eliminación fecal de la micobacteria. Sin embargo, éste método es lento y poco sensible, especialmente en los estadios tempranos de la enfermedad, lo cual podría afectar la toma de decisiones frente a la remoción de animales infectados de los hatos, permitiendo la entrada y circulación en los mismos. La detección de MAP por PCR es rápida y específica y no requiere viabilidad de la micobacteria, lo cual es un factor de ventaja si se le compara con el cultivo, sin embargo, requiere personal y equipo especializado, y aun se discute sobre su sensibilidad analítica. Existe aún un profundo vacío en la definición de un test único que permita diagnosticar efectivamente la PTB bovina dada la complejidad inmunológica y la duración - aunque larga- variable, del periodo subclínico de la enfermedad, especialmente si se requiere una alta especificada y una alta sensibilidad, además son necesarios los mecanismos que permitan una interpretación adecuada de los métodos ya disponibles. Las limitaciones de cada test diagnóstico determinará el uso combinado de dos o tres de ellos, repetidos a lo largo del tiempo y sobre el mismo animal, definiendo así el estadio de la infección y de la enfermedad en los animales individuales y en los hatos.

Bibliografía

- Andrews, A., Blowey, R., Boyd, H., & Eddy R. (2004). Bovine medicine diseases and husbandry of cattle. Second Edition. Blackwell Science Ltd., 857-858.
- Anonymous. (2010). Uniform Program Standards for the Voluntary Bovine Johne's Disease Control Program. USDA, APHIS.
- Blood, C.D., & Radostis, O.M. (1992). Medicina Veterinaria. 7 edición. España. Mc-Graw-Hill Interamericana, 777-785.
- Bolske, G., & Herthnek, D. (2010). Diagnosis of Paratuberculosis by PCR. In: Behr, M.A., Collins, D.M. (Eds.), Paratuberculosis: Organism, Disease, Control. CAB International, Oxfordshire, pp. 267-283.
- Bull, T.J., McMinn, E.J., Sidi-Boumedine, K., Skull, A., Durkin, D., Neild, P., Rhodes, G., Pickup, R., & Hermon-Taylor, J. (2003). J Clin Microbiol. 41:2915-2923.
- Carvalho, I.A., Silva, A., Campos, V.E., & Moreira, M.A. (2009). J Dairy Sci. 92:5408-5410.
- Cernicchiaro, N., Wells, S.J., Janagama, H., & Sreevatsan, S. (2008). J Clin Microbiol. 46:145-149.
- Chiodini, R.J., Chamberlin, W.M., Sarosiek, J., & McCallum, R.W. (2012). Crit Rev Microbiol. 38:52-93.
- Cirone, K.M., Morsella, C.G., Romano, M., & Paolicchi, F.A. (2007) Rev Argent Microbiol. 39:57-68.
- Clarke, C.J. (1997). J Comp Pathol.116:217-261.
- Collins, M.T. (1996). Vet Clin North Am Food Anim Pract. 12:357-371.

- Collins, M.T., Gardner, I.A., Garry, F.B., Roussel, A.J., & Wells, S.J. (2006). *J Am Vet Med Assoc*, 229:1912-1919.
- de Juan, L., Alvarez, J., Romero, B., Bezos, J., Castellanos, E., Aranaz, A., Mateos, A., & Dominguez, L. (2006). *Appl Environ Microbiol*, 72:5927-5932.
- de Waard, J.H. (2010). *Rev. MVZ Córdoba*, 15(2):2037-2040.
- Dirksen, G., Gründer, H., & Stöber M. (2005). *Medicina Interna y cirugía del bovino*. Cuarta edición. Inter-Médica, 533-538.
- Englund, S., Bolske, G., & Johansson, K.E. (2002). *FEMS Microbiol Lett*, 209:267-271.
- Fernández-Silva, J.A., Abdulmawjood, A., Akineden, O., & Bülte M. (2011a). *Trop Anim Health Prod.*; 43(8):1501-7.
- Fernández-Silva, J.A., Abdulmawjood, A., & Bülte M. (2011b). *Vet Med Int*, 2011;2011:352561.
- Fernández-Silva, J.A., Correa-Valencia, N.M., & Ramírez, N.F. (2014). *Trop Anim Health Prod.*, 46(8):1321-1340.
- Fernández-Silva, J.A., Abdulmawjood, A., Akineden, Ö., & Bülte, M. (2012). *Trop Anim Health Prod.*, 44(6):1123-6.
- Fry, M.P., Kruze, J., & Collins, M.T. (2008). *J Vet Diagn Invest.*, 20:329-332.
- García, A. (1957). *Comprobaciones de la trichomoniasis bovina y contribución al estudio de la Paratuberculosis en el departamento de Nariño*. Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.
- Gasque, R. (2008). *Enciclopedia Bovina*. UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 197-199.
- Gill, C.O., Saucier, L., & Meadus, W.J. (2011). *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in dairy products, meat, and drinking Water. *J Food Prot.*; 74(3):480-99.
- Góngora, O.A., & Perea, J. (1984). *Evaluación de tres métodos diagnósticos en paratuberculosis bovina*. Tesis de grado (Médico Veterinario) Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.
- Harris, N.B., & Barletta, R.G. (2001). *Clin Microbiol Rev.*, 14:489-512.
- Holzmann, C.B., Jorge, M.C., Traversa, M.J., Schettino, D.M., Medina, L., & Bernardelli, A. (2004). *Rev Sci Tech.*, 23(3):791-799.
- Huber, G. (1984). *La administración de la Isonicotimilhidrazina de cortisona en la paratuberculosis bovina (Enfermedad de Johne)*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Isaza, P.F. (1978). *Diagnóstico de paratuberculosis en bovinos por los métodos de baciloscopia, fijación de complemento e inmunofluorescencia (Trabajo Doctor en Medicina Veterinaria)*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Kohler, H., Burkert, B., Pavlik, I., Diller, R., Geue, L., Conraths, F.J., & Martin, G. (2008). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 121:203-210.
- Lombard, J.E. (2011). *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 27:525-35.
- Mancipe, L.F., Sánchez, J.L., & Rodríguez, G. (2009). *Rev. Med. Vet.*, (18) 33-51
- Manning, E.J., & Collins, M.T. (2001). *Rev Sci Tech.*, 20:133-150.
- Möbius, P., Hotzel, H., Rassbach, A., & Kohler, H. (2008). *Vet Microbiol*, 126:324-333.
- NACMCF. (2010). *J Food Prot.*, 73:1357-1397.
- Nielsen, S.S. (2010). *Immune-based diagnosis of paratuberculosis*. In: Behr, M.A., Collins, D.M. (Eds.), *Paratuberculosis: Organism, Disease, Control*. CAB International, Oxfordshire, pp. 284-293.
- Nielsen, S.S., & Toft, N. (2008). *Vet Microbiol*, 129:217-235.
- Nielsen, S.S., & Toft, N. (2009). *Prev Vet Med.*, 88:1-14.
- Organización Mundial de Salud Animal. *Enfermedades de la Lista de la OIE*. [Revisado junio 27 de 2013] URL: <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-la-lista-de-la-oie-2013/>
- Over, K., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., & Ricke, S.C. (2011). *Crit Rev Microbiol.*, 37:141-156.
- Paolicchi, F.A., Zumarraga, M.A., Gioffre, A., Zamorano, P., Morsella, C., Verna, A.E., Cataldi, A., Alito, A., & Romano, M. (2003). *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 50:20-26.
- Patiño, D.A., & Estrada, M. (1999). *Determinación de la prevalencia de paratuberculosis en tres hatos del Páramo de Letras*. Tesis de grado, Universidad de Caldas.
- Ramírez-Vásquez, N., Rodríguez, B., & Fernández-Silva, J.A. (2011). *Rev. MVZ Córdoba*, 16(3):2742-2753.
- Ramírez-García, R., & Maldonado-Estrada, J.G. (2013). *Rev Colomb Cienc Pecu*, 26:219-225.
- Ristow, P., Marassi, C.D., Rodrigues, A.B., Oelemann, W.M., Rocha, F., Santos, A., Carvalho, E., Carvalho, C.B., Ferreira, R., Fonseca, L., & Lilienbaum, W. (2007). *Vet J.*, 174:432-434.
- Salem, M., Heydel, C., El-Sayed, A., Ahmed, S.A., Zschöck, M., & Baljer, G. (2013). *Trop Anim Health Prod.*, 45:351-366.
- Schönenbrücher, H., Abdulmawjood, A., Failing, K., Bülte, M., (2008). *Appl Environ Microbiol*, May; 74(9):2751-8.
- Stevenson, K. (2010). *Cattle Practice*, 18:104-109.
- Sweeney, R.W., Whitlock, R.H., & Rosenberger, A.E. (1992). *J Clin Microbiol.*, 30:166-171.
- Tiwari, A., VanLeeuwen, J.A., McKenna, S.L., Keefe, G.P., & Barkema, H.W. (2006). *Can Vet J.*, 47:874-882.
- Turenne, C.H., & Alexander, D.C. (2010). *Mycobacterium avium* Complex. In: Behr MA and Collins DM, editors. *Paratuberculosis: organism, disease, control*. 1st ed. Cambridge, MA: Ed. Cabi International; p. 60-72.
- Wells, S.J., & Wagner, B.A. (2000). *J Am Vet Med Assoc.*, 216(9):1450-1457
- Whitlock, R.H., Wells, S.J., Sweeney, R.W., & Van Tiem, J. (2000). *Vet Microbiol.*, 77:387-398.
- Whittington, R. (2010). *Cultivation of Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis. In: Behr, M.A., Collins, D.M. (Eds.), *Paratuberculosis: Organism, Disease, Control*. CAB International, Oxfordshire, pp. 244-266.
- Whittington, R.J., Marsh, I.B., Saunders, V., Grant, I.R., Juste, R., Sevilla, I.A., Manning, E.J., & Whitlock, R.H. *J Clin Microbiol.*, 49:1822-1830.
- Zapata, M., Arroyave, O., Ramírez-García, R., Piedrahita, C., Rodas, J.D., & Maldonado-Estrada, J.G. (2010). *Rev Colomb Cienc Pecu*, 23:17-27.

II Congreso Internacional de las Ciencias Veterinarias y Zootécnicas

IV Seminario Nacional de Cirugía en Pequeños Animales

Medicina Y Sanidad Animal
Dinámicas De Desarrollo
I Taller de Equinos
Producción Animal Sostenible
Emprendimiento Y Empresarización

Países Invitados:

Informes:
 Amezvilanos - Edificio Parque Santander
 Oficina 803 - Villavicencio
 Zcongresoamezvilanos@gmail.com
 317 526 5794 Tel: (8) 662 5678

MARZO 4 / 5 / 6 2015

Centro de Convenciones
GHL Grand Hotel Villavicencio
 5er. Piso, Centro Comercial Llanocentro

www.iicongresoicvz.com