

Paratuberculosis

NUEVAS PERSPECTIVAS EN LA VACUNACIÓN

La inmunidad entrenada abre una nueva frontera en la mejora y el diseño de nuevas vacunas que mejorarían notablemente la sanidad y el bienestar animal en las explotaciones de rumiantes. De todos modos, el fomento de la investigación y la continuación de la vacunación son esenciales para conocer más sobre los mecanismos que participan en la respuesta inmunitaria protectora ante la paratuberculosis.

Noive Arteche-Villasol, Daniel Gutiérrez-Expósito, Miguel Criado y Valentín Pérez
Departamento de Sanidad Animal, Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE),
Facultad de Veterinaria, Universidad de León

La paratuberculosis es una enfermedad infecciosa causada por *Mycobacterium avium* subespecies *paratuberculosis* (Map) que afecta principalmente a los rumiantes domésticos, en los que provoca adelgazamiento progresivo y

diarrea. Se trata de una enfermedad de declaración obligatoria, descrita por primera vez a finales del siglo XIX en Alemania en vacas, que se transmite principalmente por vía oral tras la ingestión de heces, calostro o

pastos contaminados con la bacteria. Aunque los animales jóvenes son los más susceptibles a la infección, la manifestación de signos clínicos raramente sucede en animales menores de dos años, incluso se puede retrasar



Ejemplares de la raza Malagueña en el interior de una explotación ganadera.

hasta los cinco años. La diarrea, especialmente en ovejas y cabras, puede ser intermitente o no aparecer, por lo que la pérdida progresiva de peso y la reducción de otros parámetros productivos, como el índice de conversión del alimento y el rendimiento lechero, son los signos más característicos. Además, durante ese periodo de tiempo los animales infectados, pero aparentemente sanos (infección subclínica), pueden eliminar la bacteria en las heces, procurando así su diseminación y la contaminación de los pastos. Típicamente, la etapa inicial de la infección se caracteriza por una fuerte respuesta inmunitaria celular capaz de contener la diseminación de Map en el intestino. No obstante, a medida que pasa el tiempo esta respuesta inicial se va debilitando, dando paso a un incremento de la respuesta inmunitaria de tipo humoral y la producción de anticuerpos, lo que se ha asociado con la aparición de lesiones graves y la manifestación de los signos clínicos.

Debido al lento desarrollo de la enfermedad y los cambios producidos en la respuesta inmunitaria, el diagnóstico de la paratuberculosis puede suponer un desafío para los ganaderos. Por ese motivo se recomienda la combinación de varias pruebas diagnósticas como la detección de la bacteria mediante PCR en heces o la valoración de la respuesta inmunitaria celular (IGRA) o la detección de anticuerpos (ELISA indirecto) en muestras de sangre. Sin embargo, ninguna de ellas permite detectar a todos los animales infectados, lo que puede suponer un retraso en la toma de decisiones destinadas a evitar la propagación de la paratuberculosis. Por ello, es más importante el llevar a cabo unas buenas prácticas de manejo y control.

IMPORTANCIA Y REPERCUSIONES

Los efectos de la paratuberculosis se asocian a importantes pérdidas económicas, más visibles y estudiadas en el ganado lechero. En la valoración

de su repercusión económica, hay que considerar que la amplia distribución de esta enfermedad y la variabilidad de las tasas de infección entre regiones o ganaderías, dificulta la homogenización y la estimación exacta de sus consecuencias. En general, están relacionadas con las pérdidas económicas directas que ocasiona el sacrificio prematuro de los animales, la disminución de la producción láctea, la fertilidad y la ganancia de peso, aunque también se ha contabilizado otras indirectas derivadas de los costes que suponen el diagnóstico, el reemplazo de los animales y la puesta en marcha de medidas de control.

Por otro lado, también se ha sugerido que Map, la bacteria que causa la paratuberculosis, podría jugar un papel en la enfermedad de Crohn humana y, de hecho, se ha aislado a partir de sangre de pacientes con esta enfermedad. De todas formas, actualmente no existe un consenso aceptado en relación a la implicación de Map como etiología de la enfermedad de Crohn, pero si ha causado que hayan aumentado los estudios destinados a conocer si Map está presente en productos de origen animal que puedan consumir las personas, y se ha encontrado en muestras de leche pasteurizada, carne y agua de consumo humano.

ESTRATEGIAS DE CONTROL

No existe un tratamiento efectivo de la paratuberculosis, más allá de la estabilización de los síntomas. Por lo tanto, la principal actuación frente a esta infección es la que se dirige a su control, para reducir su presencia y evitar lo máximo posible su diseminación. Las medidas de control se basan en tres pilares fundamentales, comenzando con un correcto manejo higiénico-sanitario, con el fin de reducir la transmisión, seguido del diagnóstico y la eliminación de los animales infectados. No obstante, estas medidas, por sí solas, se han demostrado como insuficientes para reducir la prevalencia de la paratuberculosis en

las explotaciones y además suponen un importante coste económico. Es por ello, que vacunación ha demostrado ser la mejor herramienta contra la paratuberculosis para los ganaderos y veterinarios. En España, se ha aplicado con frecuencia en ovino y caprino desde los años 90 del siglo pasado, y ha demostrado ser capaz de reducir considerablemente la prevalencia de la enfermedad. Aun así, la implementación conjunta de las tres medidas es esencial para mejorar el estado sanitario del rebaño y reducir el impacto de la enfermedad.

LA VACUNACIÓN COMO EL MEJOR MÉTODO DE CONTROL

Los primeros ensayos sobre la vacunación frente a paratuberculosis se llevaron a cabo en ganado vacuno, a comienzos del siglo XX, en Francia mediante la administración de una vacuna que contenía una cepa atenuada de Map. Desde entonces, la vacunación se ha considerado el método de control más efectivo en relación coste-beneficio al permitir reducir significativamente los casos clínicos de paratuberculosis y, consecuentemente, la tasa de infección en los rebaños. Sin embargo, la protección que confiere no es absoluta, y hay animales vacunados que pueden desarrollar síntomas, aunque su principal desventaja se debe a las interferencias causadas con las pruebas diagnósticas utilizadas en los programas oficiales de erradicación de la tuberculosis bovina. Por ese motivo, en la Unión Europea la vacunación frente a paratuberculosis únicamente está permitida en explotaciones de ganado ovino o caprino (Directiva 78/52/EC). En un trabajo reciente, publicado en esta misma revista, dábamos a conocer los resultados de un estudio a gran escala que se realizó en colaboración con las autoridades sanitarias de Castilla y León en cabras, en el que se observó que la interferencia desaparece conforme aumenta el tiempo transcurrido entre la vacunación y la realización de la prueba de la tuberculina para el diagnóstico de la tuberculosis, de

forma que se recomienda que se deje un plazo de un año entre la vacunación de paratuberculosis y el test de la tuberculosis.

Aunque a lo largo de la historia se han desarrollado numerosos tipos de vacunas, desde vacunas vivas atenuadas, hasta vacunas inactivadas o vacunas de ADN, lamentablemente ninguna de estas opciones ha sido capaz de prevenir completamente la infección por Map y se ha observado, en algunos casos, la aparición de signos clínicos y lesiones intestinales en animales vacunados. Actualmente, las únicas vacunas comercialmente disponibles frente a paratuberculosis están formuladas con una cepa de Map (316F) inactivada (muerta) por calor, lo que hace que sean productos seguros en cuanto a que no se van a diseminar bacterias en el ambiente. Estas vacunas inactivadas se administran por vía subcutánea, en la zona de la falda, pecho o base de la cola, durante los primeros meses de vida, momento en el cual los animales son más susceptibles a la infección.

Gudair, fabricada por CZ Vaccines en España, es una de las vacunas más comercializadas en todo el mundo, registrada para su administración en ganado ovino y caprino (Tabla 1). En condiciones experimentales, la administración de esta vacuna provoca una intensa y rápida respuesta inmunitaria de tipo celular, necesaria para controlar la progresión de la infección. Esto se ha asociado además con una significativa reducción del número y de la gravedad de las lesiones en los animales vacunados. Asimismo,

numerosos ensayos de campo han comprobado los efectos beneficiosos de esta vacuna a largo plazo, observando una reducción de hasta el 90% de la mortalidad, de la excreción de Map en las heces y el número de animales eliminadores. Incluso, se ha descrito una mejora de algunos índices productivos, como el retraso en la edad de sacrificio o el incremento de la producción lechera. No obstante, la vacunación con Gudair también se ha asociado con la aparición de lesiones en el lugar de inoculación. La formulación de esta vacuna con un adyuvante oleoso poco metabolizable sería la principal causa de la irritación y posterior de la lesión. Esta se caracteriza por la aparición de nódulos de tamaño variable que pueden disminuir el valor de las canales que llegan al matadero. A pesar de ello, los adyuvantes son necesarios para incrementar la respuesta inmunitaria generada por la vacuna con el fin de potenciar su efecto protector.

En ese sentido, la vacuna Silirum, también producida por CZ Vaccines (Tabla 1) y registrada en algunos países para ganado vacuno, está compuesta por la misma cepa de Map, aunque formulada con un adyuvante mineral-oleoso altamente refinado que reduce las lesiones producidas en el punto de inoculación. Pese a la prohibición de la vacunación frente a paratuberculosis en el ganado vacuno en España y otros países, la vacuna Silirum se ha utilizado con éxito en bovinos en Australia, donde la tuberculosis ya ha sido erradicada. No obstante, su eficacia también ha sido demostrada

en el ganado caprino bajo condiciones experimentales, donde también produce un incremento de la respuesta inmunitaria celular y humoral y la reducción del número y la gravedad de las lesiones intestinales. Incluso, en algunos puntos de España, y bajo condiciones controladas, se han realizado ensayos vacunales en vacas donde se ha detectado un aumento en la vida productiva y una atenuación de las lesiones paratuberculosas de animales adultos ya infectados (efecto terapéutico).

A pesar de los evidentes beneficios conferidos por la vacunación frente a paratuberculosis, en algunos casos la reducción en la prevalencia no es tan evidente, ya que, pese a reducir el número de animales excretores, muchos de ellos pueden seguir eliminando grandes cantidades de bacterias en las heces. Esto, unido a la administración discontinua de la vacuna en algunas explotaciones y a unas incorrectas medidas higiénico-sanitarias, podría favorecer el resurgimiento de la enfermedad. Es por ello, que se recomienda la aplicación de la vacunación durante largos periodos de tiempo en aquellas explotaciones con casos confirmados de paratuberculosis, aun no habiéndose detectado animales positivos mediante las técnicas diagnósticas disponibles.

NUEVAS PERSPECTIVAS EN LA VACUNACIÓN

Desde hace años, gran parte de la investigación realizada en torno a la paratuberculosis se ha centrado en comprender los motivos por los cuales

Nombre	Composición	Especie	Dosis	Vía	Pauta
Gudair®*	Cepa 316F de Map Aceite mineral (Macrol 52) Montanide	Ovino Caprino	1 mL	Subcutánea	Animales jóvenes (2 semanas – 6 meses) Animales adultos (efecto terapéutico)
Silirum®*	Cepa 316F de Map Montanide	Bovino**	1 mL	Subcutánea	Animales jóvenes (mayores de 1 mes de edad)

*CZ Vaccines (O Porriño, Pontevedra)

** No autorizado su uso en España para el ganado bovino

Tabla 1. Principales vacunas frente a paratuberculosis comercialmente disponibles.



Animales de la raza Verata en extensivo.

la vacunación no impide la progresión de la enfermedad en algunos animales, dotándoles de resistencia frente al desarrollo de síntomas y a la reducción de la tasa de infección. De hecho, el desconocimiento de los mecanismos implicados en el efecto protector frente a la paratuberculosis sería, por tanto, el principal obstáculo en el desarrollo de vacunas completamente exitosas.

Tradicionalmente, el principal objetivo de la vacunación estaba centrado en la generación de una fuerte y rápida respuesta inmunitaria celular, ya que el incremento de la respuesta inmunitaria humoral (anticuerpos) se ha considerado inefectiva para el control de la infección. Sin embargo, estudios recientes han determinado que la elevada producción de anticuerpos al inicio de la infección, podría ser esencial para controlar la progresión de Map en el intestino. Sin embargo, este incremento en la respuesta inmunita-

ria periférica es la responsable de las reacciones cruzadas con el diagnóstico de la tuberculosis, debido a la similitud entre los antígenos de las bacterias causantes de ambas enfermedades.

Esto ha promovido la evaluación de otras vías de administración de la vacuna, como la vacunación oral, donde se ha visto que los animales vacunados mediante esta ruta no experimentan cambios en la respuesta inmunitaria periférica, pero si protege frente a la paratuberculosis, aunque la efectividad sobre la reducción de las lesiones es menor que con la administración subcutánea. Recientemente se ha observado que la vacunación oral podría estar ligado con la activación de la respuesta inmunitaria a nivel de la mucosa intestinal. El diseño de vacunas que induzcan una respuesta inmunitaria a nivel de las mucosas ha cobrado especial importancia en los últimos años ya que la estimulación

del tejido linfóide asociado al intestino podría inducir una protección más adecuada frente a patógenos entéricos como Map. Sin embargo, todavía no se posee suficiente información sobre los efectos que producirían las distintas vías de administración de la vacuna frente a paratuberculosis en rumiantes.

Independientemente de lo anterior, un número cada vez más creciente de estudios han puesto de manifiesto que respuesta inmune protectora inducida por la vacunación no solo estaría atribuida a la respuesta inmunitaria adaptativa, como se ha reconocido hasta ahora, sino que también podría estar mediada por una inmunidad de tipo 'entrenada', que se asociaría a una protección que la vacunación frente a paratuberculosis induciría contra otras infecciones. Este término fue introducido por primera vez en relación con un estudio llevado a cabo

en humanos, donde se encontró que la vacunación frente a tuberculosis (BCG) en niños provocó una disminución de la mortalidad y la morbilidad, no solo causada por la tuberculosis, sino también por otras enfermedades infecciosas no relacionadas, especialmente neumonías. Esta protección inespecífica sería consecuencia de la activación de células de la respuesta inmunitaria innata que generan una respuesta inespecífica, intensa y prolongada frente al patógeno que provocó el estímulo inicial y frente a otros patógenos no relacionados (protección cruzada), actuando de manera independiente de la respuesta inmunitaria adaptativa. Aún no se conocen con exactitud los mecanismos implicados en la inducción de la respuesta inmunitaria entrenada, sin embargo, se ha especulado que su activación tendría como punto de partida la reprogramación epigenética y cambios transcripcionales en los genes de estas células que favorecerían el incremento de la respuesta proinflamatoria y la eliminación del patógeno.

En medicina veterinaria existen varios estudios observacionales que han constatado la existencia de efectos inespecíficos asociados a la vacunación frente a paratuberculosis. Por ejemplo, se ha documentado una reducción del número de animales sacrificados por enfermedades infecciosas (e.g. digestivas o respiratorias) no relacionadas con la paratuberculosis en ganado bovino y caprino vacunados frente a paratuberculosis. De hecho, en un estudio reciente desarrollado en el País Vasco se observó que la administración de Silirum en terneros desencadena una reducción de la mortalidad de hasta el 33,9 % dentro del cual el 24,5 % estaría relacionado con los efectos no específicos de la vacunación (protección cruzada) que se prolongaron al menos durante 6 años. Este efecto es similar al observado en humanos con la BCG, lo que apoyaría la existencia de la respuesta inmunitaria entrenada. Por otro lado,

existen estudios experimentales en los que se ha descrito una reducción de lesiones tuberculosas en cabras y terneros vacunados con Silirum. De la misma manera, recientemente se ha observado que la administración de una vacuna frente a tuberculosis en cabritos infectados por Map, también reduce el número y la gravedad de las lesiones ocasionadas por la paratuberculosis. No obstante, ambas enfermedades están producidas por bacterias del género *Mycobacterium*, por lo que sería necesario valorar si esta protección heteróloga estaría relacionada con la protección cruzada por tratarse de agentes muy similares, o con la inducción de una respuesta inmunitaria entrenada.

La respuesta inmune protectora inducida por la vacunación incluye respuesta adaptativa e inmunidad 'entrenada'

Ya se han puesto en marcha los primeros estudios enfocados en conocer los mecanismos relacionados con el establecimiento de la inmunidad entrenada. Se ha considerado que las células de la respuesta inmunitaria innata como los monocitos, los macrófagos o las células natural killer serían las principales responsables de esta respuesta. En este sentido, los primeros indicios apuntan a un incremento de la capacidad lítica (antimicrobiana) de estas células tras observarse una menor supervivencia micobacteriana (*Mycobacterium bovis*) en cultivos celulares puros de macrófagos procedentes de vacas vacunadas frente a tuberculosis. De la misma manera, en un estudio experimental llevado a cabo en cabritos se observó una mayor fagocitosis y destrucción de Map en los macrófagos procedentes de animales vacunados frente a paratuberculosis. Todos estos

efectos se han valorado en modelos in vitro de macrófagos, los cuales se ha hipotetizado que juegan un papel importante en la inmunidad entrenada debido a su largo tiempo de vida. No obstante, estos cambios en la funcionalidad también se han descrito en células con un menor tiempo de vida como los neutrófilos, que desarrollan un incremento de la actividad antimicrobiana frente a Map y otras bacterias como *Staphylococcus aureus* o *Escherichia coli* en cultivos puros de neutrófilos aislados a partir de conejos vacunados frente a paratuberculosis.

Desafortunadamente, todavía no se ha esclarecido qué mecanismos biológicos o componentes de la vacuna podrían estar detrás de la reprogramación de estas células y el establecimiento de la respuesta inmunitaria entrenada. Recientemente, se ha puesto en manifiesto que el adyuvante de Silirum provoca por sí solo cierto grado de protección frente a la infección por Map al detectarse también una reducción del número y la gravedad de las lesiones en cabritos a los que solo se inoculó el adyuvante. Sin embargo, aunque esta protección estaría mediada por mecanismos de carácter inespecífico, no se ha podido establecer su relación con la inmunidad entrenada.

En conclusión, la inmunidad entrenada ha abierto una nueva frontera en la mejora y el diseño de nuevas vacunas que mejorarían notablemente la sanidad y el bienestar animal en nuestras explotaciones. Aun así, el fomento de la investigación y la continuación de la vacunación son esenciales para conocer más sobre los mecanismos que participan en la respuesta inmunitaria protectora. ■

BIBLIOGRAFÍA

La bibliografía consultada y que apoya parte de la información recogida en el trabajo se encuentra en poder de los autores.