

# Biomarcadores de detección precoz de la paratuberculosis

Rosa Casais<sup>1\*</sup>, Cristina Blanco Vázquez<sup>1</sup>, Natalia Iglesias<sup>1</sup>, Ana Balseiro<sup>1,2</sup>, Fernando Vicente<sup>3</sup>, Javier Amado<sup>4</sup>, María Canive<sup>5</sup>, Ramón A. Juste<sup>3,5</sup>, Marta Alonso-Hearn<sup>5</sup>.

1 Centro de Biotecnología Animal, Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Deva, Asturias, España.

2 Departamento de Salud Animal, Facultad de Veterinaria, Instituto Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Universidad de León, León, España.

3 Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Villaviciosa, Asturias, España.

4 Departamento de Microbiología y Parasitología, Laboratorio de Sanidad Animal del Principado de Asturias (LSAPA), Gijón, Asturias, España.

5 Departamento de Salud Animal, NEIKER-Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Derio, Bizkaia, España. \*rosacg@serida.org

La paratuberculosis (PTB) es una enfermedad infecto-contagiosa de origen bacteriano causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) que afecta principalmente a rumiantes domésticos y silvestres. Esta enfermedad origina importantes pérdidas económicas en la industria láctea debido a un descenso en la producción de leche, el adelgazamiento progresivo de los animales, el sacrificio prematuro y el aumento de los costes veterinarios.

La PTB es una inflamación crónica del intestino delgado que está presente en la mayoría de las ganaderías. En Asturias, en 2019 el 32,6% de las explotaciones de ganado vacuno y el 1,9% de las vacas analizadas fueron positivas (datos aportados por la Consejería de Medio Rural y Cohesión Territorial del Principado de Asturias).

La PTB presenta un periodo de incubación muy largo, de tal forma que una vez infectados los terneros (los más susceptibles a la enfermedad), pueden no manifestar signos clínicos incluso hasta los 2-10 años tras la infección, aunque mientras tanto pueden estar eliminando MAP en las heces, calostro y leche, transmitiendo la enfermedad a otros animales.

Como consecuencia de este



■ Figura 1. Vaca con PTB mostrando delgadez extrema, uno de los signos clínicos característicos.

periodo de incubación tan largo, se detectan muchos menos casos de los que en realidad hay, enmascarando el impacto de la enfermedad sobre la productividad y el bienestar de los animales y dificultando su control.

Actualmente, el control de la PTB a nivel de rebaño se basa fundamentalmente en el saneamiento y el empleo de medidas de manejo e higiénico-sanitarias adecuadas para prevenir nuevas infecciones y evitar la transmisión de MAP. El saneamiento consiste en la identificación de los animales infectados, especialmente animales con infecciones latentes que no manifiestan signos clínicos pero que eliminan MAP al medio ambiente (pastos y bebederos), y su retirada del grupo para suprimir las fuentes de infección, disminuir la contaminación ambiental y maximizar la vida productiva del resto de los animales. Sin embargo, la identificación de esos animales es difícil porque son asintomáticos, las lesiones que muestran a nivel intestinal son más leves, de tipo focal y su carga bacteriana y niveles de anticuerpos no son detectables con las técnicas de diagnóstico actuales. Por ello, para poder controlar la propagación de la enfermedad se necesitan nuevas herramientas de diagnóstico más sensibles capaces de detectar las infecciones latentes.

El objetivo es desarrollar nuevos métodos de diagnóstico basados en la detección y cuan-

tificación de biomarcadores asociados a la enfermedad. Un biomarcador es una molécula del hospedador (la vaca, en este caso) que puede identificar un proceso patológico (ej. marcadores de cáncer), es decir, la presencia de ese biomarcador por encima de una cantidad determinada indicaría que el animal tiene PTB.

Estudios previos de nuestro equipo de investigación identificaron un biomarcador bovino (ABCA13) con niveles de expresión elevados en sangre de vacas de raza frisona con lesiones focales de PTB en comparación con animales control no infectados sin lesiones. Posteriormente, evaluamos el potencial diagnóstico de ese biomarcador para detectar animales infectados de forma natural en 155 muestras de suero de 94 animales procedentes de ganaderías con alta prevalencia de PTB y 61 de animales de una ganadería libre de PTB.

Para dicha valoración, los animales se clasificaron según el tipo y la extensión de las lesiones microscópicas intestinales en cuatro grupos: sin lesiones detectables, grupo con lesiones focales, multifocales, y difusas. La mayoría de las vacas analizadas (58,51%) eran asintomáticas y presentaban lesiones focales (animales con infecciones latentes o con formas de resistencia que no progresan hacia formas más severas). El resto de los animales presentaban lesiones multifocales (19,14%), difusas (15,95%, ver figura 1) o no presentaban lesiones (6,38%). Como controles en el estudio se utilizaron los 6 animales sin lesiones y los 61 procedentes de una ganadería libre de PTB.

Una vez clasificados los animales, se investigó la concentración de ABCA13 en las muestras de suero mediante una técnica ELISA diseñada específicamente para la

detección y cuantificación de esa proteína. Los resultados obtenidos indicaron que esta técnica superaba el valor diagnóstico de las otras técnicas de diagnóstico existentes, tanto para la detección de animales con lesiones focales (79% sensibilidad y 88,1% de especificidad), como para la detección global de animales con cualquier tipo de lesión (69,4% sensibilidad y 86,6% especificidad).

El valor diagnóstico se mantuvo para todas las categorías histopatológicas, mejorando las prestaciones de cualquier prueba diagnóstica actualmente disponible. Destacar el hecho de que el ELISA basado en la detección de este biomarcador podría convertirse en una nueva herramienta diagnóstica cuyo uso en los programas de control de la PTB permitiría una detección precoz de infecciones latentes, impidiendo la transmisión de MAP a otros animales de la explotación. No obstante, el número limitado de muestras analizadas hasta la fecha requiere que se realice una validación a gran escala de esta técnica para confirmar su utilidad en la práctica.

Este estudio ha sido financiado por el INIA (RTA-2014-00009-C02), el MICINN (RTI2018-094192-R-C22), y Fondos FEDER. Agradecemos al INIA la financiación de los contratos pre-doctorales de Cristina Blanco Vázquez y María Canive. Nuestros agradecimientos también a la Unidad de Asesoramiento Estadístico de los SCTs de la Universidad de Oviedo, las ganaderías colaboradoras, los Servicios Veterinarios ASTEGA y a los operarios y demás personal del SERIDA que ha colaborado.

■ Figura 2. Lesiones macroscópicas en una vaca con lesiones difusas. La pared intestinal aparece muy engrosada, lo que le otorga al intestino un aspecto de tubo de goma (A). La mucosa y la submucosa intestinal presentan gruesos pliegues que asemejan las circunvoluciones cerebrales con una ligera congestión (B).

