



UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y AGRONOMÍA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

**Seroprevalencia de Paratuberculosis Bovina, en
ganado de doble propósito perteneciente a un fundo de
la comuna de Curacaví, Región Metropolitana, Chile**

Trabajo de título para ser presentado
como requisito para optar al título de
Médico Veterinario

Profesores responsables:

Profesor guía: Roberto Muñoz
Profesor corrector: Vicente Aljaro

CAROLINA ISLA DEL CANTO

SANTIAGO- CHILE

2016

Resumen

La paratuberculosis o enfermedad de Johne es una enfermedad intestinal granulomatosa crónica, causada por *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis (*Map*). La enfermedad afecta principalmente a los bovinos de carne y leche.

Clínicamente se manifiesta con diarrea progresiva, pérdida de peso y eventual muerte, pero existen muchos casos que se presentan subclínicamente.

La enfermedad ocasiona importantes pérdidas económicas para los productores.

El período crítico de susceptibilidad es durante los 6 primeros meses de vida. La eliminación del *Map* es a través de la materia fecal.

Los animales se infectan cuando son jóvenes y manifiestan signos clínicos 2 a 5 años después.

Los animales infectados eliminan billones de bacterias diariamente y el microorganismo permanece viable durante más de un año según las condiciones ambientales.

Se ha demostrado una fuerte asociación entre paratuberculosis y enfermedad de Crohn. La teoría de que *Map* es causa de enfermedad en el hombre no ha sido probada pero tampoco ha sido negada.

Esta es una enfermedad infecciosa por lo tanto debe ser manejada como un problema de predio y no solo como una enfermedad individual.

El control de la paratuberculosis requiere cambios en las medidas de manejo y se deben identificar y eliminar los animales enfermos.

La mejor prueba es el aislamiento de *Map* a partir de muestras de materia fecal ya que tiene un resultando 100% específico; el inconveniente de este método es que es una técnica lenta y costosa. Está el test de ELISA que es más rápido y de menor costo pero también menos específico.

Índice

	Pág.
Capitulo 1: Introducción.....	5
Capitulo 2: Revisión bibliográfica	
2.1) Descripción de la enfermedad.....	6
2.2) Etiología.....	7
2.3) Patogenia.....	8
2.4) Signos clínicos.....	9
2.5) Hallazgos de necropsia.....	10
2.6) Epidemiología.....	11
2.7) Diagnóstico.....	12
2.8) Diagnóstico diferencial.....	16
2.9) Morbilidad y mortalidad.....	17
2.10) Definición de caso.....	18
2.11) Situación en Chile.....	19
2.12) Situación internacional.....	20
2.13) Impacto económico.....	23
2.14) Control.....	25
2.15) Prevención.....	29
2.16) Salud pública.....	31
2.17) Clasificación de rebaños.....	33
2.18) Notificación a las autoridades.....	34
2.19) Certificación de los rebaños.....	35

Capitulo 3: Objetivos e hipótesis

3.1) Objetivo general.....	36
3.2) Objetivo específico.....	36
3.3) Hipótesis.....	36

Capitulo 4: Materiales y métodos

4.1) Materiales.....	37
4.2) Métodos.....	37
4.2.1) Fórmula de Prevalencia (P).....	38

Capitulo 5: Presentación y discusión de los resultados

5.1) Presentación de los resultados.....	39
5.2) Discusión de los resultados.....	40

Capitulo 6: Conclusiones.....

Capitulo 7: Bibliografía.....

Anexos.....

Capítulo 1: Introducción

En el presente documento se describe la Prevalencia de la Paratuberculosis bovina en un predio de la Región Metropolitana utilizando el método de diagnóstico de ELISA. Para determinar de esta manera los animales de este predio que dan positivo como resultado, e ir eliminando aquellos animales que tengan esta patología y de esta manera controlar la propagación dicha enfermedad y conseguir que este predio quede negativo y libre de paratuberculosis.

Capítulo 2: Revisión bibliográfica

2.1) Descripción de la enfermedad

La paratuberculosis, o Enfermedad de Johne, es una enteritis crónica contagiosa que afecta a los rumiantes, principalmente a bovinos (generalmente ganado lechero), ovinos, caprinos y otras especies de rumiantes causada por *Mycobacterium avium subespecie paratuberculosis (Map)* o *Micobacterium paratuberculosis* (Thorel y Levy, 1990).

Este organismo que fue aislado por primera vez en Alemania por Johne y Frothingham en 1895, la cual provoca muchas pérdidas económicas debido a menor producción de leche, menor valor de la canal al sacrificio, disminución de la vida productiva de las vacas por eliminación prematura por disminución de la fertilidad, y los posibles costos asociados al diagnóstico y tratamiento (Raizman, Wells et al, 2004).

Sin embargo, estimar los verdaderos efectos económicos de paratuberculosis sigue siendo muy difícil, debido a que las estimaciones de prevalencia son inciertas y la mayoría de los animales infectados son portadores subclínicos (Harris y Barletta, 2001).

El aislamiento de *Map* desde el tejido intestinal de pacientes con la enfermedad de Crohn ha llevado a la preocupación que pueda ser patógeno para los seres humanos (Harris y Barletta, 2001).

La paratuberculosis es una enfermedad inscrita en la lista del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Su identificación es de declaración obligatoria y debe ser notificada a la OIE (Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE).

2.2) Etiología

La paratuberculosis es causada por el *Map*, es un bacilo Gram positivo, ácido alcohol resistente de 0.5 a 1.5 μ M (Clarke, 1997).

En medios sólidos (HEYM), *Map* desarrolla colonias rugosas despigmentadas, y es virtualmente idéntico a *Map*; sin embargo, las características fenotípicas entre ambos organismos son diferentes: *Map* crece de manera más lenta, requiere un transportador de hierro químicamente conocido como micobactina e infecta preferentemente a mamíferos antes que aves (Clarke, 1997).

El *Map* tiene la capacidad de crecer y multiplicarse dentro de los macrófagos, es un patógeno intracelular facultativo, este está determinado por 2 características del microorganismo en particular: (Collins, 2003a).

- a) Posee un componente único de la pared de las micobacterias que es resistente a la destrucción o penetración (Collins, 2003a).
- b) Es capaz de producir factores que neutralizan los químicos antibacterianos producidos en el interior de los macrófagos (Collins, 2003a).

Dentro de sus características se destaca su resistencia al calor y frío extremos, a los antibióticos y desinfectantes que normalmente son eficaces contra *Mycobacterium bovis* (agente causal de tuberculosis bovina) y también al cloro (Collins, 2003a).

Se destaca su capacidad de sobrevivir en biofilms en la superficie del agua, lo que se traduce en una mayor resistencia al estrés químico; además es capaz de sobrevivir en praderas por más de un año e incluso resiste el proceso de ensilaje (Harris y Barletta, 2001).

2.3) Patogenia

La entrada de *Map* en el hospedero susceptible ocurre principalmente mediante la ingestión de materia fecal y/o alimento contaminado, leche o calostro. Después de la ingestión, las micobacterias sufren endocitosis por parte de los macrófagos del epitelio que recubre los tejidos linfáticos del intestino delgado, específicamente en la zona en el íleon, en las denominadas Placas de Peyer; posteriormente hay una respuesta humoral iniciada por la liberación del bacilo desde los macrófagos moribundos, presentándose diferentes espectros inmunopatológicos dependientes de la respuesta del hospedador (Clarke, 1997).

Las lesiones comienzan como granulomas encapsulados muy discretos en la pared del intestino y en los nódulos linfáticos; con el tiempo, las lesiones inflamatorias pueden convertirse en grandes granulomas o en una difusa inflamación granulomatosa con un número variable de bacterias ácido alcohol resistentes en el interior de macrófagos y de células gigantes multinucleadas (Whitlock y Buerguelt, 1996).

Se produce una atrofia de las vellosidades y la pared intestinal se engrosa, la superficie mucosa adquiere una apariencia ondulada y granular, además hay secreción de líquido desde el intestino al lumen; estos cambios comprometen la función de absorción del intestino (Clarke, 1997).

El íleon ya no es delgado y flexible, y no puede ser fácilmente estirado, en la superficie de la serosa de este segmento intestinal se pueden ver engrosados y dilatados los vasos linfáticos (Collins, 2003 b).

En las últimas fases de la infección, el animal comienza a producir anticuerpos circulantes contra *Map*; la detección de estos anticuerpos es un indicador de los signos clínicos de esta enfermedad y de la cercanía a la muerte. No hay ninguna terapia exitosa tanto en costo como en efectividad para esta enfermedad (Collins, 2003b).

2.4) Signos clínicos

Los animales normalmente se infectan con *Map* cuando son terneros, pero los signos clínicos de la enfermedad casi siempre sólo son visibles después cuando son adultos, generalmente no antes de los 5 años. El período de incubación de paratuberculosis desde la infección hasta a la enfermedad propiamente tal es prolongado, con un promedio de 7 años (Collins, 2003a).

La enfermedad clínica se caracteriza por la presencia de diarrea acuosa profusa e intermitente que conduce a emaciación (adelgazamiento excesivo patológico), aunque el apetito se mantiene normal; además de tener un estado afebril y también se asocia a disminución de la producción láctea y edema submandibular. Esta enfermedad siempre tiene un desenlace fatal para el animal (Whitlock y Buerguelt, 1996, Collins, 2003a).

2.5) Hallazgos de necropsia

Las lesiones de la paratuberculosis usualmente se observan en la última región del intestino delgado, en ciego y colon. En casos severos las lesiones se extienden desde el duodeno hasta el recto (Ellingson, Cheville et al, 2003).

La mucosa intestinal se observa engrosada y corrugada especialmente en el íleon; la válvula ileocecal se observa con edema y engrosamiento severo (Ellingson, Cheville et al, 2003).

Los ganglios linfáticos ileocecales y mesentéricos se observan edematizados y aumentados de tamaño (Ellingson, Cheville et al, 2003).

En estado clínico, las lesiones macroscópicas en la pared intestinal pueden no ser tan severas, pero al microscopio son significativamente importantes con la presencia de linfangitis de vasos intestinales (Ellingson, Cheville et al, 2003).

En algunos animales se puede presentar arteriosclerosis (Ellingson, Cheville et al, 2003).

Las lesiones inflamatorias se observan dispersas a lo largo de todo el tracto intestinal, pero hay mayor predominancia en el tejido linfoide asociado a mucosas, especialmente las placas de Peyer con infiltrado de macrófagos, neutrófilos y linfocitos (Ellingson, Cheville et al, 2003).

La inflamación se encuentra principalmente en los ganglios linfáticos de las placas de Peyer del yeyuno y del íleon, pero también se encuentran en las áreas intermoleculares de la mucosa intestinal (Ellingson, Cheville et al, 2003).

2.6) Epidemiología

La paratuberculosis, inicialmente fue reconocida en el ganado bovino, después en ovinos y posteriormente en caprinos, se encuentra muy a menudo en rumiantes domésticos y silvestres presentando una distribución global. Se ha descrito la enfermedad en caballos, cerdos, ciervos y alpacas, y recientemente en conejos, visones, zorros y comadrijas, pudiendo actuar estos últimos como reservorios silvestres (Collins, 2003a).

En condiciones naturales, la enfermedad en rumiantes se transmite mediante ingestión de *Map* a partir del ambiente contaminado; el patógeno infecta el intestino y es excretado por las heces, por lo que la ingestión de alimento o agua contaminada es la vía más común de infección (Collins, 2003a).

Además de las heces, el microorganismo puede encontrarse en el calostro y leche de las vacas adultas con un estado avanzado de la enfermedad, por esto la fuente primaria de contagio en terneros es la leche procedente de vacas infectadas o leche contaminada con heces de animales enfermos; de esta manera, se determina que la mayor asociación está entre las hembras de mayor edad infectadas con *Map* con la infección de su descendencia (Collins, 2003a); de igual manera, puede transmitirse verticalmente desde el útero infectado al feto y el semen puede infectarse con el microorganismo (Harris y Barletta, 2001).

La enfermedad persiste después de la introducción de animales infectados, ya que la oportunidad para la transmisión de *Map* a los otros animales (sanos) aumenta mientras más largo es el período en que estos animales permanecen en el rebaño (Collins, 2003a).

2.7) Diagnóstico

El diagnóstico de la paratuberculosis se realiza sobre bases clínicas que después se confirman demostrando la presencia de *Map* en las heces y/o en tejidos, por cultivo o mediante la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa); otra forma es la detección de la respuesta inmune de los animales infectados ya sea de tipo celular (Interferón gamma y prueba alérgica intradérmica) o humoral (ELISA, FC, AGID) (Collins, 1996).

El diagnóstico por necropsia se lleva a cabo mediante la búsqueda de lesiones patognomónicas de la enfermedad en los intestinos (granulomas encapsulados muy discretos en la pared del intestino y en los nódulos linfáticos; con el tiempo, las lesiones inflamatorias pueden convertirse en grandes granulomas o en una difusa inflamación granulomatosa), o con la demostración de los típicos organismos ácido - alcohol resistentes en frotis de impresión de las lesiones (Collins, 1996).

Llevar a cabo un diagnóstico en animales con signos clínicos (diarrea y pérdida de peso) es fácil, pero la determinación de la infección en el ganado que es clínicamente normal es un gran desafío, ya que no todos presentan signos clínicos evidentes (Collins, 2003b).

En general, se utilizan dos pruebas en forma regular para el diagnóstico de la enfermedad (ELISA y cultivo fecal) (Collins, 2003b).

a) ELISA es la prueba más utilizada para la detección de anticuerpos circulantes anti *Map* tanto en suero sanguíneo como en leche. Su sensibilidad promedio es de 45%, pudiendo variar entre 25% en animales subclínicos y hasta un 75% en animales con sintomatología clínica, es una prueba serológica rápida y de bajo costo, sin embargo, es menos sensible y específica que el cultivo fecal (Whitlock y col 2000), ya que la producción de anticuerpos circulantes aparece tardíamente en el curso de la enfermedad, por lo que no es posible detectar los animales en estados iniciales de la infección (Collins, Lisby et al, 2006)

b) El cultivo fecal es considerado la mejor prueba diagnóstica para la infección por *Map*, porque se considera que su especificidad es de un 100% y detecta vacas en una fase de infección temprana (Collins 2003b); a pesar de esto, es costoso, y en medios sólidos requiere de 3 a 4 meses para obtener resultados, debido a que *Map* es una bacteria nutricionalmente exigente, micobactina dependiente y de crecimiento lento (Collins, 1996).

- Individual: Es el método de cultivo más común y se considera el “gold standard” en el animal vivo. Su sensibilidad es variable y depende de la fase de infección, del nivel de eliminación fecal y de la homogeneidad de la muestra, especialmente en fases de eliminación leve. Alguna variabilidad existe también entre diferentes tipos y protocolos de cultivo. La especificidad del cultivo se considera 100%. (SAG, 2014)

- Pool animal: Es un método de cultivo fecal agrupado (pool), donde varias muestras fecales (hasta 5) constituyen un cultivo unitario. Este procedimiento requiere de muestras fecales individuales y tiene una sensibilidad similar al cultivo fecal individual y varía según la fase de la infección y del nivel de eliminación fecal. (SAG, 2014)

- Medio ambiente: Muestras ambientales colectadas de pozos purineros o de áreas donde una gran proporción del rebaño está congregado o transita frecuentemente (patios de estabulación, sala de ordeña, pasillos, maternidades, patios de espera, etc.) (SAG, 2014)

Ya que *Map* es eliminado al medio ambiente por el ganado lechero mediante las deposiciones y parece sobrevivir bien, se destaca la gran importancia que tiene el manejo de estrategias de control de paratuberculosis, reduciendo la contaminación ambiental por *Map* y de esta forma la exposición del ganado (Raizman et al, 2004). A partir de esto se recomienda el cultivo de muestras ambientales en medio sólido o líquido para la determinación del estatus de infección del rebaño, pero a pesar de esto, si se obtienen cultivos ambientales negativos, no se asegura que el rebaño esté libre de la enfermedad, sino que la prevalencia puede ser baja en ese momento (Collins, Manning et al, 2006).

Una alternativa para reducir los costos del cultivo fecal es realizar cultivo de pools fecales sin alterar la sensibilidad del cultivo fecal individual (Collins, et al, 2006), o realizar el cultivo de muestras ambientales para determinar el estatus de infección del rebaño (Raizman, 2004, Berghaus, 2006, Lombard, 2006).

El cultivo de pools fecales, que incluye varias muestras fecales en una sola unidad de cultivo, ha sido sugerido como una buena estrategia para reducir el costo del procedimiento en los programas de control de paratuberculosis en los rebaños lecheros (Wells, et al, 2003), ya que permite examinar un gran número de animales en un rebaño, porque sólo los pools positivos necesitan ser re-examinados individualmente para identificar los animales infectados; sin embargo, esto todavía requiere muestras individuales y tiene una sensibilidad inconstante dependiendo de la etapa de la infección y el nivel de eliminación por las heces (Pradenas, 2008).

También existen 2 pruebas más, que son las menos habituales: (SAG, 2014).

PCR: Para detectar la presencia de *Map*, a través de pruebas moleculares. La secuencia de inserción IS900 puede ser usado como método de diagnóstico, así como para la confirmación de identidad de una colonia sospechosa de *Map* a partir de un cultivo (SAG, 2014).

Histopatología: Demostración de la respuesta inflamatoria y la presencia de *Map* en cortes histológicos de mucosa intestinal (íleon) y nódulos linfáticos mesentéricos (SAG, 2014).

Los principales problemas que dificultan el aislamiento del agente a partir de muestras de heces son 2 (Timms, 2011).

a) La contaminación de los medios de cultivo debido al largo período de incubación, especialmente con hongos (Timms, 2011).

b) La baja concentración del agente en las heces (Timms, 2011).

Es por esto que la descontaminación de las muestras previo a la inoculación de los medios de cultivo, es esencial para facilitar el aislamiento de *Map* (Timms, 2011).

Los productos químicos utilizados como agentes descontaminantes han sido diversos, el más reciente es el cloruro de hexadecilpiridinio (HPC), que ha sido el producto que ha mostrado la mejor capacidad descontaminante y un mínimo daño a la bacteria (Collins, 1996).

El método de cultivo convencional para el aislamiento de *Map* a partir de material fecal, del medio ambiente o de tejidos en medios sólidos, se realiza mediante el medio de Herrold con yema de huevo y micobactina J (HEYM) en tubos de agar inclinado, sin embargo el cultivo en medios sólidos requiere, a lo menos, 16 semanas de incubación para obtener resultados (Collins, 1996).

Para acortar el tiempo de incubación, se desarrolló el cultivo en medio líquido mediante el sistema automatizado BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson), el cual se basa en la detección de una señal fluorescente que se desarrolla a partir de un indicador en la base del medio de cultivo que señala el consumo de oxígeno durante la respiración microbiana, lo cual debe ser posteriormente confirmado por PCR para determinar la identidad del agente presente en el medio. El crecimiento del microorganismo en medios líquidos es más rápido, y su incubación concluye generalmente después de 7 semanas (Collins, 2003b).

2.8) Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial incluye: (Collins, 1996).

- Parasitismo gastrointestinal.
- Peritonitis.
- Amiloidosis renal.
- Linfoma.
- Insuficiencia renal.
- Salmonelosis crónica (Collins, 1996).

Y otras enfermedades infecciosas crónicas, deficiencia de cobre y desnutrición (Collins, 1996).

2.9) Morbilidad y mortalidad

La incidencia de la enfermedad clínica en un rebaño infectado es muy baja y raras veces excede el 5% de los animales adultos (Radostits, Gay et al, 2004).

La mortalidad es inferior al 1% anual, pero en circunstancias excepcionales puede alcanzar hasta el 5 ó 10%. Aunque las pérdidas por muertes no son muy elevadas, si se añade a ello las causas por los largos períodos de mal estado de salud y la reducción de la productividad, las pérdidas económicas pueden ser significativas (Radostits, Gay et al, 2004).

Por cada caso clínico de paratuberculosis en un rebaño se estima que hay de 15 a 25 animales más infectados en varios estadios de la enfermedad clínica, subclínica o como portadores adultos, y de 10 a 14 con infección latente en terneros, vacas jóvenes y vacas adultas (Radostits, Gay et al, 2004).

2.10) Definición de caso

Caso sospechoso: Bovino adulto que presente pérdida de peso progresiva, con severa emaciación y pérdida de grado de la condición corporal, pero no pierde el apetito normal o cercano a lo normal (SAG, 2004).

Caso probable: Caso sospechoso con prueba serológica positiva y a la necropsia presencia de mucosa ileal corrugada, aumento de volumen de nódulos linfáticos mesentéricos y engrosamiento de los vasos linfáticos mesentéricos (SAG, 2004).

Caso confirmado: Aislamiento de *Map* o detección del mismo a partir de muestras de material fecal, leche o tejidos o bien demostración de bacilos ácido-alcohol resistentes en cortes histológicos de mucosa intestinal (íleon) de casos sospechosos o probables y/o nódulos linfáticos mesentéricos con lesiones típicas de PTB (SAG, 2004).

2.11) Situación en Chile

Es probable que la paratuberculosis haya estado presente en Chile desde hace muchos años atrás, pero fue descrita por primera vez en la provincia de Valdivia en 1958, a través el estudio de tres casos de bovinos con diarrea crónica intermitente. En 1975 se registra un nuevo hecho histórico en Chile en relación a paratuberculosis, cuando se describe por primera vez la enfermedad en ovinos, también en la provincia de Valdivia (Kruze y Salgado, 2007)

En Chile no existen antecedentes oficiales de prevalencia a nivel nacional, pero un estudio serológico realizado en 1996 por el Ministerio de Agricultura en las regiones V, VI, VII y RM en un universo de 84 rebaños lecheros y 1.185 vacas, demostraron una seroprevalencia de 37% de rebaños positivos y una seroprevalencia individual de 2,8%, cifras muy similares a las descritas en otros países (Kruze y Salgado, 2007).

Posteriormente, en el año 2003, se realiza un proyecto el sur de Chile para validar la prueba ELISA IDEXX, los resultados obtenidos demostraron una seroprevalencia de 78% a nivel de rebaño y 7% a nivel individual, aislándose el agente etiológico en el 35,7% de los rebaños y 3,9% de los animales (Kruze, salgado et al 2005).

Estos antecedentes confirman que la paratuberculosis es una enfermedad de alta prevalencia a nivel de rebaños (25-75%) pero de baja prevalencia individual (2-7%). Del mismo modo, se evalúa el uso del cultivo de pool fecal para el diagnóstico bacteriológico de rebaños infectados, concluyendo que el pool fecal de 5 animales no altera la sensibilidad del cultivo fecal individual pero disminuye los costos del examen (Pradenas, 2008).

En los últimos años, las nuevas investigaciones que han sido realizadas en el Laboratorio de Paratuberculosis del Instituto de Bioquímica y Microbiología de la Universidad Austral de Chile han demostrado la existencia de infección por *Map* en caprinos y en diferentes especies de animales silvestres tales como guanacos, ciervos (Kruze y Salgado, 2007), pudúes (Salgado, 2009a), liebres (Salgado, 2009b) y se determinó la presencia de la bacteria en el medio ambiente en tres áreas diferentes donde se concentran los animales en predios lecheros de la Región de Los Lagos, Burgos.

2.12) Situación internacional

La paratuberculosis tiene una amplia distribución mundial, se sospecha que la mayoría de los países tienen presencia de *Map* en diferentes grados de prevalencia (tabla 1) (Pérez, 2009).

La mayoría de los países europeos analizados presentaron más del 50% de rebaños afectados, las diferencias que se observan son difíciles de interpretar, especialmente debidas al uso de metodologías diferentes (Pérez, 2009).

Se estima que a nivel mundial la enfermedad no ha alcanzado su distribución potencial y continua expandiéndose. La prevalencia de la infección en una región específica es difícil de determinar, debido a la poca confiabilidad del método diagnóstico y a la falta de información sobre los casos reales presentes, a menos que se ponga en marcha una investigación específica y un plan de erradicación (Kruze y Salgado, 2007)

Debido al carácter insidioso de la paratuberculosis, se considera que representa una amenaza potencial oculta para la industria de la ganadería (Kruze y Salgado, 2007)

La mayoría de los estudios sobre prevalencias se han basado en los resultados de cultivos de muestras fecales o tisulares procedentes de vacas seleccionadas para su sacrificio (Kruze, Salgado, 2005).

En España, la enfermedad parece estar ampliamente distribuida en el ganado de bovinos, pero no existen trabajos referentes a prevalencias, el estudio más amplio fue el que se llevo a cabo por Juste, et al.(2000) en el que encontraron una prevalencia individual del 30% en vacas sacrificadas en matadero y de un 10% usando PCR en muestras de tanque de leche. Más recientemente, se estimó que cerca del 50% de los rebaños vacunos de la montaña Leonesa presentaban al menos un animal infectado con paratuberculosis (Pérez, 2009).

En Asturias se hicieron estudios que se llevaron a cabo en el SERIDA en los que se utilizaron diferentes técnicas diagnósticas y encontraron en animales sacrificados en matadero una prevalencia de un 44,4%, aunque hay que tener en cuenta que el 39,6% del total de esos animales presentaron lesiones de tipo focal. También se determinó la prevalencia de la paratuberculosis en 16 rebaños de vacuno lechero mediante un ELISA casero, la prevalencia en 15 rebaños fue entre un 3,1% y un 22,2%, con un promedio de un 11,32%. Solo hubo un rebaño en el que no se detectó paratuberculosis (Balseiro, 2003)

En Estados Unidos según la región estudiada, el porcentaje de vacas infectadas variaba entre un 2,6 % y un 18 %. La prevalencia del germen en los ganglios linfáticos ileocecales de vacas seleccionadas fue del 1,6 % en general, del 2,9% en las de leche y el 0,8% en las de carne. La distribución geográfica no era uniforme sino que algunos estados tenían un mayor número de rebaños infectados que otros (Pradenas, et al, 2008) (Kruze y Salgado, 2007).

En un estudio seroepidemiológico en Austria se comprobó la prevalencia del 6 a 7 % de los rebaños (Kruze, salgado et al, 2005).

Suecia y algunos estados de Australia son los únicos lugares del mundo que son libres de la paratuberculosis, esto se sustenta en la base que posee un sistema de información confiable y amplios estudios usando pruebas de laboratorio (Kruze, salgado et al, 2005).

La prevalencia de la infección en una región determinada es difícil de estimar, debido a la inseguridad del diagnóstico y a la falta de información sobre los casos reales a menos que se ponga en marcha una investigación específica o un programa de erradicación (Radostits, Gay et al, 2004).

Algunas publicaciones estiman que la prevalencia de paratuberculosis bovina en países de Europa está dentro del rango del 7% y 55%. En EEUU es de un 22%, aunque se le asocia al tamaño del rebaño, donde la prevalencia es de un 40% en rebaños mayores de 300 animales. En Australia la enfermedad no está uniformemente distribuida por el país, variando la prevalencia entre 9% y 22% (Manning, Collins et al, 2001).

Esta enfermedad tiene una alta prevalencia en muchos países (Soto, et al, 2002) y actualmente existe una gran preocupación entre los productores de ganado bovino en el sur de Chile por confirmar su diagnóstico. Aunque en Chile no existen antecedentes oficiales sobre prevalencia de Paratuberculosis bovina, es posible sospechar que existe un elevado porcentaje de rebaños infectados, especialmente en rebaños lecheros (Kruze, 2001).

Hay datos no publicados del Servicio Agrícola y Ganadero (S.A.G.), y del Ministerio de Agricultura que revelan que en 1996 un monitoreo realizado en la V, VI, VII y Región Metropolitana detectó un 36.9% de rebaños positivos de un total de 84 examinados, y 2.8% de animales positivos de un total de 1855 examinados con ELISA (Kruze, 2001).

Por otro lado, datos no publicados recopilados en el Laboratorio de Bacteriología de Cooprinsem, Osorno, revelan que en 1999 se diagnosticó la enfermedad empleando la prueba de ELISA en el 52.2% de 23 rebaños lecheros localizados principalmente en la provincia de Osorno, con una prevalencia individual de 16.3% de animales positivos (Kruze, 2001).

2.13) Impacto económico

Existe un grave impacto económico por las altas prevalencias especialmente en la ganadería de alta producción lechera (Juste, 2009).

Las pérdidas son muy difíciles de cuantificar debido a que esta enfermedad produce un gran número de animales infectados subclínicamente que pasan desapercibidos (Juste, 2009).

Estas pérdidas engloban tanto las de tipo directo, por mortalidad prematura, como indirectas por disminución en la producción lechera, problemas de infertilidad, descenso en el valor de la canal (Juste, 2009).

Un aspecto importante a considerar es que cada vez hay mayor preocupación por la posible implicación de *Map* como agente etiológico de la enfermedad de Crohn en humanos, ya que es un proceso que también está caracterizado por una enteritis granulomatosa crónica, aunque su relación no ha sido definitivamente comprobada mediante el aislamiento de *Map* en sangre y tejidos de pacientes con esta enfermedad. No obstante esta posibilidad ha despertado un gran interés sobre el posible papel zoonótico de esta micobacteria (Juste, 2009).

Está demostrado que la *Map*: (Juste, 2009).

a) Disminuye la fertilidad hasta el 6 % (Juste, 2009).

b) Las vacas en ordeño disminuyen la producción láctea en un 10 % del total de la producción lechera (Juste, 2009).

c) La duración de la lactancia disminuye a la mitad en la séptima lactancia (Just, 2009).

e) Se produce un lento aumento de peso del animal o disminución gradual del mismo, perdiendo en promedio el 15 % del peso normal (Juste, 2009).

- f) Causa predisposición a otras enfermedades, como efecto secundario hay reducción de la inmunidad y aumenta la susceptibilidad a otras enfermedades como por ejemplo Leucosis enzoótica bovina (Juste, 2009).
- g) La esterilidad de las vacas tuberculosas aumenta entre el 5-10 % (Juste, 2009).
- h) Hay disminución de la producción cárnea en bovinos y porcinos (Juste, 2009).
- i) Hay pérdida de parición de terneros y lechones en hembras tuberculosas (Juste, 2009).
- j) El costo de las pruebas tuberculínicas es alto (Juste, 2009).
- k) El costo de tratamiento en casos humanos es muy alto (Juste, 2009).

2.14) Control

El control de la paratuberculosis es dificultoso, por diferentes razones: La *Map* tiene un largo período de incubación, tiene una detección inexacta de los animales infectados subclínicamente cuando se utiliza solamente un test, y genera gastos adicionales en test complementarios, además tiene la necesidad de un estricto manejo. (Aly, Thumond, et al, 2005).

Este manejo es la a lo que se le denomina diagnóstico y sacrificio de los animales infectados (“test and cull”), con este sistema se lograría disminuir la prevalencia de la infección y el número de excretores del bacilo pero no su erradicación. Para ello se debería que eliminar a todos los animales en los que se hayan detectado micobacterias en las heces, realizando cultivos cada 3-4 meses; Eliminar a todos los animales serológicamente positivos; El método ideal para detectar y eliminar el mayor número posible de infectados sería la combinación de varias pruebas (ELISA, Interferón g y cultivo de heces), si esto se hiciera se tendrían que sacrificar muchos animales en algunas explotaciones, con lo que solo podría aplicarse en casos de muy baja prevalencia (García Marín, 2000).

Para controlar la Paratuberculosis en lechería: (Calldow y Henderson, 2000).

- En primer lugar, es importante realizar pruebas para identificar los rebaños e individuos infectados, y también para identificar rebaños libres de la enfermedad (Calldow y Henderson, 2000).

- Segundo, se deben llevar a cabo medidas para reducir el riesgo de propagar la infección en rebaños infectados y reducir el riesgo de introducir la infección en los predios libres de paratuberculosis. Hay acuerdo en que debe existir una clara responsabilidad por parte de los dueños para precisar la naturaleza a largo plazo del proceso de erradicación de la paratuberculosis. La erradicación tomará muchos años dependiendo de la prevalencia en el rebaño y de la agresividad de las medidas adoptadas (Calldow y Henderson, 2000).

Dentro del plan de control está la posibilidad de vacunación, pero no tiene una protección completa contra la enfermedad. Hay un control relativamente bueno de la enfermedad clínica para esta vacuna, pero la infección subclínica persiste. Esta vacuna se aplica a animales jóvenes dentro del primer año de vida (Wells, 2003).

Otras forma de control son las medidas de prevención higiénicas, que son de gran importancia dentro del programa como lo es la bioseguridad (Wells, 2003).

Dentro de estas tenemos:

- No mezclar animales con estado de infección desconocido
- Establecimiento de límites adecuados dentro del rebaño
- No mezclar distintas especies de animales en el mismo lugar
- Evitar el ingreso de animales externos al rebaño
- No usar las fecas como abonos de pradera (Wells, 2003).

Puede usarse transferencia de embriones e inseminación artificial para ofrecer nuevo material genético a un rebaño, o que permita salvar material genético de un animal que está enfermo o es de un rebaño infectado, pero los centros de inseminación artificial no protegen el semen contra la presencia del *Map*, ni ellos exigen toros de rebaños libres de paratuberculosis (Manning y Collins, 2001).

Es importante la sobrevivencia de este microorganismo en las fecas y tierra. Es por esto que una serie de estudios usando fecas de bovinos naturalmente contaminadas se basaron en someter el material contaminado a una variedad de condiciones naturales (Con regulares intentos de re aislar al *Map*) como (Manning y Collins, 2001):

- Frio
- Desecación
- Luz solar
- Cambios de temperatura ambiental
- Lluvia (Manning y Collins, 2001).

En general los *Map* en fecas mantenidas al aire libre sobreviven alrededor de 152 y 246 días, dependiendo de las condiciones específicas. Varios autores concluyen que considerando la longevidad del *Map*, las pasturas pueden ser consideradas una fuente de infección por lo menos durante un año. Dentro de los factores que pueden acortar el tiempo de sobrevivencia del *Map* en la tierra están (Manning y Collins, 2001):

- La desecación
- Exposición a la luz del sol
- PH sobre 7.0
- Un volumen de hierro bajo (Manning y Collins, 2001).

La orina bovina es también un determinante en la sobrevivencia del *Map*, y un incremento en su concentración (2%-10%) causa una reducción en la tasa de sobrevivencia. Un estudio realizado en la sobrevivencia del *Map* en el suelo arado en Australia en 1999, revela el corto período de sobrevivencia en suelo secos alcalinos y un efecto no muy claro de luz UV (Manning y Collins, 2001).

El arado de la tierra también resulta efectivo ya que se exponen las bacterias a la luz solar y a la desecación. Los terneros de madres infectadas deben separarse y mantenerse en terneras individuales, para evitar transmisión a otros terneros sanos. Se les debe dar calostro sólo el primer día y luego serán alimentados con sustituto lácteo. Las madres que parieron o están a punto de parir, deben separarse del resto del ganado. Las madres o nodrizas no deben alimentar a las crías. Todo animal sospechoso debe aislarse inmediatamente del resto del rebaño. También es bueno evitar la compra y venta de animales de dudosa procedencia, ya que esto permitiría diseminar la enfermedad en el rebaño o fuera de este (Abalos, 2002).

Deben ponerse en marcha grandes esfuerzos para realizar un sistema de educación a los productores y veterinarios sobre esta costosa enfermedad, y ayudarlos a desarrollar un sistema de control y estrategias del manejo de la salud del rebaño (Stabel, 2002).

A la fecha, no hay una forma eficaz de tratamiento individual para la paratuberculosis, y los métodos de control por consiguiente, deben ser aplicados a nivel de rebaño, esto significa que el único método de control de los ganaderos para la paratuberculosis, es seleccionar, eliminar y reemplazar. Este concepto establecerá los costos totales directos, es decir, las pérdidas del rendimiento, mas el gasto en control (costo del reemplazo adicional), asumiendo que los costos de control se aplican a nivel de rebaño, por ejemplo, precauciones en bioseguridad que son ineludibles y aplicación de las buenas prácticas ganaderas, incluso cuando el organismo no esté presente a la granja (Scott, Whitlock et al., 2005).

2.15) Prevención

A partir de varios estudios que fueron realizados por la Agencia de Seguridad Alimentaria británica (FSA) los que confirmaron la resistencia de *Map* a la pasteurización de la leche, en 1998 se amplió el tiempo de pasteurización a 72 °C de 15 a 25 segundos (Manning y Collins, 2001)

Posteriormente, entre 1999 y 2000, se analizaron 827 productos lácteos de diferentes puntos de venta en el Reino Unido, comprobándose la existencia de la bacteria en un 2% de los casos. De los casos positivos, el 70% habían recibido tratamiento de 25 segundos a 72 °C (Aly, Thumond, et al., 2005).

Tras todos estos estudios, el Ministerio de Agricultura británico puso en marcha un proyecto con el fin de establecer acciones urgentes para disminuir la exposición humana al bacilo *Map*, fundamentalmente para conseguir eliminar su presencia en la leche pasteurizada (Stabel, 2002).

La Agencia de Seguridad Alimentaria británica (FSA) va a proponer un conjunto de medidas para todo el conjunto de la cadena productiva, con el fin de controlar la presencia de *Map* en la leche. Esta estrategia preventiva, basada en el principio de precaución, comprende los siguientes puntos (Manning y Collins, 2001)

En el Ganado:

- Seguimiento y validación de los métodos actuales de detección de *Map*.
- Realización de una encuesta de la presencia de *Map* en la cabaña ganadera.
- Elaboración de unas directrices para el ganadero, relativas al control de la infección por *Map*.
- Prioridad en los programas de investigación del conocimiento del *Map*, incluyendo el desarrollo de una vacuna contra la enfermedad (Manning y Collins, 2001)

En cuanto a la producción de leche:

- Una revisión de las prácticas de higiene durante el ordeño.
- Revisión de las posibles alternativas de divulgación en prácticas higiénicas durante el ordeño de cara a optimizar las entregas.
- Investigación y divulgación sobre las prácticas de limpieza de los pezones (Manning y Collins, 2001)

En la Industria:

- Producción de una guía de pasteurización para industrias dirigida de forma particular a pequeñas industrias y pasteurizadores en la propia explotación.
- Medidas para mejorar y reforzar a la inspección de la venta directa.
- Recomendar que se pasteurice por encima de 25 segundos.
- Investigación para lograr un tratamiento eficaz para eliminar el *Map* (Manning y Collins, 2001)

2.16) Salud Pública

No se ha demostrado claramente que la paratuberculosis sea una zoonosis (Manning y Collins, 2001). Sin embargo, se ha detectado ocasionalmente el agente causal de la enfermedad de John en algunos pacientes con la enfermedad de Crohn; Esta es una afección inflamatoria intestinal de los humanos, crónica, debilitante y dolorosa, con diarreas, que se asemeja a la enfermedad de Johne (Manning y Collins, 2001).

Se han producido graves problemas de salud pública a través de los productos animales como carne, derivados lácteos y agua contaminada por la transmisión del *Map* de los animales a los humanos y el potencial para infección subsecuente y quizás la enfermedad de Crohn, que está relacionada por algunos con el *Map* (Manning y Collins, 2001).

Los estudios revelan que una simple asociación entre el *Map* y la enfermedad de Crohn, son divergentes e inconclusos. Ningún estudio ha promovido mas allá de una asociación entre organismo y la enfermedad de Crohn, para enfocarlos en casualidad directa (Manning y Collins, 2001).

La enfermedad de Crohn produce una inflamación crónica en el intestino delgado con algunos signos y síntomas clínicos como pérdida de peso, dolor abdominal, diarrea o constipación, vómito y malestar general (Fonkalsrud, et al, 1995).

La mayor incidencia se presenta en personas jóvenes. Aunque la causa de ésta enfermedad no está totalmente definida, se considera un desorden en la respuesta inmune a un estímulo del ambiente o del sistema inmune (Fonkalsrud, 1995).

Estudios epidemiológicos muestran un crecimiento de la incidencia y prevalencia de la enfermedad de Crohn en las últimas décadas. Varias bacterias han sido implicadas como agentes etiológicos de la enfermedad de Crohn tales como: *Klebsiella*, *Chlamydia*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides fragilis*, *Listeria monocytogenes*, *Brucella abortus*, *Yeersinia pseudoparatuberculosis*, *Yersinia enterocolitica* y especies de *Mycobacterium* (Fonkalsrud, 1995).

La contaminación de la leche con el *Map* se puede realizar a través de contaminación fecal o por producción directa de leche contaminada, también por animales asintomáticos (Herman, 2006).

Diferentes estudios demuestran que el *Map* podría estar frecuentemente presente en leche de vacas de granjas y en los estanques de recolección industrial. Ya que la mayoría de los productos lácteos y la leche en sí, son tratadas con calor antes de su consumo, es crucial la efectividad de la pasteurización de la leche para eliminar el *Map*. Investigaciones recientes han demostrado la supervivencia del *Map* bajo condiciones de pasteurización (Herman, 2006).

Si se agregaran las especies de *Mycobacterium* a la lista de patógenos microbianos transmitido por alimentos, las consecuencias económicas a las industrias afectadas serian profundas y de largo alcance. No se ha hecho ningún esfuerzo para estimar el impacto socio económico potencial de la enfermedad (Kennedy y Benedictus, 2001).

2.17) Clasificación de rebaños

Para determinar el estatus de infección de un rebaño, se deberá realizar un chequeo inicial a través de la utilización de las pruebas oficiales (SAG, 2014).

Rebaño infectado: Es aquél que presente uno o más animales con sintomatología típica de paratuberculosis ó aislamiento de *Map* (muestras ambientales ó pooled fecales), ó identificación por técnicas moleculares (PCR), a partir de deposiciones o tejidos de, al menos, un animal del rebaño (SAG, 2014).

Rebaño negativo: Es aquél rebaño que no presenta animales con sintomatología típica de paratuberculosis y con resultados negativos al cultivo fecal o ambiental (SAG, 2014).

Rebaño no infectado: Es aquél rebaño que no ha presentado animales con sintomatología típica de paratuberculosis y con el 100% de sus muestreos con resultados negativos al finalizar el quinto año, habiendo alcanzado el Nivel 4, deberá ser clasificado como rebaño no infectado (SAG, 2014).

2.18) Notificación a las Autoridades

La paratuberculosis debe notificarse a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, por sus siglas en francés). Los requisitos de notificación de la enfermedad a las naciones miembro de la OIE y pautas de importación /exportación pueden encontrarse en el Código Sanitario para los animales terrestres de la OIE [http://www.oie.int/eng/normes/mcode/A_summry.htm]. Los veterinarios que encuentren un caso de paratuberculosis deben seguir las pautas nacionales y/o locales para la notificación y pruebas de diagnóstico correspondientes (OIE).

2.19) Certificación de los rebaños

Los rebaños clasificados como no infectados serán certificados oficialmente, teniendo una vigencia esta certificación por 12 meses (SAG, 2014).

Los rebaños clasificados en esta condición podrán optar al año de esta certificación a niveles superiores de condición sanitaria respecto a PTB, cuyos requerimientos se indican a continuación: (SAG, 2014).

- Nivel 1: Los rebaños han desarrollado un plan de bioseguridad y tienen resultado negativo a prueba ELISA en 30 muestras de animales de segundo parto o más, ó cultivo de pools de fecas o muestras ambientales. Esta condición se mantendrá si se realiza un segundo muestreo en las mismas condiciones, 12 meses después del último realizado (SAG, 2014).

- Nivel 2: Los rebaños mantienen los requerimientos para nivel 1, y tienen un muestreo estadístico en animales de segundo parto o más, mediante la prueba ELISA. Esta condición se mantendrá si se realiza un segundo muestreo 12 meses después del último realizado, a partir de 30 muestras negativas a prueba ELISA, en animales de segundo parto o más, o cultivo de pools de fecas ó muestras ambientales (SAG, 2014).

- Nivel 3: Los rebaños mantienen los requerimientos para nivel 2, y tienen un muestreo estadístico en animales de segundo parto o más, mediante la prueba de cultivo fecal. El cultivo fecal debe ser colectado 12 meses después del último realizado para nivel 2. La condición de nivel 3 se mantendrá por obtención de 30 muestras negativas a prueba ELISA, en animales de segundo parto o más, cada 12 meses (SAG, 2014).

Nivel 4: Mantener los requerimientos para nivel 3 y tener un muestreo estadístico negativo en animales de segundo parto o más, mediante la prueba ELISA o cultivo fecal. El muestreo deberá realizarse 12 meses después del último realizado para nivel 3. La condición de nivel 4 se mantendrá por obtención de 30 muestras negativas a prueba ELISA, en animales de segundo parto o más, cada 12 meses (SAG, 2014).

Capítulo 3: Objetivos e hipótesis

3.1) Objetivo general

Determinación de la seroprevalencia de la paratuberculosis descrita en un predio de bovinos de doble propósito de la Región Metropolitana de tipo intensivo.

3.2) Objetivo específico:

Determinar los bovinos positivos a la paratuberculosis, mediante método de diagnóstico de ELISA.

Asociar signos clínicos compatibles con la enfermedad de los animales positivos.

3.3) Hipótesis:

La seroprevalencia de paratuberculosis en este predio bovino es de un 3%.

Capítulo 4: Materiales y métodos

4.1) Materiales:

- Manga para sujeción de animales, cuerdas u otros.
- Nevera de 5 litros.
- Tubos estériles tapa roja sin anticoagulante.
- Jeringas.
- Agujas 18g.
- Contenedor para material desechable y corto punzante.
- Guantes de procedimiento.
- Alcohol desnaturalizado.
- Agujas con sistema venoject.
- Toalla de papel.

4.2) Métodos

El predio está ubicado en la comuna Curacaví, parcela 29 sector el jial, predio que se dedica tanto a crianza de novillos como a vender leche informalmente.

Se agrupó los animales y se introdujeron a la manga de sujeción, se limpió la zona a utilizar con toalla de papel y luego se procedió a la desinfección del área con algodón y alcohol.

Se tomó una muestra sanguínea extraída de la vena coccígea con sistema de aguja venoject a todos los animales mayores de 6 meses, la cual se depositó en un tubo de ensayo estéril con tapa roja sin anticoagulante.

4.2.1) Fórmula de Seroprevalencia (S.P):

Para determinar la prevalencia de la *Map* presente, se calculó con la siguiente fórmula epidemiológica.

$$\text{S.P.} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de casos positivos encontrados durante el periodo} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ total de animales en riesgo}}$$

Capítulo 5: Presentación y discusión de los Resultados

5.1) Presentación de los resultados (tabla n°1)

a) De los 34 bovinos muestreados la seroprevalencia de este predio es de un 8.8% (grafico n°1)

$$\frac{3 \text{ animales Positivos} \times 100}{34 \text{ animales}} = 8.8\%$$

b) De los 34 animales muestreados solo 3 resultaron positivos (grafico n°2)

5.2) Discusión de los resultados

Se dice seroprevalencia y no prevalencia ya que se muestreo solo a los animales mayores de 6 meses de edad, por ende no es el 100% del predio.

Como dice Collins, 2003b, la mejor prueba diagnóstica para la infección por *Map* es el cultivo fecal, ya que su especificidad es de un 100% y detecta vacas en una fase de infección temprana que la prueba de ELISA; a pesar de esto, es costoso, y en medios sólidos requiere de 3 a 4 meses para obtener resultados, debido a que *Map* es una bacteria nutricionalmente exigente, micobactina dependiente y de crecimiento lento (Collins 1996).

Según Whitlock et al, 2000, ELISA a diferencia del cultivo fecal es una prueba serológica rápida y de bajo costo, y es mas fácil encontrar laboratorios que realicen esta prueba sin embargo, es menos sensible y específica que el cultivo fecal, ya que la producción de anticuerpos circulantes aparece tardíamente en el curso de la enfermedad, por lo que no es posible detectar los animales en estados iniciales de la infección (antes de los 6 meses) (Collins et al, 2006).

Los signos clínicos de los animales positivos de este predio que describen Whitlock y Buergelt 1996, Collins 2003a no son compatibles con la enfermedad ya que se trata de un enfermedad crónica y en este caso en una presentación subclínica (no presenta signos evidentes)

Las medidas de control que se recomiendan para que el predio baje su seroprevalencia o quede negativo según Calldow y Henderson, 2000, son:

a) Primero, de deben realizar pruebas para identificar los rebaños y animales infectados, y también para identificar rebaños libres de la enfermedad

b) Según Wells et al., 2003, Dentro del plan de control está la posibilidad de vacunación, pero no tiene una protección completa contra la enfermedad ya que la infección sub clínica persiste. Solo Hay un control relativamente bueno de la enfermedad clínica para esta vacuna, esta vacuna se aplica a animales jóvenes dentro del primer año de vida.

c) La bioseguridad es otra medida importante de control, dentro de estas están:

- No mezclar animales con estado de infección desconocido
- Establecimiento de límites adecuados dentro del rebaño
- No mezclar distintas especies de animales en el mismo lugar
- Evitar el ingreso de animales externos al rebaño
- No usar las fecas como abonos de pradera (Wells, et al., 2003).

Esto se hace para reducir el riesgo de propagar la infección en rebaños infectados y reducir el riesgo de introducir la infección en los predios libres de paratuberculosis,

d) Estudios de Manning y Collins, 2001, se basan en someter el material contaminado a una variedad de condiciones naturales como:

- Frio
- Desecación
- Luz solar
- Cambios de temperatura ambiental
- Lluvia

Ya que el *Map* no sobrevive a estas condiciones

e) Como dice Manning y Collins, 2001, dentro de los factores que pueden acortar el tiempo de sobrevivencia del *Map* en la tierra están:

- La desecación
- Exposición a la luz del sol
- PH sobre 7.0
- Un volumen de hierro bajo

f) Un incremento en la concentración de la orina bovina (2%-10%) causa una reducción en la tasa de sobrevivencia del *Map*, según lo que dice un estudio de Manning y Collins, 2001.

g) Arar la tierra también resulta efectivo ya que se exponen las bacterias a la luz solar y a la desecación.

f) Los terneros de madres infectadas deben separarse y mantenerse en terneras individuales, para evitar transmisión a otros terneros sanos. Se les debe dar calostro sólo el primer día y luego serán alimentados con sustituto lácteo.

g) Las madres que parieron o están a punto de parir, deben separarse del resto del ganado.

h) Las madres o nodrizas no deben alimentar a las crías.

i) Todo animal sospechoso debe aislarse inmediatamente del resto del rebaño.

j) También es bueno evitar la compra y venta de animales de dudosa procedencia, ya que esto permitiría diseminar la enfermedad en el rebaño o fuera de este

Las ventajas de tener un predio negativo a paratuberculosis son:

- Aumenta la genética
- Aumenta la producción
- Aumenta la reproducción

Capítulo 6: Conclusiones

Se determinó que la seroprevalencia de la paratuberculosis es de un 8.8% para este predio.

Se determinó que solo 3 animales fueron positivos a la prueba de ELISA de un total de 34 animales.

No se encontraron signos clínicos compatibles con la enfermedad.

No se cumple la hipótesis ya que esta era que el predio tenía un 3% de seroprevalencia y los resultados dieron que el predio tiene un 8.8% de seroprevalencia.

Capítulo 7: Bibliografía

- ALY y THURMOND M, 2005. Evaluation of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection of dairy cows attributable to infection status of the dam. J.Am.Vet.Med.Assoc., 227(3):450-4.
- Atlas de Enfermedades Animales Transfronterizas P. Fernandez, W. White; Ed.: 2011
- BELL R, 2001, Estudio de la prevalencia de la paratuberculosis bovina en hembras de reproducción, en explotación lechera del sector del Noviciado, Región Metropolitana, Aljaro, V. Santiago, Chile. Universidad De Las Américas.
- COLLINS M, SOCKETT, 1993. Accuracy and economics of the USDA licensed enzymelinked inmunosorbant assay for bovine paratuberculosis. J. Am. Vet. Med. Ass. 203: 1456- 1463. (Original no disponible). Citado por Whitlock y col. 2000. Vet. Microbiol. 77: 387-398.
- COLLINS M, 1999. Johne's Disease for busy veterinarians. School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin, Madison, USA. Pp. 6.
- COLLINS M, SOCKETT D, GOODGER W, CONRAD T, THOMAS C, CARR D, 1994. Herd prevalence, geographic distribution of, and risk factors for, bovine paratuberculosis in Wisconsin. J Am Vet Med Assoc, 204, pp. 636-641
- COLLINS D, DE ZOETE M, CAVAINAC S, 2002. Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis strains from cattle and sheep can be distinguished by a

- PCR test based on a novel DNA sequence difference. J Clin Microbiol. ;40:4760-4762.
- COLLINS D, DE ZOETE M, CAVAINAC S, 2002. Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis strains from cattle and sheep can be distinguished by a PCR test based on a novel DNA sequence difference. J Clin Microbiol. ;40:4760-4762.
 - COLLINS M, 1996. Diagnosis of paratuberculosis. Vet Clin North Am; 12:357-71.
 - COLLINS M, LISBY G, MOSER C, CHICKS D, CHRISTENSEN S, REICHELDERFER M, 2000. Results of multiple diagnostic tests for Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in patients with inflammatory bowel disease and in controls. J Clin Microbiol. Dic;38:4373–81.
 - COLLINS M, MANNING E. JOHNE'S, 2007. The University of Wisconsin–School of Veterinary Medicine;2007. Available at: <http://www.johnes.org>. Accessed 9 Apr..
 - COLLINS M, MANNING E. JOHNE'S, 2006. Information Center. University of Wisconsin. School of Veterinary Medicine. [citado 20 Abril 2006], URL: <http://www.johnes.org/biology/general.html#1>
 - CLARKE C. 1997. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species. J Comp Pathol, 116, pp. 217-261
 - Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE: www.oie.int/es/normasinternacionales/codigo-terrestre/acceso-en-linea/

- GUTIERREZ, P. 2010. Estudio de la prevalencia de paratuberculosis en vacas de producción, en una explotación lechera ubicada en la comuna de Padre Hurtado, Región Metropolitana, Aljaro V. Santiago, Chile. Universidad De Las Américas.
- JOHNE H, FROTHINGHAM L. EIN EIGENTHÜMLICHER FALL 1985. Von Tuberculose beim Rind. Deutsche Zeitschr Tierm Path, 21, pp. 438-454
- MONTELEONE G, KUMBEROVA A, CROFT N, MCKENZIE C, STEER H, MACDONALD T, BLOCKING SMAD7 2001. Restores TGF-beta1 signaling in chronic inflammatory bowel disease. J Clin Invest, 108, pp. 601-609
- MUNDACA V, 2012. Diagnostico de Paratuberculosis bovina mediante cultivo de muestras ambientales y su relación con la seroprevalencia predial en rebaños lecheros de la VII Región, Aljaro V. Santiago, Chile. Universidad Austral De Chile.
- Manual Merck de Veterinaria: www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?file=htm/bc/206200.htm
- Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres de la OIE: www.oie.int/es/normasinternacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/
- RAIZMAN E, WELLS S, GODDEN S, BEY R, OAKES M, BENTLEY D, 2004. The distribution of Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis in the environment surrounding Minnesota dairy farms. J Dairy Sci, 87, pp. 2959-2966

- Revista Médica De Chile, 2011. Santiago, Chile, 139(6) SciELO, Junio, 2011
- SCOTT J.W., WHITLOCK R.H., LINDEMAN C.J. y FYOCK T. 2005. Evaluation of bacteriologic culture of pooled fecal samples for detection of *Mycobacterium paratuberculosis*. Am. J. Vet. Res. 63:1207-1211.
- The Center for Food Security and Public Health, Iowa State University www.cfsph.iastate.edu/
- World Organization for Animal Health [OIE]. Manual of diagnostic tests and vaccines [online]. Paris: OIE; 2004. Paratuberculosis. Available at: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00045.htm. Accessed 25 Mar 2007.

Anexos

2.1 Tabla n°1: Algunos ejemplos de prevalencias de *Map* en Europa

País	Año	Prevalencia
Alemania	2004	42%
Bélgica	1998	18%
Dinamarca	1998	55%
Francia	1999	68%
Italia	2001	65%
Reino Unido	1995	17%

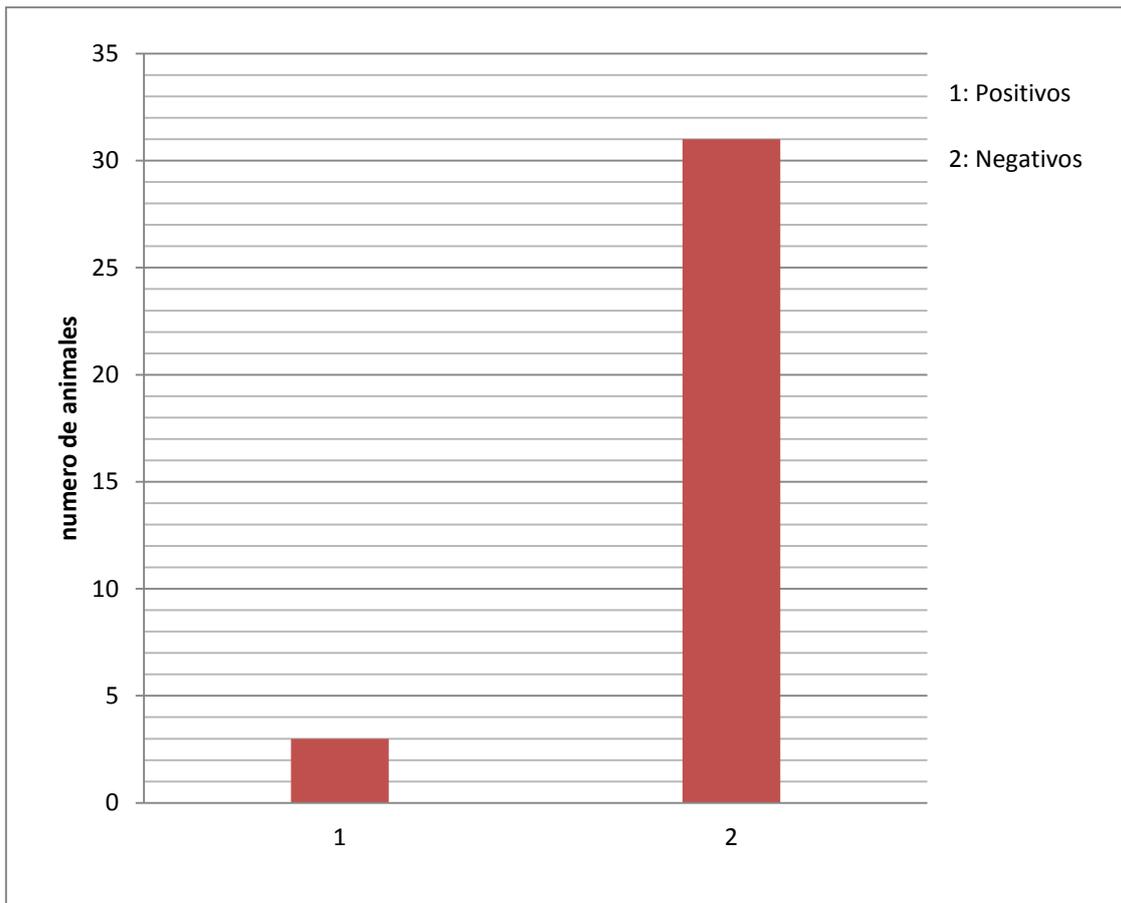
5.1 Tabla n°2: Presentación de los resultados

CROTAL	DIIO	RESULTADO
2092636	0,352	Positivo
2092565	1,98	Positivo
2092607	0,32	Positivo
2092659	0,051	Negativo
2341599	0,065	Negativo
5341582	0,055	Negativo
5341582	0,073	Negativo
5341584	0,044	Negativo
5342589	0,089	Negativo
5342591	0,133	Negativo
5341593	0,065	Negativo
5341597	0,035	Negativo
5341600	0,08	Negativo
5341998	0,057	Negativo
8313493	0,109	Negativo
8313494	0,052	Negativo
8313496	0,052	Negativo
8313497	0,057	Negativo
8313505	0,089	Negativo

8313507	0,069	Negativo
8313508	0,121	Negativo
8313509	0,097	Negativo
8313511	0,055	Negativo
8313514	0,046	Negativo
8313515	0,038	Negativo
8313515	0,051	Negativo
8313516	0,044	Negativo
8313517	0,036	Negativo
8313518	0,065	Negativo
8313519	0,129	Negativo
8313521	0,041	Negativo
5340095	0,088	Negativo
5340096	0,116	Negativo
5340097	0,038	Negativo



5.1 Grafico n°1: De los 34 bovinos muestreados la seroprevalencia es del 8,8%



5.2 Grafico n°2: De los 34 animales muestreados solo 3 resultaron positivos

