



UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y AGRONOMÍA

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

Prevalencia de Paratuberculosis Bovina, en Ganado Doble Propósito Perteneciente a un Fundo Ubicado en la Comuna de María Pinto.

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

Profesores Responsables

Profesor Guía: Roberto Muñoz Álvarez

Profesor Corrector: Vicente Aljaro

GERARDO MORENO VALDÉS

SANTIAGO- CHILE

2017

Índice General.

Capítulo 1: Introducción.....	1
Aspectos Generales.....	2-3
Capítulo 2: Revisión Bibliográfica.....	4
2.1 Descripción de la Bacteria.....	4
2.2 Transmisión y patogenia.....	5-6
2.3 Signos Clínicos.....	7-8
2.4 Diagnóstico.....	9-10
2.5 Control y erradicación.....	11
2.6 Paratuberculosis en Chile.....	12
Capítulo 3: Hipótesis y Objetivos.....	13
3.1 Hipótesis.....	13
3.2 Objetivos.....	13
3.2.1 Objetivo General.....	13
3.2.2 Objetivo Especifico.....	13
Capítulo 4: Materiales y Métodos.....	14
4.1 Materiales.....	14
4.2 Métodos.....	15
Capítulo 5: Presentación y Discusión de los resultados.....	16
5.1 Técnica de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA).....	16
5.2 Presentación de los resultados.....	17
5.3 Discusión.....	18
Capítulo 6: Conclusión.....	19
Capítulo 7: Bibliografía.....	20-21-22

Capítulo 1: Introducción.

1.1 Aspectos Generales

La paratuberculosis, también conocida como enfermedad de Johne es una infección bacteriana del tracto intestinal, crónica y contagiosa, que afecta principalmente a ovinos y bovinos (se observa generalmente en el ganado lechero), caprinos y otras especies de rumiantes. También se ha señalado la enfermedad en caballos, cerdos, ciervos, alpacas, llamas, conejos, armiños, zorros y comadrejas. (OIE, 2014)

La enfermedad de Johne es una severa gastroenteritis crónica granulomatosa con linfangiectasis y linfangitis asociada, cuya consecuencia final es la aparición de un típico síndrome de malnutrición con pérdida crónica y progresiva de peso y diarrea crónica o intermitente. (Brady C., et al, 2008)

Los bovinos generalmente se infectan tempranamente y atraviesan un largo estadio subclínico (años). Las lesiones intestinales comienzan a desarrollarse durante este período, son de naturaleza granulomatosa y generalmente restringidas al íleon y válvula ileocecal. (Gonzales., et al, 2005)

Esta patología ocurre en todo el mundo y causa grandes pérdidas económicas al ganado doméstico. La enfermedad clínica produce una pérdida progresiva de peso, por lo general con diarrea crónica y la muerte eventual de los animales infectados. (Fernández., et al. 2014)

Los primeros indicios de la tuberculosis como tal fueron descritos en 1894 por Johne y Frothingham, los que analizaron muestras intestinales de bovinos con disminución láctea y con baja ganancia de peso, ellos propusieron que el agente causal de esta era el *Mycobacterium avium* y denominaron dicha patología como “pseudotuberculosis enteritis” (Johne y Frothingham, 1895)

Actualmente la paratuberculosis es una patología de carácter mundial, probablemente esta se pueda encontrar en cualquier país que contenga bovinos desempeñando su producción agropecuaria (Fernández., 2016)

En cuanto a la situación a nivel mundial *“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 predios lecheros se encuentran con presencia de Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis (MAP). Estudios en Latinoamérica y el Caribe revelan una prevalencia del 16,9% y del 75,8% en el ganado a nivel animal y en previos respectivamente.”* (Correa y Fernández, 2016)

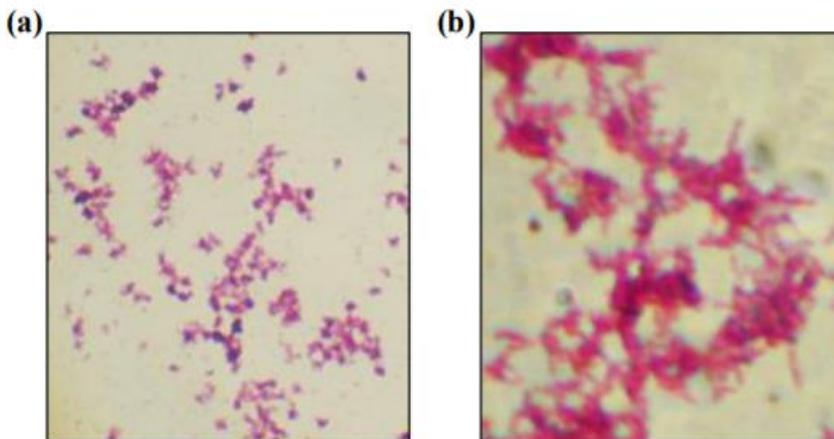
En cuanto a la situación a nivel país, *“En Chile no existen antecedentes oficiales de prevalencia de paratuberculosis a nivel nacional, sin embargo, MAP ha sido aislado en numerosas oportunidades en rebaños bovinos del sur de Chile, y antecedentes no publicados hacen sospechar que existe una alta prevalencia predial. Además, la enfermedad también ha sido descrita en otras especies domésticas y silvestres”* (Pradenas, Kruze y Schaik, 2008)

Capítulo 2: Revisión Bibliográfica

2.1 Descripción de la Bacteria

La paratuberculosis bovina es causada por el bacilo de *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (MAP), este es un bacilo Gram positivo, teniendo un diámetro de 0,5–1,5 μm suele presentarse en forma de “clumps” los cuales se pueden apreciar con la tinción de Ziehl-Neelsen, ácido-alcohol resistente, (Imagen 1) ya que en su pared contiene gran cantidad de ácidos micólicos que se tiñen con fucsina y resisten la decoloración con alcohol ácido. (Fernández y Mundo. 2016).

Imagen 1. *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* teñida con la coloración de Ziehl-Neelsen



Vista microscópica a 100X (a) y a 1000X (b). Se observan pequeños bacilos, algunos de manera dispersa y la mayoría en forma de “clumps”. (Fernández y Mundo. 2016).

Se describe una secuencia genómica exclusiva del gen MAP, esta es la denominada secuencia nucleotida de inserción 900 (IS900) y ya que esta contiene varias copias del genoma de MAP facilita la identificación del microorganismo al someterlo a pruebas como la PCR- anidada que se caracteriza por utilizar dos pares de iniciadores. El primer iniciador es diseñado de una secuencia de la región IS900, con él se obtiene un producto de amplificación mayor a 500 pares de bases (pb). El segundo iniciador fue diseñado de la secuencia de la región interna del producto amplificado (500pb) del que se obtiene un producto de amplificación más pequeño que el producto original lo que aumenta la sensibilidad y especificidad de la prueba. (Cedillo., et al. 2013).

2.2 Transmisión y Patogenia

Esta es una micobacteria de transmisión principalmente horizontal, de forma fecal – oral, esto debido al consumo de pastos, agua o leche contaminados, sin embargo, también puede transmitirse de forma vertical por el útero y la leche de las vacas infectadas. (Sánchez., et al. 2009)

Los animales con presencia de MAP contaminaran los pastos con sus fecas, proporcionando una fuente de infección para otros animales, además, si el MAP está protegido de la luz solar y del secado, pueden mantenerse infectivas en los suelos por más de un año, esto debido a la resistencia que le confiere su pared celular alta en lípidos (ácidos micólicos). (Collins. 1994)

En el ganado lechero el MAP afectara predominantemente a terneros (aunque no de forma exclusiva), esto debido a que los terneros son más susceptibles a la infección por dos razones:

- En rumiantes jóvenes existe un mayor número de placas de Peyer (PP) ileales transitorias las cuales proporcionan un número mayor de células M como puerta de entrada.
- Existe un sistema inmunitario en fase de desarrollo el cual no puede responder de forma óptima aun al ataque de MAP. (Koets, Eda S; Sreevatsan S. 2015).

Luego de la ingestión de MAP por la vía anteriormente nombrada, estas penetran por endocitosis en las células de las placas de Peyer del íleo, transportándose en vacuolas dentro de la célula diana del macrófago subeplial, es en este punto donde los ácidos micólicos del MAP juegan un rol importante en cuanto a la resistencia intracelular. (Pérez et al., 1999)

El MAP resistirá así la degradación intracelular multiplicándose dentro de los macrófagos, esto a su vez, producirá una cascada de inflamación que se mantendrá de forma crónica debido a que se producirán citocinas como el factor de necrosis tumoral (NTF), interleucinas (IL) e interferón T derivado (IFN – t) que causan dichos efectos inmunopatológicos. (Clarke. 1997)

En cuanto a las lesiones, estas ocurrirán a nivel del intestino delgado con un grosor variable en su mucosa, de carácter granulomatoso y edema en ganglios linfáticos. La mayoría de los tejidos se presentará con una extensa infiltración de células epiteloideas en la mucosa con abundantes bacilos acidorresistentes (Acid Fast Bacilli BFA). (Clarke y Little, 1996).

En cada foco infeccioso se genera un alto número de microorganismos. Si la infección no es contenida por la reacción local o si hay fallas para desarrollar una respuesta inmune efectiva dentro del sistema inmune asociado a mucosas (MALT), se desencadena un recrudecimiento de la inflamación y se expande la lesión. La emigración de los macrófagos infectados a partir del foco de lesión hacia el lumen intestinal generará que los animales excreten MAP resultando positivos al cultivo de muestras de materia fecal. (Fernández y Mundo. 2016)

2.3 Signos Clínicos

Los principales signos clínicos que presentara el bovino son:

- Diarrea, esta se puede presentar en una primera instancia de forma intermitente y leve, la que puede progresar con el paso de la enfermedad a una diarrea crónica
- Debido a lo anterior se puede apreciar deshidratación y pérdida de la condición corporal, sin presentarse necesariamente una pérdida en el apetito del animal.
- Baja en la producción láctea del bovino
- Edema sub mandibular y ventral causado por una hipoproteinemia marcada
- Disminución de concentración de albuminas, proteínas totales, triglicéridos y colesterol en el plasma.
- Letargia, debilidad y emaciación constante
- Marcada caquexia y muerte del animal

Diferentes estudios avalan que por cada caso clínico detectado hay al menos 25 animales con presencia de MAP de forma subclínica, de estos se estima que aproximadamente un 25% podría ser detectado con los métodos disponibles actualmente, es por esto que se tiende a denominar al animal con sinología clínica como “la punta del iceberg”. Esto hace referencia a que solo este animal se apreciara existiendo los otros subclínicos de forma “oculta o inadvertida” (Martínez., et al. 2012. Whitlock, 2009, Zapata, Rodas y Maldonado. 2008)

Bajo esta misma base se habla de los estados de la paratuberculosis los cuales son:

- Estado 1, infección silente: En esta categoría están los animales que aparentemente no tienen infección alguna ni presentan signos clínicos, dichos animales tendrán hasta dos años de vida, y aunque eliminen MAP por vía fecal, esta se encontrará en niveles indetectables para las pruebas de rutina.
- Estado 2, Enfermedad sub clínica: En esta categoría encontramos bovinos adultos los cuales no presentan signos clínicos de paratuberculosis, sin embargo, estos, si pueden presentar niveles detectables de anticuerpos contra MAP, aunque esto ocurre por lo general en el 15 a 25% de los casos. Dichos bovinos pueden avanzar al estado 3 o bien ser eliminados ya sea por detección del MAP o por estar afectados por otras enfermedades como infertilidad o mastitis.
- Estado 3, Enfermedad Clínica: Esta se presenta luego de un período de incubación de entre 2 hasta 10 años. Durante este estado los animales mostraran los signos anteriormente nombrados
- Estado 4, Enfermedad Clínica Avanzada: Este es el estado final de la enfermedad en la cual se acentúan los signos ya nombrados y el animal fallece. Por lo general los animales son sacrificados antes de que ocurra la muerte por causa del MAP ya que dejan de ser productivos. (Zapata, Rodas González y Maldonado. 2008)

2.4 Diagnóstico

La identificación de bovinos infectados con MAP representa un desafío para los veterinarios debido a las características del agente y a la respuesta inmune que induce. Esto dificulta arribar a un diagnóstico certero, por lo que se requiere de la combinación de varias estrategias. Los bovinos en estadios tempranos son los más difíciles de detectar. (Fernández y Mundo. 2016)

En una primera instancia es de mucha utilidad manejar los antecedentes del predio en cuanto a su relación con la paratuberculosis, además se deberá tener antecedentes sobre cuales bovinos presenten los signos anteriormente nombrados. Los animales con sinología serán por lo general mayores de 2 – 3 años, a estos se les deberá aplicar pruebas como la detección de anticuerpos o de genes de MAP, dentro del abanico de pruebas para esto, la más común y empleada es el test de ELISA, sin embargo, esta no garantiza la detección en etapas tempranas de la enfermedad. (Ramírez, Rodríguez, y Fernández. 2011)

Por otra parte, se necesitarán realizar:

- cultivo fecal individual: Este es el más común a realizar y se considera el “Gold standard” en el animal vivo. La especificidad de este cultivo es del 100%, aunque su sensibilidad será variable y dependerá de la fase de infección.
- cultivo de pool fecal: Es un método en el cual se agrupan hasta 5 muestras fecales constituyendo un cultivo unitario, esta entrega resultados similares al cultivo fecal individual y variará según el nivel de eliminación
- cultivos de muestras ambientales: Son muestras tomadas desde pozos purineros o de áreas de congregación de los animales
- cultivos de tejidos: Se toma un cultivo de la parte final del intestino delgado y del ciego adyacente.
- El test de ELISA: Es la prueba más usada para detección de anticuerpos Anti-MAP ya sea en el suero sanguíneo o en la leche (sensibilidad del 45% aprox)
- La PCR: En esta prueba se ocupa principalmente la inserción IS900, la cual ayuda hacer de esta prueba tanto un método de diagnóstico como la confirmación de una colonia de MAP. Desventajosamente con esta prueba no se puede evaluar la cantidad de bacterias eliminadas.

- Histología; Demostración de la respuesta inflamatoria y la presencia de MAP en cortes histológicos de mucosa intestinal (íleon) y nódulos linfáticos mesentéricos. (SAG. 2014)

Según lo anterior en Chile se aplican los siguientes criterios para el diagnóstico de paratuberculosis mostrados en la imagen 2

Objetivo de muestreo	Rebaño leche		Rebaño carne	
	Comercial	Criadero	Crianza	Criadero
Clasificación de rebaños como infectados	CA	CA	TR TD CA	TR TD CA
Estimación exacta de prevalencia en rebaño	NR	NR	NR	NR
Control de la enfermedad	ELISA	CF-I	ELISA	CF-I
Vigilancia estimación carga bacteriana	CA	NA	Confirmar casos clínicos	NA
Erradicación	CF-Pool CF-I	CF-Pool CF-I	CF-I	CF-I
Confirmación de diagnóstico clínico en rebaños sin casos previos confirmados de ParaTB	Necropsia CF-I PCR-I	Biopsia Necropsia CF-I PCR-I	Necropsia CF-I PCR-I	Biopsia Necropsia CF-I PCR-I
Confirmación de diagnóstico clínico en rebaños reconocidos infectados con <i>Map</i>	ELISA CF-I PCR-I	Biopsia/PM CF-I PCR-I	ELISA CF-I PCR-I	Biopsia/P M CF-I PCR-I

Imagen 2, tabla de criterios diagnósticos para paratuberculosis en Chile, donde CA= cultivo ambiental NR = no recomendable CF-I = cultivo fecal individual CF-Pool = cultivo de pool fecal (SAG. 2014)

2.5 Control y erradicación

La erradicación de la paratuberculosis debe realizarse por un médico veterinario acreditado el cual realiza un extenso trabajo en conjunto con laboratorios, el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) y el dueño del plantel afectado. Dentro de las primeras acciones en Chile se deberá realizar una notificación oficial declarando el plantel positivo a paratuberculosis, posterior a esto se debe comenzar con el plan de saneamiento que se basa en una serie de medidas las cuales ayudaran a eliminar la patología del plantel lechero en el menor tiempo posible. Se deberá realizar una suerte de contrato con el dueño del plantel fijando condiciones de compromiso y plazos de respuesta los cuales se deberán cumplir en rigor. (SAG. 2014)

Los animales que han sido detectados como infectados deberán ser eliminados, estos podrán ser comercializados en ferias, sin embargo, su único destino posible será el matadero, no pudiéndose destinar para otros servicios. (SAG. 2014)

Dentro de los controles que se pueden realizar se debe tener en claro que los animales más expuestos serán los neonatos y terneros menores de 1 año, es por esto que se recomienda separar precozmente a los neonatos de sus madres, aislándolos en un lugar libre de paratuberculosis o de contacto con animales adultos positivos a ella. Dichos terneros serán alimentados con calostro o leche de madres reemplazantes las cuales están libres de paratuberculosis. (Grant., et al. 1996)

2.5 Paratuberculosis en Chile

Aunque en Chile no existen antecedentes oficiales sobre prevalencia de Paratuberculosis bovina, es posible sospechar que existe un elevado porcentaje de rebaños infectados, especialmente rebaños lecheros. Datos no publicados del Servicio Agrícola y Ganadero (S.A.G.), Ministerio de Agricultura, 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 (Soto, Kruze y Leiva, 2002).

En Chile, además la paratuberculosis en los animales es una enfermedad endémica, habiéndose reportado el aislamiento de MAP desde rebaños bovinos, caprinos y ovinos y existiendo antecedentes serológicos que sugieren más de 50% de los rebaños bovinos lecheros afectados, similar a lo descrito en Norteamérica y Europa. En los laboratorios de la Universidad de Chile se han realizado estudios durante los últimos 5 años, utilizando una prueba de Elisa (IDEXX® Herdcheck) para detectar respuesta humoral en un total de 775 muestras de bovinos, 869 de caprinos y 3129 de ovinos, obteniéndose tasas de reacción de 13,4%, 9,8% y 3,1% respectivamente. Esto sugiere una amplia diseminación del agente en el ganado criado entre las regiones de Valparaíso y del Maule, comprendidas en estos análisis. (Retamal., et al. 2011)

Motivo del trabajo de título

El siguiente trabajo de título se desarrolla con el fin de corroborar, con datos actuales, la prevalencia de paratuberculosis bovina en el ganado doble propósito en la región metropolitana, más específicamente, en un fundo ubicado en la comuna de María Pinto.

Capítulo 3: Hipótesis y Objetivos

3.1 Hipótesis

La seroprevalencia del fondo en que se efectuara el análisis debe ser igual o inferior al 13,4 %, incluida entre las Regiones IV y X, según estudios realizados en el año 2011 a nivel nacional.

3.2: Objetivos

3.2.1 Objetivo General:

Determinar la prevalencia de paratuberculosis bovina en un fundo de la comuna de María Pinto de 36 bovinos doble propósito, con sistema de producción extensivo.

3.2.2 Objetivo Específico:

Determinar el número de Bovinos mayores a 2 años pertenecientes a un fundo de la comuna de María Pinto que resulten positivos a paratuberculosis bovina.

Determinar cuantitativamente anticuerpos de los bovinos afectados con paratuberculosis bovina, mediante prueba de diagnóstico ELISA (INgezim Compac 2.0) para evidenciar a los animales positivos a la enfermedad en un fundo de la comuna de María Pinto.

Capítulo 4: Materiales y métodos

4.1 Materiales

- Algodón.
- Alcohol desnaturalizado 95°.
- Guantes desechables.
- Caja isotérmica.
- Ice pack.
- Tubos estériles.
- Agujas con sistema Venoject®.
- Jeringas.
- Agujas de 18G.
- 40 bovinos
- INgezim BLV Compac 2.0® (test de ELISA de bloqueo).
- Lector ELISA BioTek® modelo EL800 (filtro de 450nm).
- Estufa Heraeus®.
- Micropipetas de 5µl a 200µl.
- Probetas de 50ml a 250ml.

4.2 Métodos

1. Se visito un fundo ubicado en la comuna de María Pinto, donde se logró obtener muestras de 36 bovinos mayores a los 2 años.
2. Se tomo muestras sanguíneas de 36 bovinos del plantel, estos representan el 100% de los bovinos mayores de 2 años de vida.
3. Se realizo una sujeción en los animales para lograr obtener las muestras de sangre. Estos fueron ingresados en bretes, en los cuales posteriormente se inmovilizo al animal con maneas. Se punciono la arteria o vena coccígea con agujas de 18G y se obtuvo aproximadamente 5 ml de sangre por cada animal para realizar el Test de ELISA, dicho contenido sanguíneo fue almacenado en tubos estériles para esta función.
4. Se dejo decantar la muestra sanguínea y así separamos el suero del resto de la materia sanguínea.
5. Se transportaron las muestras sanguíneas en una caja isotérmica manteniendo las muestras a bajas temperaturas usando para este fin refrigerantes tipo ice pack.

El laboratorio de destino fue el de la Cooperativa Agrícola Lechera de Santiago Ltda. (CALSA), el cual es un laboratorio acreditado por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG).

Se ocupo como técnica de diagnóstico el kit INgezim BLV Compac 2.0® (Test de ELISA de bloqueo), el cual corresponde a un ensayo inmunoenzimático que utiliza anticuerpos monoclonales (AcM)

Capítulo 5: Presentación y Discusión de los Resultados.

5.1 Técnica de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)

Se realizaron exámenes serológicos, detectando anticuerpos séricos contra MAP, esto mediante la técnica de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas o test de ELISA.

Se procedió a ocupar placas de micro titulación con 96 pocillos tapizados con anticuerpos específicos para MAP sobre los cuales se fijan de forma específica antígenos de la enfermedad mientras se incuban en la estufa.

Posterior a la incubación de las muestras de los pocillos de la micro placa se apreció que los anticuerpos específicos a MAP formaron complejos con los antígenos virales de la placa, esto apreciable solo en el caso en que estuvieron presentes en el bovino (caso positivo)

Se utilizó un lector fotométrico a 620 nm. Para la interpretación de los resultados se consideraron como reaccionantes positivos aquellas muestras con relación densidad óptica (DO) muestra/control positivos igual o superior a 0.25.

Calculo de prevalencia:

$$\text{Prevalencia} = \frac{2 \text{ casos positivos}}{36 \text{ animales muestreados}} \times 100 = 5.5\%$$

5.2 Presentación de resultados

De un total de 36 bovinos que se sometieron a la prueba para detectar anticuerpos contra MAP, resultaron como reaccionantes a la prueba 2 ejemplares, lo que nos da una prevalencia del 5.5 % en el fundo ubicado en la comuna de María Pinto.

Las muestras se enviaron al laboratorio de diagnóstico CALS, laboratorio acreditado SAG tipo II del 05-06-2000.

Crotal	D/O	Resultado	Crotal	D/O	Resultado
1. 005339861	0,038	Negativo	19. 012368798	0,067	Negativo
2. 005339862	0,029	Negativo	20. 012367311	0,035	Negativo
3. 012368772	0,084	Negativo	21. 012368757	0,050	Negativo
4. 005339869	0,208	Negativo	22. 005339872	0,154	Negativo
5. 012368781	0,053	Negativo	23. 012367315	0,075	Negativo
6. 012368763	0,082	Negativo	24. 012368760	0,106	Negativo
7. 012368795	0,445	Positivo	25. 012368763	0,074	Negativo
8. 012368759	0,108	Negativo	26. 012368774	0,408	Negativo
9. 000818047	0,047	Negativo	27. 012367316	0,080	Negativo
10. 005339867	0,086	Negativo	28. 012368777	0,048	Negativo
11. 000818052	0,094	Negativo	29. 012367312	0,074	Negativo
12. 012367317	0,057	Negativo	30. 005339871	0,081	Negativo
13. 012368792	0,121	Negativo	31. 012367310	0,034	Negativo
14. 012368782	0,057	Negativo	32. 012368771	0,089	Negativo
15. 012368784	0,081	Negativo	33. 000818059	0,046	Negativo
16. 012368755	0,150	Negativo	34. 012368756	0,181	Negativo
17. 012368791	0,093	Negativo	35. 012368769	0,077	Negativo
18. 012368764	0,099	Negativo	36. 012368790	0,867	Positivo

5.2 Discusión

Este estudio se llevó a cabo durante el mes de diciembre del 2017 en un fundo ubicado en la comuna de María Pinto donde se realizaron muestras de suero sanguíneo en 36 animales mayores de 2 años.

De los animales anteriormente nombrados se obtuvo mediante un análisis serológico (test de ELISA) una prevalencia del 5.5% lo que equivale a dos animales positivos a paratuberculosis, los cuales no presentaron signos clínicos visibles de la enfermedad.

En comparación al estudio previamente descrito por "Retamal., et al" el año 2011 en Chile en las regiones de Valparaíso y El Maule, se puede apreciar una baja significativa en cuanto a la prevalencia de paratuberculosis, sin embargo, se debe destacar que la cantidad de animales comparados es mucho menor en este estudio.

En este estudio, se puede indicar que en el fundo ubicado en la comuna de María Pinto se debería instaurar el programa de certificación de predios libres, esto aprovechando que hasta la fecha existen pocos animales afectados por la paratuberculosis por lo que sería más sencillo obtener el estatus de certificación libre de paratuberculosis.

Además, frente a la amenaza de una propagación del MAP se recomienda tomar todas las medidas del caso para evitar más animales afectados por MAP, para esto se deberán tomar acción en conjunto de un médico veterinario acreditado y realizar un plan de eliminación de los animales infectados de acuerdo con las normas establecidas por el SAG.

Capítulo 6: Conclusión

Se logro determinar con este estudio que la prevalencia de paratuberculosis bovina en el fundo ubicado en la comuna de María Pinto fue de un 5.5%

Se lograron detectar exitosamente anticuerpos, mediante el kit INGEZIM BVL 2.0® (ensayo inmunoenzimático de bloqueo) de *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (MAP), resultando positivos a la prueba 2 de los 36 bovinos analizados.

Se puede apreciar claramente que esta es una enfermedad que logra pasar desapercibida a simple vista, ya que ninguno de los bovinos analizados presentaba sinología de la enfermedad, peor aun se estima que debido al efecto iceberg que presenta esta enfermedad podrían, eventualmente, aparecer mas casos positivos a lo largo del tiempo si no se toman acciones para evitarlo.

Capítulo 6: Bibliografía

- Barbara Fernández y Silvia Leonor Mundo. 2016. “Respuesta inmune humoral inducida por proteínas de *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis en bovinos”, Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires Facultad de Ciencias Veterinarias, Argentina.
- Brady C, O’Grady D, O’Meara F, Egan J, Bassett H. Relationships between clinical signs, pathological changes and tissue distribution of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in 21 cows from herds affected by Johne’s disease. *Vet Rec* 2008; 162(5):147-152.
- C. J. Clarke. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species. *J. Comp. Path.* 116: 217 – 261, 1997.
- Clarke, C.J. and Little, D. The pathology of ovine paratuberculosis: gross and histological changes in the intestine and other tissues. *J. Comp. Pathol.* 114 (4): 419-37, 1996.
- Collins, M.T. Clinical approach to control of bovine paratuberculosis. *JAVMA* 204 (2): 208 – 210, 1994.
- Fernández M; Benavides J; Sevilla IA; Fuertes M; Castaño P; Delgado L; García Marín JF; Garrido JM; Ferreras MC; Pérez V. 2014. Experimental infection of lambs with C and S-type strains of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis: immunological and pathological findings. *Vet. Res.* 45: 5.
- González J; Geijo MV; García-Pariente C; Verna A; Corpa JM; Reyes LE; Ferreras MC; Juste RA; García Marín JF; Pérez V. 2005. Histopathological classification of lesions associated with natural paratuberculosis infection in cattle. *J. Comp. Pathol.* 133 (2-3): 184-96`
- Grant IR; Ball HJ; Neill SD; Rowe MT. 1996. Inactivation of *Mycobacterium paratuberculosis* in cows' milk at pasteurization temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (2): 631-6.
- Johne HA; Frothingham L. 1895. Ein eigenthümlicher Fall von Tuberculose beim Rind [A peculiar case of tuberculosis in a cow]. *Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin und vergleichende Pathologie.* 21: 438–55.
- Koets AP; Eda S; Sreevatsan S. 2015. The within host dynamics of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis infection in cattle: where time and place matter. *Vet. Res.* 46: 61.

- Martínez Covarrubias, A. G., Santillán Flores, M. A., Ruiz, G., Celic, C., Favila Humara, L. D. C., Córdova López, D., ... & Blanco Ochoa, M. Á. (2012). Desarrollo de un inmuno-ensayo enzimático (ELISA) para el diagnóstico de paratuberculosis en bovinos. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 3(1), 1-18.
- Morón Cedillo, F. D. J., Cortez Romero, C., Gallegos Sánchez, J., Figueroa-Sandoval, B., Aquino-Pérez, G., & Amante-Orozco, A. (2013). Prevalencia de la infección por *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis en rebaños de ovinos de dos municipios de San Luis Potosí, México. *Revista Científica*, 23(004).
- Nathalia Maria del Pilar Correa Valencia y Jorge Fernandez Silva, 2016. Diagnosis and risk factors of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis (MAP) in dairy herds of the Northern Region of Antioquia, Colombia. Tesis doctoral, Universidad de Antioquia, Colombia.
- OIE (2014). Manual de la OIE (Oficina Internacional de Epizootias) sobre animales terrestres. Ficha de información sobre enfermedades animales. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/PARATUBERCULOSIS-ES.pdf
- Patricio Retamal M, Caroll Beltrán M, Pedro Abalos P., Rodrigo Quera P., Marcela Hermoso R. *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* y enfermedad de Crohn: evidencias de una zoonosis *Rev. méd. Chile* vol.139 no.6 Santiago jun. 2011
- Pérez, V.; Tellechea, J.; corpa, J.M.; Gutiérrez, M. and García Martín, J.F. Relation between pathologic findings and cellular immune responses in sheep with naturally acquired paratuberculosis. *Am.J.Vet.Res.* 60 (1): 123/7, 1999.
- Pradenas, M., Kruze, J., & Van Schaik, G. (2008). Sensibilidad del cultivo de pool fecal para detectar infección por *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis en rebaños bovinos de leche y su relación con la prueba de ELISA. *Archivos de medicina veterinaria*, 40(1), 31-37.
- SAG, 2014. INSTRUCTIVO DE NORMA TECNICA DE CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN PARATUBERCULOSIS BOVINA O ENFERMEDAD DE JOHNE, Chile.
- Sánchez-Villalobos, A., Arráiz-Rodríguez, N., Becerra-Ramírez, L., Faria, N., Montero-Urdaneta, M., Oviedo-Bustos, A., ... & Pino-Ramírez, D. (2009). Infección por *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis en un rebaño criollo limonero. *Revista Científica*, 19(6), 555-565.

- Soto, J. P., Kruze, J., & Leiva, S. (2002). Comparación de tres métodos de diagnóstico de Paratuberculosis bovina en rebaños lecheros infectados. *Archivos de medicina veterinaria*, 34(2), 253-263.
- Whitlock RH. 2009. Johne's disease. En: Smith BP (ed.), Large Animal Internal Medicine (881–7), IV Edición. Mosby Elsevier, St Louis, USA.
- Zapata Restrepo, M. M., Rodas González, J. D., & Maldonado Estrada, J. G. (2008). Paratuberculosis bovina: ¿conocemos la situación real de la enfermedad en la ganadería colombiana? *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 21(3).