

Caracterización de la paratuberculosis bovina en ganado doble propósito de los llanos de Monagas, Venezuela

Coromoto Alfaro¹, Morela de Rolo², Antonia Clavijo², y Alberto Valle³

RESUMEN

Para caracterizar la situación de la Paratuberculosis bovina o enfermedad de Johne en ganado doble propósito de los llanos de Monagas, se determinó la prevalencia de esta enfermedad utilizando dos técnicas de diagnóstico, la prueba intradérmica o Johnina para inmunidad celular y serología ELISA para inmunidad humoral. Se seleccionaron ocho sistemas de producción ubicados en los Municipios Ezequiel Zamora y Maturín en diferentes zonas agroecológicas, llanos altos y llanos bajos respectivamente. El tamaño de la muestra animal se calculó sobre la base de la técnica de muestreo para estudios de prevalencia (OPS-OMS, 1973), en cada finca se evaluaron 30 animales adultos con ambas pruebas. El análisis de los datos se efectuó mediante la prueba de Z, para la comparación de proporciones o prevalencia entre fincas y factores asociados a la enfermedad. Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas ($P < 0,05$) en relación con la prevalencia de la enfermedad, de acuerdo al método de diagnóstico utilizado 4,16% y 72,1% Johnina y ELISA, respectivamente. Asimismo, se observaron diferencias altamente significativas ($P < 0,001$) entre zonas agroecológicas 61,7% llanos altos y 82,5% llanos bajos, condiciones de manejo sistema abierto 69,9% en comparación con sistema cerrado 77,3% ($P < 0,05$) y buen sistema de drenaje 67,4 % en contraste con mal drenaje 76,7% ($P < 0,10$). En virtud de las pérdidas económicas, de su efecto sobre la productividad de las explotaciones y su posible condición de zoonosis, es importante considerar la presencia de esta patología en Monagas para diseñar estrategias de control fundamentadas

¹ INIA. Instituto de Investigaciones Agrícolas del Estado Monagas. *Correo electrónico: alfavera@cantv.net

² CENIAP. Unidad de Laboratorios de Sanidad Animal. Maracay.

³ CENIAP. Maracay.

en el diagnóstico de laboratorio y las condiciones particulares de los sistemas de producción.

Palabras clave: Paratuberculosis bovina, prevalencia, diagnóstico, ganado doble propósito, Monagas.

Characterization of bovine Paratuberculosis in dual purpose cattle at the plains of Monagas state, Venezuela

SUMMARY

To characterize the situation of the bovine Paratuberculosis or Johnne's disease in dual purpose cattle in the Monagas plains, the prevalence of this disease was determined using two diagnostic techniques: the skin test (Johnina) for cellular immunity and a serological ELISA test for humoral immunity. There were selected eight production systems, located in the Municipality Ezequiel Zamora and in Maturín, in two different agro ecological zones: high plains and low plains, respectively. The animal sample size was calculated by means of the sample technique for prevalence studies (OPS-OMS, 1973); so 30 mature animals for each farm were evaluated. The analysis of the data was made by using the Z-test to compare the proportions of prevalence among farms, and factors associated to the disease. The results showed significant differences ($P < 0.05$) in relation to the disease prevalence. According to the method of diagnostic used, these values were: 4.16% and 72.1% for Johnina and ELISA tests, respectively. Also, there was observed highly significant differences ($P < 0.001$) between agro ecologic zones: 61.7% and 82.25 for high plains and low plains, respectively. Regarding to the management conditions in the farms, the results were ($P < 0.05$): 69.9 and 77.3% for the open and closed system, respectively. When draining condition of the farms was considered, there was observed differences ($P < 0.10$) between the well 67.0% and bad drained 76.7% status. Due to the economic losses, its effect on the farms productivity and some risks of a potential zoonosis, it was concluded, based on the laboratory diagnosis, that is important to consider the presence of this pathology in Monagas, so some strategies for controlling this disease could be applied under each particular condition of the production system.

Keywords Paratuberculosis, prevalence, diagnostic, double purpose cattle, Monagas.

INTRODUCCIÓN

La Paratuberculosis (PTBC) o enfermedad de Johne, es una enfermedad infecciosa crónica, que afecta a rumiantes domésticos y salvajes, cuya característica principal es la pérdida de peso progresiva y la presencia de diarrea crónica, que produce desmejoramiento y finalmente la muerte del animal (Mannig y Collins 2001, Rolo *et al.*, 2001). Causada por el *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* o Map, bacilo aerobio, Gram-ácido resistente, que infecta a los macrófagos de la lámina propia del intestino, ocasionando una enteropatía granulomatosa que da como resultado: deficiente absorción de nutrientes esenciales, pérdida de proteínas y en consecuencia el cuadro clínico descrito anteriormente (Merkal, 1984, Cicuta *et al.*, 1995). El Map se elimina a través de las heces y la leche de los animales afectados, especialmente en etapas avanzadas de la enfermedad. El principal mecanismo de transmisión lo representa la vía fecal-oral, señalándose además la transmisión intrauterina.

La enfermedad presenta una fase subclínica inaparente que puede prolongarse por años. Los animales generalmente se infectan a una edad temprana, principalmente en los primeros 35 días de vida, manifestándose los signos clínicos en la etapa productiva. Sin embargo, en crías provenientes de madres infectadas o de un ecosistema muy contaminado, puede observarse sintomatología entre los 12 y 18 meses de edad.

Distribuida mundialmente, actualmente la PTBC se considera una enfermedad emergente a pesar de su reconocimiento desde hace más de un siglo (1895). En Europa varía de 7% a 55%, en EEUU la prevalencia está en el orden del 40%, en Australia se reportan tasas de infección de 9% a 22%; mientras en Venezuela se desconoce este índice, donde comúnmente no se realizan pruebas rutinarias para el diagnóstico de PTBC, aunque se reconoce la presencia de la enfermedad desde 1970 (FONAIAP-CENIAP, 1971, López, *et al.*, 1996, Marín, *et al.*, 1981). En Monagas se ha confirmado mediante clínica y hallazgos histopatológicos en casos puntuales (Alfaro, 1999).

La PTBC es común en ganado lechero y ha sido relacionada con el sistema de manejo de la explotación (Radostits *et al.*, 1994). No existe tratamiento curativo para la enfermedad, por lo tanto el control se fundamenta en el diagnóstico para su confirmación y en el diseño de estrategias basadas en eliminación y separación de animales conjuntamente con medidas de bioseguridad (Alfaro, 2001).

La enfermedad de Johne representa un potencial riesgo como zoonosis, se asocia con una patología similar en humanos (enfermedad de Crohn), lo cual se fundamenta por cuanto se ha logrado la amplificación del genoma de *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* a partir de pacientes afectados (Chiodini, 1996 y Collins, 1997).

En virtud del carácter subclínico de la infección y de los escasos diagnósticos, la enfermedad está subestimada en nuestro país. El impacto negativo de la infección reviste importancia por su efecto sobre la economía de las explotaciones, expresada en disminución de la producción de leche, reducción del periodo de vida útil de la vaca y predisposición a otras patologías.

Con el objetivo de evaluar la situación de la PTBC en Monagas se planteó este estudio para cuantificar el problema y contribuir al conocimiento epidemiológico de la enfermedad en el país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron ocho fincas representativas del sistema doble propósito, ubicadas en los llanos altos de Monagas: Municipio Ezequiel Zamora, (zona oeste), con una temperatura promedio anual de 27°C., un régimen pluviométrico promedio anual de 900 a 1300 mm., 76% de humedad relativa, insolación 264 g cal/cm², zona de vida correspondiente a bosque seco tropical y llanos bajos: Municipio Maturín (zona noreste), con una temperatura de 26°C, un régimen pluviométrico anual de 1300-2000 mm. insolación 133 g cal/cm², zona de vida correspondiente al bosque húmedo tropical (MARN, 1997). El área concentra la mayoría de las explotaciones orientadas hacia la producción de leche del estado. El tamaño de la muestra animal se determinó mediante la fórmula para estudios de prevalencia (OPS-OMS, 1973) y conjuntamente se aplicó una encuesta para recabar datos referidos a zona agroecológica, estructura poblacional, carga animal, densidad animal, sistema de manejo de la explotación, fuentes de agua, drenaje y destino de la producción. Esta información se complementó con datos climáticos como temperatura, precipitación, humedad relativa, evaporación e insolación con la finalidad de evaluar la posible asociación de estos factores con la presencia de PTBC. Se seleccionaron 30 animales hembras adultas en etapa productiva, en cada finca, para un total de 240 muestras, los cuales se diagnosticaron mediante inoculación intradérmica ID o Prueba de Jhonina, (prueba intradérmica de hipersensibilidad retardada, utilizando como antígeno el derivado proteico purificado de *M. avium paratuberculosis* o Jhonina, obtenida en el National Veterinary Services

Laboratory) para evaluar inmunidad celular y serología ELISA, para evaluar la presencia de anticuerpos o inmunidad humoral; utilizando el paquete comercial (SERELISA PARATBC, SYNBIOTICS Corporation, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. En el caso de la prueba intradérmica las reacciones se interpretaron como negativas: cuando no se observó ni se visualizó cambios en la piel del sitio de aplicación y positivas cuando se visualizó un engrosamiento de 4-5 mm. rubor, calor o necrosis en el sitio de aplicación; en la práctica no se utiliza el vernier para considerar una reacción de hipersensibilidad retardada, lo que podría subestimar algunos casos positivos.

El análisis de los datos se efectuó mediante la prueba de Z, para la comparación de proporciones o prevalencia entre fincas y factores asociados a la enfermedad (Daniel, 1993). Se estableció como finca positiva a PTBC el hallazgo de un animal positivo con alguna de las pruebas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos señalan una prevalencia global de Paratuberculosis bovina o enfermedad de Johne, en el área de estudio, en el orden de 4,16% y 72,1% con diferencia significativa ($P < 0,05$) de acuerdo a las distintas técnicas de diagnóstico utilizadas, Johnina y ELISA respectivamente (Cuadro 1). De los 240 animales analizados 10 (4,16%) resultaron positivos utilizando la prueba de inoculación intradérmica (Johnina) y 173 (72,1%) positivos utilizando la técnica de ELISA, estos resultados se relacionan con investigaciones en otros países (Martinis *et al.* 2000, Soto *et al.*, 2002). La diferencia de reactores se atribuye a la sensibilidad y especificidad de las pruebas utilizadas. La prueba intradérmica Johnina es una prueba de valor limitado para diagnóstico individual debido a su baja especificidad, pero detecta reactores en los primeros estadios de la enfermedad, cuando hay abundantes bacilos en el intestino, por lo que se recomienda para tener una visión general de la situación de la enfermedad en una explotación (De Diego, 1991). El test ELISA con una especificidad del 99% y una sensibilidad del 60% detecta anticuerpos en animales clínicamente enfermos o subclínicamente infectados (Bernardelli, *et al.*, 1991). Actualmente es la prueba serológica más ampliamente utilizada para detectar anticuerpos en sangre de animales infectados y se recomienda en conjunto con otros métodos diagnósticos (Martinis *et al.*, 2000). Es importante destacar la presencia de la enfermedad en la totalidad de las fincas evaluadas, independientemente del diagnóstico utilizado.

Cuadro 1. Prevalencia de paratuberculosis bovina en fincas del estado Monagas.

Municipio	Finca	Johnina		Elisa	
		Positivos		Positivos	
		n	(%)	n	(%)
Ezequiel Zamora Zona oeste	1	1/30	3,33	16/30	53,3
	2	0/30	0	24/30	80,0
	3	0/30	10	21/30	70,0
	4	3/30	3,33	13/30	43,3
Maturín Zona este	5	4/120	3,33	74/120	61,6
	6	1/30	3,33	23/30	76,6
	7	2/30	6,66	23/30	76,6
	8	2/30	6,66	27/30	90,0
		1/30	3,33	26/30	86,6
		6/120	5,00	99/120	82,5
Prevalencia global		10/240	4,16	173/240	72,1

En la Figura 1 se visualiza la prevalencia a PTBC en las ocho fincas evaluadas, de acuerdo a las diferentes técnicas de diagnóstico, con tasas variables en el orden de 0% a 10% para Johnina, en contraste con 43% a 90% para ELISA, esta última técnica es capaz de detectar una mayor cantidad de reactores. Actualmente no existe una metodología de diagnóstico in vivo 100% sensible y específica, el cultivo es un método efectivo para detectar infección en ganado aparentemente sano, con una especificidad del 100% (Merkal, 1984), con una desventaja relacionada con la baja sensibilidad (50%) y la lentitud de la prueba; para la identificación de la enfermedad en las primeras etapas se recomienda la utilización de la prueba intradérmica para evaluar inmunidad celular (Bernadelli *et al.*, 1999) y ELISA para evaluar inmunidad humoral (Soto *et al.*, 2002). Esta última técnica se reconoce como una buena alternativa para estudios poblacionales, por cuanto detecta animales clínicamente y subclínicamente infectados, con mayor sensibilidad en animales adultos, de tres o más años de edad, ya que la respuesta humoral de PTB es más tardía que la respuesta celular; debido a ello es importante considerar el factor edad, para evitar la detección de falsos positivos cuando se aplica en animales jóvenes (Martinis *et al.*, 2000).

La Figura 2 muestra la tasa de reactores para la zona oeste, Municipio Ezequiel Zamora 61,6% y para la zona noreste, Municipio Maturín 82,5%, con diferencias altamente significativas ($P < 0,001$); situación relacionada con las distintas condiciones agroecológicas de la zona. Es interesante señalar en este estudio que la zona noreste, con la mayor tasa de reactores 82,5%, corresponde al paisaje fisiográfico planicie aluvial de

desborde, es una zona húmeda durante todo el año, con una humedad relativa de 78%, precipitación 200 mm mensuales y suelos ácidos pH <5%, condiciones ideales para el mantenimiento del agente etiológico Map. Algunos investigadores señalan como factores asociados a la presentación de la PTBC la concentración animal, el pH del suelo, el agua, la contaminación ambiental y el desconocimiento de la enfermedad (Manning y Collins, 2001), lo que aunado a sistemas de explotación con baja densidad animal concentrados alrededor de fuentes de agua en común y en sistemas sin control sanitario explicaría las diferencias.

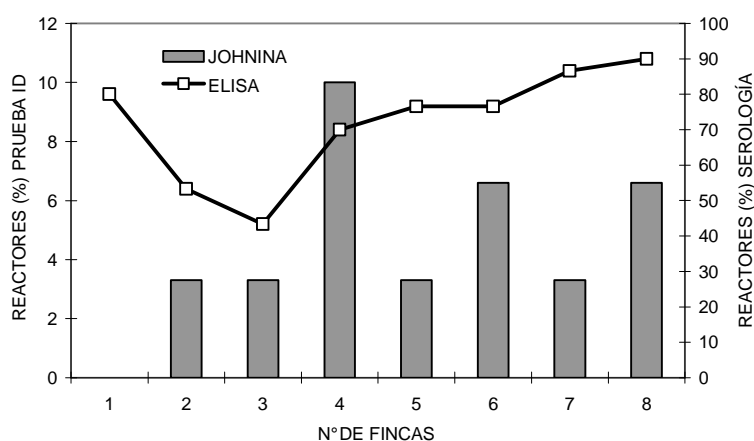


Figura 1. Tasa de prevalencia por fincas de acuerdo a la técnica de diagnóstico.

En este estudio (Cuadro 2) se analizan variables como la densidad poblacional o la relación entre el número de animales y la superficie útil expresada en ha. (<1 animal/ha y >1 animal/ha), sistema de producción abierto o cerrado, asistencia veterinaria, drenaje de aguas en las instalaciones y destino de la producción hacia leche pasteurizada o queso artesana.

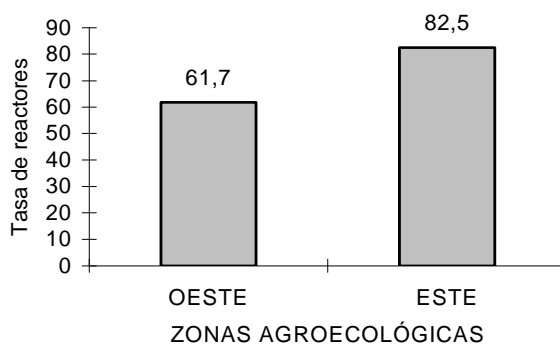


Figura 2. Tasa de reactores de paratuberculosis bovina de acuerdo a la zona agroecológica.

Se infiere que el sistema de manejo de las explotaciones, la entrada de animales sin control o la falta de aplicación de medidas de bioseguridad para minimizar la entrada de patógenos, favorecen la presencia de la enfermedad. La mayoría de las fincas se infectan a través de la compra de animales enfermos aparentemente normales; a partir de animales portadores la transmisión ocurre por la vía fecal-oral y por la ingestión accidental de materia fecal, las terneras son el grupo de mayor riesgo, otras posibles vías de infección de terneros, lo constituye el calostro contaminado, la leche y la placenta infectada, situación a considerar cuando se diagnostica un hato positivo.

En la Figura 3, las mayores tasas de prevalencia de PTBC se evidenciaron en aquellos sistemas de producción abiertos (77,3%), con entrada de animales por concepto de compra o préstamos sin cuarentena, control o pruebas diagnósticas para determinar la enfermedad y en fincas con mal drenaje de las aguas (76,6%) o aguachinamiento en sus instalaciones, potreros y zonas de mayor concentración de animales, diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$); condiciones ambientales relativas a humedad y pH bajo favorecen la sobrevivencia del Map (Manning y Collins, 2001). Este punto evidencia la necesidad de aplicar medidas de bioseguridad relacionadas con el control de la entrada de animales y el manejo ambiental particularmente de las instalaciones, situación que se presenta con debilidades en este aspecto (Alfaro *et al.*, 2001).

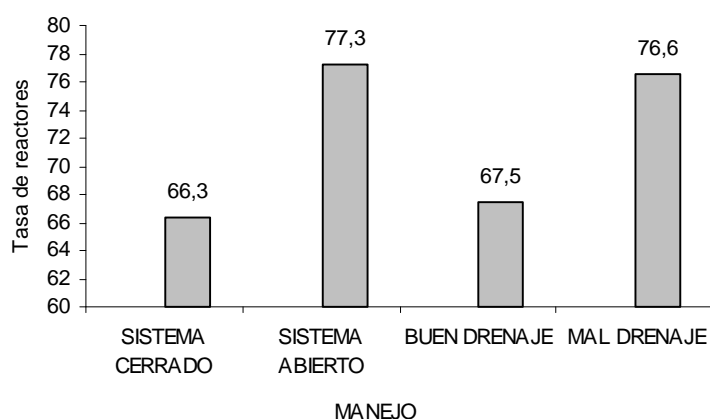


Figura 3. Tasa de reactivos de paratuberculosis bovina en relación con sistema de manejo y drenaje de las fincas.

Cuadro 2. Prevalencia de paratuberculosis bovina en relación con factores asociados al manejo de las fincas

Variable	n1	n2	p1	p2	Probabilidad
<u>Densidad poblacional</u>					
D<1 vs D>1 (Johnina)	150	90	4,7	2,2	No significativo
D<1 vs D>1 (ELISA)	150	90	73,3	63,3	No significativo
<u>Sistema de producción</u>					
Abierto vs Cerrado (ELISA)	150	90	77,3	63,3	P<0,05
<u>Asistencia veterinaria</u>					
SI vs NO (Johnina)	60	1,6	180	5,5	No significativo
SI vs NO (ELISA)	60	78,3	180	69,9	No significativo
<u>Drenaje</u>					
SI vs NO (Jonía)	120	4,1	120	4,9	No significativo
SI vs NO (ELISA)	120	67,4	120	76,6	P<0,10
<u>Destino de la producción</u>					
Leche vs Queso (Johnina)	120	120	3,3	4,2	No significativo
Leche vs Queso (ELISA)	120	120	61,6	82,5	No significativo

CONCLUSIONES

- Se confirma la presencia de portadores subclínicos de Paratuberculosis bovina en ganado doble propósito orientado hacia la producción de leche en Monagas, con positividad en todas las fincas evaluadas utilizando Johnina y ELISA.
- La prevalencia de PTBC se encuentra asociada con diferentes factores o determinantes entre los cuales se destacan zonas agroecológicas, sistema de producción abierto y drenaje de las explotaciones.
- Se visualizaron amplias diferencias en cuanto a la prevalencia de la enfermedad por zona, particularmente utilizando ELISA como técnica de diagnóstico.
- Para evaluar la situación poblacional de rebaños y conocer la situación epidemiológica de la enfermedad en Monagas, es conveniente aplicar dos técnicas de diagnóstico que permiten medir inmunidad celular y humoral.
- Las pérdidas económicas ocasionadas por la enfermedad y su posible vinculación con la enfermedad de Crohn en humanos, determinan la necesidad de ampliar estudios para conocer la situación epidemiológica de la PTBC en Monagas, con la finalidad de diseñar estrategias de control acordes con las particularidades de la zona.

LITERATURA CITADA

- Alfaro, C. 1999. Informe de Gestión Anual INIA-Monagas. Mimeografiado. 45 p.
- Alfaro, C. 2001. Bioseguridad como componente de los programas sanitarios para minimizar el riesgo de TBC y PTBC en las explotaciones ganaderas. En: Boletín Agropecuario, Fundación INLACA. Año 3. N° 11. 31-34 p.
- Bernardelli, A., Nader, A. J., Moreira, A. R., Debenedetti, R. y Estévez M. J. 1991. Evaluación de distintas técnicas para eliminar la paratuberculosis de un rodeo de cría. Rev. Med. Vet. 72(3): 223-230.
- Cicuta, M. E., Boheringer, S. I., Roibón, W. R., Bernardelli, A., Bakos, E.; Benítez, M.C.; Kunert, J. A. y Aragón, L.R. 1995. Paratuberculosis in cattle and sheep of the North East of Argentine. The Paratuberculosis Newsletter. 7(1):18-23.

- Collins M. T. 1997. *Mycobacterium paratuberculosis*: A potential food-borne pathogen?. *Journal of Dairy Science*, 80 (12): 3445-3448.
- Chiodini, R. J., y Rossiter Paratuberculosis: a potential Zoonosis?. 1996. *Vet. Cli. North Am.* 12:457-467.
- Daniel, W. 1993. Bioestadística base para el análisis de las Ciencias de la Salud. Editorial S.A. de C.V. Grupo Noriega Editores, México. Décima Reimpresión. pp: 263-265.
- De Diego, A. I. 1991. Enfermedades de los bovinos. Editorial Hemisferio Sur. S.A. 1º Edición. Buenos Aires, Argentina.
- FONAIAP, CENIAP. 1971. Instituto de Investigaciones Veterinarias, Maracay, Venezuela. Memorias.
- López, Nancy de, Rolo, M. y Palencia, L. 1996. Paratuberculosis o enfermedad de Jhone, un problema sanitario económico que afecta la ganadería venezolana. 3^{er} Congreso de Ciencias Veterinarias. "Eduardo Mendoza Goiticoa". Maracay, Ven. Memorias. 34-41 p.
- Manning, E. J. B. y Collins, M. T. 2001. *Mycobacterium avium subesp. Paratuberculosis*: el patógeno, su patogenia y su diagnóstico. *Rev. Sci. Tech. OFF. Int. Epiz.* 20(1): 133-150.
- Marín, C., López, N., Jelambi, F., Lozano, O., Alvarez, L. de y Martínez, A. 1981. Investigaciones sobre epidemiología de la paratuberculosis en Venezuela. Primer Seminario sobre Avances de la Investigación de Bovinos de Carne en Venezuela. Maracay, Ven.
- Martinis, D. S., Cicuta, M. E., Boehringer, S. I., Paolicchi, F., y Morsella, C. 2000. Paratuberculosis en Ganado lechero de Corrientes. Universidad Nacional del Noreste. Facultad de Ciencias Veterinarias. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Argentina. Disponible en línea, <http://www.unne.edu.ar/cyt/veterinarias/v-049.pdf>.
- Merkal, R. S. 1984. Paratuberculosis. Advances in cultural serologic, and vaccination methods. *JAVMA.* 184(8):939-943.
- Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales renovables. Gobernación del estado Monagas. 1997. Atlas del Estado Monagas. Maturín, Venezuela. 99 p.

- Organización Panamericana de la Salud (OPS). Organización Mundial de la Salud (OMS). 1973. Procedimientos para Estudios de Prevalencia de Enfermedades Crónicas en el Ganado. Centro Panamericano de Zoonosis. Nota Técnica N° 18. Buenos aires, Argentina. 35 p.
- Soto, J. P., Kruze, J., y Leiva, S. 2002. Comparación de tres métodos de diagnóstico de Paratuberculosis bovina en rebaños lecheros infectados. Arch. Med. Vet. 34 (2): 253-263
- Radostits, M.O., Blood, D.C., y Gay, C. C. 1994. Chapter 19. Diseases Caused by Bacteria Iv. In Veterinary Medicine. 8° Edition-Bailliere Tindall. 841-849 pp.
- M. Rolo, A. Clavijo, C.de Noguera, C. Bello, A. Sandoval, J. Martinez, L. Peroza, y C Noguera R. Detection of paratuberculosis in bovine herds of Zulia state in Venezuela Proceedings International Union of Microbiological Societies World Congresses, Xth International Congress of Bacteriology an applied Microbiology , p 369, 27 july al 1 august 2002, Le Palais des Congrès de Paris.