



INSTRUCTIVO DE NORMA TECNICA DE CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN PARATUBERCULOSIS BOVINA O ENFERMEDAD DE JOHNE

MINISTERIO DE AGRICULTURA
SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO

**CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN
PARATUBERCULOSIS BOVINA (ParaTB)**

DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES

DE LA DEFINICIÓN DE CASO DE PARATUBERCULOSIS BOVINA

La presencia de infección con *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) se define por:

Caso sospechoso: bovino adulto que presente pérdida de peso progresiva, con severa emaciación y pérdida de grado de la condición corporal, no obstante presente apetito normal o cercano a lo normal.

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.

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 (ileón) de casos sospechosos o probables y/o nódulos linfáticos mesentéricos con lesiones típicas de ParaTB.

DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

Para el diagnóstico de ParaTB se utilizarán las siguientes pruebas disponibles:

Cultivo fecal 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%.

Cultivo de pool fecal: 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.

**CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN
PARATUBERCULOSIS BOVINA (ParaTB)**

Cultivo de muestras ambientales: Muestras ambientales colectadas de pozos purineros o de áreas donde una gran proporción del rebaño está congregado o transita frecuentemente (patios de estabulación, pasillos, maternidades, patios de espera, etc.)..

Cultivo de tejidos: La infección por *Map* afecta principalmente a la parte final del intestino delgado y ciego adyacente. Las bacterias *Map* están en un número muy superior al de otras bacterias, en muestras de heces y tejidos intestinales. Las colonias primarias de *Map* pueden aparecer en cualquier momento a partir de las 5 a 14 semanas, después de la inoculación.

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 hasta 75% en animales con sintomatología clínica.

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. Su desventaja principal es que no es cuantitativa, es decir no se puede evaluar la cantidad de bacterias eliminadas. Lo otro que resulta de esta desventaja es que si la cantidad de bacterias es muy baja, la sensibilidad es muy baja y no se puede distinguir de una bacteria viva o fragmentos de DNA del medio ambiente.

Histopatología

Demostración de la respuesta inflamatoria y la presencia de *Map* en cortes histológicos de mucosa intestinal (ileon) y nódulos linfáticos mesentéricos.

CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN PARATUBERCULOSIS BOVINA (ParaTB)

Los criterios de uso de las pruebas según objetivo de muestreo se detallan en la siguiente tabla:

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

CA= cultivo ambiental
 NR = no recomendable
 CF-I = cultivo fecal individual
 CF-Pool = cultivo de pool fecal

CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN
PARATUBERCULOSIS BOVINA (ParaTB)

DE LA 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. Las muestras del rebaño deberán ser colectadas por MVO o MVA para ese objetivo, y enviadas a laboratorios oficiales o acreditados.

Categorías de rebaños: El estatus de infección por *Map* en rebaños se realizará por uno de los siguientes diagnósticos:

- Necropsia de casos clínicos
- Cultivo fecal (individual o pool de fecas)
- Cultivo de muestras ambientales

Rebaño infectado: Es aquél que presente uno o más animales con sintomatología y lesiones típicas de paratuberculosis a la necropsia o si se logra el aislamiento de *Map*, o detección por PCR, a partir de deposiciones o tejidos de, al menos, un animal del rebaño.

Rebaño probablemente infectado: Es aquél que sometido a una prueba de ELISA, se detecta la presencia de uno o más animales reaccionantes positivos.

Los rebaños clasificados como **probablemente infectado**, según el resultado de la prueba ELISA, deberán confirmar la presencia del agente a través del aislamiento del agente (cultivo sólido o líquido) o detección directa de *Map* (PCR).

Rebaño no infectado: Es aquél que presenta resultados negativos al cultivo fecal o ambiental. Un rebaño con 100% de los animales con resultados negativos al cultivo, deberá ser clasificado como **rebaño no infectado**.

DEL NÚMERO DE MUESTRAS PARA EL DIAGNOSTICO

Cultivo de pool fecal: Si el rebaño es sometido a diagnóstico utilizando cultivo de pool fecal, éste deberá obtenerse de bovinos de 36 meses o más. Las muestras serán obtenidas por vía rectal utilizando mangas individuales desechables y transportadas al laboratorio en frascos estériles, debidamente rotulados. Las muestras serán mantenidas a temperatura ambiente, y procesadas dentro de 24 horas, o bien se podrán congelar a -80°C para ser procesadas posteriormente. Los pools serán confeccionados con muestras de hasta 5 animales por cada pool. Sin un pool fecal resulta positivo al cultivo, se

**CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN
PARATUBERCULOSIS BOVINA (ParaTB)**

deberán examinar las 5 muestras individuales separadamente para identificar la muestra positiva. Si un pool resulta negativo al cultivo, las 5 muestras individuales se considerarán negativas al cultivo.

Muestras ambientales: Para determinar el estatus de infección de un rebaño a través del cultivo de muestras ambientales se recomienda obtener seis muestras ambientales de diferentes locaciones: dos muestras de los pasillos que van desde y hacia la sala de ordeña, dos muestras de patios de concentración de animales y dos de pozo o laguna de estiércol. Cada una de estas muestras estarán constituidas por un pool de cuatro submuestras diferentes.

ELISA: Los tamaños de muestra según número de animales en el rebaño, se detalla en la siguiente tabla de muestreo:

N° de bovinos de 36 meses o más	N° mínimo de bovinos a muestrear	N° de bovinos de 36 meses o más	N° mínimo de bovinos a muestrear	N° de bovinos de 36 meses o más	N° mínimo de bovinos a muestrear
≤ 20	todos	221 a 230	83	431 a 440	104
21 a 30	21	231 a 240	84	441 a 450	105
31 a 40	25	241 a 250	85	451 a 460	106
41 a 50	34	251 a 260	87	461 a 470	107
51 a 60	36	261 a 270	88	471 a 480	108
61 a 70	41	271 a 280	89	481 a 490	109
71 a 80	45	281 a 290	90	491 a 500	110
81 a 90	49	291 a 300	91	501 a 510	111
91 a 100	51	301 a 310	91	511 a 520	112
101 a 110	56	311 a 320	92	521 a 530	113
111 a 120	59	321 a 330	93	531 a 540	114
121 a 130	62	331 a 340	94	541 a 550	115
131 a 140	66	341 a 350	95	551 a 560	116
141 a 150	67	351 a 360	96	561 a 570	117
151 a 160	69	361 a 370	97	571 a 580	118
161 a 170	72	371 a 380	98	581 a 590	119
171 a 180	74	381 a 390	99	591 a 600	120
181 a 190	76	391 a 400	100	> de 600	121
191 a 200	78	401 a 410	101		
201 a 210	80	411 a 420	102		
211 a 220	82	421 a 430	103		

**CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN
PARATUBERCULOSIS BOVINA (ParaTB)**

En rebaños pequeños, el 100% de las hembras de segundo parto o superior deben ser muestreados. En rebaños con menos de 30 animales de segundo parto o superior, deben incluirse en el muestreo el 100% de las hembras de primer parto.

DE LA CLASIFICACIÓN DE ANIMALES

Animales con prueba serológica positiva, deberán ser clasificados como **caso probable** a *Map*. Los animales probablemente infectados deben ser confirmados usando pruebas oficiales de diagnóstico.

En el caso de los animales que fueron diagnosticados como probablemente infectados, los propietarios de ganado deberán confirmar los resultados a través de un MVA, quién deberá realizar una prueba confirmatoria dentro de los 45 días, posterior a la notificación de los resultados, debiendo coleccionar 3 muestras fecales seriadas con intervalos de 7 días desde el animal y enviarlas a un laboratorio oficial o acreditado. Si el cultivo es positivo el animal se considerará infectado y deberá ser eliminado; si el cultivo es negativo el animal se considerará probablemente infectado y deberá ser sometido a un nuevo examen.

Para que un animal pueda ser considerado como animal no infectado, todas las muestras deberán ser negativas. Los animales con resultados positivos al cultivo fecal o PCR deberán ser clasificados como **animales infectados**, y deberán ser eliminados del rebaño.

El estatus del rebaño deberá ser suspendido hasta concluir las pruebas. Sólo los resultados negativos a la totalidad de las pruebas, permitirá mantener el estatus de no infectado del rebaño. Si la prueba confirmatoria es negativa, el rebaño puede mantener su estatus de no infectado, pero el animal debe ser incluido en el siguiente muestreo que se realice a ese rebaño.

NORMAS DE MANEJO PARA PREVENIR LA PRESENCIA DE PBTC

1. Los terneros deben haber nacido en un entorno limpio y seco con una mínima contaminación fecal. Llevar los terneros a un área fuera del galpón, libre de contaminación de estiércol de adultos (la "zona segura") dentro de dos horas de su nacimiento.
2. Debe evitarse la contaminación del alimento y agua de bebida con fecas.

**CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN
PARATUBERCULOSIS BOVINA (ParaTB)**

3. Contaminación de las empastadas con *Map* es teóricamente importante como un medio de transmisión de la infección, pero es menos probable que otros modos de transmisión y mucho más difícil de controlar.
4. Muchos animales infectados con *Map* excretan la bacteria en su leche. Esto ocurre más a menudo en las vacas que presenten signos clínicos de la enfermedad de Johne, pero también ocurre en animales infectados que aparecen saludables.
5. Debido a que ninguna prueba de diagnóstico puede detectar todos los animales infectados en una prueba de rebaño única, el control de ParaTB es mejor si la alimentación es a base de leche cruda, evitándose la lactancia natural.
6. Se recomienda el uso de sustitutos lácteos.
7. Minimizar el riesgo de transmisión de infección por *Map* en calostro siguiendo las siguientes reglas:
 - a) Solo use calostro de animales ELISA negativo.
 - b) No use pool de calostro originados en múltiples animales.
 - c) Limpieza profunda de ubre y pezones antes de la colecta de calostro.

La pasteurización de calostro es técnicamente una cuarta alternativa, sin embargo, la naturaleza viscosa y gruesa del calostro hace muy difícil su pasteurización y por lo tanto por razones prácticas no se recomienda.

8. Analizar caso a caso, podría ser beneficioso que los hijos nacidos de madres infectadas sean sacrificados, de lo contrario puede tomar dos o más años determinar si el joven animal se infectó y esto será el tiempo perdido en la búsqueda de control o erradicación del *Map* del rebaño.

DEL SANEAMIENTO DE REBAÑO INFECTADO

9. Las actividades sanitarias, serán efectuadas a través de laboratorios y empresas de asesorías y servicios veterinarios, constituidas por médicos veterinarios y laboratorios, incorporados a los Registros Oficiales de Médicos Veterinarios y Laboratorios Acreditados.

**CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN
PARATUBERCULOSIS BOVINA (ParaTB)**

10. Los requerimientos para los rebaños en saneamiento deberán aplicar medidas de bioseguridad y de manejo que incluya identificación, chequeos periódicos, y planes de manejo de rebaño, en particular lo referente a la alimentación de terneras, ya que la mayor susceptibilidad a la infección es en animales menores de 1 año, especialmente los menores de 6 meses y de acuerdo a protocolos o acuerdos sanitarios aprobados por la autoridad sanitaria.
11. Un predio que opta a una certificación oficial de ParaTB deberá tener RUP y todos sus bovinos identificados individualmente a través de DIIO.
12. Plan de saneamiento: como primera acción el Servicio le notificará oficialmente al predio, que está infectado de paratuberculosis y que deberá comenzar con las acciones de saneamiento. El saneamiento de un rebaño infectado, se basa en la aplicación de una serie de medidas sanitarias, que llevan a la eliminación del foco de infección de la forma más rápida posible.
13. Este plan es específico para cada predio, es suscrito por el ganadero, el médico Veterinario Acreditado y el SAG. Una vez que es firmado se entenderá como compromiso entre el ganadero, el veterinario acreditado y las instancias oficiales, por lo cual los plazos y medidas que allí aparecen serán exigidos y de no cumplirse se aplicará la legislación correspondiente.
14. De la eliminación de animales infectados: La eliminación de los animales infectados del plantel, tendrá como único destino matadero. Estos animales pueden ser comercializados en feria pero con destino final obligatoriamente a matadero. La eliminación se debe realizar en los plazos establecidos en el plan de manejo. Previo a declarar el rebaño saneado, es necesario eliminar todos los animales reaccionantes a las pruebas oficiales.
15. Acciones que debe realizar el ganadero: Eliminación de los animales clasificados como infectados a ParaTB bovina. Aplicación de las medidas y acciones sanitarias recomendadas y acordadas en el plan de manejo de rebaño infectado.

DE LA CERTIFICACIÓN

16. Los rebaños clasificados como no infectados serán certificados oficialmente, teniendo una vigencia esta certificación por 12 meses. Los rebaños clasificados en esta condición podrán optar al año de esta certificación a niveles de condición sanitaria respecto a PTB, cuyos requerimientos se indican a continuación:

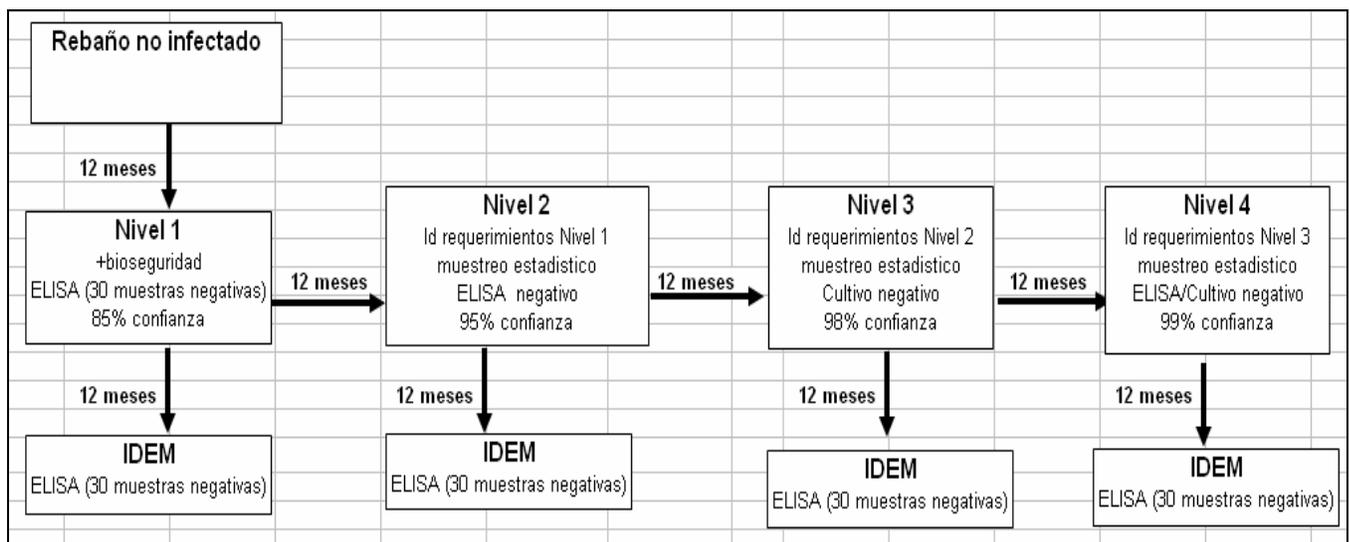
CLASIFICACION SANITARIA DE REBAÑOS EN PARATUBERCULOSIS BOVINA (ParaTB)

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, o cultivo de pooles 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.

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 pooles de fecas o muestras ambientales.

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.

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.



RMZ/mayo2011