



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

DESARROLLO DE UN PROGRAMA DE CONTROL DE PARATUBERCULOSIS EN UN ESTABLECIMIENTO LECHERO

AUTOR: M.V. Seguro, Rubén Eduardo

DIRECTOR: M.V. Canal, Ana María

CODIRECTOR: M.V. Sánchez, Amorina

Esperanza, octubre de 2015



INDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	03
RESUMEN	04
I.INTRODUCCIÓN	05
A. Historia	05
B. Etiología	05
C. Epidemiología	07
D. Patogénesis y Patología	08
E. Diagnóstico	10
F. Medidas de Control	11
II. OBJETIVOS	11
A. OBJETIVO GENERAL	11
B. OBJETIVOS ESPECIFICOS	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	12
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
A. RESULTADOS	13
1- Caracterización del establecimiento	13
2- Diagnóstico de Paratuberculosis	14
3- Medidas de manejo propuestas para el control de la Paratuberculosis	18
B. DISCUSIÓN	19
V. CONCLUSIONES	22
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
VII. ANEXO I	28



LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico
C: Citosina
DNA: Deoxyribonucleic acid
DO: Densidad Óptica
DO's: Densidades Ópticas
ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay
ELISA-I: ELISA Indirecto.
FC: Fijación de Complemento
G: Guanina
IBD: Enfermedades inflamatorias digestivas
IDR: Intradermorreacción
IFN γ : Interferón gamma
INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
IS: Insertion sequence - Secuencia de inserción
Map: Mycobacterium avium subespecie paratuberculosis
MF: Materia fecal
O.I.E: Organización Mundial de Sanidad Animal
P: Fosforo
PB: Proteína Bruta
PCR: Polymerase chain reaction
PP: Porcentaje de Positividad
PPD: derivado proteico purificado
PT: Pasteurización
PTBC: Paratuberculosis
RFLP: restricted fragment length polymorphism
ROC: Receiver Operating Characteristic Curve
Se: Sensibilidad
Sp: Especificidad
VO: Vacas en Ordeño
VS: Vacas Secas



ZN: Ziehl Neelsen

RESUMEN

La paratuberculosis o enfermedad de Johne es una enfermedad causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*), considerándose como una de las más frecuentes y costosas enfermedades infecciosas del ganado lechero. Aun existiendo excelentes recopilaciones de hechos y recomendaciones, poco se han tratado los problemas prácticos de cómo manejar los rodeos lecheros infectados con *Map*. El *Map* es un patógeno intracelular obligado, ácido-alcohol resistente, de difícil cultivo en medios de laboratorio. La paratuberculosis es una enteritis granulomatosa crónica e infecciosa que afecta principalmente a ruminantes tanto domésticos como salvajes. Adquiere mayor importancia en las especies bovina (*Bos taurus*), ovina (*Ovis aries*) y caprina (*Capra hircus*). La fuente primaria de infección en los bovinos, son los adultos infectados. La principal vía de transmisión es la oro-fecal a través del calostro y leche de animales infectados y alimentos contaminados con materia fecal. Los animales jóvenes son el grupo más susceptible, fundamentalmente los primeros 30 días de vida y hasta aproximadamente los 6 meses. El diagnóstico depende en gran medida del estadio en que encuentren los animales infectados, los que están en estadios silenciosos o subclínicos se caracterizan por una alta respuesta inmune celular, mientras que los que se encuentran en los estadios clínicos y avanzados se definen por una respuesta inmune humoral. El *Map* puede ser detectado por medio de técnicas llamadas genéricamente de genotipado, pues posee una secuencia de inserción específica: IS900. Se llevó a cabo un trabajo de diagnóstico de situación de esta enfermedad en un establecimiento lechero del Departamento Las Colonias, Provincia de Santa Fe, Argentina, con una población de 1078 bovinos totales, donde siete vacas presentaban cuadro de diarrea acuosa. Se realizó necropsia, cultivo bacteriológico y serología (test de ELISA-I). A la necropsia, tres bovinos presentaron lesiones en ileon y ganglios linfáticos mesentéricos de enteritis y linfadenitis granulomatosa crónica con observación de bacilos ácido alcohol resistentes con la tinción de Ziehl Neelsen. El aislamiento en medio Herrold fue positivo para *Map*. El ELISA indicó, sobre un total de 542 sueros evaluados, una prevalencia de 12.2% de animales positivos (n=66) y 22.5% de animales sospechosos (n=122). A partir de estos resultados, se indicaron medidas de manejo en las diferentes categorías de bovinos tendientes a controlar la enfermedad.



I. INTRODUCCIÓN:

A. Historia

La Paratuberculosis (PTBC) era conocida en Inglaterra antes de 1830, sin embargo, el agente responsable fue descrito por primera vez en 1895 durante un brote de diarrea bovina en Alemania, cuando Johne y Frothingham hallaron la presencia de microorganismos ácido-alcohol resistentes a partir de frotis de material intestinal. En 1923, Bergey et al. otorgan el nombre de *Mycobacterium avium subespecie paratuberculosis (Map)* al microorganismo causante de la enfermedad, como se lo identifica en la actualidad. Durante muchos años en nuestro país la Paratuberculosis o Enfermedad de Johne, fue diagnosticada ocasionalmente, habiendo sido reconocida en 1932, pero solo como casos clínicos aislados. Entre los años 1969 y 1972, SENASA, a través de relevamientos obtiene resultados positivos, todos reconocidos por la técnica de determinación intradérmica de sensibilidad con tuberculina mamífera, aviar y johnina simultáneamente. Después se informó (Dubarry y Colace, 1983) sobre varios bovinos afectados y muertos por la enfermedad en establecimientos dedicados a cría, en las provincias de Buenos Aires y La Pampa, siendo reconocida por lesiones. Si bien se conocía la importancia de la enfermedad en Inglaterra, EE.UU, Australia, Nueva Zelanda, Holanda y otros países, se la valoraba como una afección propia del ganado lechero, que en Argentina recién se estaba desarrollando técnicamente. Desde la década del ochenta se asumió que existía, un problema importante y de lenta difusión, que se veía como patrimonio de los rodeos de cría de la cuenca del Salado en la provincia de Buenos Aires.

B. Etiología

La Paratuberculosis o enfermedad de Johne es una enfermedad crónica del intestino causada por *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis (Map)*. Esta bacteria patógena pertenece al género *Mycobacterium*, grupo en el que también se incluyen los agentes etiológicos de la tuberculosis y la lepra. Es una micobacteria del complejo *M. avium*, de gran importancia en veterinaria y medicina por su implicación en infecciones de animales de granja y pacientes inmunodeprimidos. Sus rasgos distintivos son la dependencia de micobactina, la baja velocidad de crecimiento, la resistencia a condiciones adversas y el elemento genético IS900. En ocasiones, las micobacterias presentan un crecimiento filamentosos o pseudomicelios y aunque no forman estructuras de tipo fúngico (esporas, conidias, cápsulas,



hifas), el género debe su denominación al aspecto fungoide de las colonias de *M. tuberculosis*. Además de micobacterias patógenas estrictas de los humanos y los animales como *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. bovis*, *M. caprae* o *Map*, también existen micobacterias patógenas oportunistas y micobacterias saprófitas ambientales. *M. avium* y *M. intracellulare* son importantes patógenos causantes de diversas enfermedades que también afectan a un amplio rango de hospedadores, entre ellos, el hombre (Lüster, 2004).

En cuanto a la composición genética, el genoma micobacteriano es rico en guanina (G) y citosina (C) (61-71%) y se conoce la secuencia completa de dos cepas de *M. tuberculosis* y las de *M. leprae* (Cole et al., 1998 y 2001), *M. bovis* (Garnier et al., 2003) y *Map* (Li et al., 2005). Contiene secuencias de inserción (IS), elementos que han resultado muy útiles en la identificación y diferenciación de especies. Estos pequeños tramos de DNA transponible que pueden encontrarse varias veces repetidas a lo largo del genoma, tienen en sus extremos secuencias flanqueantes repetidas que están involucradas en su transposición. En medio de esas secuencias terminales repetidas hay genes involucrados en la transposición y secuencias que pueden controlar la expresión de los genes, pero no presentan otros genes que no sean esenciales. Las de mayor interés son la inserción específica de *M. avium subsp. paratuberculosis* IS900 (Green et al., 1989) y para *M. avium*, la secuencia de inserción IS901 (Kunze et al., 1991).

El *Map* es un patógeno intracelular obligado, ácido-alcohol resistente, de difícil cultivo en medios de laboratorio, requiriendo micobactina como factor de crecimiento y piruvato como promotor del desarrollo, y de 8-16 semanas de incubación (Jorge et al., 2005).

Si analizamos la resistencia y persistencia en comparación con otras bacterias incluidas el resto de micobacterias, *Map* se caracteriza por su extremadamente baja actividad metabólica, lo que conlleva una velocidad de crecimiento en condiciones óptimas 24 veces inferior que la de bacterias como *Escherichia coli* (Juste et al., 1993). Esa cualidad de metabolismo ralentizado en combinación con la defensa que le confiere la compleja pared celular hace de *Map* una bacteria muy resistente a condiciones adversas, lo que al mismo tiempo, le permite ser la primera en multiplicarse cuando estas sean más favorables. Es capaz de sobrevivir 9 meses en agua de estanque esterilizada y 163 días en agua de río, en agua corriente con pH no neutro hasta 14 meses y en agua destilada hasta 15 meses. La supervivencia en heces puede llegar hasta los 246 días. Además, su resistencia le permite soportar tratamientos de esterilización aplicados a la leche y al agua destinada al consumo humano. Por el contrario, parece sensible a la luz solar, las altas temperaturas, la desecación, entre otras. También puede ser inactivado por medio de desinfectantes en suspensión acuosa como el amonio (3%), el formol (5%), compuestos cresólicos (1:32), el fenol (1:40), el bicloruro



de mercurio (1:1000), el hipoclorito cálcico (1:50), el cloro, cianamida cálcica o el etanol (O.I.E., 2008).

C. Epidemiología

La paratuberculosis es una enteritis granulomatosa crónica e infecciosa, contagiosa, que afecta principalmente a rumiantes tanto domésticos como salvajes. Adquiere mayor importancia en las especies bovina (*Bos taurus*), ovina (*Ovis aries*) y caprina (*Capra hircus*). Últimamente, la enfermedad ha pasado a ser junto con la tuberculosis una de las más preocupantes en cérvidos (familia *Cervidae*) y llama (*Lama glama*) (Larsen et al., 1975; Jorge et al., 2008).

La fuente primaria de infección son los bovinos adultos infectados. La principal vía de transmisión es la oro-fecal a través del calostro y leche de animales infectados y alimentos contaminados con materia fecal (Larsen et al., 1975; O.I.E, 2008).

La paratuberculosis es una enfermedad de creciente prevalencia en especies ganaderas que está ampliamente distribuida por todo el mundo y es endémica a nivel mundial, con altos niveles de prevalencia y fuerte impacto económico. El ganado infectado puede también padecer episodios más elevadas de ascitis e infertilidad, que los animales no infectados. Las pérdidas principales son debidas a la expectativa de vida más corta y a la disminución en la producción de leche, prematura eliminación de los animales del rodeo, pobre conversión alimenticia, aumento de la susceptibilidad a otras enfermedades infecciosas, pérdida en el potencial genético e incrementos en los costos derivados del uso de medicamentos (Whitlock y Buergelt, 1996).

En Argentina, la seroprevalencia en rodeos de cría de la Cuenca del Salado (Provincia de Buenos Aires) se ubica entre 7.2% y 19.6%, mientras que la prevalencia oscila: en Europa entre el 7% y 55%, en los Estados Unidos entre 20% y 40% y en rodeos lecheros de Australia entre 9% y 22%(Gilardoni y Mundo, 2008).

Las pérdidas económicas acarreadas por la infección se estiman en aproximadamente 28 millones de dólares, en la Provincia de Buenos Aires (Gilardoni y Mundo, 2003). A la hora de calcular el impacto económico de la paratuberculosis, las mismas pueden ser clasificadas como directas, indirectas o inaparentes (Kennedy y Allworth, 2000). Dentro de los costos directos, entrarían las derivadas de la reducción productiva de animales afectados clínica y subclínicamente, bien por descenso en las cantidades de leche producidas, por descenso del valor del animal en el matadero o por el sacrificio prematuro de los mismos. Los costos derivados del control de la enfermedad, como la contratación de servicios veterinarios, la realización de pruebas diagnósticas o los generados por cambios de manejo del rebaño,



también pueden clasificarse como directos. Se ha estimado que las pérdidas económicas derivadas de la paratuberculosis en las granjas lecheras de Estados Unidos pueden exceder los 1,5 billones de dólares por año (Jones, 1989) y en los rebaños con al menos un 10% declarado de bajas por esta enfermedad, las pérdidas ascienden hasta 200 dólares y 700 kg. de leche por vaca y año (Ott et al., 1999).

Con respecto a la salud pública, se relaciona a la paratuberculosis con la enfermedad de Crohn: siendo ésta un proceso inflamatorio del intestino que afecta a la especie humana (Juste et al., 2009) debido a las semejanzas entre ambas. Se agrupa dentro de las denominadas enfermedades inflamatorias digestivas (IBD). Los síntomas más típicos de la enfermedad son la diarrea, el dolor abdominal y la pérdida de peso. La lesión característica es una inflamación granulomatosa en el tramo final del íleon y zona ileocecal, caracterizada histológicamente por agregados de células epitelioides, linfocitos y células plasmáticas, que afectan a la mucosa y submucosa intestinal. Los jóvenes entre 16 y 25 años son los típicamente afectados, pero puede aparecer antes o después en la vida. Varios estudios demuestran por la técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) y/o cultivo, la presencia de *Map* en leche destinada al consumo humano (Cirone et al., 2007; Paolicchi et al., 2012).

D. Patogénesis y Patología

El *Map* penetra por boca y se multiplica en aparato digestivo ingresando a través del tejido linfoide del intestino delgado (Placas de Peyer principalmente), habitualmente sin causar lesiones, para ser eliminado al ambiente con la materia fecal. En determinados animales, penetra en la mucosa intestinal donde coloniza, se multiplica y da lugar a la reacción orgánica específica. Ingresados al organismo, son fagocitados por macrófagos, los macrófagos con *Map* en su interior, tienden a instalarse en la lámina propia de la mucosa del intestino, para adquirir la característica de células epitelioides multinucleadas, las bacterias se multiplican hasta destruirlas, esta nueva masa bacteriana atrae más células defensivas, aumentando el tamaño de la lesión, atraviesa la lámina propia infiltrando la submucosa, la mucosa aquí pierde su actividad funcional (es una infiltración mucosa y submucosa por macrófagos y células epitelioides que alojan al *Map*); los gérmenes son llevados dentro de los macrófagos hasta los ganglios mesentéricos, donde causan lesiones. Los animales pueden infectarse de muy jóvenes, desde las primeras horas de vida, a través de los pezones sucios de materia fecal de la madre, pudiendo ser además por la leche o el calostro. Se ha descrito asimismo la transmisión por vía placentaria. Los animales jóvenes son el grupo más susceptible, fundamentalmente los primeros 30 días de vida y hasta aproximadamente los 6 meses (Larsen et al., 1975).



El período de incubación puede ser de varios años y el de evolución, de meses. En vacas lecheras es frecuente encontrar síntomas clínicos entre la segunda y la tercera lactancia, dentro de ellos los más destacados son: disminución de la producción de leche, diarreas profusas, líquidas y malolientes, consumo de alimento irregular, deshidratación, progresiva emaciación y reducción del volumen de masas musculares (O.I.E, 2008).

Las primeras reacciones que provoca la infección son la producción de interferón gamma (IFN γ) y la proliferación de linfocitos en respuesta a la inoculación de antígenos micobacterianos como el derivado proteico purificado (PPD). Ello indica la activación de la inmunidad celular y la excreción intermitente de la bacteria en heces. La respuesta irá en incremento junto con la carga micobacteriana excretada en las heces, mientras, los anticuerpos de la respuesta humoral van apareciendo. Esta fase de aparente equilibrio entre patógeno y hospedador puede durar años. Al final, la respuesta celular cae y la excreción de bacterias aumenta, lo que lleva al estado clínico de la enfermedad (Chiodini, 1996). En la especie bovina se distinguen bajos excretores, moderados excretores y grandes excretores (o super-excretores) (Whitlock y Buergelt, 1996). En comparación con los menos excretores, el grupo de grandes excretores se asocia con animales de baja respuesta celular (sobre todo en las fases iniciales de infección) asentamiento más temprano de la enfermedad y títulos de anticuerpos (respuesta humoral) más altos. El cuadro clínico clásico de la paratuberculosis es una diarrea más o menos intermitente según la especie, acompañada de consunción progresiva y muerte. Sin embargo, estas formas representan un porcentaje relativamente bajo de la casuística de la paratuberculosis ya que, la fase más prolongada es subclínica. El signo clínico de paratuberculosis común a todas las especies es la pérdida progresiva de peso y condición corporal (Blood y Radostits, 1992). La formación constante o intermitente de heces diarreicas homogéneas, no hemorrágicas y no mucosas es otro síntoma típico en vacas con paratuberculosis clínica (Lüster, 2004).

La paratuberculosis provoca lesiones macroscópicas comunes a las que se producen en otros procesos caquetizantes. En la necropsia de animales con avanzados signos clínicos puede observarse una falta muy importante de depósitos grasos que pueden evidenciarse por: atrofia de la serosa y de la masa muscular, formación de edema, ascitis y acumulación de líquidos en otras cavidades. Más específicos de la paratuberculosis, son los fenómenos relacionados con el sistema digestivo, principalmente las lesiones que afectan al yeyuno, al íleon, a la válvula ileocecal, a los nódulos linfáticos mesentéricos e incluso al ciego y a la primera parte del colon. El engrosamiento de la pared intestinal es el rasgo característico de la enfermedad en la especie bovina, principalmente en el íleon. Presenta una mucosa edematosa, tumefacta, con aspecto carnosos, formando gruesos pliegues, que pueden



presentar grietas, áreas congestivas, petequias o ulceraciones. Los vasos linfáticos que conectan la serosa con los ganglios, pueden aparecer visiblemente inflamados o dilatados, a modo de cordón retorcido con aspecto blanquecino, aunque a menudo no sean tan evidentes. Los ganglios mesentéricos (del yeyuno e ileocecales sobre todo) presentan normalmente un incremento en su tamaño, tumefacción y aspecto edematoso, y en la sección de los mismos la zona medular adquiere un color marrón verdoso. La aparición de lesiones en otras zonas es menos frecuente. En cuanto a las lesiones microscópicas, se trata de una enteritis granulomatosa cuyas lesiones más evidentes se localizan en los últimos tramos de intestino delgado, primeros del grueso, nódulos y vasos linfáticos asociados. La lesión característica es un infiltrado celular compuesto por macrófagos, linfocitos, células epitelioides y plasmáticas. Los macrófagos aparecen normalmente llenos de bacilos, acompañados frecuentemente de células gigantes, también con numerosas bacterias en su interior. Las formas de las lesiones muestran una gran variabilidad (de focales a difusas) y dependen de factores como la dosis infectante, el estado inmunológico, la susceptibilidad y la resistencia del hospedador, además del tipo de cepa implicada (Jubb et al., 2007; Zachary y Mc Gavin, 2012).

E. Diagnóstico

El *Map* es susceptible de ser detectado por medio de técnicas llamadas genéricamente de genotipado. La distinción a nivel de cepa ha sido posible gracias a la caracterización genética de estos microorganismos por medio de técnicas moleculares. Tal y como se ha comentado anteriormente, la identificación de los aislamientos de *Map* se basa en la ácido-alcohol resistencia, su extremadamente baja tasa de crecimiento, la dependencia de micobactina exógena y la presencia de varias copias de la secuencia IS900 insertadas en su genoma. En el caso de *Map*, la técnica de tipado genético más utilizada, es el análisis RFLP (restricted fragment length polymorphism) por medio de sondas específicas de IS900 tras la digestión del ADN cromosómico con diferentes enzimas (IS900-RFLP) (Moreira et al., 1999).

El diagnóstico de PTBC depende en gran medida del estadio en que se encuentren los animales infectados, los que están en estadios silenciosos o subclínicos se caracterizan por una alta respuesta inmune celular, mientras que los que se encuentran en los estadios clínicos y avanzados se definen por una respuesta inmune humoral (Larsen et al., 1975).

La detección de *Map* mediante cultivo microbiológico de heces, leche o tejidos es la técnica de referencia o *Gold Standard*, que demanda de 8 a 16 semanas, el medio de cultivo tradicional es el Herrold, suplementado con micobactina y piruvato. La tinción con Ziehl-Neelsen se emplea rutinariamente para el diagnóstico presuntivo. Las pruebas diagnósticas



en los primeros estadios que están basadas en la respuesta inmune celular son la intradermorreacción (IDR) y el gamma interferón (IFN γ) Los animales infectados en los últimos estadios o los mayores de tres años son grandes excretores y tienen una respuesta inmune humoral detectable por las técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) (Enzyme-linked immunosorbent assay) (Paolicchi et al., 2003; Nielsen y Toft, 2008; Martínez Covarrubias et al., 2012).

F. Medidas de Control

De lo expuesto anteriormente surge que la Paratuberculosis (enfermedad de Johne) ha aparecido como una de las más frecuentes y costosas enfermedades infecciosas del ganado lechero. Las actualizaciones sobre paratuberculosis han analizado comprensivamente muchas facetas del agente causal (*Map*) y la enfermedad. Aun existiendo excelentes recopilaciones de hechos y recomendaciones, poco se han tratado los problemas prácticos de cómo manejar los rodeos lecheros infectados con *Map* (Collins, 1998). Por otra parte, no existe en el país un plan obligatorio ni voluntario para el control de la paratuberculosis, ni tampoco un control de los reproductores para su venta, por lo que la enfermedad puede difundirse con los movimientos del ganado. Consecuentemente con este último comentario, se presenta un plan de control de paratuberculosis desarrollado en un establecimiento lechero del Departamento Las Colonias (Provincia de Santa Fe) desde el año 2000 a 2001.

II. OBJETIVOS

A.OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un programa práctico de control de la Paratuberculosis en un establecimiento lechero, ubicado en el Departamento Las Colonias (Provincia de Santa Fe, República Argentina), habiendo evaluado la situación sanitaria del mismo.

B. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1- Caracterizar el establecimiento.
- 2- Diagnosticar la situación en relación a la Paratuberculosis.
- 3- Planificar medidas prácticas de saneamiento y manejo para el control de la enfermedad.



III. MATERIALES Y MÉTODOS:

El trabajo se llevó a cabo en un Establecimiento lechero, ubicado en el Departamento Las Colonias (Provincia de Santa Fe, República Argentina), donde se detectaron bovinos con cuadros de diarrea acuosa y mal oliente. Por tal motivo se realizaron las siguientes actividades:

1. Caracterización del establecimiento: Se realizó un análisis de la superficie ganadera, sistema de producción y alimentación, característica de las instalaciones y del stock ganadero, obteniéndose gran parte de los datos de las planillas de producción generadas por el Software utilizado (SW Dr. Sola). Centro operativo de desarrollo – San Martín 1039 – San Carlos Centro - Santa Fe, Argentina. E-mail: administración@swagropecuaria.com.ar.

2. Para el diagnóstico de la enfermedad, se llevó a cabo primeramente el examen clínico de siete vacas en ordeño, entre la segunda y cuarta lactancia y se realizaron necropsias en tres de dichos bovinos, describiendo las lesiones macroscópicas y obteniéndose muestras para aislamiento bacteriológico y para histopatología. Se tomaron muestras de materia fecal (MF), recto y ganglios linfáticos mesentéricos, que fueron colocados en frascos estériles y en forma refrigerada, remitidos al Laboratorio de microbiología de INTA Balcarce, donde se realizó coloración de Ziehl Neelsen (ZN) y cultivo en medio Herrold (Jorge et al, 2005). Para histopatología se tomaron muestras de ileon, válvula ileocecal y ganglios linfáticos fijados con formol al 10%, que fueron remitidas al Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de Esperanza.

Entre el tiempo transcurrido desde la tinción de las muestras y los resultados de los cultivos, nos reunimos tres veces con los referentes del laboratorio del INTA Balcarce, dos veces en Balcarce y una en Esperanza, con el objeto de trazar un plan de trabajo y determinar la situación epidemiológica en el establecimiento. Se propusieron los siguientes estudios:

*Análisis serológico para determinar presencia de anticuerpos para *Map*: En el mes de Diciembre de 2000 se sangraron los animales por punción de la vena coccígea media y se enviaron al laboratorio de bacteriología de la Estación Experimental de INTA Balcarce, 542 muestras de suero de las hembras de más de 30 meses de edad, perfectamente acondicionadas en tubos eppendorf donde se realizó la técnica de ELISA-I (Allied Monitor, USA). Los resultados se analizaron por el análisis de la curva ROC, calculando el valor del corte que tiene mayor exactitud, es decir que, minimiza los resultados falsos negativos y falsos positivos (Späth et al., 2001). Todas las vacas positivas a la prueba de ELISA debían ser eliminadas del rodeo.

*Test de Interferón γ y de todas las hijas de madres positivas a la prueba de ELISA a una edad de 10 a 12 meses.



3. Se tuvieron en cuenta las consideraciones citadas por Kennedy and Allworth (2000), Paolicchi et al. (2001b) y Manual de la O.I.E (2008), para posteriormente proponer medidas de saneamiento y de control:

- La PTBC acorta la vida productiva de los vacunos y disminuye la producción de leche de las vacas con infección subclínica a partir de la primera lactancia.
- Los vacunos jóvenes son más susceptibles a la infección con *Map* que los animales de mayor edad. El momento crítico de susceptibilidad es en los primeros 6 meses de vida.
- El *Map* se transmite por vía oral-fecal, pero puede transmitirse por útero y por leche de vacas infectadas, especialmente en los últimos estadios de la infección. Los terneros nacidos de vacas infectadas tienen mayor posibilidad de infectarse, que los nacidos de vacas no infectadas.
- Los animales infectados en los estadios subclínico y clínico, eliminan por materia fecal grandes cantidades de *Map*, siendo los portadores que mantienen la infección en el rodeo, fundamentalmente los que cursan la enfermedad en forma subclínica.
- La tasa de infección con *Map* en los rodeos se incrementa con el tiempo, por cada caso clínico de paratuberculosis es posible que haya 5 a 10 vacas con infección subclínica.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. RESULTADOS

1- Caracterización del establecimiento: El establecimiento lechero está ubicado en el Departamento Las Colonias (Provincia de Santa Fe, República Argentina), la superficie praderizable es de 480 hectáreas, los suelos son de clase 1 y 2, con niveles de P (Fosforo) no limitantes para la implantación de Alfalfa (*Medicago sativa*) -forraje principal en la alimentación del ganado- la superficie ocupada por esta especie oscilaba entre el 50 % y 60% del total de la superficie praderizable, el resto estaba ocupado por los cultivares que completaban la rotación forrajera, a saber: Maíz (*Zea mays*) y/o Sorgo (*Sorghum spp*) para ser utilizados como forrajes conservados (Silajes) y Verdes de invierno como Avena (*Avena sativa*) y Rey grass (*Lolium multiflorum*). El sistema de producción era pastoril con suplementación de las vacas en producción en la sala de ordeño -la suplementación en el tambo está automatizada- los concentrados ofertados, eran alimentos balanceados que oscilan entre el 13% al 16% de proteína bruta (PB) y suministro de silaje de maíz y/o sorgo fuera de las instalaciones de ordeño. El consumo de Materia Seca (MS) aportado por el pasto, por día y por vaca en ordeño era de un 45% del total ofrecido y la relación forraje/concentrado



era de 75/25. Los litros promedios anual eran de 22.4 litros por vaca en ordeño (VO). El estado corporal de las vacas en general era muy bueno, siendo el de las (VO) de unos 2.5 a 3 puntos y el de las vacas secas (VS) de 3.5 puntos, en una escala de 1 a 5, con puntos intermedios. La sala de ordeño está diseñada con una fosa central tipo (espinazo de pescado), la máquina de ordeño era de línea intermedia con 16 bajadas, sin extractores automáticos de pezoneras. El rodeo de ordeño estaba dividido en dos lotes, punta y cola: en el primero se ordeñaban las vacas de mayor producción y en el segundo se ordeñaban las vacas que están en el final de la lactancia. Se efectuaban dos ordeños por día, el tiempo de ordeño efectivo era de aproximadamente 3 horas. El diseño de ingreso y egreso de los animales al corral de espera y sala de ordeño era sumamente ágil. La distribución de las aguadas era muy buena y proveían la cantidad de agua necesaria para todo el rodeo, cubriendo incluso los períodos de mayor requerimiento. Con respecto a la reproducción, los servicios se efectuaban por inseminación artificial, no existiendo presencia de toros. La raza era Holstein, utilizándose preferentemente líneas genéticas de Estados Unidos de América. La crianza de las terneras en su período lechal, primeros 60 días, se efectuaba con leche cruda proveniente del tambo, suministrándoles entre 4 a 6 litros dos veces por día, además de alimentos sólidos como: extrusados comerciales con 22% PB, balanceado iniciador al 18% de PB y heno de buena calidad; de 60 a 120 días pasan por un período de acostumbramiento, con heno y alimento balanceado recría con 16% de PB. Las hembras luego de 120 a 140 días de vida, se continuaban alimentando en pasturas base alfalfa, además de suplementarse con alimentos concentrados y silaje de maíz y/o sorgo hasta el primer parto. Los machos eran vendidos después de terminado el período lechal.

<i>Categorización del rodeo</i>	<i>Cantidad de animales</i>
<i>Vacas en Ordeño:</i>	<i>434</i>
<i>Vacas Secas:</i>	<i>108</i>
<i>Vaquillas > 2 años:</i>	<i>48</i>
<i>Vaquillas entre 1 y 2 años:</i>	<i>204</i>
<i>Terneras < 1 año:</i>	<i>249</i>
<i>Terneros < 6 meses</i>	<i>35</i>
<i>Total:</i>	<i>1078</i>

2- Diagnóstico de Paratuberculosis: Entre Marzo y Septiembre de 2000, se examinaron un total de siete vacas en ordeño -entre la segunda y cuarta lactancia- por presentar un cuadro de diarrea muy acuosa y mal oliente, con emaciación, pérdida de peso y producción; dos de ellas presentaban edemas submandibulares bien marcados. Las vacas no respondieron a los tratamientos clásicos para controlar las diarreas y el cuadro no se asemejaba a las diarreas

producidas por las indigestiones típicas de la producción ni al de otro tipo de enfermedades. Tres de las vacas fueron sometidas a necropsia, las lesiones encontradas se limitaban a intestino (yeyuno, íleon, válvula ileocecal y colon), con un leve engrosamiento de las paredes en áreas irregulares (Fig. 1) y algunos ganglios mesentéricos agrandados de tamaño y jugosos al corte. Aumento de líquido en cavidad abdominal sin presencia de fibrina. De una de ellas, se tomó una muestra de recto que fue enviada en condiciones al laboratorio, junto con materia fecal. Estas muestras fueron remitidas al laboratorio de bacteriología de la estación experimental de INTA Balcarce, a cargo del Dr. Fernando Paolicchi. Las muestras fueron sometidas a la tinción de Ziehl-Neelsen como es de rutina y cultivadas en el medio Herrold.

La presunción diagnóstica de paratuberculosis en los casos clínicos, fue confirmada por el cultivo y aislamiento del *Map*. El resultado positivo del cultivo si bien es la técnica de referencia o Gold Standard demora un tiempo importante, de 8 a 16 semanas.

Con la tinción de Ziehl Neelsen (ZN) se observaron numerosos bacilos ácidos alcohol resistentes, si bien esta técnica es rápida, sencilla y de bajo costo tiene una baja sensibilidad. Las muestras de íleon con engrosamiento de la mucosa y de linfonodos linfáticos aumentados de tamaños remitidos para histopatología, presentaron inflamación granulomatosa crónica difusa con numerosos macrófagos, linfocitos, células epiteloides y células gigantes. (Figura. 1, 2 y 3).



Figura 1: Engrosamiento de la mucosa del intestino delgado (íleon)

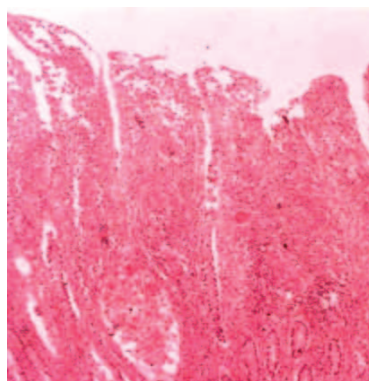


Figura 2: Enteritis granulomatosa difusa con células gigantes. HE.4X

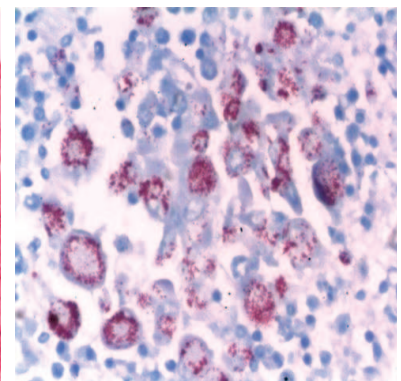


Figura 3: Macrófagos y células gigantes con bacilos ácido alcohol resistentes. ZN. 40X

Fuente: Laboratorio de Patología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de Esperanza.

En relación al diagnóstico de situación de esta enfermedad en el rodeo, se obtuvieron los siguientes resultados:



- De los análisis de sangre por ELISA-I (Allied Monitor, ELISA INTA) realizados a las hembras de más de 30 meses de edad, sobre un total de 542 sueros bovinos, se obtuvo una prevalencia de 12.2% de animales positivos (n=66) y 22.5% de animales sospechosos (n=122). Tabla N° 1: resultados positivo (P), sospechoso (S) y negativo (-), en Anexo 1. Es necesario tener en cuenta que, la técnica de ELISA da un porcentaje alto de resultados sospechosos, por lo cual las vacas “sospechosas” deberían ser reanalizadas 6 meses después

Teniendo en cuenta que todas las vacas positivas a la prueba de ELISA debían ser eliminadas del rodeo, la interpretación de la prueba de ELISA-I se realizó con un criterio cuantitativo y poblacional. Esto permitió priorizar la eliminación de vacas positivas que además tengan otras características no deseables desde el punto de vista productivo. Para tomar esta determinación, con los resultados de las muestras de suero que fueron procesadas con la técnica de ELISA-I (Allied Monitor, USA), se determinó un punto de corte (cut-off) realizado sobre la base del estudio de una población verdaderamente sana y otra verdaderamente enferma. Las muestras verdaderamente negativas fueron sueros de 172 bovinos adultos jóvenes de varios rodeos de la provincia de Tierra del Fuego donde la enfermedad se considera exótica y 45 sueros de bovinos de los que se aisló *Mycobacterium avium subsp paratuberculosis*, como verdaderos positivos.

Para cada muestra que se sometió a ELISA-I se calculó el porcentaje de positividad (PP):

$$PP = \frac{\text{DO promedio de la muestra}}{\text{DO promedio del control positivo}} \times 100$$

El porcentaje de positividad (PP) se utilizó para trazar la curva ROC (Receiver Operating Characteristic Curve).

En la Figura 4 se observa la dispersión de los valores de (PP) para los sueros negativos y positivos.

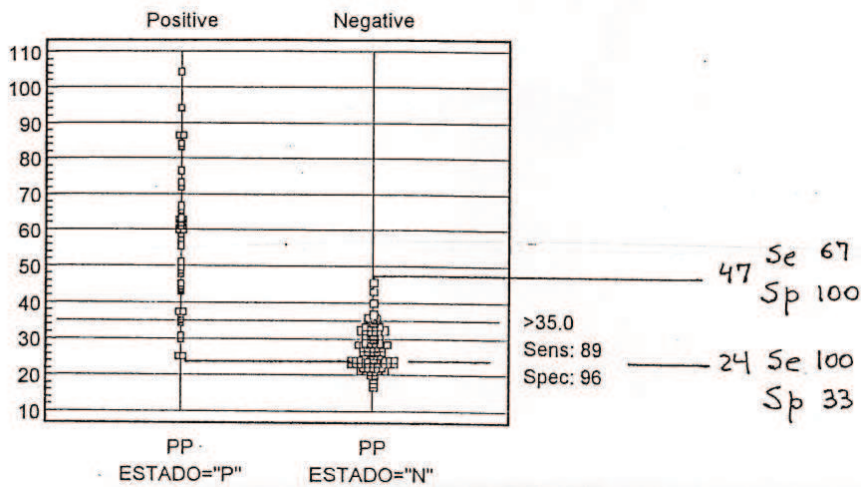


Figura 4: Diagrama de puntos interactivo. Fuente: INTA Balcarce – Grupo Sanidad Animal

En la Figura 5 se observa el punto de corte optimizado por el programa.

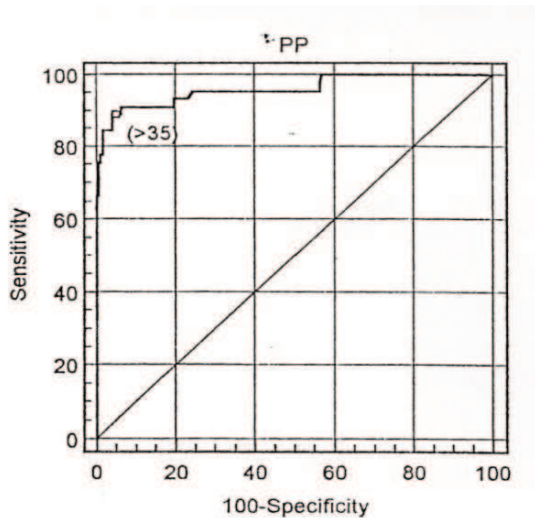


Figura 5: Curva ROC. Fuente: INTA Balcarce – Grupo Sanidad Animal

El punto de corte (cut-off) calculado mediante la curva ROC dió como resultado una sensibilidad (Se) de 89% y una Especificidad (Sp) de 96% (Figura 4) (Späth et al.,2001).

-El Test de Interferón y de todas las hijas de madres positivas a la prueba de ELISA-I a una edad de 10 a 12 meses no fue realizado en este plan, aunque fue sugerido, con la indicación de que las terneras de ser positivas, debían ser eliminadas. Se debe considerar que la prueba de ELISA-I sólo da resultados confiables a partir de los 30 meses de edad debido a que antes no se producen anticuerpos humorales en los bovinos infectados.



3- Medidas de manejo propuestas para el control de la Paratuberculosis.

Se detallan las actividades propuestas y realizadas para el control de la paratuberculosis en el establecimiento en estudio:

1. Tratamiento térmico de la leche para el consumo de los terneros. El tratamiento de la leche, con una combinación de temperatura/tiempo adecuada, asegura la destrucción del *Mycobacterium avium subsp paratuberculosis* y *Mycobacterium bovis* y disminuye al mínimo las probabilidades de transmisión de dichos agentes por esta vía. Además, asegura la destrucción de otros potenciales patógenos. El equipo utilizado fue un pasteurizador de leche para terneros de fabricación nacional y el régimen de pasteurización (PT) fue de 300 litros de leche/hora, a 72.5 °C de temperatura por 15", según las sugerencias del Dr Paolicchi et al. (2001b).
2. Implementación de medidas higiénicas en el establecimiento para evitar transportar materia fecal de vacas adultas desde las instalaciones del tambo, callejones, parideras o piquetes utilizados por varios años hasta el lugar donde se crían los terneros. El nivel de higiene de las parideras y la rapidez con que los terneros son separados de las madres, están directamente relacionados con la posibilidad de que un ternero se infecte con *Mycobacterium avium subsp paratuberculosis*, por lo tanto, los terneros deberían criarse en áreas libres de materia fecal de los adultos al menos en sus primeros seis meses de vida. Por tal motivo: el personal encargado de la crianza fue debidamente entrenado al respecto, respetando un protocolo de higiene que contemplaba desde el ingreso de los animales, medio de transporte de la leche pasteurizada, higiene de utensilios y vestimenta, principalmente botas. Como desinfectantes se utilizaron amonios cuaternarios.
3. Realización de un test que pueda identificar las vacas infectadas del rodeo para su segregación y posterior eliminación. Se utilizó el test de ELISA-I a vacas adultas y se sugirió además la técnica Interferón γ , de todas las hijas de madres positivas a la prueba de ELISA-I a una edad de 10 a 12 meses, las cuales en caso de ser positivas debían ser segregadas.
4. Control de la contaminación de los alimentos y el agua con materia fecal del rodeo adulto.
5. Ingreso por compra o traslado, de bovinos al establecimiento: todo bovino mayor de 30 (vaquillas para reposición) meses que ingresa debía ser sometido a la prueba de ELISA-I.

Dichos resultados constituyeron una respuesta práctica al problema de toma de decisiones para el médico veterinario y el productor, quienes procedieron a la segregación y eliminación paulatina de todos los bovinos adultos positivos.

Toda la crianza fue alojada en un lugar lo más alejado de los acúmulos de materia fecal de las vacas, los terneros fueron calostrados con el primer ordeño, previa higiene y



desinfección de los pezones y de ser posible, se guardó calostro de vacas seronegativas para formar un banco de reserva.

En los meses siguientes a la segregación y eliminación, solamente en dos oportunidades se remitieron muestras de sangre para ELISA-I y materia fecal para cultivo en medio Herrold, procedente de dos vacas sospechosas de la enfermedad, siendo negativa para ambos métodos diagnósticos.

B. DISCUSIÓN

En el presente trabajo, se realizó el diagnóstico de Paratuberculosis en un establecimiento lechero de la Provincia de Santa Fe a través de sintomatología clínica y necropsias de vacas lecheras adultas, con posterioridad, mediante la utilización de técnicas de cultivo y coloración de frotis de materia fecal y órganos con Ziehl Neelsen, además de análisis histopatológicos y test serológicos.

De acuerdo a la OIE (2008), el diagnóstico de la paratuberculosis se realiza sobre bases clínicas que después se confirman demostrando la presencia de *M. paratuberculosis* en las heces mediante microscopía, cultivo o empleando sondas de ADN y la reacción en cadena de la polimerasa. El diagnóstico por necropsia se lleva a cabo en la búsqueda de lesiones patognomónicas de la enfermedad en los intestinos o simplemente, con la demostración de los típicos microorganismos ácido-resistentes en frotis de impresión de las lesiones o histológicamente y mediante el aislamiento de *M. paratuberculosis* en cultivo. La detección de la infección subclínica se realiza a través la detección serológica de anticuerpos específicos, cultivos de *M. paratuberculosis* procedentes de heces y/o tejidos recogidos en necropsias o por la demostración de una respuesta celular. La elección de la prueba depende de las circunstancias y el grado de sensibilidad requerido en el individuo o en el rebaño.

Utilizando el test de ELISA-I para el diagnóstico de Paratuberculosis en bovinos, se analizó toda la población de hembras mayor de 30 meses de edad del rodeo, además de establecer el punto de corte con el análisis de curvas ROC, este evento nos brindó seguridad y una buena plasticidad a la hora de decidir la segregación de los animales positivos. El análisis de curvas ROC constituye un método estadístico para determinar la exactitud diagnóstica de los test que utilizan escalas continuas, para este caso en particular, el propósito específico fue determinar el punto de corte de una escala continua en el que se alcanza la sensibilidad y especificidad más alta, además de evaluar la capacidad discriminativa del test diagnóstico, es decir, su capacidad de diferenciar animales sanos versus animales enfermos (Cerde y Cifuentes, 2011). Ésta técnica es recomendada por la OIE (2008), sugiriendo que es, hasta el momento, la prueba más sensible y específica para los ensayos de anticuerpos



séricos contra *M. paratuberculosis* en el ganado bovino. Su sensibilidad es comparable con la de la prueba de Fijación de Complemento (FC) en los casos clínicos, pero, es mayor que la de la FC en portadores asintomáticos (Morsella y Paolicchi, 2008; Soto et al., 2002).

El Kit de ELISA-I comercial utilizado como rutina en INTA Balcarce (Allied Monitor, USA) recomienda calcular un índice relacionando la densidad óptica (DO muestra / DO control positivo) cuyo valor se usa para clasificar a los animales en cuatro grupos: negativos, sospechoso débil, sospecho fuerte y positivo.

En INTA Balcarce, Späth et al., (2001), analizan las muestras de un rodeo completo, pudiendo graficar todas las densidades ópticas (DO's) y utilizan el ELISA-I en forma *semicuantitativa* (Figura 6); es decir que, además de contar con un punto de corte se puede priorizar la segregación de bovinos positivos con las (DO's) más elevadas, aportando de esta manera información práctica para la toma de decisiones del veterinario.

A pesar de que existen sondas de ADN que permiten detectar *M. paratuberculosis* en las muestras de diagnóstico e identificar rápidamente las bacterias aisladas a través de la técnica de PCR mediante una secuencia de inserción denominada IS900, que es específica de *M. paratuberculosis*, en este trabajo no se utilizó, debido a que fue desarrollado hace unos años y no estaban disponibles. No obstante, el equipo de investigadores de INTA Balcarce, actualmente utilizan dicha técnica para la identificación y para la tipificación de las cepas.

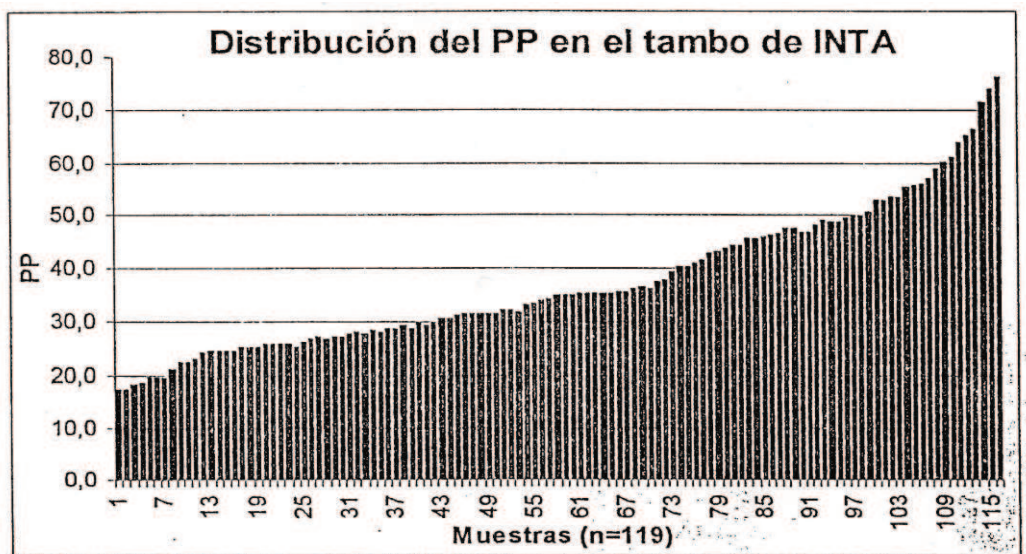


Figura 6. Fuente: INTA Balcarce – Grupo Sanidad Animal



El análisis de sangre, mediante la técnica de interferón γ , de todas las hijas de madres positivas a la prueba de ELISA-I a una edad de 10 a 12 meses (la prueba de ELISA-I solo da resultados confiables a partir de los 30 meses de edad debido a que antes no se producen anticuerpos humorales en los bovinos infectados). No se pudo realizar y no fue tenida en cuenta en este plan, aunque fue sugerida. Las terneras de ser positivas debían ser eliminadas. Sin embargo la utilización de leche pasteurizada fue una medida higiénica sanitaria que consideramos de gran utilidad para la prevención y el saneamiento de esta enfermedad (Paolicchi et al., 2001a; 2001b).

Por consiguiente, las medidas de manejo recomendadas para el control de la Paratuberculosis en el establecimiento, resultaron eficaces para disminuir la prevalencia de casos clínicos, estando de acuerdo a lo recomendado por (Späth, 2003).

La segregación de los animales positivos se realizó seguidamente, fueron ordeñados últimos en un tercer lote, tanto en el ordeño de la mañana como en el de la tarde, pero la eliminación se hizo en forma gradual, luego de finalizadas las lactancias, después del parto, además de analizar otras causas de descarte que se sumaban a los animales seropositivos.

V. CONCLUSIONES

Como conclusiones, se pueden destacar:

- 1.-Una forma adecuada de medir la tasa de infección en un rodeo es mediante el uso de un test diagnóstico apropiado y objetivo.
- 2.-Todo el rodeo adulto (animales mayores de 3 años), debe ser sometido al test de ELISA-I, si se cuenta con sueros del rodeo completo, se pueden graficar todas las DO's y utilizar el ELISA en forma *semicuantitativa*; es decir que, además de contar con un punto de corte se puede priorizar la segregación de bovinos positivos con las DO's más elevadas, siendo éstos los que tienen mayor probabilidad de eliminar el *Map*.
- 3.-El control de la Paratuberculosis requiere cambios de manejo: para minimizar las probabilidades de infectar terneros, se deben eliminar del rodeo los adultos infectados con *Mycobacterium avium subsp paratuberculosis*, segregar solamente los animales clínicamente enfermos no es suficiente para controlarla. Es fundamental la rápida separación de los terneros de sus madres, criándolos con leche pasterizada (PT) o en su defecto, utilizar lactoreemplazantes comerciales.
- 4.-Considerar que un programa de saneamiento y control en un establecimiento lechero con Paratuberculosis, lleva tiempo de desarrollo e implementación, quizás unos cinco años, por lo tanto, las estrategias de manejo deben ser bien pensadas y evaluadas oportunamente.



En síntesis, *la posibilidad de controlar la enfermedad es muy factible*, al considerar que, de todos los factores en la cadena epidemiológica, *la segregación de los individuos que eliminan gran cantidad de Map (infectados subclínicos y clínicos adultos) y el resguardo a la infección de los animales más susceptibles (terneros menores de 6 meses)*, son los dos puntos más importantes en un plan de control de Paratuberculosis, aplicables en los establecimientos lecheros. Al contar, por un lado con un test diagnóstico como ELISA para la detección de animales infectados y por el otro, la utilización de leche pasteurizada o lactoreemplazantes para alimentar a los terneros, se reducen sustancialmente las probabilidades de que se infecten éstos últimos con *Map*.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

*Bergey DH, Harrison FC, Breed RS, Hammer BW, Huntoon FM. 1923. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, The Williams and Wilkins Co, Baltimore.

*Blood DC; Radostits OM. 1992. Enfermedades causadas por bacterias (IV). En: Medicina veterinaria. Editado por Interamericana. 7 ed. Mc Graw-Hill. México D.F. p. 777-785

*Cerdeira J; Cifuentes L. 2011. Uso de curvas ROC en investigación clínica. Aspectos teórico-prácticos. Revista Laboratorio e Infectología.

www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182012000200003

*Chiodini RJ. 1996. Immunology: resistance to paratuberculosis. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract., 12(2):313-43.

*Cirone K, Morsella C, Romano M, Paolicchi F. 2007. Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in food and its relationship with Crohn's disease Rev Argent Microbiol.39(1):57-68. Review. Spanish.

*Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, Gordon SV, Eiglmeier K, Gas S, Barry CE, III, Tekaia F, Badcock K, Basham D, Brown D, Chillingworth T, Connor R, Davies R, Devlin K, Feltwell T, Gentles S, Hamlin N, Holroyd S, Hornsby T, Jagels K, Krogh A, Mclean J, Moule S, Murphy L, Oliver K, Osborne J, Quail MA, Rajandream MA, Rogers J, Rutter S, Seeger K, Skelton J, Squares R, Squares S, Sulston JE, Taylor K, Whitehead S y Barrell BG. 1998. Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. Nature, 393(6685):537-44.



*Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, James KD, Thomson NR, Wheeler PR, Honore N, Garnier T, Churcher C, Harris D, Mungall K, Basham D, Brown D, Chillingworth T, Connor R, Davies RM, Devlin K, Duthoy S, Feltwell T, Fraser A, Hamlin N, Holroyd S, Hornsby T, Jagels K, Lacroix C, Maclean J, Moule S, Murphy L, Oliver K, Quail MA, Rajandream MA, Rutherford KM, Rutter S, Seeger K, Simon S, Simmonds M, Skelton J, Squares R, Squares S, Stevens K, Taylor K, Whitehead S, Woodward JR y Barrell BG. 2001. Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature*, 409(6823):1007-11.

*Collins MT. 1998. Enfermedad de John: enfoque clínico a un programa de control. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* Adaptación.

*Dubarry JR., Colace O. 1983. Paratuberculosis bovina en la provincia de La Pampa. *Gaceta Veterinaria*.45.379:357-364.

*Garnier T, Eiglmeier K, Camus JC, Medina N, Mansoor H, Pryor M, Duthoy S, Grondin S, Lacroix C, Monsempe C, Simon S, Harris B, Atkin R, Doggett J, Mayes R, Keating L, Wheeler PR, Parkhill J, Barrell BG, Cole ST, Gordon SV y Hewinson RG. 2003. The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 100(13):7877-82.

*Gilardoni LR; Mundo SL. 2008. Paratuberculosis bovina. *Revista Infovet UBA*. Volumen 102. Año 13. http://www.fvet.uba.ar/publicaciones/infovet/infovet_102.pdf

*Green EP, Tizard MLV, Moss MT, Thompson JK, Winterbourne DJ, McFadden JJ y Hermon-Taylor J. 1989. Sequence and characteristics of IS900, an insertion element identified in a human Crohn's disease isolate of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Nucleic Acids Res.*, 17(22):9063-73.

*John HA, Frothingham L. 1895. Ein eigenthümlicher fall von tuberkulose beim rind. *Dtsch Z Thiermed vergl Path* 21, 438-454. Tomado de la Tesis Doctoral: Paratuberculosis caprina: aportaciones a su diagnóstico, epidemiología molecular y control. Lucía de Juan Ferré. UCM.2005. ISBN: 84-669-2852-9.

*Jones RL. 1989. Review of the economic impact of John's disease in the United States. En: Milner, A. R. y Wood, P. R. editores. *John's disease: current trends in research, diagnosis and management*. pp. 46-50. CSIRO. Melbourne, Australia. Tomado de la tesis: Sevilla Agirregomokorta I. 2007. Caracterización molecular, detección y resistencia de



mycobacteriumavium subespecie paratuberculosis. Editado por: Vitoria-Gasteiz EuskoJaurlaritzarenArgitalpenZerbitzuNagusia Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. 1ª ed. (Tesis doctorales; 59), Tesis Universidad del País Vasco -ISBN 978-84-457-2602-0. 1. Paratuberculosis-Tesis doctorales. I. Euskadi. Departamento de Agricultura, Pesca y Alimentación.II. Título. III. Serie 636.2/.3:616.98:579.873.2(043).

*Jorge C, Alito A, Bernardelli A, Canal AM, Cataldi A, Cicuta ME, Gentile F, Kistermann JC, Lopez B, Magnano G, Martínez Vivot M, Oriani DS, Paolicchi F, Perez A, Romano MI, Schneider M, Torres P y Zumárraga M. 2005. Manual de Diagnóstico de Micobacterias de importancia en Medicina Veterinaria.1 ed. AAVLD. ISBN:987-21667-1-4. Santa Fe. Arg.

*Jorge MC, Traversa M, Schettino DM, Giordano A, Etchechoury I, Sanz H, Romero C, Grand H, Paolicchi F, Romano MI. 2008. Lama glama son signología y lesiones compatibles con paratuberculosis causadas por Mycobacterium avium subespecie avium. InVet 8: 59-64.

*Jubb, Kennedy and Palmer. 2007. Pathology of domestic animals. Fifth edition. M Grant Maxie.

*Juste RA, Aduriz G, Bascones M, Foley E, Bargar TW y Barletta RG. 1993. Effect of iron on mycobactin production and dependence in Mycobacteria. Proc.74th Annu.Meet.CRWAD, p. 64. Chicago, IL, USA.

*Juste RA, Elquezabal N, Pavón A, Garrido J, Geijo M, Sevilla I, Cabriada J, Tejada A, García-Campos F, Casado R, ochotorena I, Izeta A. 2009. Association between Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis DNA in blood and celular and humoral immune response in inflammatory bowel disease patiens and controls. Ins. J. Infect. Dis., 13: 247-254.

*Kennedy DJ, Allworth MB. 2000. Progress in national control and assurance programs for bovine Johne's disease in Australia. Vet. Microbiol. 77, 443-451.

*Kunze ZM, Wall S, Appelberg R, Silva MT, Portaels F y McFadden JJ. 1991. IS901, a new member of a widespread class of atypical insertion sequences, is associated with pathogenicity in Mycobacterium avium. Mol.Microbiol., 5(9):2265-72.

*Larsen AB, Merkal RS, Cutlip RC. 1975. Age of cattle as related to resistance to infection with *Mycobacterium paratuberculosis*. Am. J. Vet. Res. 36, 255-257.



*Li L, Bannantine JP, Zhang Q, Amonsin A, May BJ, Alt D, Banerji N, Kanjilal S y Kapur V. 2005. The complete genome sequence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 102(35):12344-9.

*Lüster FJ. 2004. Enfermedades crónicas. En: *Enfermedades infecciosas de los rumiantes*. Editado por autor. Buenos Aires. p. 133-136.

*Martínez Covarrubias AG; Santillán Flores MA; Guzmán Ruiz CC; Favila Humara LC; Córdova López D; Díaz Aparicio E; Hernández Andrade L; Blanco Ochoa MA. 2012. Desarrollo de un inmuno-ensayo enzimático ELISA para el diagnóstico de paratuberculosis en bovinos. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. Volumen 3. Número 1. enero-marzo 2012. p. 1-10.

*Moreira AR, Paolicchi F, Morsella C, Zumarraga M, Cataldi A, Fabiana B, Alicia A, Piet O, van Soelingen D, Romano MI. 1999. Distribution of IS900 restriction fragment length polymorphism types among animal *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis isolates from Argentina and Europe. *VetMicrobiol.* 70(3-4):251-9.

*Morsella C; Paolicchi F. 2008. Aplicación de métodos de diagnóstico y control de paratuberculosis en argentina. XXI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Guadalajara, México. 12-16 de octubre 2008. p. 37-43.

*Nielsen SS, Toft N. 2008. Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: a review of accuracies of ELISA, interferon-gamma assay and faecal culture techniques. *VetMicrobiol.* 22;129(3-4):217-35. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18255239>.

*OIE, Manual de la OIE sobre animales terrestres. p. 1-17 Organización Mundial de Sanidad Animal. 2008. Capítulo 2.1.11 Paratuberculosis (enfermedad de johne). http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.01.11.%20Paratuberculosis.pdf

*Ott SL, Wells SJ y Wagner BA. 1999. Herd-level economic losses associated with Johne's disease on US dairy operations. *Prev.Vet.Med.*, 40:179-92.

*Paolicchi F; Cipolla A; Verna A; Malena R; Morsella C; Seguro R; Gonzalez A. 2001a. Microorganismos encontrados en la leche bovina a alimentar terneros: ¿puede la pasteurización de leche en el tambo controlar la transmisión de bacterias. INTA Balcarce – Grupo Sanidad Animal. www.produccionanimal.com.ar/produccion_bovina_de_leche/cria_artificial/04-asteuLecheterneros.pdf



*Paolicchi F; Cipolla A; Verna A; Morsella C; Seguro R; Gonzalez A. 2001b. Supervivencia de mycobacterium avium subsp paratuberculosis en leche bovina sometida a pasteurización y destinada a la alimentación de terneros. INTA Balcarce – Grupo Sanidad Animal. [http://www.veterinaria.org/asociaciones/vetuy/articulos/artic_bov/nuevos/blank_copia\(8\)/bov000.htm](http://www.veterinaria.org/asociaciones/vetuy/articulos/artic_bov/nuevos/blank_copia(8)/bov000.htm)

*Paolicchi, F.; Zumarraga, M.; Gioffre, A.; Zamorano, P.; Morsella, C.; Verna, A.; Cataldi, A.; Alito, A., Romano, M.I. 2003. Different methods for the diagnosis of paratuberculosis in a dairy cattle herd in Argentina. J. Vet. Med B50, 20-26.

*Paolicchi F, Cirone K, Morsella C, Giofré A. 2012. First isolation of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis from commercial pasteurized milk in Argentina. Braz J Microbiol.43(3):1034-7

*Soto JP; Kruze J; Leiva S. 2002. Comparación de tres métodos de diagnósticos de paratuberculosis bovina en rebaños lecheros infectados. Revista Arch. Méd. Vet. Volumen 34. 2. p. 1-12

*Späth EJA; Paolichi F; Morsella C. 2001. Ajuste del punto de corte (cut-off) del ELISA para paratuberculosis bovina con sueros controles locales. INTA Balcarce – Grupo Sanidad Animal.

*Späth EJA. 2003. Principales enfermedades en bovinos de cría y su impacto en la producción. INTA Balcarce – Grupo Sanidad Animal. p. 1-10

Whitlock RH, Buergelt C. 1996. Preclinical and clinical manifestations of paratuberculosis (including pathology). Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 12, 345-356.

*Zachary, J; Mc Gavin, D. 2012. Pathology Basis of Veterinary Disease. 6ta. Edición.



VII. ANEXO I

Tabla N° 1 Resultados test ELISA-I de sueros de vacas Establecimiento: Esperanza, Las Colonias - Santa Fe					
Motivo de envío: Paratuberculosis ELISA-I - 25/4/2001-					
Animal N°	D.O	C +	C -	PP	ELISA-AM
389	209	229	65	91,3	P
788	245	280	62	87,5	P
531	192	232	63	82,8	P
542	192	232	63	82,8	P
403	196	229	65	85,6	P
602	204	257	61	79,4	P
442	157	199	63	78,9	P
393	179	229	65	78,2	P
596	199	257	61	77,4	P
568	194	257	61	75,5	P
891	170	235	60	72,3	P
495	190	270	66	70,4	P
523	190	270	66	70,4	P
395	160	229	65	69,9	P
871	162	235	60	68,9	P
598	177	257	61	68,9	P
725	176	260	59	67,7	P
429	155	229	65	67,7	P
481	151	225	63	67,1	P
430	151	229	65	65,9	P
508	177	270	66	65,6	P
834	180	277	62	65,0	P
747	163	252	62	64,7	P
587	166	257	61	64,6	P
845	178	277	62	64,3	P
392	147	229	65	64,2	P
426	147	229	65	64,2	P
893	150	235	60	63,8	P
898	150	235	60	63,8	P
541	148	232	63	63,8	P
409	140	229	65	61,1	P
432	121	199	63	60,8	S
456	121	199	63	60,8	S
443	120	199	63	60,3	S
800	168	280	62	60,0	P
914	173	290	68	59,7	P
701	155	260	59	59,6	P
575	151	257	61	58,8	P
491	157	270	66	58,1	P



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

595	149	257	61	58,0	P
816	161	280	62	57,5	P
486	155	270	66	57,4	P
478	129	225	63	57,3	S
884	134	235	60	57,0	P
906	134	235	60	57,0	P
633	121	214	59	56,5	S
489	151	270	66	55,9	P
886	131	235	60	55,7	P
577	143	257	61	55,6	P
680	145	261	66	55,6	P
881	129	235	60	54,9	P
903	129	235	60	54,9	P
583	141	257	61	54,9	P
446	109	199	63	54,8	S
609	140	257	61	54,5	P
877	128	235	60	54,5	P
431	107	199	63	53,8	S
433	107	199	63	53,8	S
873	126	235	60	53,6	P
723	139	260	59	53,5	P
682	139	261	66	53,3	P
464	105	199	63	52,8	S
417	120	229	65	52,4	S
428	120	229	65	52,4	S
868	145	277	62	52,3	P
479	117	225	63	52,0	S
581	133	257	61	51,8	P
927	150	290	68	51,7	P
794	144	280	62	51,4	P
801	144	280	62	51,4	P
858	141	277	62	50,9	P
473	101	199	63	50,8	S
843	140	277	62	50,5	P
808	141	280	62	50,4	P
874	118	235	60	50,2	S
825	140	280	62	50,0	P
831	138	277	62	49,8	P
837	138	277	62	49,8	P
400	114	229	65	49,8	S
474	112	225	63	49,8	S
480	112	225	63	49,8	S
558	115	232	63	49,6	S
646	106	214	59	49,5	S
878	116	235	60	49,4	S
883	116	235	60	49,4	S



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

416	113	229	65	49,3	S
499	133	270	66	49,3	S
659	128	261	66	49,0	S
579	126	257	61	49,0	S
875	114	235	60	48,5	S
420	111	229	65	48,5	S
768	122	252	62	48,4	S
561	112	232	63	48,3	S
544	111	232	63	47,8	S
546	111	232	63	47,8	S
435	95	199	63	47,7	-
677	124	261	66	47,5	S
586	122	257	61	47,5	S
458	94	199	63	47,2	-
892	111	235	60	47,2	S
477	106	225	63	47,1	S
675	122	261	66	46,7	S
607	120	257	61	46,7	S
745	117	252	62	46,4	S
888	109	235	60	46,4	S
590	119	257	61	46,3	S
447	92	199	63	46,2	-
664	120	261	66	46,0	S
918	133	290	68	45,9	S
408	105	229	65	45,9	S
826	127	277	62	45,8	S
773	115	252	62	45,6	S
780	115	252	62	45,6	S
782	115	252	62	45,6	S
655	119	261	66	45,6	S
519	123	270	66	45,6	S
856	126	277	62	45,5	S
461	90	199	63	45,2	-
512	122	270	66	45,2	S
711	117	260	59	45,0	S
730	117	260	59	45,0	S
907	105	235	60	44,7	S
717	116	260	59	44,6	S
398	102	229	65	44,5	-
854	123	277	62	44,4	S
672	115	261	66	44,1	S
885	103	235	60	43,8	S
895	103	235	60	43,8	S
767	110	252	62	43,7	S
601	112	257	61	43,6	S
783	122	280	62	43,6	S



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

737	113	260	59	43,5	S
829	120	277	62	43,3	S
804	121	280	62	43,2	S
887	101	235	60	43,0	S
778	108	252	62	42,9	S
413	98	229	65	42,8	-
921	124	290	68	42,8	S
454	85	199	63	42,7	-
863	118	277	62	42,6	S
876	100	235	60	42,6	S
900	100	235	60	42,6	S
617	91	214	59	42,5	-
758	107	252	62	42,5	S
444	84	199	63	42,2	-
673	110	261	66	42,1	S
901	99	235	60	42,1	-
769	106	252	62	42,1	S
636	90	214	59	42,1	-
524	113	270	66	41,9	S
529	97	232	63	41,8	-
554	97	232	63	41,8	-
674	109	261	66	41,8	S
743	105	252	62	41,7	S
759	105	252	62	41,7	S
608	107	257	61	41,6	S
492	112	270	66	41,5	S
539	96	232	63	41,4	-
894	97	235	60	41,3	S
573	106	257	61	41,2	S
785	115	280	62	41,1	S
394	94	229	65	41,0	-
684	107	261	66	41,0	S
548	95	232	63	40,9	-
560	95	232	63	40,9	-
566	95	232	63	40,9	-
740	103	252	62	40,9	S
720	106	260	59	40,8	S
728	106	260	59	40,8	S
513	110	270	66	40,7	S
451	81	199	63	40,7	-
656	106	261	66	40,6	S
756	102	252	62	40,5	S
827	112	277	62	40,4	S
897	95	235	60	40,4	-
705	105	260	59	40,4	S
707	105	260	59	40,4	S



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

510	109	270	66	40,4	S
790	113	280	62	40,4	S
694	105	261	66	40,2	S
449	80	199	63	40,2	-
472	80	199	63	40,2	-
396	92	229	65	40,2	-
667	104	261	66	39,8	-
418	91	229	65	39,7	-
648	85	214	59	39,7	-
652	85	214	59	39,7	-
828	110	277	62	39,7	S
742	100	252	62	39,7	P
798	111	280	62	39,6	S
806	111	280	62	39,6	S
485	107	270	66	39,6	S
721	103	260	59	39,6	S
909	93	235	60	39,6	-
663	103	261	66	39,5	-
676	103	261	66	39,5	-
421	90	229	65	39,3	-
750	99	252	62	39,3	S
497	106	270	66	39,3	P
618	84	214	59	39,3	-
625	84	214	59	39,3	-
724	102	260	59	39,2	S
870	92	235	60	39,1	-
476	88	225	63	39,1	-
693	102	261	66	39,1	-
789	109	280	62	38,9	S
807	109	280	62	38,9	S
574	100	257	61	38,9	S
712	101	260	59	38,8	S
689	101	261	66	38,7	-
839	107	277	62	38,6	S
850	107	277	62	38,6	S
496	104	270	66	38,5	-
795	107	280	62	38,2	S
588	98	257	61	38,1	S
700	99	260	59	38,1	S
419	87	229	65	38,0	-
654	99	261	66	37,9	-
853	105	277	62	37,9	S
503	102	270	66	37,8	-
569	97	257	61	37,7	-
718	98	260	59	37,7	S
738	98	260	59	37,7	S



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

437	75	199	63	37,7	-
559	87	232	63	37,5	-
879	88	235	60	37,4	-
896	88	235	60	37,4	-
637	80	214	59	37,4	-
599	96	257	61	37,4	-
923	107	290	68	36,9	S
833	102	277	62	36,8	S
487	99	270	66	36,7	-
572	94	257	61	36,6	-
734	95	260	59	36,5	-
830	101	277	62	36,5	S
616	78	214	59	36,4	-
666	95	261	66	36,4	-
690	95	261	66	36,4	-
929	105	290	68	36,2	-
576	93	257	61	36,2	-
434	72	199	63	36,2	-
436	72	199	63	36,2	-
452	72	199	63	36,2	-
453	72	199	63	36,2	-
455	72	199	63	36,2	-
741	91	252	62	36,1	-
593	92	257	61	35,8	-
735	93	260	59	35,8	-
862	99	277	62	35,7	S
755	90	252	62	35,7	-
460	71	199	63	35,7	-
698	92	260	59	35,4	-
404	81	229	65	35,4	-
422	81	229	65	35,4	-
786	99	280	62	35,4	S
787	99	280	62	35,4	S
815	99	280	62	35,4	S
564	82	232	63	35,3	-
470	70	199	63	35,2	-
653	75	214	59	35,0	-
859	97	277	62	35,0	-
708	91	260	59	35,0	-
710	91	260	59	35,0	-
733	91	260	59	35,0	-
427	80	229	65	34,9	-
505	94	270	66	34,8	-
441	69	199	63	34,7	-
697	90	260	59	34,6	-
702	90	260	59	34,6	-



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

736	90	260	59	34,6	-
763	87	252	62	34,5	-
535	80	232	63	34,5	-
912	100	290	68	34,5	-
904	81	235	60	34,5	-
438	68	199	63	34,2	-
924	99	290	68	34,1	-
683	89	261	66	34,1	-
399	78	229	65	34,1	-
410	78	229	65	34,1	-
412	78	229	65	34,1	-
414	78	229	65	34,1	-
533	79	232	63	34,1	-
905	80	235	60	34,0	-
772	85	252	62	33,7	-
686	88	261	66	33,7	-
493	91	270	66	33,7	-
463	67	199	63	33,7	-
643	72	214	59	33,6	-
650	72	214	59	33,6	-
401	77	229	65	33,6	-
532	78	232	63	33,6	-
562	78	232	63	33,6	-
872	79	235	60	33,6	-
606	86	257	61	33,5	-
500	90	270	66	33,3	-
504	90	270	66	33,3	-
511	90	270	66	33,3	-
518	90	270	66	33,3	-
687	87	261	66	33,3	-
824	93	280	62	33,2	-
549	77	232	63	33,2	-
462	66	199	63	33,2	-
471	66	199	63	33,2	-
784	92	280	62	32,9	-
809	92	280	62	32,9	-
913	95	290	68	32,8	-
925	95	290	68	32,8	-
640	70	214	59	32,7	-
714	85	260	59	32,7	-
727	85	260	59	32,7	-
578	84	257	61	32,7	-
610	84	257	61	32,7	-
459	65	199	63	32,7	-
488	88	270	66	32,6	-
764	82	252	62	32,5	-



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

840	90	277	62	32,5	-
857	90	277	62	32,5	-
899	76	235	60	32,3	-
536	75	232	63	32,3	-
550	75	232	63	32,3	-
614	69	214	59	32,2	-
626	69	214	59	32,2	-
490	87	270	66	32,2	-
502	87	270	66	32,2	-
517	87	270	66	32,2	-
777	81	252	62	32,1	-
792	90	280	62	32,1	-
821	90	280	62	32,1	-
855	89	277	62	32,1	-
866	89	277	62	32,1	-
731	83	260	59	31,9	-
911	75	235	60	31,9	-
521	86	270	66	31,9	-
624	68	214	59	31,8	-
846	88	277	62	31,8	-
848	88	277	62	31,8	-
849	88	277	62	31,8	-
457	63	199	63	31,7	-
547	73	232	63	31,5	-
390	72	229	65	31,4	-
657	82	261	66	31,4	-
685	82	261	66	31,4	-
692	82	261	66	31,4	-
696	82	261	66	31,4	-
836	87	277	62	31,4	-
852	87	277	62	31,4	-
749	79	252	62	31,3	-
762	79	252	62	31,3	-
765	79	252	62	31,3	-
611	67	214	59	31,3	-
615	67	214	59	31,3	-
619	67	214	59	31,3	-
623	67	214	59	31,3	-
630	67	214	59	31,3	-
635	67	214	59	31,3	-
699	81	260	59	31,2	-
589	80	257	61	31,1	-
604	80	257	61	31,1	-
869	73	235	60	31,1	-
890	73	235	60	31,1	-
864	86	277	62	31,0	-



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

527	72	232	63	31,0	-
658	81	261	66	31,0	-
388	71	229	65	31,0	-
715	80	260	59	30,8	-
729	80	260	59	30,8	-
739	80	260	59	30,8	-
584	79	257	61	30,7	-
671	80	261	66	30,7	-
691	80	261	66	30,7	-
530	71	232	63	30,6	-
775	77	252	62	30,6	-
620	65	214	59	30,4	-
538	70	232	63	30,2	-
448	60	199	63	30,2	-
467	60	199	63	30,2	-
468	60	199	63	30,2	-
709	78	260	59	30,0	-
842	83	277	62	30,0	-
612	64	214	59	29,9	-
748	75	252	62	29,8	-
528	69	232	63	29,7	-
565	69	232	63	29,7	-
494	80	270	66	29,6	-
732	77	260	59	29,6	-
861	82	277	62	29,6	-
571	76	257	61	29,6	-
585	76	257	61	29,6	-
649	63	214	59	29,4	-
545	68	232	63	29,3	-
557	68	232	63	29,3	-
799	82	280	62	29,3	-
498	79	270	66	29,3	-
860	81	277	62	29,2	-
628	62	214	59	29,0	-
631	62	214	59	29,0	-
638	62	214	59	29,0	-
753	73	252	62	29,0	-
761	73	252	62	29,0	-
779	73	252	62	29,0	-
793	81	280	62	28,9	-
563	67	232	63	28,9	-
726	75	260	59	28,8	-
415	66	229	65	28,8	-
450	57	199	63	28,6	-
771	72	252	62	28,6	-
522	77	270	66	28,5	-



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

580	73	257	61	28,4	-
603	73	257	61	28,4	-
391	65	229	65	28,4	-
812	79	280	62	28,2	-
509	76	270	66	28,1	-
465	56	199	63	28,1	-
706	73	260	59	28,1	-
719	73	260	59	28,1	-
641	60	214	59	28,0	-
642	60	214	59	28,0	-
647	60	214	59	28,0	-
600	72	257	61	28,0	-
670	73	261	66	28,0	-
423	64	229	65	27,9	-
425	64	229	65	27,9	-
796	78	280	62	27,9	-
520	75	270	66	27,8	-
751	70	252	62	27,8	-
774	70	252	62	27,8	-
466	55	199	63	27,6	-
469	55	199	63	27,6	-
543	64	232	63	27,6	-
668	72	261	66	27,6	-
695	72	261	66	27,6	-
621	59	214	59	27,6	-
838	76	277	62	27,4	-
515	74	270	66	27,4	-
516	74	270	66	27,4	-
703	71	260	59	27,3	-
920	79	290	68	27,2	-
594	70	257	61	27,2	-
889	64	235	60	27,2	-
525	63	232	63	27,2	-
644	58	214	59	27,1	-
744	68	252	62	27,0	-
754	68	252	62	27,0	-
776	68	252	62	27,0	-
805	75	280	62	26,8	-
820	75	280	62	26,8	-
475	60	225	63	26,7	-
483	72	270	66	26,7	-
397	61	229	65	26,6	-
639	57	214	59	26,6	-
645	57	214	59	26,6	-
440	53	199	63	26,6	-
770	67	252	62	26,6	-



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

917	77	290	68	26,6	-
926	77	290	68	26,6	-
716	69	260	59	26,5	-
722	69	260	59	26,5	-
681	69	261	66	26,4	-
688	69	261	66	26,4	-
411	60	229	65	26,2	-
622	56	214	59	26,2	-
439	52	199	63	26,1	-
445	52	199	63	26,1	-
814	73	280	62	26,1	-
817	73	280	62	26,1	-
592	67	257	61	26,1	-
841	72	277	62	26,0	-
847	72	277	62	26,0	-
867	72	277	62	26,0	-
713	67	260	59	25,8	-
402	59	229	65	25,8	-
570	66	257	61	25,7	-
851	71	277	62	25,6	-
865	71	277	62	25,6	-
482	69	270	66	25,6	-
902	60	235	60	25,5	-
908	60	235	60	25,5	-
534	59	232	63	25,4	-
553	59	232	63	25,4	-
757	64	252	62	25,4	-
661	66	261	66	25,3	-
514	68	270	66	25,2	-
919	73	290	68	25,2	-
704	65	260	59	25,0	-
922	72	290	68	24,8	-
880	58	235	60	24,7	-
823	69	280	62	24,6	-
781	62	252	62	24,6	-
662	64	261	66	24,5	-
484	66	270	66	24,4	-
803	68	280	62	24,3	-
910	57	235	60	24,3	-
537	56	232	63	24,1	-
555	56	232	63	24,1	-
797	67	280	62	23,9	-
605	61	257	61	23,7	-
802	66	280	62	23,6	-
915	68	290	68	23,4	-
629	50	214	59	23,4	-



Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral
Especialización en Buiatría - Informe Final Integrador

424	53	229	65	23,1	-
678	60	261	66	23,0	-
634	49	214	59	22,9	-
556	53	232	63	22,8	-
407	52	229	65	22,7	-
760	57	252	62	22,6	-
766	57	252	62	22,6	-
582	58	257	61	22,6	-
613	48	214	59	22,4	-
651	48	214	59	22,4	-
832	62	277	62	22,4	-
752	56	252	62	22,2	-
928	64	290	68	22,1	-
551	51	232	63	22,0	-
501	59	270	66	21,9	-
507	59	270	66	21,9	-
405	50	229	65	21,8	-
526	50	232	63	21,6	-
540	50	232	63	21,6	-
679	56	261	66	21,5	-
810	60	280	62	21,4	-
791	59	280	62	21,1	-
746	53	252	62	21,0	-
627	45	214	59	21,0	-
632	45	214	59	21,0	-
597	54	257	61	21,0	-
552	48	232	63	20,7	-
591	53	257	61	20,6	-
813	57	280	62	20,4	-
665	53	261	66	20,3	-
660	53	261	66	20,3	-
916	58	290	68	20,0	-
811	55	280	62	19,6	-
669	50	261	66	19,2	-
822	52	280	62	18,6	-
567	43	232	63	18,5	-
506	50	270	66	18,5	-
835	50	277	62	18,1	-
818	50	280	62	17,9	-
819	49	280	62	17,5	-
406	40	229	65	17,5	-
882	40	235	60	17,0	-
844	46	277	62	16,6	-



	Animales	Positivas	Sospechosas	Negativas
Total	542	66	122	354
Porcentaje	100,0	12,2	22,5	65,3

Ref: D.O: densidad óptica - C+: control positivo - C-: control negativo

PP: porcentaje de positividad – ELISA- AM: ELISA Allied Monitor, USA