


Prevalencia de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* y factores de riesgo asociados en lecherías bajo sistemas de sala de ordeño mecánico en Antioquia, Colombia



Nathalia M. Correa-Valencia ^a

Nicolás F. Ramírez-Vásquez ^a

Jorge A. Fernández-Silva ^{a*}

^a Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Agrarias. Centauro, Escuela de Medicina Veterinaria, Carrera 75 # 65 - 87, Ciudadela Robledo, Medellín, Colombia.

*Autor de correspondencia: jorge.fernandez@udea.edu.co

Resumen:

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) según muestras ambientales y explorar los factores de riesgo a nivel de hato asociados a la infección por MAP en hatos lecheros bajo sistemas de sala de ordeño mecánico y basados en pastoreo de prados. Los hatos de estudio (n= 94) se ubicaron en 60 distritos de cinco municipios de la región Norte de la Provincia de Antioquia, Colombia. Los hatos fueron visitados una vez en 2016 para recolectar dos muestras ambientales compuestas y completar un cuestionario de evaluación de riesgos. La identificación de MAP se llevó a cabo utilizando un método de PCR cuantitativo en tiempo real basado en la secuencia IS900. Un hato se consideró como MAP-positivo si una o ambas muestras ambientales resultaron positivas mediante la técnica molecular. La información sobre los factores de riesgo se analizó utilizando un modelo de regresión logística multivariable. La prevalencia aparente a nivel de hato encontrada fue de 14.9 % (14/94; IC 95 %: 7.7-22.1), oscilando entre 0 y 33.3 % a nivel municipal. Los hatos en los que predominaban razas distintas a la Holstein pura (estas son, Jersey, cruza de Jersey) tenían más probabilidades de estar positivamente infectados con MAP-qPCR que aquellos en los que predominaba el ganado Holstein puro (OR= 3.7; IC 95 %: 1.1-15.2). El presente estudio reporta la prevalencia de MAP en hatos lecheros de la Provincia de Antioquia (Colombia), y la asociación entre la positividad ambiental de MAP con la raza predominante en el hato.

Palabras clave: Muestreo ambiental, Holstein, Jersey, enfermedad de Johne.

Recibido: 19/08/2020

Aceptado: 20/04/2021

Introducción

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* (MAP) es el agente causal de la enfermedad de Johne (EJ)⁽¹⁾, una enterocolitis granulomatosa crónica de desarrollo lento⁽²⁾. El MAP es resistente a los cambios ambientales y químicos y puede sobrevivir en el medio ambiente hasta por un año^(3,4). La enfermedad tiene una distribución mundial y también se describen pérdidas de producción relacionadas^(5,6).

Cada una de las pruebas diagnósticas de MAP actualmente disponibles presenta ventajas y desventajas, dependiendo de la matriz y de las diferentes etapas de la infección y enfermedad posterior^(7,8). La detección molecular de MAP utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) en muestras ambientales ha sido propuesta para la examinación de hatos^(8,9), con resultados equivalentes a los obtenidos mediante cultivo⁽¹⁰⁾. La sensibilidad (Se) de la PCR (en todos los formatos) puede variar debido a la excreción fecal irregular de los organismos, mientras que su especificidad (Es) es cercana al 100 % en todas las etapas de la enfermedad^(11,12). Se ha encontrado que el método de PCR cuantitativo en tiempo real (qPCR, por sus siglas en inglés) es sensible (≈ 60 %) y específico (≈ 97 %)^(13,14), lo que también permite la detección y cuantificación de MAP en matrices complejas (por ejemplo, leche, muestras fecales)⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. El análisis de muestras ambientales utilizando qPCR es considerado hoy en día como un enfoque ahorrador y fácil de usar para diagnosticar la EJ a nivel de hato y clasificar el hato como infectado o no, ya que no requiere la recolección de muestras de animales individuales, reduciendo el estrés inherente del proceso de muestreo^(16,18).

La prevalencia de EJ a nivel de hato en todo el mundo parece ser de >18 %, con reportes >50 %⁽¹⁹⁻²¹⁾. En Colombia, una seroprevalencia aparente a nivel de hato pareció ser >50 %, según estudios basados en ELISA^(22,23). Sin embargo, otros estudios han reportado prevalencias más bajas, como 3.6⁽²⁴⁾ y 4.1 %⁽²⁵⁾. Parece que el rango de resultados posibles sobre la estimación de la prevalencia en el país es amplio, y depende en gran medida de la prueba diagnóstica utilizada y de la población de estudio. En Colombia, los datos sobre los factores de riesgo de EJ a nivel animal o de hato en los hatos lecheros aún son limitados y los sistemas de producción lechera son diversos. Por lo tanto, las prácticas de manejo y los factores de riesgo a nivel de hato, que difieren entre los hatos y los sistemas de producción lechera^(26,27), exigen la definición local de los factores de riesgo para la enfermedad considerando la diversidad local de los sistemas de producción lechera. Esta diversidad a menudo se supervisa y los informes sobre la prevalencia y los factores de riesgo comúnmente ignoran este hecho, produciendo datos que no se pueden

comparar con otros estudios y resultados, incluso en la misma región o país. En un estudio transversal anterior reciente, se muestrearon 292 hatos lecheros con instalaciones de ordeño en potrero, unidades móviles, ubicadas en 61 distritos diferentes de seis municipios del norte de Antioquia (Colombia) con una muestra ambiental compuesta que contenía material de al menos seis sitios diferentes (submuestras) de la concentración de ganado adulto o áreas de alto tráfico en potreros de pastoreo. En este estudio, los hatos con antecedentes de ganadería mixta con otros rumiantes tuvieron mayores probabilidades de estar infectados con MAP que los hatos sin esta característica⁽²⁵⁾.

Otro sistema de producción lechera muy común en el Norte de Antioquia y en toda Colombia, basaba su producción de leche en sistemas de sala de ordeño mecánico y pastoreo de prados. Se plantea la hipótesis de que este sistema tiene diferentes niveles de prevalencia, así como diferentes factores de riesgo a nivel de hato en comparación con los hatos lecheros con instalaciones de unidades móviles de ordeño en potrero, unidades móviles, que fueron previamente estudiados⁽²⁵⁾. Por lo tanto, este estudio transversal tuvo como objetivo determinar la prevalencia de MAP a nivel de hato de acuerdo con los resultados de IS900-qPCR en muestras ambientales, y explorar los factores de riesgo a nivel de hato asociados a la infección por MAP en hatos lecheros bajo sistemas de sala de ordeño mecánico de la región Norte de la Provincia de Antioquia (Colombia).

Material y métodos

Diseño del estudio y selección del hato

En 2016 se realizó un estudio transversal probabilístico en la región lechera Norte de la Provincia de Antioquia (Colombia). Los hatos seleccionados estuvieron distribuidos en cinco municipios (San Pedro de los Milagros, Entreríos, Santa Rosa de Osos, Donmatías y Belmira), conocidos por sus considerables volúmenes de producción lechera. El área de estudio se encuentra entre 1,090 y 2,979 msnm, y la temperatura ambiental oscila entre 12 y 16 °C. Según la clasificación climática de Caldas-Lang, los municipios de Santa Rosa de Osos, San Pedro de los Milagros, Entreríos y Donmatías están clasificados como frío-húmedos, y el municipio de Belmira como frío-muy húmedo⁽²⁶⁾.

El hato fue considerado como la unidad de análisis. El estudio se realizó bajo un diseño de muestreo aleatorio estratificado, con restitución y sin reemplazo. En el diseño del estudio se consideró una distribución proporcional a nivel de municipio y distrito, de acuerdo con la población bovina adulta en cada nivel (vacas y toros >2 años de edad)⁽²⁷⁾. La selección de los distritos a muestrear en cada uno de los cinco municipios se definió de acuerdo con su peso específico en el municipio correspondiente, considerando los primeros distritos con mayor población bovina adulta, hasta que la cantidad de su censo alcanzó el 70 % de la población en cada municipio.

El tamaño de la muestra se definió de acuerdo con una fórmula para la estimación de la prevalencia a partir de una población finita⁽²⁸⁾, incluyendo una estimación *a priori* de la proporción de prevalencia de EJ de 0.118 (11.8 %) de un informe previo en la región de estudio⁽²⁵⁾, obtenida en condiciones metodológicas y poblacionales similares, un nivel de confianza del 95 % y una tasa de error máxima aceptable del 7 %. Se consideró el límite superior de dicho informe. El marco muestral se refirió a 7,794 hatos enlistados en los registros de vacunación contra la fiebre aftosa de los cinco municipios de estudio⁽²⁷⁾.

De los hatos enlistados, se designaron al azar 94 hatos en 60 distritos, de acuerdo con la estrategia de muestreo y los criterios de inclusión (estos son, tener ganado adulto, instalaciones de ordeño mecánico en sala y sistemas basados en pastoreo de prados, accesibilidad geográfica, sin antecedentes o reporte previo de detección de EJ o MAP por ningún método y disposición del propietario a participar).

Recolección de la muestra y cuestionario

El muestreo ambiental se realizó según lo reportado previamente por la literatura^(18,29), con algunas modificaciones debido a las particularidades en los sistemas de producción e instalaciones de la región de estudio (por ejemplo, maternidad, cuarentena y/o área de lactancia no siempre definidas) y a restricciones presupuestarias.

Cada hato de estudio fue visitado una vez para recolectar dos muestras ambientales compuestas y completar un cuestionario. La primera muestra compuesta contenía submuestras de al menos seis puntos diferentes de concentración de ganado adulto/áreas de alto tráfico (por ejemplo, potrero, áreas cercanas a bebederos y comederos, pasillos, canaletas, áreas de espera de la sala de ordeño). Cada submuestra se recogió teniendo en cuenta aquellos que no estaban previamente expuestos a la luz solar directa. La segunda muestra compuesta contenía estiércol de la sala de ordeño recolectado de la laguna de almacenamiento de estiércol, después de mezclar su contenido durante al menos 5 min antes del muestreo. Las submuestras de la laguna se obtuvieron de seis lugares diferentes del perímetro sumergiendo el recipiente de muestreo hasta 10 cm debajo de la superficie. Cada muestra ambiental se recolectó utilizando un guante de plástico desechable limpio. Las submuestras de cada uno de los dos lugares de recolección se juntaron y mezclaron a mano en la granja. Luego, se colocaron aproximadamente 20 g de cada una de las dos muestras conjuntas (por separado) en un recipiente. Las muestras definitivas se conservaron en refrigeración a 4 °C durante el transporte al laboratorio de investigación, donde se homogeneizaron a mano durante 5 min y luego se almacenaron a -20 °C hasta la extracción de ADN.

El mismo cuestionario de una página utilizado y reportado anteriormente⁽²⁵⁾ se aplicó aquí (disponible previa solicitud).

Análisis de laboratorio

El análisis de laboratorio se realizó como se describió anteriormente⁽²⁵⁾. Brevemente, se utilizó un kit comercial de preparación de ADN (ZR Fecal DNA Kit™, Zymo Research, CA, EE. UU.) para el aislamiento de ADN, y el protocolo incluyó un paso previo de batido de perlas (Disruptor Genie® 120V, Thomas Scientific, Swedesboro, NJ, EE. UU.). Se utilizó un espectrofotómetro NanoDrop 2000® (Thermo Scientific, Wilmington, DE, EE. UU.) para medir la pureza y el rendimiento de los ácidos nucleicos en dos longitudes de onda (A260 y A280 nm). La integridad del ADN se confirmó utilizando un gel de solo agarosa en una submuestra representativa de cada lote de extracción (10 %). La eficiencia de extracción de ADN se confirmó mediante PCR utilizando genes constitutivos bacterianos a las mismas submuestras mencionadas anteriormente. El ADN extraído se conservó a -20 °C hasta el análisis de IS900-qPCR (Bactotype MAP PCR Kit®, Qiagen, Leipzig, Alemania). La muestra analizada se consideró como *positiva* cuando se produjo una señal de canales FAM/MAX o *fuertemente positiva* si se emitió una señal solo de FAM, con un $Ct \leq 40$ y una curva de patrón sigmoide, según las directrices de MIQE⁽³⁰⁾.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó como se describió anteriormente⁽²⁵⁾. La variable independiente fue el estado de infección por MAP del hato por IS900-qPCR (positivo/negativo). Toda la información se analizó utilizando Stata 15.0 (StataCorp, 2017, College Station, Texas, EE. UU.) para el modelado descriptivo y de regresión. Se calcularon los estadísticos descriptivos para todas las variables de interés. Se consideró un análisis de encuesta compleja, de acuerdo con un efecto de conglomerado a nivel de distrito y con el diseño estratificado del estudio. Se realizó un análisis univariable para evaluar las asociaciones incondicionales entre el resultado (estado MAP del hato) y cada predictor independiente utilizando regresión logística simple. Las asociaciones con un $P \leq 0.20$ se consideraron para su inclusión en el modelo de regresión logística multivariable. Después, se realizó la evaluación de los posibles factores de confusión mediante la evaluación del cambio en el coeficiente β de las variables del modelo ajustado en comparación con el modelo no ajustado. Las variables a explorar como factores de confusión (estas son, tamaño del hato, raza predominante) se consideraron de acuerdo con la literatura. Se estudiaron las interacciones biológicamente plausibles entre las variables significativas de los modelos multivariables, así como las interacciones bidireccionales entre los predictores significativos con una asociación incondicional significativa con la variable dependiente. Los factores de confusión solo se mantuvieron si se observaba un cambio superior al 15 %, independientemente de la significancia del coeficiente de la variable de confusión en el modelo. Las variables independientes incluidas en el modelo final se seleccionaron de acuerdo con un procedimiento escalonado hacia atrás (entrada $P = 0.20$; eliminación $P = 0.25$). El modelo final se presenta considerando las razones de probabilidad (RP) con IC de 95 %. El ajuste del modelo fue evaluado usando la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow⁽²⁸⁾.

Resultados

Se recolectaron dos muestras ambientales de cada uno de los 94 hatos lecheros bajo sistemas de sala de ordeño mecánico y basados en pastoreo de prados, ubicados en 60 distritos diferentes en cinco municipios de la Provincia de Antioquia (Colombia). Ninguno de los hatos estaba estabulado o semiestabulado. El 2.1 % (2/94) de los hatos principalmente elegibles no autorizaron ser visitados cuando fueron contactados por teléfono por primera vez y, un 6 % de los números de teléfono estaban fuera de servicio/no registrados. Los hatos no participantes se consideraron como hatos lecheros grandes (>30 vacas en ordeño) para el contexto colombiano, y se ubicaron principalmente en los municipios de Donmatías y Entrerriós, según los registros censales de la Provincia. La prevalencia aparente a nivel de hato encontrada fue de 14.9 % (14/94; IC 95 %: 7.7-22.1), oscilando entre 0 y 33.3 % a nivel de municipio (Cuadro 1). Los Cuadros 2 y 3 muestran las características y las prácticas de manejo a nivel hato consideradas como predictores para el enfoque de factores de riesgo de MAP.

Cuadro 1: Prevalencia de *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis a nivel de municipio en la Provincia de Antioquia, Colombia (2016)

Municipio	Peso de la muestra (%)	Hatos de estudio	No. de hatos positivos (%)
Belmira	3.2	3	0 (-)
Santa Rosa de Osos	16.0	15	0 (-)
Entrerriós	26.6	25	6 (24.0)
San Pedro de los Milagros	41.5	39	4 (10.3)
Donmatías	12.7	12	4 (33.3)
Total	100	94	14 (14.9)

Cuadro 2: Características a nivel de hato en lecherías de la región norte de la Provincia de Antioquia, Colombia (2016)

Predictor	CAT	OR (n)	RN (n)	N	DIS (%)	OR (IC 95%)	Valor P
Tamaño del hato	≤ 30	2	15	17	18.1	1.4	0.514
	>30	12	65	77	81.9	(0.3-6.9)	
Raza predominante	Holstein	10	71	81	86.2	3.2	0.096*
	puro	4	9	13	13.8	(0.8-12.2)	
	Otro ^a						
Disponibilidad de asistencia veterinaria	Sí	12	73	85	90.4	0.6	0.871
	No	2	7	9	9.6	(0.1-3.1)	

Prácticas de compra de ganado (uso de crías/novillas de reemplazo en los últimos 10 años)	Sí	4	37	41	43.6	0.5	0.226
	No	10	43	53	56.4	(0.1-1.6)	
Animales externos pastando en prados propios	Sí	1	1	2	2.1	6.1	0.262
	No	13	79	92	97.9	(0.4-103.3)	
Animales propios pastando en pastos no propios	Sí	0	4	4	4.3	0	NE
	No	14	76	90	95.7		
Combinación del ganado con otros rumiantes susceptibles a MAP (por ejemplo, caprinos, ovinos, búfalos) en los últimos 2 años	Sí	3	17	20	21.3	1.0	0.938
	No	11	63	74	87.7	(0.3-4.0)	
Combinación de especies rumiantes con el ganado en los últimos 2 años	de Caprinos,	2	8	10	10.6	5.7	0.099
	de Ovinos	0	8	8	8.5	(1.5-20.9)	
	y Ovinos	1	1	2	2.2	0	NE
	caprinos	11	63	74	78.7	1.4	0.773
	No aplica					(0.2-11.6)	
Estatus de buenas prácticas ganaderas (BPG; según el ICA)	Sí	9	33	42	44.7	2.6	0.111*
	No	5	47	52	55.3	(0.8-8.4)	
Estatus de tuberculosis bovina (libre de tuberculosis según el ICA)	Sí	11	57	68	72.3	1.5	0.572
	No	3	23	26	27.7	(0.4-5.8)	
Conocimiento del productor sobre la enfermedad	Algo ^b	4	0	14	14.9	0.4	NE
	Nunca antes había oído hablar de ella	10	70	80	85.1	(0.1-1.4)	
Antecedentes de síntomas compatibles con EJ	Sí ^c	3	17	20	21.3	1.0	0.938
	Nunca	11	63	74	87.7	(0.3-4.0)	

CAT= categorías; RP= hatos positivos; RN= hatos negativos; DIS= distribución; NE= no estimable.

ICA= Instituto Colombiano Agropecuario. OR= razón de probabilidades. IC= intervalo de confianza.

^a Incluye: Jersey puro y cruza de Jersey. ^b Incluye: Reconoce solo el nombre, algunos conceptos básicos y bastante informado. ^c Incluye: En la actualidad y/o en los últimos 2 años. * Variables utilizadas para el análisis multivariable ($P \leq 0.20$).

Cuadro 3: Prácticas de manejo a nivel de hato en lecherías de la región Norte de la Provincia de Antioquia, Colombia (2016)

Predictor	CAT	RP (n)	RN (n)	N	DIS (%)	OR (IC 95%)	Valor P
Esparcimiento de estiércol como fertilizante en los prados	Sí	14	77	91	96.8	0	NE
	No	0	3	3	3.2		
Tiempo típico de separación de la cría recién nacida de su madre después del nacimiento (en días)	≤ 1	4	17	21	22.3	0.68	0.544
	≥ 2	10	63	73	77.4	(0.2-2.4)	
Crías ≤ 6 meses de edad en contacto directo con ganado adulto	Sí	2	10	12	12.8	1.2	0.854
	No	12	70	82	87.2	(0.2-6.0)	
Fuente de calostro proporcionado a las crías	De múltiples vacas	0	0	0	-	0	NE
	De su propia madre	14	80	94	100.0		
Fuente de leche proporcionada a las crías no destetadas	Leche no vendible	5	30	35	37.2	1.08	0.899
	Otras fuentes ^a	9	50	59	67.8	(0.3-3.5)	

CAT= categorías; RP= hatos positivos; RN= hatos negativos; OR= razón de probabilidades. IC= intervalo de confianza; NE= no estimable.

^a Incluye: Leche sin antibiótico (leche vendible) y sustituto de la leche. * Variables utilizadas para el análisis multivariable ($P \leq 0.20$).

Las variables con un promedio de “0” entre hatos con estado MAP positivo/negativo se excluyeron de las regresiones logísticas (estas son, animales propios pastando en pastos no propios, conocimiento del productor sobre la enfermedad, esparcimiento del estiércol como fertilizante en los prados, fuente de calostro proporcionado a las crías). Las variables tamaño del hato y prácticas de compra de ganado se incluyeron en el análisis como posibles factores de confusión, pero el cambio relativo en los coeficientes fue <15 %, por lo que no se exploraron más a fondo.

El modelo final de regresión logística multivariable para el estado MAP-positivo en las lecherías de estudio mostró que los hatos en los que predominaban razas distintas de la Holstein pura (estas son, Jersey, cruza de Jersey) tenían más probabilidades de estar positivamente infectados con MAP-qPCR utilizando muestreo ambiental que aquellos en los que predominaba el ganado Holstein puro (RP= 3.7; IC 95 %: 1.1-15.2).

Discusión

El presente estudio se llevó a cabo para determinar la prevalencia de MAP a nivel de hato de acuerdo con muestras ambientales en 94 hatos en cinco municipios diferentes. Además, el estudio tuvo como objetivo explorar los factores de riesgo a nivel de hato asociados con la infección por MAP en lecherías bajo sistemas de sala de ordeño mecánico y basados en pastoreo de prados en el Norte de Antioquia, Colombia. Todos los hatos encontrados positivos a MAP-qPCR se consideraron como infectados, con base en el hecho de que una fuente de eliminación de MAP conduce a la contaminación fecal ambiental y, por lo tanto, al riesgo de ingestión por parte del ganado sensible⁽³¹⁾.

La prevalencia de MAP aparente a nivel de hato de 14.9 % estimada del presente estudio (0-33.3 % a nivel de municipio) parece ser menor que las reportadas para el ganado de Norteamérica, Europa y América Latina y el Caribe, independientemente del sistema de producción lechera o de carne⁽¹⁹⁻²¹⁾. A escala nacional, los resultados de un estudio reciente realizado en la misma región en hatos lecheros con instalaciones de ordeño en potrero encontraron una prevalencia aparente de 4.1 %⁽²⁵⁾, basada en la detección molecular de MAP en muestras ambientales utilizando un método de PCR cuantitativo en tiempo real basado en la secuencia de MAP IS900.

Las diferencias en las estimaciones de prevalencia de estos dos sistemas de producción lechera (incluso estando ambos bajo sistemas de pastoreo rotacional en la mayoría de los casos) y procedimientos de ordeño diferentes podrían deberse, hipotéticamente, a una mayor carga metabólica y al consiguiente estrés para los individuos, que deben caminar al menos dos veces al día hacia y desde la sala de ordeño en comparación con las vacas en hatos lecheros con instalaciones de ordeño en el potrero, en el que las vacas permanecen en los prados pastando la mayor parte del día y es el ordeñador quien se acerca a ellas para el ordeño. Las vacas que tienen que caminar varias veces al día podrían tener una inmunidad comprometida que podría favorecer el éxito de la colonización intestinal por MAP, la formación de lesiones granulomatosas, y la consiguiente eliminación del agente al medio ambiente^(2,32), así como la infección por otros patógenos. Además, la mayor prevalencia aparente podría deberse a una mayor probabilidad de detección de hatos positivos en el ambiente cuando se recolectan dos muestras de cada uno, como se siguió en este caso^(16,33). Estos argumentos propuestos necesitan más enfoques de investigación.

Un lugar preciso conocido como apropiado para definir un hallazgo MAP positivo a nivel de hato es la laguna de almacenamiento de estiércol^(34,35). Sus consideraciones en la región de estudio no parecen ser una característica representativa de los sistemas lácteos locales/regionales en Colombia, teniendo en cuenta que sólo 1 de cada 4 lecherías de la Provincia cuenta con esta instalación⁽²⁷⁾. Sin embargo, dichas lecherías fueron una fuente representativa de los hallazgos positivos, ya que 8 de los 14 hatos encontrados como MAP-qPCR positivos se detectaron utilizando las muestras de las lagunas, mientras que cinco de los positivos fueron de la concentración de ganado adulto y/o área de alto tráfico, y uno de ambos lugares de muestreo. Esta puede ser una explicación adicional al comparar el resultado aquí obtenido de prevalencia con el reportado previamente⁽²⁵⁾, como se mencionó.

Se encontró que los hatos donde predominaban razas distintas a la Holstein pura (a saber, Jersey y cruza de Jersey) tenían más probabilidades de estar positivamente infectados con MAP-qPCR en comparación con aquellos en los que la Holstein pura era la raza predominante. En estudios previos⁽³⁶⁻³⁸⁾ se ha reportado una mayor susceptibilidad aparente a la EJ para vacas de razas distintas a la Holstein pura. Se ha sugerido que las razas Channel Island (estas son, Jersey, Guernsey) son más susceptibles a la EJ, con base en evidencia de que la enfermedad clínica ha sido reportada con mayor frecuencia en estas razas que en cualquier otra raza⁽³⁷⁾. No obstante, la razón de esto sigue siendo desconocida. Se ha planteado la hipótesis de que esta susceptibilidad puede estar relacionada con una mayor exposición en lugar de una mayor susceptibilidad o puede estar confundida por algunos factores que juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad clínica, como una menor tasa de sacrificio en las razas Channel Island, solo por dar un ejemplo, pero esa información no está disponible a partir del presente estudio. Se sospecha entonces que la susceptibilidad a la infección tiene un componente genético, y se han reportado valores moderados de heredabilidad de la infección y susceptibilidad y hasta ahora se han hecho algunas aproximaciones sobre el tema.

En este sentido, el uso de la selección genética como herramienta de control de la EJ es un enfoque relativamente nuevo. El fenotipo (estado de infección) mostrado por algunos animales es una combinación de factores genéticamente determinados (genes de susceptibilidad/resistencia/tolerancia) y factores ambientales (exposición a MAP)⁽¹²⁾.

La susceptibilidad se evidencia por la infección y progresión a la etapa clínica; la resistencia se caracteriza por la ausencia de infección o por combatir exitosamente una infección y eliminar el patógeno del cuerpo; y la tolerancia se caracteriza por la infección y un estado subclínico. Se espera que las variaciones genéticas del hospedero contribuyan a modificar la respuesta del animal a la exposición al agente y alcanzar uno de los tres escenarios de desafío desencadenantes⁽³⁹⁾. En el caso de la EJ, los objetivos de investigación hasta el momento se han centrado principalmente en la evaluación de la susceptibilidad. Esto se da principalmente por razones de practicidad, ya que la resistencia o tolerancia a la infección debe evaluarse a través de estudios de desafío, en los que los animales son expuestos a dosis iguales del patógeno y posteriormente se evaluaría su

respuesta durante un largo período de tiempo, siendo un abordaje costoso (debido al tipo de especie), a largo plazo (debido a la patogénesis de la enfermedad), y para llegar a conclusiones aceptables, el grupo de animales debe ser grande⁽⁴⁰⁾. Sin embargo, el establecimiento de una población más resistente a MAP a través de programas de mejoramiento no debe considerarse una solución completa para controlar la enfermedad, sino más bien como una herramienta para prevenir o reducir la incidencia de la infección⁽⁴¹⁾.

La leche y el calostro pueden portar MAP, debido a la contaminación fecal de los pezones o al ser excretados de la ubre⁽⁷⁾. Desde un punto de vista local, otros autores han reportado que las probabilidades de ser un hato seropositivo fueron menores en aquellos que alimentaban a las crías con calostro combinado de varias vacas en comparación con los hatos que alimentaban a las crías con calostro de sus propias madres⁽⁴²⁾. Este estudio previo se realizó en 14 lecherías, ubicadas en los municipios de Belmira y San Pedro de los Milagros (Provincia de Antioquia), dos de los cinco municipios incluidos en este estudio. Sus resultados contrastan con el conocimiento previo del riesgo de ser seropositivo representado por el uso de calostro de múltiples vacas *vs* de la propia madre⁽⁷⁾. Los resultados de este trabajo reportaron que todo el calostro dado a las crías es de sus propias madres (100 % de los hatos). Otros estudios han relacionado la alimentación de animales jóvenes con leche contaminada con antibióticos u otra leche de descarte como un factor de riesgo significativo para la propagación de MAP⁽⁴³⁾. Los resultados indicaron que los sustitutos de leche y la leche vendible (sin antibióticos) fueron las principales fuentes utilizadas para alimentar a las crías no destetadas. No obstante, según la experiencia, utilizar leche desechada para alimentar a las crías sigue siendo una práctica común en los sistemas de estudio en Colombia, lo que aumenta las probabilidades de transmisión dentro del hato, no solo de MAP, sino de otros agentes infecciosos.

Conclusiones e implicaciones

La prevalencia aparente encontrada en los hatos con instalaciones de ordeño en potrero del presente estudio fue de 14.9 %, variando de 0 a 33.3 % entre los municipios de estudio. Además, se encontró que las lecherías, donde predominaban razas distintas a la Holstein pura, tenían más probabilidades de estar positivamente infectadas con MAP-qPCR mediante muestreo ambiental que aquellas en las que la Holstein pura era la raza predominante (OR =3.7; IC 95 %: 1.1-15.2), lo cual no significa que el ganado Holstein sea resistente a la infección por MAP. Sin embargo, esta característica debe ser tomada en cuenta para el control de la EJ, particularmente en las lecherías de Colombia bajo el mismo sistema de producción lechera que los considerados aquí.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Convocatoria Programática 2014-2015: Área de Ciencias de la Salud, Universidad de Antioquia (beca #8714-2015-2042), Medellín (Colombia). A la Dra. Christine Gaunitz (Qiagen, Leipzig, Alemania) por su acompañamiento en la interpretación de los resultados de la PCR. A Gentech Biosciences (Colombia) por todo el apoyo técnico y de laboratorio.

Conflicto de intereses

Los autores afirman que no tienen conflictos de intereses que declarar.

Literatura citada:

1. Sweeney RW. Transmission of paratuberculosis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1996;12(2):305-312.
2. Clarke CJ. The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species. *J Comp Pathol* 1997;116:217-261.
3. Whittington RJ, Marsh IB, Reddacliff LA. Survival of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in dam water and sediment. *Appl Environ Microbiol* 2005;71(9):5304-5308.
4. Elliott GN, Hough RL, Avery LM, Maltin C, Campbell CD. Environmental risk factors in the incidence of Johne's disease. *Crit Rev Microbiol* 2014;7828:1-20.
5. Kudahl AB, Østergaard S, Sørensen JT, Nielsen SS. A stochastic model simulating paratuberculosis in a dairy herd. *Prev Vet Med* 2007;78(2):97-117.
6. McAloon CG, Whyte P, More SJ, Green MJ, O'Grady L, Garcia A, Doherty ML. The effect of paratuberculosis on milk yield—A systematic review and meta-analysis. *J Dairy Sci* 2016;99:1449-1460.
7. Nielsen SS, Bjerre H, Toft N. Colostrum and milk as risk factors for infection with *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2008;91:4610-4615.
8. Stevenson K. Diagnosis of Johne's disease: current limitations and prospects. *Cattle Pract* 2010;18:104-109.
9. Collins MT, Gardner IA, Garry FB, Roussel AJ, Wells SJ. Consensus recommendations on diagnostic testing for the detection of paratuberculosis in cattle in the United States. *J Am Vet Med Assoc* 2006;229:1912-1919.

10. Douarre PE, Cashman W, Buckley J, Coffey A, O'Mahony JM. Isolation and detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis (MAP) from cattle in Ireland using both traditional culture and molecular based methods. Gut Pathog 2010;2:1-7.
11. Eamens GJ, Whittington RJ, Marsh IB, Turner MJ, Saunders V, Kemsley PD, Rayward D. Comparative sensitivity of various faecal culture methods and ELISA in dairy cattle herds with endemic Johne's disease. Vet Microbiol 2000;77:357-367.
12. Sweeney RW, Collins MT, Koets AP, Mcguirk SM, Roussel AJ. Paratuberculosis (Johne's disease) in cattle and other susceptible species. J Vet Intern Med 2012;26:1239-1250.
13. Aly S, Mangold B. Correlation between Herrold egg yolk medium culture and real-time quantitative polymerase chain reaction results for *Mycobacterium avium* subspecies. J Vet 2010;683:677-683.
14. Logar K, Kopinč R, Bandelj P, Starič J, Lapanje A, Ocepek M. Evaluation of combined high-efficiency DNA extraction and real-time PCR for detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in subclinically infected dairy cattle: Comparison with faecal culture, milk real-time PCR and milk ELISA. BMC Vet Res 2012;8:1-10.
15. Alinovi CA, Ward MP, Lin TL, Moore GE, Wu CC. Real-time PCR, compared to liquid and solid culture media and ELISA, for the detection of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis. Vet Microbiol 2009;136:177-179.
16. Donat K, Kube J, Dressel J, Einax E, Pfeffer M, Failing K. Detection of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in environmental samples by faecal culture and real-time PCR in relation to apparent within-herd prevalence as determined by individual faecal culture. Epidemiol Infect 2015;143:975-985.
17. Soumya MP, Pillai RM, Antony PX, Mukhopadhyay HK, Rao VN. Comparison of faecal culture and IS900 PCR assay for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in bovine faecal samples. Vet Res Commun 2009;33:781-791.
18. Wolf R, Barkema HW, De Buck J, Orsel K. Sampling location, herd size, and season influence *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis environmental culture results. J Dairy Sci 2015;98:275-287.
19. Wells SJ, Wagner BA. Herd-level risk factors for infection with *Mycobacterium paratuberculosis* in US dairies and association between familiarity of the herd manager with the disease or prior diagnosis of the disease in that herd and use of preventive measures. J Am Vet Med Assoc 2000;216:1450-1457.
20. Nielsen SS, Toft N. A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe. Prev Vet Med 2009;88:1-14.

21. Fernández-Silva JA, Correa-Valencia NM, Ramírez N. Systematic review of the prevalence of paratuberculosis in cattle, sheep, and goats in Latin America and the Caribbean. *Trop Anim Health Prod* 2014;46:1321-1340.
22. Fernández-Silva JA, Abdulmawjood A, Akineden Ö, Bülte M. Serological and molecular detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in cattle of dairy herds in Colombia. *Trop Anim Health Prod* 2011;43:1501-1507.
23. Benavides B, Arteaga AV, Montezuma CA. Estudio epidemiológico de paratuberculosis bovina en hatos lecheros del sur de Nariño, Colombia. *Rev Med Vet* 2016;31:57-66.
24. Correa-Valencia NM, Ramírez NF, Olivera M, Fernández-Silva JA. Milk yield and lactation stage are associated with positive results to ELISA for *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in dairy cows from Northern Antioquia, Colombia: A preliminary study. *Trop Anim Health Prod* 2016;48:1191-1200.
25. Correa-Valencia NM, Ramírez NF, Arango-Sabogal JC, Fecteau G, Fernández-Silva JA. Prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis infection in dairy herds in Northern Antioquia (Colombia) and associated risk factors using environmental sampling. *Prev Vet Med* 2019;170:104739.
26. Gobernación de Antioquia, Fichas municipales de Antioquia 2015-2016. Colombia. http://www.antioquia.gov.co/planeacion/fichas_municipales_web/index.html. 2016.
27. Fedegan (Federación Nacional de Ganaderos). Registro de vacunación, primer ciclo 2015 (official restricted access material).
28. Dohoo I, Martin W, Stryhn H. Veterinary epidemiologic research. VER Inc., 8 Berkeley Way, Charlottetown, Prince Edward Island, Canada. 2014.
29. Corbett CS, Naqvi SA, Bauman CA, De Buck J, Orsel K, Uehlinger F, Kelton DF, Barkema HW. Prevalence of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis infections in Canadian dairy herds. *J Dairy Sci* 2018;101(12):11218-11228.
30. Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, *et al.* The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem* 2009;55:611-622.
31. Elliott GN, Hough RL, Avery LM, Maltin C, Campbell CD. Environmental risk factors in the incidence of Johnes disease. *Crit Rev Microbiol* 2015;41:488-507.
32. Nielsen SS, Enevoldsen C, Gröhn YT. The *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis ELISA response by parity and stage of lactation. *Prev Vet Med* 2001;54:1-10.

33. Wolf R, Barkema HW, De Buck J, Slomp M, Flaig J, Hauptstein D, Pickel C, Orsel K. High herd-level prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in Western Canadian dairy farms, based on environmental sampling. *J Dairy Sci* 2014;97:6250-6259.
34. Pillars RB, Grooms DL, Kaneene JB. Longitudinal study of the distribution of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in the environment of dairy herds in the Michigan Johne's disease control demonstration herd project. *Can Vet J* 2009;50(10):1039-1046.
35. Pillars RB, Grooms DL, Woltanski JA, Blair E. Prevalence of Michigan dairy herds infected with *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis as determined by environmental sampling. *Prev Vet Med* 2009;89:191-196.
36. McNab WB, Meek AH, Duncan JR, Martin SW, Van Dreumel AA. An epidemiological study of paratuberculosis in dairy cattle in Ontario: study design and prevalence estimates. *Can J Vet Res* 1991;55(3):246-251.
37. Çetinkaya B, Erdogan H, Morgan K. Relationships between the presence of Johne's disease and farm and management factors in dairy cattle in England. *Prev Vet Med* 1997;32:253-266.
38. Jakobsen MB, Alban L, Nielsen SS. A cross-sectional study of paratuberculosis in 1155 Danish dairy cows. *Prev Vet Med* 2000;46:15-27.
39. Gonda MG, Chang YM, Shook GE, Collins MT, Kirkpatrick BW. Genetic variation of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis infection in US Holsteins. *J Dairy Sci* 2006;89:1804-1812.
40. Kirkpatrick MS, Shook GE. Genetic susceptibility to paratuberculosis. *Vet Clin Food Anim* 2011;27:559-571.
41. Kirkpatrick BW. Genetics of host susceptibility to paratuberculosis. In: Behr MA, Collins DM, editor. *Paratuberculosis: Organism, Disease, Control*. CAB International, Oxfordshire, England, 2010:50-55.
42. Fernández-Silva JA, Ramírez N, Correa-Valencia NM. Factors associated with *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in dairy cows from Northern Antioquia, Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2016;30:48-59.
43. Ridge SE, Baker IM, Hannah M. Effect of compliance with recommended calf-rearing practices on control of bovine Johne's disease RIDGE2005. *Aust Vet J* 2005;83:85-90.