

## Detección serológica de paratuberculosis en producciones familiares de bovinos y caprinos del altiplano potosino, México

### Paratuberculosis serological detection in cattle and goats from family production in altiplano region, Mexico

Delia Xochil Vega-Manriquez<sup>1</sup> ,  
 Luis Alberto Lara-García<sup>1</sup> ,  
 Luz Elena Sosa-Martínez<sup>1</sup> ,  
 Felipe de Jesús Morón-Cedillo<sup>1</sup> ,  
 Victoria Elizabeth Castellón-Ahumada<sup>2</sup> ,  
 Edith Maldonado-Castro<sup>2</sup> ,  
 Camelia Alejandra Herrera-Corredor<sup>1</sup> ,  
 Gilberto Ballesteros-Rodea<sup>1</sup> ,  
 Rosa Elena Santos-Díaz<sup>1</sup> ,  
 Gilberto Chávez-Gris<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera San Luis Potosí Km. 14.5, Soledad de Graciano Sánchez, CP. 78321 San Luis, S.L.P., México.

<sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Animal en Altiplano (CEIEPAA), Universidad Nacional Autónoma de México, Carretera Tequisquiapan-Ezequiel Montes, Km. 8.5, Tequisquiapan, CP. 76790, Querétaro. México.

\* Autor de correspondencia: gris@unam.mx

#### Nota científica

Recibido: 02 de diciembre de 2019

Aceptado: 31 de julio de 2020

**Como citar:** Vega-Manriquez DX, Lara-García LA, Sosa-Martínez LE, Morón-Cedillo FJ, Castellón-Ahumada VE, Maldonado-Castro E, Herrera-Corredor CA, Ballesteros-Rodea G, Santos-Díaz RE, Chávez-Gris G (2020) Detección serológica de paratuberculosis en producciones familiares de bovinos y caprinos del altiplano potosino, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 7(2): e2486. DOI: 10.19136/era.a7n2.2486

**RESUMEN.** La paratuberculosis es causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), se caracteriza por una enteritis granulomatosa, su presencia en producciones animales provoca pérdidas económicas importantes, por lo que es relevante entender su epidemiología. El objetivo fue determinar la seropositividad de MAP en caprinos y bovinos del Altiplano Potosino utilizando la prueba ELISA P35. Se seleccionaron rebaños caprinos y hatos de bovinos de diferentes municipios del estado. Se muestreo el 10% de la población del hato, 131 muestras de caprinos y 191 de bovinos. Se realizó la prueba de ELISA P35 para conocer la seropositividad, siendo en ganado caprino de 83.2%, y en bovinos del 7.3%. Se evaluó por  $X^2$  la diferencia estadística entre la seropositividad y el hato de procedencia, encontrando en bovinos diferencias estadísticas ( $p = 0.0002$ ), mientras que en caprinos no hubo ( $p = 0.939$ ). Los resultados aportan información del comportamiento de la seropositividad de la paratuberculosis en producciones del estado.

**Palabras clave:** ELISA, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, P35, rumiantes, serología.

**ABSTRACT.** Paratuberculosis is caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), which is characterized by granulomatous enteritis, its presence in animal productions leads to significant economic losses, therefore is relevant to understand MAP epidemiology. The objective was to determine MAP seropositivity in goats and cattle from San Luis Potosí state (SLP) Altiplano region using ELISA-P35 test. Goat and cattle herds from different municipalities were selected. A 10% of each herd's population were sampled, in total 322 samples were collected, 131 goats and 191 bovine samples. The ELISA-P35 test was carried out to determine seropositivity, MAP prevalence was 83.2% in goats and 7.3% in cattle. The statistical difference between seropositivity and herd provenance was evaluated by  $X^2$  test, finding a statistical difference in cattle ( $p = 0.0002$ ), while there was no difference in goats ( $p = 0.939$ ). Our findings provide relevant information on Paratuberculosis' seropositivity behaviour in SLP animal productions.

**Key words:** ELISA, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, P35, ruminants, serology.

## INTRODUCCIÓN

La paratuberculosis (PTB) o enfermedad de Johne es ocasionada por *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (MAP) (Clarke 1997). Es una enfermedad infecto-contagiosa crónica, que afecta a bovinos, caprinos, ovinos, rumiantes silvestres, y no rumiantes, provocando principalmente enteritis granulomatosa (Carta et al. 2013). MAP se excreta principalmente por las heces, pudiendo contaminar glándula mamaria, forraje, agua y suelo, lo que favorece su transmisión a los animales jóvenes y adultos, siendo los primeros más susceptibles a la infección, por lo que un adecuado manejo de excretas y limpieza favorece el control de esta micobacteriosis, también ha sido descrito que ocasionalmente en hembras infectadas y en lactación se elimina MAP en leche; con menor frecuencia se puede transmitir durante la gestación (Garry 2011, Whittington et al. 2019). El principal signo clínico que desarrollan los animales infectados es la pérdida de peso y en fases finales diarrea intermitente en bovinos (Clarke 1997) y heces pastosas en ovinos y caprinos (Chávez-Gris 2005, Begg y Whittington 2010). La eliminación de MAP por heces puede presentarse antes del año de infección, y pueden no presentar signos clínicos (Chávez-Gris 2005, Fernández-Silva et al. 2014, Whittington et al. 2019).

La PTB ocasiona pérdidas económicas considerables en los sistemas de producción de rumiantes alrededor del mundo, debido a la disminución en la producción láctea, bajo peso de los animales al destete, sacrificio prematuro por la pérdida de peso y la consecuente disminución en el precio del animal (Over et al. 2011, Salem et al. 2013). Además de las pérdidas económicas por concepto de diagnóstico y tratamiento (Lombard 2011, Salem et al. 2013). En diversos países de Europa, Canadá, Estados Unidos y Australia se realizan programas de control; en contraste con América Latina donde se desconoce la prevalencia real de PTB (Fernández-Silva et al. 2014). En América Latina se estima una prevalencia de PTB en bovinos del 75.8%, en ovejas del 16% y en cabras del 4.3% (Fernández-Silva et al. 2014). En México, para el centro del país se

estima una prevalencia de PTB en ovinos y caprinos de entre el 4 y 12% (Chávez-Gris 2005); para Guanajuato, Jalisco y Estado de México en ovinos una prevalencia del 29.9% (Jaimes et al. 2008) y para esta misma especie en San Luis Potosí del 7.58% (Morón-Cedillo et al. 2013). Por otra parte, en ganado caprino en Veracruz se observó una prevalencia de 3.7% (Fernández-Silva et al. 2014), en Puebla del 28% (Gallaga-Maldonado et al. 2017) y en Hidalgo una incidencia del 25% (Méndez-Olvera et al. 2013).

Una de las dificultades que presenta la PTB, es el diagnóstico de animales infectados y que no presentan cuadro clínico. Entre los métodos de diagnóstico empleados se encuentran el aislamiento bacteriano, la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y el inmunoensayo enzimático (ELISA) (Fernández-Silva et al. 2014). Lo idóneo para tener un diagnóstico más certero de PTB es combinar las diferentes pruebas diagnósticas, y realizarlas en intervalos de tiempo (Chávez-Gris 2005).

Actualmente, hay controversia entre la asociación de MAP y el desarrollo de la enfermedad de Crohn en humanos, ya que algunos estudios sugieren que la presencia de la bacteria puede predisponer al desarrollo de procesos como la enfermedad de Crohn o síndrome de Blau (Sechi y Dow 2015), mientras que otros estudios no son concluyentes (Waddell et al. 2015). Aunque en el país se han realizado estudios en algunos estados, para conocer la prevalencia y el comportamiento de la PTB en los hatos de rumiantes domésticos, para establecer estrategias de control (Chávez-Gris 2005, Barkema et al. 2010), el objetivo del presente estudio fue determinar la seropositividad de PTB en hatos de bovinos y rebaños de caprinos del estado de San Luis Potosí, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

Las muestras del ganado bovino se tomaron de las comunidades BA1 y BA2 (22° 13' 39.78" LN y 100° 52' 15.98" LO) del municipio de Soledad de Graciano Sánchez; de la comunidad BB (22° 14' 56.34"

LN y 100° 33' 8.5" LO) del municipio San Nicolás Tolentino y la comunidad BC (21° 54' 14.45" LN y 101° 23' 3.91" LO) del municipio Villa de Arriaga. Mientras que las muestras de ganado caprino se tomaron en la comunidad CA (22° 52' 57.03" LN y 100° 28' 51.39" LO) del municipio de Matehuala; la comunidad CB (22° 26' 50.57" LN y 100° 40' 22.45" LO) del municipio de Villa Hidalgo y la comunidad CC (22° 23' 11.81" LN y 100° 12' 24.76" LO) del municipio de Cerritos del Estado de San Luis Potosí, México.

### **Características generales de las producciones**

Previo a los muestreos se realizaron visitas a las diferentes comunidades para interactuar con los productores e identificar las características de los sistemas de producción, se identificó que son producciones familiares (Garner y de la O Campos 2014). Durante las visitas se identificó que los productores desconocían las características clínicas y etiológicas de la enfermedad, debido a lo cual no consideraban que MAP estuviera presente en sus hatos y rebaños. Pero en la visita previa se identificó que no tenían medidas sanitarias para la remoción de heces, lo que representa un factor que favorece la transmisión de PTB. Las muestras de sangre se obtuvieron de ganado bovino de la raza Holstein, en 11 hatos. Las unidades de producción son representativas de los sistemas productivos imperantes en la región como, animales alimentados en pesebre con forraje de la región, acceso a agua e instalaciones no tecnificadas. Además, los diferentes hatos presentaban rezago tecnológico y de sanidad, con marcada heterogeneidad, considerados como una forma de subsistencia para los productores de manera general. Para el ganado caprino se tomaron muestras de cinco rebaños familiares no tecnificados de las razas Saanen, Boer, Alpina, Nubia, Toggenburg y sus cruza cuyo fin productivo es la venta de cabrito a intermediarios y el doble propósito producción de queso o venta para carne. Las condiciones en que se mantienen es pastoreo de día y por la noche en resguardo, ocasionalmente se les da suplemento.

### **Muestreo**

Se realizó un muestreo no probabilístico del

10% de la población incluida en el estudio para bovinos (n = 191) y caprinos (n = 131), para determinar la tasa de seropositividad de los diferentes rebaños. Los criterios de inclusión fueron animales que formaran parte del hato o rebaño y estuvieran clínicamente sanos.

### **Obtención de suero**

Las muestras de sangre se colectaron por punción de vena yugular en tubos de tipo vacutainer de tapón rojo de 6 mL (BD Vacutainer<sup>®</sup>) y con agujas para toma múltiple 21G x 32 mm (BD Vacutainer<sup>®</sup> Eclipse<sup>™</sup>). Las muestras se mantuvieron en hielo durante su transporte, hasta la separación del suero por centrifugación por 10 min a 1 500 rpm, se tomaron alícuotas de 100  $\mu$ L y se mantuvieron en congelación a -20 °C hasta su uso.

### **Inmunoensayo enzimático con P35**

Esta técnica posee una sensibilidad y especificidad del 100% y 92.31%, respectivamente; se realizó de acuerdo al procedimiento y protocolo establecido en el Método de Diagnóstico de Paratuberculosis a partir de suero, plasma y leche, de la Unidad de Servicios de Diagnóstico y Constatación (USEDICO), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y registrado ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial con Expediente: MX/a/2017/016447. Para realizar la prueba se empleó como antígeno la proteína recombinante de 35 kDa (P35) de MAP, obtenida por la técnica despliegue en fago, mediante el cual se expresa la proteína P35 unida a la proteína pVIII del fago filamentoso M13. Como controles positivos se emplearon sueros de cabras positivas a PCR IS900 en sangre, heces y tejidos, aislamiento de MAP en medio de Löwenstein-Jensen adicionada con micobactina J (Allied, Mo.) y que presentaron lesiones tanto macroscópicas como microscópicas compatibles a PTB y positivas a Ziehl-Neelsen; y sueros controles negativos de cabras que fueron negativas a las pruebas antes mencionadas. Se sensibilizaron las placas de poliestireno (Sarstedt AG & Co KG.), con la proteína P35 a una concentración de 20  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>, diluida

con solución amortiguadora de carbonato (Merck & Co Inc.), con pH 9.6 y 0.05 M. Se depositaron 100  $\mu$ L en cada pozo de la placa, se incubó toda la noche a temperatura ambiente, y después se realizaron tres lavados con solución amortiguadora de fosfatos (Merck & Co Inc.) más Tween 20 (Merck & Co Inc.). Posteriormente, se colocaron 150  $\mu$ L de PBS-gelatina (Becton Dickinson) al 1% a cada pozo, la placa se incubó 90 min a temperatura ambiente, y se realizaron tres lavados con PBS-Tween 20; las placas se mantuvieron a -20 °C hasta el momento de su utilización. Posteriormente, se realizó una dilución 1:1600 con PBS de cada uno de los sueros control y problema, se colocaron 100  $\mu$ L de cada suero diluido por pozo, se tapó la placa e incubó por 90 min a temperatura ambiente. Después las placas se lavaron y se les adicionaron 100  $\mu$ L por pozo del anticuerpo anti IgG conjugado con peroxidasa (Invitrogen & Co.) diluido 1:1000, incubándose una hora y media a temperatura ambiente. Se realizaron cinco lavados y se colocó el sustrato ácido-2,2-ácido-di-(3-etil) benzaiazolina-6-sulfónico (ABTS) (Sigma-Aldrich, Inc.) y peróxido de hidrógeno (Invitrogen & Co.) a una dilución 1/25 en solución amortiguadora de citratos (Merck & Co Inc.) pH 4. Se incubó durante 40 min a temperatura ambiente y se realizaron las lecturas de absorbancia a una longitud de onda de 405 nm en un espectrofotómetro (Elx 800, BioTek Instruments, Inc.), donde los valores de las muestras con densidad óptica mayor a 0.639 fueron consideradas como positivas.

### Diseño estadístico

Para comparar entre la seropositividad de los hatos y rebaños del estudio, se analizaron los valores positivos o negativos de la prueba de ELISA de cada localidad por medio del paquete estadístico SPSS<sup>®</sup> versión 15.0, utilizando una prueba de  $X^2$  para evaluar el nivel de significancia que se estableció con una  $p \leq 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cinco rebaños caprinos y los 11 hatos de bovinos estudiados presentaron al menos un

animal seropositivo, lo que corresponde al 100% de positividad de los rebaños y los hatos. En total se muestrearon 131 caprinos, de los cuales 109 fueron positivos a MAP lo que representa el 83.2% de seropositividad de las muestras con una  $X^2$  mayor a 0.5 ( $p = 0.939$ ), lo que indica que los resultados son similares en los diferentes rebaños de caprinos de los municipios Villa Hidalgo (81.8%), Cerritos (82.0%) y Matehuala (84.2%) (Tabla 1). Por lo que no hay diferencias estadísticas significativas entre la seropositividad de la prueba de ELISA y el municipio de procedencia. En el caso de los bovinos, de las 191 muestras totales, solo 14 presentaron anticuerpos contra MAP, lo que representa un 7.3% de seropositividad. Al aplicar la prueba de  $X^2$  se obtuvo diferencias estadísticas significativas ( $p = 0.0002$ ) entre los animales del municipio de San Nicolás Tolentino (30%) y aquellos de los municipios de Villa Arriaga (3.7%) y Soledad de Graciano Sánchez (5%), lo que indica diferencias significativas entre la seropositividad y el municipio de procedencia.

Los resultados del presente estudio permiten aportar datos sobre seropositividad de paratuberculosis en sistemas de producción familiar, en ganado caprino y bovino en la región del Altiplano del estado de San Luis Potosí, México. Los reportes indican evidencias serológicas, bacteriológicas y anatomopatológicas de la enfermedad en el estado en ganado caprino (Estévez-Denaives *et al.* 2007) y ovino (Morón-Cedillo *et al.* 2013). La seropositividad observada en el presente estudio en ganado caprino (83.2%) es superior a lo descrito en México para ganado caprino (4%) y ovino (12%) (Chávez-Gris 2005). Así como lo reportado para la región de El Caribe y América Latina, que es de 4.3% (Fernández-Silva *et al.* 2014). La elevada seropositividad observada en el presente estudio se puede deber a que, en las unidades de producción familiar se carece de asistencia técnica, medidas preventivas como programas de sanidad básicos que incluyan limpieza, manejo de excretas, separación de animales por edad, factores que disminuirían los riesgos de transmisión de MAP (Garry 2011, McAloon *et al.* 2019, Whittington *et al.* 2019). Otro factor que puede favorecer la disemi-

**Tabla 1.** Seropositividad de paratuberculosis mediante la prueba de ELISA en ganado caprino y bovino en diferentes Municipios del Altiplano en San Luis Potosí, México.

Municipios	Población de Animales	Número de Muestras	Número de Positivos	Seropositividad (%)
Caprinos				
Villa Hidalgo	110	11	9	81.8 <sup>a</sup>
Matehuala	700	70	59	84.2 <sup>a</sup>
Cerritos	500	50	41	82.0 <sup>a</sup>
Total	1310	131	109	83.2
Bovinos				
Villa Arriaga	530	53	2	3.7 <sup>b</sup>
San Nicolas Tolentino	200	20	6	30 <sup>c</sup>
Soledad de Graciano Sánchez	1180	118	6	5.0 <sup>b</sup>
Total	1910	191	14	7.3

Valores con letras diferentes en columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $X^2$ ,  $p > 0.05$ )

nación de PTB, es la práctica de pastoreo comunitario donde los animales excretores de MAP contaminan los pastizales, por lo que se infectan o re-infectan a otros animales. Aunque no se evaluó el nivel inmunológico en los animales estudiados, se conoce que la desnutrición incrementa la susceptibilidad de infección a MAP, así como a otras enfermedades (Chávez-Gris 2005, McAloon 2019, Whittington *et al.* 2019).

Los resultados observados en los bovinos, muestran que todos los hatos tuvieron evidencias serológicas de PTB, con seropositividad del 7.3% que se encuentra en el rango detectado en un estudio de 29 hatos de bovinos productores de leche bajo sistema intensivo en el centro de México con seroprevalencias entre 1.82 y 24.07% (Castillo-Velázquez *et al.* 2015). De manera similar, se ha descrito seroprevalencias en bovinos lecheros en EUA entre el 1 y 20% (Lombard 2011); aunque otros estudios mencionan una seroprevalencia del 68%, en hatos con gran número de individuos (USDA 2008). Por otra parte, para la región del Caribe y América Latina se reporta una prevalencia del 16.9%, con una afección del 75.8% de los hatos bovinos (Fernández-Silva *et al.* 2014). Si bien en los hatos del estudio se observaron malas condiciones sanitarias y un programa de medicina preventiva que solo considera la desparasitación, la seropositividad del 7.3% en la detección de paratuberculosis, podría estar relacionado con el tamaño pequeño de los hatos muestreados. Sustentando la propuesta anterior, existen investigaciones

que describen que en los hatos más grandes un aumento de individuos facilita la transmisión e instalación de las enfermedades en la población susceptible y por lo tanto a mayor identificación de positividad (USDA 2008, McAloon *et al.* 2019). También, el bajo porcentaje de seropositividad se podría deber a que la infección en los hatos está iniciando y por lo tanto los animales no están produciendo la cantidad de anticuerpos detectables por pruebas serológicas (Whittington *et al.* 2019). Se ha descrito que en paratuberculosis la prueba de ELISA tiene una mejor detección en la etapa final de la incubación de la enfermedad donde se produce mayor cantidad de anticuerpos, siendo menor la detección en etapas tempranas (Vilar *et al.* 2015, Whittington *et al.* 2019), también es importante contemplar que para detectar a animales en fases iniciales de la infección se recomiendan pruebas basadas en la detección de la inmunidad celular como el interferón gama, también para evaluar el desarrollo de la PTB en un hato o rebaño es recomendable realizar pruebas al menos una vez al año (Chávez-Gris 2005, Fernández-Silva *et al.* 2014). Por lo que se recomienda continuar con las pruebas para conocer el comportamiento de esta infección en los hatos y rebaños del presente estudio. Cabe mencionar, que los sistemas de producción del presente trabajo, no llevan registros que permitieran contar con datos como la edad de los animales, la fecha de ingreso al hato, o si han mostrado signos clínicos compatibles con paratuberculosis, y por lo tanto, no es posible conocer si la baja seropositividad

mostrada en los hatos de los municipios de Soledad de Graciano Sánchez y Villa de Arriaga, con serología positiva de 5.0 y 3.7%, respectivamente; pudiera deberse al ingreso reciente de animales que pudieran haber introducido la infección en el hato y que se encuentre en etapa inicial de diseminación. Llama la atención que en el hato del municipio San Nicolás Tolentino donde se muestrearon 20 individuos se obtuvo una seropositividad de 30.0%, lo que puede sugerir que el hato tenía antecedentes de la infección desde hace tiempo o bien que el desarrollo de la infección se encuentra en fases avanzadas que permitió una mayor producción y detección de anticuerpos (Vilar et al. 2019, Whittington et al. 2019).

Se debe de considerar que PTB es una enfermedad infecto-contagiosa, que se encuentra ampliamente distribuida y que su contagio entre el hato o rebaño puede ocurrir con facilidad, y de esta forma aumentar de manera gradual su prevalencia (Garry 2011, Fernández-Silva et al. 2014), y en consecuencia ocasionar pérdidas económicas importantes para los ganaderos (Chávez-Gris 2005, Garry 2011). Si bien en los animales del presente estudio no se observaron signos clínicos sugerentes a PTB, es recomendable que para evitar el aumento en la seropositividad de la PTB en el mismo rebaño o hato y su diseminación a otros sistemas de producción se lleven a cabo medidas de control y prevención de la infección, como las propuestas por Garry (2011): 1) tomar medidas que eviten que los animales susceptibles se expongan a MAP como pueden ser eliminar el contacto con las heces contaminadas y aumentar la limpieza de todas las áreas; 2) llevar a cabo el diagnóstico periódico del hato al menos una vez al año, identificar a los positivos y eliminarlos en la medida de lo posible; y 3) evitar que animales infectados sean introducidos al hato y reemplazarlos con animales libres de MAP.

En el caso de caprinos, la vacunación también

puede ser una opción para el control y disminución de la eliminación de MAP en heces para el control de la PTB (Chávez-Gris 2005, Fectau et al. 2010, Lombard 2011), pero en México no se cuenta con vacuna (Whittington et al. 2019). Adicionalmente, en los animales bajo condiciones de pastoreo como en los sistemas caprinos de este estudio se recomienda la introducción a las praderas primero de los animales jóvenes y al día siguiente adultos, para evitar que los jóvenes tengan contacto con heces contaminadas durante el pastoreo (Fectau et al. 2010). Con la intención de facilitar el éxito de las estrategias de control y mejorar los sistemas de producción se debe llevar a cabo un plan de capacitación para los productores que permitiría evitar el incremento de casos clínicos en los hatos (Chávez-Gris 2005, Garry 2011). Aunque la participación de MAP en salud pública no es clara (Sechi y Dow 2015, Waddell et al. 2015), se recomienda realizar el diagnóstico y control de PTB para evitar su diseminación tanto en el rebaño como en hatos con el fin de disminuir el probable impacto que pudiera tener sobre la salud humana.

El presente estudio aporta datos de la seropositividad de paratuberculosis en bovinos y caprinos de comunidades del Altiplano Potosino, lo que permite tener un diagnóstico del comportamiento de la enfermedad en la zona, esta información puede ser de utilidad como herramienta para tomar medidas sanitarias que controlen la enfermedad para disminuir su impacto en producción, salud animal y eventualmente en salud pública.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por el financiamiento del proyecto DGAPA, PAPIIT IT201118, y a la Fundación PRODUCE San Luis Potosí, A.C. por el financiamiento del proyecto 4071.

## LITERATURA CITADA

Begg D, Whittington R (2010) Paratuberculosis in sheep. In: Behr MA, Collins DM (ed). Paratuberculosis: Organism, disease, control. CAB International. Oxfordshire, UK. pp: 157-168.

- Carta T, Álvarez J, Pérez de la Lastra JM, Gortázar C (2013) Wildlife and paratuberculosis: A review. *Research in Veterinary Science* 94: 191-197.
- Castillo-Velázquez U, Gómez-Flores R, Chávez-Gris G, Favila-Humara LC, Soto-Castor R, Maldonado-Castro E, Tamez-Guerra P (2015) Presence of paratuberculosis in dairy cows culled in Tizayuca (Hidalgo, México). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 28: 174-180.
- Chávez-Gris G (2005) Epidemiología, prevención y control de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* en pequeños rumiantes. En: Rodríguez-Vivas RI (ed). *Enfermedades de importancia económica en Producción Animal*. Mc Graw Hill. Madrid, España. pp: 393-404.
- Clarke CJ (1997) The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species. *Journal of Comparative Pathology* 116: 217-261.
- Estévez-Denaives I, Hernández-Castro R, Trujillo-García AM, Chávez-Gris G (2007) Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in goat and sheep flock in Mexico. *Small Ruminant Research* 72: 209-213.
- Fecteau ME, Whitlock RH, Buergelt CD, Sweeney RW (2010) Exposure of young dairy cattle to *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) through intensive grazing of contaminated pastures in a herd positive for Johne's disease. *The Canadian Veterinary Journal* 51: 198-200.
- Fernández-Silva JA, Correa-Valencia NM, Ramírez NF (2014) Systematic review of the prevalence of paratuberculosis in cattle, sheep, and goats in Latin America and the Caribbean. *Tropical Animal Health and Production* 46: 1321-1340.
- Gallaga-Maldonado EP, Arellano-Reynoso B, Santillán-Flores MA, Favila-Humara LC, Córdova-López D, Morales RJ, Díaz-Aparicio E (2017) Situación epidemiológica de la paratuberculosis en las principales regiones caprinas del estado de Puebla, México. *Quehacer Científico en Chiapas* 12: 36-45.
- Garner E, de la O Campos AP (2014) Identifying the "family farm" An informal discussion of the concepts and definitions. *FAO. ESA Working Paper No. 14-10*. Rome, Italy. 30p.
- Garry F (2011) Control of paratuberculosis in dairy herds. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 27: 599-607.
- Jaimes NG, Santillán-Flores MA, Hernández-Cruz OA, Córdova-López D, Guzmán-Ruiz CC, Arellano-Reynoso B, Díaz-Aparicio E, Tenorio-Gutiérrez VR, Cuéllar-Ordaz A (2008) Detección de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*, por medio de PCR-anidada a partir de muestras de heces de ovinos. *Revista Veterinaria México* 39: 377-386.
- Lombard JE (2011) Epidemiology and economics of paratuberculosis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 27: 525-535.
- Méndez-Olvera ET, Ramírez-Lorenzo IN, Rojas-Serranía N, Olivares-Orozco JL, Martínez-Gómez D (2013) Detección de *Mycobacterium avium paratuberculosis* en caprinos ubicados en una zona semi-árida en el municipio de Tecozautla Hidalgo. *Revista Salud Animal* 35: 182-188.
- McAloon CG, Roche S, Ritter C, Barkema HW, Whyte P, More SJ, O'Grady L, Green MJ, Doherty ML (2019) A review of paratuberculosis in dairy herds-Part 1: Epidemiology. *The Veterinary Journal* 246: 59-65.
- Morón-Cedillo FJ, Cortez-Romero C, Gallegos-Sánchez J, Figueroa-Sandoval B, Aquino-Pérez G, Amante-Orozco A (2013) Prevalence of infection by *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* in flocks of sheep of two regions of San Luis Potosi, Mexico. *Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia* 23: 293-299.

- Over K, Crandall PG, O'Bryan CA, Ricke SC (2011) Current perspectives on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, Johne's disease, and Crohn's disease: a review. *Critical Reviews in Microbiology* 37: 141-56.
- Salem M, Heydel C, El-Sayed A, Ahmed SA, Zschöck M, Baljer G (2013) *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*: an insidious problem for the ruminant industry. *Tropical Animal Health and Production* 45: 351-366.
- Sechi LA, Dow CT (2015) *Mycobacterium avium* ss. *paratuberculosis* zoonosis-The hundred year war- beyond Crohn's disease. *Frontiers in Immunology* 6: 96. Doi: 10.3389/fimmu.2015.00096.
- USDA (2008) Johne's Disease on U.S. Dairies, 1991-2007. United States Department of Agriculture- Animal and Plant Health Inspection Service-Veterinary Services, Centers for Epidemiology and Animal Health. Fort Collins, CO, USA. <http://nahms.aphis.usda.gov>.
- Vilar AL, Santos CS, Pimenta CL, Freitas TD, Brasil AW, Clementino IJ, Alves CJ, Bezerra CS, Riet-Correa F, Oliveira TS, Azevedo SS (2015) Herd-level prevalence and associated risk factors for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cattle in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. *Preventive Veterinary Medicine* 121: 49-55.
- Waddell LA, Rajic' A, Stärk KDC, McEwen SA (2015) The zoonotic potential of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*: a systematic review and meta-analyses of the evidence. *Epidemiology & Infection* 143: 3135-3157.
- Whittington R, Donat K, Weber MF, Kelton D, Nielsen SS, Eisenberg S, Arrigoni N, Juste R, Sáez JL, Dhand N, et al. (2019) Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. *BioMed Central Veterinary Research* 15: 1-30.