

Seroprevalência da subespécie *Mycobacterium avium* paratuberculosis em gado suspeito abatido no matadouro em Sonora, México

Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in suspect cattle slaughtered at slaughterhouse from Sonora, Mexico

Reyna Osuna-Chávez¹ , Guadalupe López-Robles¹ , Hernán Celaya-Michel¹ ,
Jesús Sosa-Castañeda¹ , Manuel Nieblas-López¹ , Cristina Ibarra-Zazueta¹ 

¹Departamento de Agricultura y Ganadería, Universidad de Sonora. México. *Autor responsável e para correspondência: Ibarra-Zazueta Cristina. Departamento de Agricultura y Ganadería, Universidad de Sonora. Carretera Bahía de Kino Km 21. Apartado postal 305. Hermosillo, Sonora, México. reyna.osuna@unison.mx, guadalupe.lopez@unison.mx, hernan.celaya@unison.mx, jesus.sosa@unison.mx, manuel.nieblas@unison.mx, cristina.ibarra@unison.mx

RESUMO

A paratuberculose é uma doença infeccioso-contagiosa causada pela bactéria *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculosis* (MAP), que afecta o tracto digestivo dos ruminantes. O MAP é distribuído em todo o mundo, contudo, não existem publicações sobre a seroprevalência desta doença no gado no estado de Sonora. Portanto, o objectivo deste estudo era detectar a seropositividade MAP em gado em Sonora, bem como conhecer a sua aparente prevalência numa população de gado adulto com emaciação e cachexia. Foram analisadas trezentas e oitenta e cinco amostras de soro de 370 bovinos fêmeas e 15 machos, com mais de 3 anos de idade, nascidos em Sonora, com sinais de emaciação e caquexia. Foram recolhidos dados sobre a idade, raça, finalidade zootécnica e município de origem. O objectivo zootécnico dos animais era principalmente o gado de dupla finalidade com 84,93% (370/385). As amostras foram processadas por ELISA comercial. Os resultados mostram uma aparente seroprevalência de 2,08% (8/385) e os municípios com animais seropositivos foram Hermosillo com 3 amostras, assim como Guaymas, Huachinera, Ures, Villa Pesqueira e Fronteras, com uma amostra cada. O presente estudo demonstra pela primeira vez a seropositividade a *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculose* em bovinos em Sonora. Para além duma baixa seroprevalência aparente na população bovina amostrada. A presença da MAP em Sonora, que poderia ser considerada uma doença negligenciada, realça a necessidade de conhecer o seu possível papel na saúde pública no México.

Palavras-chave: Seroprevalência, *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculosis*, Sonora.

ABSTRACT

Paratuberculosis is an infectious-contagious disease caused by the bacterium *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP), which affects the digestive tract of ruminants. MAP is distributed worldwide; however, there are no publications on the seroprevalence of this disease in cattle in the state of Sonora. Therefore, the objective of this study was to detect MAP seropositivity in cattle in Sonora, as well as to know its apparent prevalence in a population of adult cattle with emaciation and cachexia. Three hundred and eighty-five serum samples were analyzed from 370 female and 15 male cattle, older than 3 years, born in the state with signs of emaciation and cachexia. Data were collected on age, breed, zootechnical purpose and municipality of origin. The zootechnical purpose of the animals was mostly dual purpose cattle with 84.93% (370/385). The samples were processed using the commercial ELISA test. The results show an apparent seroprevalence of 2.08% (8/385) and the municipalities that presented

seropositive animals were Hermosillo with 3 samples, as well as Guaymas, Huachinera, Ures, Villa Pesqueira and Fronteras, with one sample each. The present study demonstrates for the first time seropositivity to *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in cattle in Sonora. In addition to a low apparent seroprevalence in the cattle population sampled. The presence of MAP in Sonora, which could be considered a neglected disease, highlights the need to know its possible role in public health in Mexico.

Keywords: Seroprevalence, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, Sonora.

INTRODUÇÃO

A paratuberculose (PTBC), ou doença de Johne, é uma doença crónica e contagiosa causada pela bactéria *Mycobacterium avium*, subespécie *paratuberculose* (MAP). No acordo através do qual as doenças e pragas exóticas e endémicas de notificação obrigatória de animais terrestres e aquáticos nos Estados Unidos Mexicanos são dadas a conhecer no Jornal Oficial da Federação, publicado em Novembro de 2018, o PTBC é catalogado no grupo 3 de doenças e pragas, que são constituídas pelas que se encontram em território nacional, consideradas endémicas, que representam um risco menor do ponto de vista epidemiológico, económico, de saúde pública e para o comércio nacional e internacional; pois podem ser controláveis e são notificáveis mensalmente (DOF, 2018). A infecção MAP afecta bovinos, ovinos e caprinos, principalmente gado leiteiro (Retamal *et al.*, 2011; OIE, 2020). Provoca lesões granulomatosas no tracto digestivo e caracteriza-se por enterite granulomatosa proliferativa e linfadenite com infiltração mononuclear, que provoca síndrome de má absorção em animais infectados, afectando o desempenho produtivo dos animais (Rathanaiah *et al.*, 2017). Um dos principais mecanismos de infecção ocorre nos vitelos, quando são infectados durante a lactação através de infestação oral-fecal; embora não esteja excluído que possam ser infectados durante a fase de estabulação.

O período de incubação da MAP varia de 4 meses a 15 anos, e os sinais clínicos podem aparecer entre dois e cinco anos (Eisenber *et al.*, 2012). Devido às semelhanças fisiopatológicas entre PTBC em ruminantes e a doença de Crohn no homem, foi sugerido que poderia ser uma doença zoonótica (Naser *et al.*, 2004); no entanto, não foi até agora demonstrada uma ligação directa entre a infecção MAP e a doença de Crohn no homem (Chaubey *et al.*, 2017). A PCR do gene IS900 foi realizada e a prevalência real da PAM em doentes afectados pela doença de Crohn e pela doença intestinal não-inflamatória foi de 47 e 13 % respectivamente; apenas 7 % dos doentes com doença de Crohn foram moderadamente positivos à coloração de Zielh Nelseen. Os resultados histopatológicos mostraram enterite granulomatosa (83 e 90 %), enterite linfoplasmática (17 e 14 %), edema e linfangiectasia (67 e 96 %) e vasculite (20 e 73 %), para a doença de Crohn e MAP, respectivamente (Zarei *et al.*, 2019).

O diagnóstico de PTB pode ser feito por ELISA, PCR, isolamento bacteriano, fixação do complemento, imunodifusão em gel de ágar, bem como a coloração de Ziehl Neelsen da histopatologia e amostras de fezes; também pode ser feito pela detecção de imunidade mediada por células (teste cutâneo anual caudal); no entanto, reage cruzadamente com *Mycobacterium bovis* (Whittington *et al.*, 2019).

PTBC é distribuído em todo o mundo, num inquérito a 48 países verificou-se que PTBC é muito comum, em cerca de metade destes países, mais de 20% dos rebanhos foram infectados com MAP (Whittington *et al.*, 2019). Apenas a Suécia, Noruega e alguns estados da Austrália demonstraram estar livres da doença, porque a notificação e medidas de controlo do MAP são realizadas nestes locais, e porque o objectivo é a erradicação da doença (Collins *et al.*, 2010; Eslami *et al.* 2019; Whittington *et al.*, 2019). A prevalência do PTBC no gado bovino a nível mundial varia entre 7 e 60%, sendo inferior no gado bovino para carne do que no gado leiteiro; além disso, foi estimado em 16% em ovinos na América Latina e nas Caraíbas (Fernández *et al.*, 2014).

No México, a informação sobre a seroprevalência do MAP no gado bovino é escassa; os estudos realizados têm sido principalmente em ovinos e caprinos. Em ovelhas em San Luis Potosí foi detectada uma seropositividade de 9,48% (Morón *et al.*, 2013); enquanto em Jalisco, Guanajuato e no estado do México foi de 44,6% (Jaimes *et al.*, 2008), em Nayarit 5,16% (Mejía *et al.*, 2017), em Baja California 7,8% (Correa *et al.*, 2013). Em Sonora, foi reportada uma seroprevalência global para ovelhas de 7,48% e quando analisada por região, a maior seropositividade foi observada no sul do estado com 11,10% (Morales *et al.*, 2020). Outros estudos no México relataram a presença de MAP em caprinos, em Veracruz foi detectada uma seropositividade de 0,6% (Martínez *et al.*, 2012), no México central 8,29-9,67% (Favila *et al.*, 2010) e em Puebla foi detectada uma seroprevalência de 48,1% (Gallaga *et al.*, 2017). No estudo realizado por Morales *et al.* (2020), foram analisados factores de risco para a apresentação da seropositividade MAP em ovelhas em Sonora e verificou-se que o risco era maior quando os animais nasciam fora da exploração e também em explorações com mais de 300 animais. Embora a informação sobre MAP em gado seja limitada, foi observada uma seroprevalência de 8,29-9,67% no México central (Favila *et al.*, 2010).

Num estudo realizado por Milián *et al.* (2015), onde analisaram a seroprevalência da MAP em gado bovino em diferentes estados do México, foi detectada uma seroprevalência de 5% para o país; e os estados que apresentaram a maior seroprevalência foram Jalisco e Guanajuato, com 11% e 10%, respectivamente. O mesmo estudo incluiu também os estados de Chihuahua e Sinaloa, que fazem fronteira com Sonora, e detectou uma seroprevalência MAP de 2% e 6%, respectivamente. Infelizmente, não há informação disponível sobre o estado actual da MAP no gado em Sonora, mas a presença da doença em ovinos deste estado, bem como em ovinos e bovinos de estados vizinhos, sugere que a doença poderia estar a circular no gado no estado de Sonora.

O objectivo deste estudo era detectar a presença de seropositividade a *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculose* em bovinos de diferentes municípios de Sonora, bem como determinar a prevalência aparente numa população de bovinos clinicamente suspeitos (com emaciação e cachexia) com mais de 3 anos de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

Concepção do estudo, tamanho da amostra e recolha.

Foi realizado um estudo epidemiológico observacional transversal entre Maio de 2018 e Maio de 2019; a dimensão da amostra (n=385), foi determinada utilizando a metodologia descrita por Segura e Hondhold (2015); para tal, foi considerada a população total de 1.728.001 bovinos no estado de Sonora: 1.709.366 bovinos de corte e 18.635 bovinos de leite (SIAP, 2018), com um nível de confiança de 95%, um erro estimado de 5% e uma prevalência esperada de 5%. Foi utilizada uma amostragem de conveniência não-probabilística. Foram seleccionados animais dum matadouro TIF na cidade de Hermosillo, que recebe gado de todo o estado de Sonora. Os critérios de inclusão foram que os animais tinham uma marca auricular SINIIGA e uma marca de ferradura identificando-os como sendo provenientes de Sonora, que tinham mais de 3 anos e que apresentavam sinais de emaciação e cachexia. O critério de exclusão era que não seriam recolhidas amostras de animais com menos de 3 anos de idade e com condição corporal 3-5. Além disso, foram recolhidos dados sobre a finalidade zootécnica dos animais, idade, sexo e município a que pertenciam. Para classificar as amostras de acordo com a localização geográfica de onde provêm os animais, foi utilizado o Sistema Estatal de Informação para o Ordenamento do Território do Estado de Sonora (SEIOT), que agrupa diferentes municípios em unidades territoriais, mostradas na figura 1 (SEIOT, 2020).



Figura 1. Unidades Territoriais Amostradas Estado de Sonora (SEIOT, 2020)

Recolha e processamento de amostras.

Foram recolhidas amostras de sangue da veia jugular de cada animal em tubos de 10 mL sem anticoagulante (Vacutainer®); o procedimento foi realizado de acordo com NOM-062-ZOO-1999. A detecção de anticorpos anti-MAP foi realizada por ELISA indirecta (Jark *et al.*, 1997), utilizando um kit comercial (IDEXX Laboratories, Inc., EUA), e de acordo com as instruções do fabricante. A medição foi realizada num leitor ELISA (Stat Fax®4700), com uma absorvância de 450 nm. Amostras com um S/P > 55 %, duvidosas de 45 a 55 % e negativas < 45 % foram consideradas positivas.

Análise de dados. Para determinar a aparente seroprevalência da MAP na população bovina testada (adultos com emaciação e cachexia), os animais positivos para MAP por ELISA foram considerados e divididos pelo número total da população amostrada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram amostrados 96,10 % (370/385) fêmeas e 3,90 % (15/385) machos. Verificou-se que 3,90 % (15/385) dos animais amostrados eram bovinos para carne, 84,93 % (327/385) com dupla finalidade (produção de carne e leite) e 11,17 % (43/385); a finalidade zootécnica era a produção de leite. A idade média dos animais seropositivos da MAP foi de $7,5 \pm 2$ anos, o que, de acordo com a literatura e a infecção MAP ocorre geralmente nos primeiros meses de vida dos animais, na fase de lactação por leite contaminado com fezes, mas observam-se sinais clínicos após um longo período de incubação e geralmente aparecem entre dois e cinco anos (Craven *et al.*, 2000). Os animais amostrados neste estudo eram principalmente gado de abate; também mostraram os sinais característicos do PTBC que são a emaciação e a emaciação. Embora um diagnóstico presuntivo da doença possa ser feito com base em sinais clínicos e achados necróticos, existem outras doenças que têm as mesmas manifestações clínicas; por conseguinte, é necessária a confirmação laboratorial e testes serológicos (Bustamante *et al.*, 2011).

Foram obtidas amostras serológicas de gado de 55 dos 72 municípios do estado de Sonora (Tabela 1), o que corresponde a 76,39 % do território do estado; estes municípios situam-se na parte centro-norte do estado (fig. 1).

O município com o maior número de amostras foi Hermosillo com 45,45 % (175/385). Na análise serológica para a detecção de anticorpos anti-MAP, observou-se que os municípios onde foram detectadas amostras duvidosas foram: Hermosillo (n = 3), Guaymas (n = 1), Huachinera (n = 1), Ures (n = 1), Villa Pesqueira (n = 1) e Fronteras (n = 1) (fig. 2).

Tabela 1. Municípios do estado de Sonora avaliados no estudo

Unidade Territorial Básica	Nº de Animais	Municípios incluídos
Hermosillo	175	Hermosillo, San Miguel de Horcasitas, La Colorada, San Javier, Carbo
Guaymas	13	Guaymas, Empalme
Cajeme	12	Cajeme, Suaqui Grande, Rosario, Quiriego, San Ignacio Río Muerto, Bácum
San Luis Río Colorado	2	San Luis Rio Colorado, Puerto Peñasco, Gral. Plutarco Elías Calles
Caborca	16	Caborca, Pitiquito, Saric, Áltar, Tubutama, Átil, Oquitoa
Nogales	23	Nogales, Santa Cruz, Ímuris, Magdalena, Santa Ana, Benjamín Hill, Trincheras, Cucúrpe
Agua Prieta	11	Agua Prieta, Fronteras, Nacozeni de García, Bacoachi, Cananea, Naco
Moctezuma	49	Moctezuma, Bacerac, Huachinera, Nacori Chico, Bacadehuachi, Huasabas, Granados, Divisaderos, Cumpas, Bavispe, Villa Hidalgo, Tepache
Banamichi	8	Arizpe, Banamichi, Huepac, Aconchi, Baviacora, San Felipe de Jesús
Sahuaripa	24	Sahuaripa, Arivechi, Yecora, Bacanora, Soyopa, Onavas
Ures	49	Ures, Opodepe, Rayón, Villa Pesqueira, Mazatán, San Pedro de la Cueva
Navojoa	3	Álamos, Etchojoa, Navojoa, Benito Juárez, Huatabampo

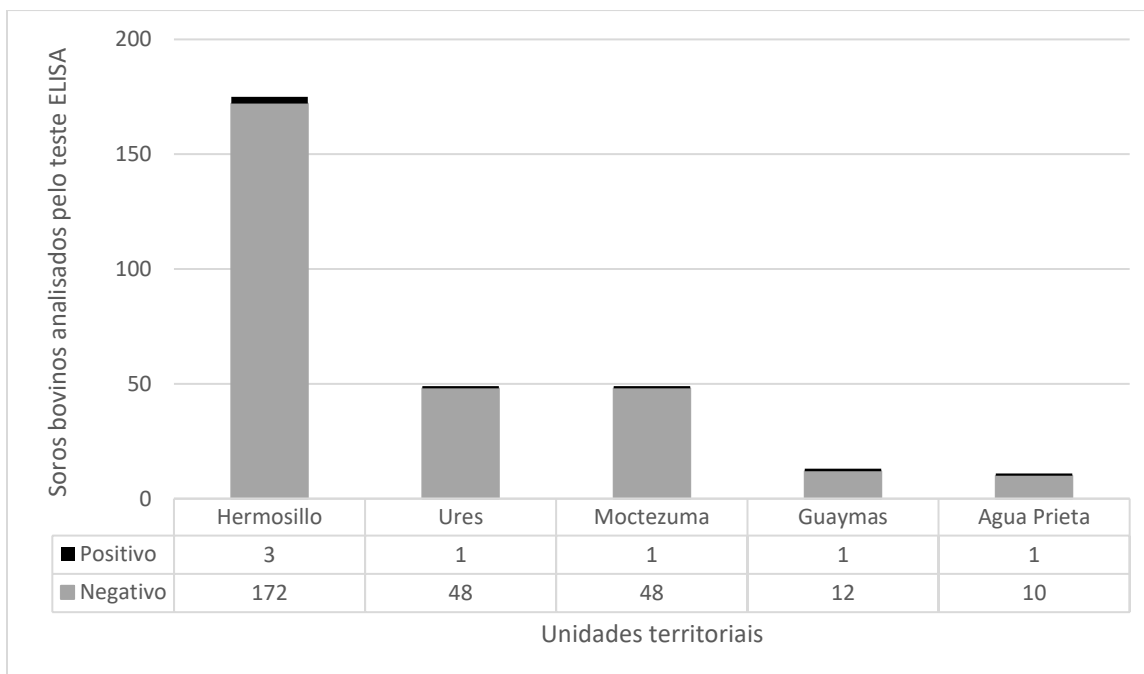


Figura 2. Unidades territoriais com amostras MAP-positivas

Existem vários estudos de soroprevalência da doença, onde amostras com resultados equívocos são consideradas positivas (Velez *et al.*, 2016; Jaramillo *et al.*, 2017). A seroprevalência aparente estimada para o estado foi de 2,08 % (8/385); estes resultados coincidem com os detectados em Chihuahua por Milián *et al.* (2015). É sugestivo notar que, embora Sonora também faça fronteira com Sinaloa e Baja California, onde foram detectadas seroprevalências mais elevadas (Milián *et al.*, 2015), a introdução de gado no estado é proibida devido ao seu elevado estatuto sanitário; isto porque Sonora está na fase de erradicação de *Mycobacterium bovis* (tuberculose bovina). Entre os testes oficiais para o diagnóstico da tuberculose bovina no México, é utilizado o teste de tuberculinização, que é considerado como o teste de dobra ano-caudal, o teste cervical comparativo e o teste cervical simples. Este teste é altamente sensível e tem uma baixa especificidade, e o teste de pregas anorretais é ideal para identificar populações que reagem a micobactérias; portanto, a fim de discriminar a quem esta reação poderia corresponder, é utilizado o teste comparativo cervical duplo (NOM-031-ZOO-1995).

Existem semelhanças imunogénicas entre MAP e *Mycobacterium bovis*, e dado que foi realizada uma varredura com o teste de tuberculina através do Plano Estratégico conjunto EUA-México para colaboração na tuberculose bovina 2013-2018, e que o estado de Sonora progrediu como um estado avançado modificado acreditado pelo USDA (United States Department of Agriculture); a estratégia do estado baseia-se na eliminação de reactivos e despovoamento de manadas positivas aos testes histopatológicos e ao isolamento bacteriano (SENASICA, 2021). Isto permitiu grandes progressos na campanha da tuberculose bovina e minimizou indirectamente a presença de MAP no

gado no estado; contudo, há provas de seropositividade da MAP em ovinos no estado (Morales *et al.*, 2020); isto aumenta a possibilidade de haver a presença de anticorpos MAP circulantes no estado e de que em algum momento o gado tenha contacto com a doença.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram pela primeira vez a seropositividade a *Mycobacterium avium* subespécie paratuberculose em bovinos em Sonora. Além disso, foi observada uma baixa seroprevalência aparente na população bovina amostrada. No entanto, a fim de dispor de informações mais precisas sobre o comportamento epidemiológico deste agente etiológico na população bovina de Sonora, é necessário realizar mais análises no futuro em animais produtivos activos dentro das unidades de produção. Por outro lado, a presença da MAP em Sonora, que é uma doença negligenciada, salienta a necessidade de conhecer o seu possível papel na saúde pública no México.

LITERATURA CITADA

BUSTAMANTE VJ, Aguilar OJ, Ortíz MM, Bustamante L.J. 2011. *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* en bovinos lecheros de la zona de Lima detectado mediante tres pruebas diagnósticas. *Revista de investigaciones veterinarias Perú*. 22 (4): 394 – 402. ISSN: 1609-9117. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v22n4/a14v22n4.pdf>

CHAUBEY KK, Singh SV, Gupta S, Singh M, Sohal J S, Kumar N, Singh MK, Bhatia AK, Dhama K. 2017. *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* – an important food borne pathogen of high public health significance with special reference to India: an update. *Veterinary Quarterly*. 37: 282 – 299.
<https://doi.org/10.1080/01652176.2017.1397301>

COLLINS MT, Eggleston V. Manning JB. 2010. Successful control of Johne's disease in nine dairy herds: Results of a six-year field trial. *Journal Dairy Science*. 93: 1638-1643.
<http://doi.org/10.3168/jds.2009-2664>

CORREA MM, Medina BG, Rentería ET, Monge NF, González VV, López VG. 2013. Caracterización molecular de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* en bovinos y ovinos de Mexicali, Baja California, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 4(4): 489-500. ISSN 2448-6698.
<http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v4n4/v4n4a6.pdf>

CRAVEN JA, Morgan IR. Epidemiology and Pathogenesis of Paratuberculosis in cattle. A literature survey prepared for animal health Australia. 2000. www.animalhealthaustralia.com.au/wp-content/uploads/2011/04/Epidemology-and-Pathogenesis-of-Johne%E2%80%99s-Diseasein-Cattle.pdf

DOF. Diario Oficial de la Federación. 2018. ACUERDO mediante el cual se dan a conocer en los Estados Unidos Mexicanos las enfermedades y plagas exóticas y endémicas de notificación obligatoria de los animales terrestres y acuáticos. 29-11-2018. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5545304&fecha=29/11/2018

EISENBERG SW, Nielen M, Koets AP. 2012. Within-farm transmission of bovine paratuberculosis: recent developments. *Vet Q.* 32(1):31-5. <http://doi.org/10.1080/01652176.2012.659870>

ESLAMI M, Shafiei M, Ghasemian A, Valizadeh S, Al-Marzoqi AH, Shokouhi Mostafavi SK, Nojoomi F, Mirforoughi SA. 2019. *Mycobacterium avium paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex and related subspecies as causative agents of zoonotic and occupational diseases. *J Cell Physiol.* 234(8):12415-12421. <http://doi.org/10.1002/jcp.28076>

FAVILA HL, Chávez GG, Carrillo CEM, Hernández CR. 2010. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* detection in individual and bulk tank milk samples from bovine herds and caprine flocks. *Foodborne pathogens and disease.* 7(4): 351 – 355. <http://doi.org/10.1089/fpd.2009.0374>

FERNÁNDEZ SJA, Correa VNM, Ramírez NF. 2014. Systematic review of the prevalence of paratuberculosis in cattle, sheep, and goats in Latin America and the Caribbean. *Trop. Anim. Health Prod.* 46:1321 – 1340. <http://doi.org/10.1007/s11250-014-0656-8>

GALLAGA MEP, Arellano RB, Santillán FMA, Favila HLC, Córdova CD, Morales RJ, Díaz AE. 2017. Situación epidemiológica de la paratuberculosis en las principales regiones caprinas de estado de Puebla, México. *Quehacer científico en Chiapas.* 12(1). 36 – 45. https://dgip.unach.mx/images/pdf-REVISTA-QUEHACERCIENTIFICO/2017-ener-jun/4.Situacion_epidemiologica_de_la_paratuberculosis.pdf

JAIMES NG, Santillán MA, Hernández CA, Córdova D, Guzmán CC, Arellano RB, Tenorio GVR, Cuéllar OA. 2008. Detection of *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* by nested PCR of ovine fecal samples. *Vet Mex.* 39(4): 377 – 386. <https://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2008/vm084b.pdf>

JARAMILLO MS, Montoya ZMA, Uribe SJS, Ramírez VNF, Fernández SJA. 2017. Seroprevalencia de paratuberculosis (*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*) en un hato de lechería especializada del altiplano norte de Antioquia, Colombia. *Revista Veterinaria y Zootecnia* 11(2): 24 – 33. <http://doi.org/10.17151/vetzo.2017.11.2.3>

JARK U, Ringena I, Franz B, Beyerbach M, Gerlach GF. 1997. Development of an ELISA technique for serodiagnosis of bovine paratuberculosis. *Vet microbiol.* 57: 189 – 198. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(97\)00125-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(97)00125-9)

MARTÍNEZ HDI, Sarabia BCDC, Peniche CAEDJ, Villagómez CJA, Magdaleno MA, Hernández RSG, Flores CR. 2012. Seroepidemiology of goat paratuberculosis in five municipalities of Central Veracruz Mexico. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 15 (2): 82-88. <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/1754/769>

MEJÍA MK, Lemus FC, González MCA, Palomares RG, Díaz AE, Gutiérrez HJL. 2017. Factores de riesgo asociados a *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* en rebaños ovinos de Nayarit, México. *Revista Científica FCV - LUZ.* 27(5): 294-302. <https://www.redalyc.org/jatsRepo/959/95953315005/html/index.html>

MILIÁN SF, Santillán FMA, Zendejas MH, García CL, Hernández AL, Cantó AGJ. 2015. Prevalence and associated risk factors for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in dairy cattle in Mexico. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health.* 7: 302-307. <https://doi.org/10.5897/JVMAH2015.0402>

MORALES PMI, Mejía SP, Díaz AE, Palomares REG, Gutiérrez HJL, Reyna GJR, Luna NP, Munguía XJA, Segura CJC, Leyva CJC. 2020. Risk factors associated with the seroprevalence of paratuberculosis in sheep flocks in the hot-arid region of Sonora, México. *Tropical Animal Health and Production.* 52(3): 1357-1363. <http://doi.org/10.1007/s11250-019-02139-y>

MORÓN CFJ, Cortéz RC, Gallegos SJ, Figueroa SB, Amante OA. 2013. Prevalencia de la infección por *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* en rebaños ovinos de dos municipios de San Luis Potosí, México. *Revista Científica FCV – LUZ.* 23(4): 293-299. ISSN: 0798-2259. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95926991008>

NASER SA, Ghobrial G, Romero C, Valentine JF. 2004. Culture of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from the blood of patients with Crohn's disease. *Lancet.* 364:1039-1044. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17058-X](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17058-X)

Norma Oficial Mexicana – 1995. NOM-031-Z00-1995. Campaña nacional contra la Tuberculosis bovina *Mycobacterium bovis*. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. México. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-031-zoo-1995>

Norma Oficial Mexicana – 1999. NOM-062-Z00-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. México.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf

OIE. 2020. Organización mundial de sanidad animal: Paratuberculosis. <https://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-los-animales/Paratuberculosis/>.

RATHNAIAH G, Zinniel DK, Bannantine JP, Stabel JR, Gröhn YT, Collins MT, Barletta RG. 2017. Pathogenesis, molecular genetics, and genomics of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, the etiologic agent of Johne's disease. *Frontiers in veterinary science*. 4:187. <http://doi.org/10.3389/fvets.2017.00187>

RETAMAL MP, Beltran MC, Abalos PP, Quera PR, Hermoso RM. 2011. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* y enfermedad de Crohn: evidencias de una zoonosis. *Revista médica Chile*. 139(139). ISSN 0034-9887. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872011000600015>

SEGURA CJ, Honhold N. 2015. Métodos de muestreo para la producción y salud animal. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. Pp. 50 – 52. ISBN 968-7556-93-5.

SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2021. Plan Estratégico conjunto entre Estados Unidos-México para la colaboración de Tuberculosis bovina 2013-2018. México.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/150563/5_Plan_Estrat_gico_en_Conjunto_SENASICA-APHIS.pdf

SEIOT. Sistema estatal de información para el ordenamiento territorial. 2020. México.
<http://seiot.sonora.gob.mx/>

SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquero. 2018. Población ganadera (bovinos). México. <https://www.gob.mx/siap/documentos/poblacion-ganadera-136762>

VÉLEZ AM, Rendón DY, Valencia RA, Ramírez VN, Fernández SJ. 2016. Seroprevalencia de *Mycobacterium avium* Subsp. *paratuberculosis* (MAP) en una granja de ganado de carne de bosque húmedo tropical en Caucasia, Antioquia, Colombia. *Revista Colombiana De Ciencia Animal – RECIA*. 8(2):167-176. <https://doi.org/10.24188/recia.v8.n2.2016.184>

WHITTINGTON R, Donat K, Weber MF, Kelton D, Nielsen SS, Eisenberg S, Arrigoni N, Juste R, Sáez JL, Dhand N, Santi A, Michel A, Barkema H, Kostoulas P, Citer L, Griffin F, Barwell R, Scatamburlo MMA, Slana I, Koehler H, Vir SS, Sang YH, Chávez GG, Goodridge A, Ocepek M, Garrido J, Stevenson K, Collins M, Alonso B, Cirone K, Paolicchi F, Gavey L, Rahman MT, de Marchin E, Praet WV, Bauman C, Fecteau G, McKenna S, Salgado M, Fernández SJ, Dziedzinka R, Echeverria G, Seppänen, Thibault V, Fridriksdottir V, Derakhshandeh A, Haghkhah M, Ruocco L, Kawaii S, Momotani E, Heuer C, Norton S, Cadmus S, Agdestein A, Kampen A, Sztejn J, Frössling J, Schwan E, Caldow G, Strain S, Carter M, Wells S, Munyeme M, Wolf R, Gurung R, Verdugo C, Fourichon C, Yamamoto T, Thapaliva S, Di Labio E, Ekgat M, Gil A, Nuñez AA, Piaggio J, Suanes A, de Warrd JH. 2019. Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. *BMC Vet Res*. 15:198. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1943-4>

ZAREI KF, Geramizadeh B, Khodakaram T A. 2019. Prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* IS 900 DNA in biopsy tissues from patients with Crohn's disease: histopathological and molecular comparison with Johne's disease in Fars province of Iran. *BMC infectious diseases*. 19(1):23. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3619-2>