

Seroprevalencia y factores de riesgos asociados a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* en bovinos de Villavicencio, Colombia

Seroprevalence and associated risk factors *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cattle from Villavicencio

Blanca Guzmán-Barragán^{1*}, Yuri Angelica Monroy-Roberto¹, Julio Tobón²,
Laura Catherine Blanco-Angarita¹, Yesica Lorena Guzmán³

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo estimar la seroprevalencia y factores de riesgo para *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* en Villavicencio, Colombia. Se tomaron muestras de sangre a 1000 bovinos de doble propósito en 24 fincas. El diagnóstico se realizó mediante ELISA indirecta para la detección de anticuerpos. Los factores de riesgo fueron determinados mediante pruebas univariadas y multivariadas. La seroprevalencia general de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* fue 52.4% y la del hato de 100%. Se identificaron como factores de riesgo el sexo hembra, animales mayores de 4 años, y venta de animales. La raza cebú fue considerado como factor de protección.

Palabras clave: paratuberculosis, seroprevalencia, bovinos, ELISA

¹ Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas (UDCA), Bogotá, Colombia

² Empresa Colombiana de Productos Veterinarios (VECOL), Bogotá, Colombia

³ Universidad Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil

* E-mail: blancalissethguz@hotmail.com

Recibido: 9 de junio de 2022

Aceptado para publicación: 16 de marzo de 2023

Publicado: 28 de abril de 2023

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

ABSTRACT

The study aimed to estimate the seroprevalence and risk factors for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Villavicencio, Colombia. Blood samples were taken from 1000 dual-purpose cattle in 24 farms. The diagnosis was done by indirect ELISA for the detection of antibodies. Risk factors were determined using univariate and multivariate tests. The overall seroprevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* was 52.4% and that of the herd was 100%. Female sex, animals older than 4 years, and sale of animals were identified as risk factors. The zebu breed was considered as a protection factor.

Key words: paratuberculosis, prevalence, cattle, ELISA

INTRODUCCIÓN

La paratuberculosis bovina es una enfermedad infecciosa crónica granulomatosa que afecta el intestino delgado de los bovinos y otros rumiantes, también conocida como la enfermedad de Johne (McAloon *et al.*, 2019). La enfermedad es causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), bacteria Gram positiva intracelular dependiente de micobactina y, por lo tanto, incapaz de realizar una replicación en el ambiente (McAloon *et al.*, 2019). La enfermedad se presenta con pérdida de peso, disminución en la producción de leche, diarrea crónica y edema; sin embargo, los signos clínicos pueden aparecer hasta dos años después de la infección inicial (Yoo y Shin, 2012). La ruta de transmisión más común es vía oro-fecal a través de la ingestión de alimento, ya sea pasto o leche contaminados con materia fecal. Los animales adultos infectados son los mayores diseminadores del patógeno, en tanto que los recién nacidos son los más susceptibles (Eisenberg *et al.*, 2012). Además, se reporta la transmisión transplacentaria al término de la gestación, a través del semen y por embriones contaminados (Buergelt y Williams, 2004; Bielanski *et al.*, 2006).

La paratuberculosis es una enfermedad endémica y la OIAH declara la enfermedad de notificación obligatoria; sin embargo, no es una enfermedad prioritaria en los programas oficiales de control y prevención en muchos países (Whittington *et al.*, 2019). La enfermedad presenta diversos desafíos para los programas de prevención y control debido a que no existe tratamiento (Beaunée *et al.*, 2017) y es de difícil diagnóstico debido a las formas de presentación clínica, periodos prolongados de incubación, presentación silenciosa y número de microorganismos por debajo del umbral de detección (Manning y Collins, 2001). Los animales en la fase subclínica no presentan signos de la enfermedad, pero pueden tener niveles detectables de anticuerpos; sin embargo, las técnicas diagnósticas son más sensibles en estados clínicos o finales de la enfermedad (Nielsen y Toft, 2008). Para erradicar la enfermedad se debe sacrificar a todos los animales infectados, lo cual implica un gran costo para el ganadero si es que no existen incentivos (Manning y Collins, 2001; Yoo y Shin, 2012). No se le considera una zoonosis, pero se debe tener en cuenta que se ha detectado el MAP en pacientes con la enfermedad de Crohn, presentando signos similares a la enfermedad de Johne (Sechi y Dow, 2015).

La enfermedad causa grandes pérdidas económicas debido a la disminución de la producción de leche, de la ganancia de peso y de bajos precios en el matadero (García y Shalloo, 2015). Se estiman pérdidas económicas anuales en hatos infectados con MAP del 1% de los ingresos brutos por leche, equivalente a US\$ 33 por vaca, calculándose pérdidas de anuales de US\$ 198 millones en Estados Unidos de América, US\$ 75 millones en Alemania y US\$ 56 millones en Francia (Rasmussen *et al.*, 2021). En Latinoamérica y el Caribe se le ha reportado por casi 100 años, pero aún no existen programas adecuados para el control y prevención de la enfermedad (Espescht *et al.*, 2017). En Colombia se ha reportado la presencia a de la enfermedad; sin embargo, no se cuentan con estudios suficientes para la comprensión de la enfermedad, comportamiento y factores de riesgo, de allí que el objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia de MAP basada en ELISA e identificar los factores asociados a su presentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Estudio

Se realizó un estudio epidemiológico de tipo transversal en el municipio de Villavicencio, en Meta, Colombia, considerada la zona ganadera del país, el cual cuenta con una población de 108 019 cabezas según censo del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA, 2016). El municipio tiene una altitud media de 380 msnm, temperatura 27 °C, humedad relativa 80%, precipitación pluvial entre 3500 y 4000 mm anuales.

Población y Tamaño de Muestra

El tamaño de la muestra se determinó siguiendo los postulados de Dohoo *et al.* (2003), con una seroprevalencia hipotética del 21% (Caraballo-Blanco *et al.*, 2018), 95% de confianza y efecto de diseño de 4, población de 108 019 con la siguiente fórmula: $n =$

$(1 - [1 - NC]^{1/d}) (N - [d - 1]/2)$, donde **n**: tamaño de la muestra requerido, **N**: tamaño de la población, **d**: número de individuos enfermos esperados en la población, **NC**: nivel de confianza expresado como proporción ($=1 - \alpha$).

Se estimó una muestra total de 1018 bovinos. La muestra fue recolectada en 2016, realizándose un muestreo aleatorio estratificado en 24 fincas de sistema de doble propósito pertenecientes a cinco veredas del municipio, las cuales son subdivisiones territoriales de la zona rural en los municipios.

Muestras

Las muestras de sangre (5.0 ml) se tomaron de la vena coccígea y se depositaron en tubos estériles sin anticoagulantes (Vacutainer®). Se guardaron en bodegas isotérmicas y transportadas al Laboratorio de Reproducción y Genética Animal de la Universidad de los Llanos, Villavicencio. Las muestras fueron centrifugadas a 5000 x g por 10 min y los sueros resultantes se almacenaron a -70 °C hasta su análisis.

Prueba de ELISA

Del total de muestras colectadas, 1000 fueron viables para análisis. Se realizó la prueba de ELISA indirecta utilizando el kit de diagnóstico comercial Parachek®2 (Prionics AG) para la detección de anticuerpos específicos frente a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* en muestras de suero, siguiendo las directrices del fabricante. La lectura se hizo mediante espectrometría considerando una densidad óptica de 450 nm y un punto de corte de 0.350. Muestras con porcentajes $\geq 70\%$ se consideraron positivos para la presencia de anticuerpos contra MAP.

Estadísticas y Análisis de Riesgo

La seroprevalencia se determinó dividiendo el número de animales seropositivos con animales muestreados, con 95 % de intervalo de confianza (IC), utilizando el soft-

ware Epiinfo™ v. 7. Para el análisis de riesgo se llevó a cabo una encuesta presencial por finca, donde se recolectó la información de variables sobre poblaciones y especies de animales domésticos, actividades productivas, asistencia técnica, saneamiento, infraestructura y eventos de salud que fueron categorizados como presencia y ausencia (variables dicotómicas). La encuesta se realizó en coordinación con las autoridades colombianas del ICA. El análisis univariable se realizó mediante la prueba Chi-cuadrado de Pearson para determinar la relación entre la presencia de paratuberculosis y las variables en estudio, donde aquellas con $p < 0.05$ se incluyeron en el modelo de regresión logística multivariable. Se consideraron las variables sexo (macho, hembra), edad (<1, 1-2, 3-4, >4 años), venta de animales (no, sí), grupo racial (Holstein, Gyr, Pardo Suizo, cebú, criollo, Girolando, Angus), presencia de animales (porcinos, caninos y aves). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software SPSS v. 20 (SPSS, USA).

Ética

El estudio se realizó bajo la normatividad del Código de Ética para Medicina Veterinaria de Colombia, regidas por Ley N.º 576 de 2000 y la Ley N.º 84 de 1989 de la República de Colombia. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA) N.1-2019. En los predios se obtuvo el consentimiento informado por parte de los propietarios.

RESULTADOS

La seroprevalencia general de *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* fue 52.4% (95% CI: 48.0-57.0%) y de 100% para los hatos. La seroprevalencia por sexo, grupo etario y ubicación de los hatos se presenta en el Cuadro 1.

Con base en los resultados obtenidos en el análisis se identificaron como factores de riesgo al sexo hembra con un OR=2.493 más riesgo de infectarse en comparación con el estrato basal (macho), animales mayores de 4 años OR=2.892 (menores de 1 año), venta de animales OR=2.761 (no venta de animales) (Cuadro 2). El análisis de las razas mostró como factor de protección al Cebú con OR=0.392. El estudio de la presencia de otras especies como factor de riesgo en los hatos no fue estadísticamente significativo.

DISCUSIÓN

Es el primer estudio de seroprevalencia de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* en los llanos orientales de Colombia, con una prevalencia a nivel animal de 52.4%, y a nivel hato de 100%. Los resultados coinciden con los hallazgos encontrados por Whittington *et al.* (2019), en su estudio con 27 países, donde 48.2% de los países presentaron una prevalencia mayor de 40%. En Europa se observan diferencias notables en prevalencia, así en Inglaterra se analizaron 15 737 muestras mediante ELISA encontrando una seroprevalencia de 7.1% (Woodbine *et al.*, 2009), mientras que, en Galicia, España, en 93 rebaños se encontró una seroprevalencia de 40.5% (Villamil *et al.*, 2020). No obstante, en Colorado, Estados Unidos, se reportó 4.12% en vacas y la prevalencia por hato estuvo entre el rango de 0 a 7.82% (Hirst *et al.*, 2004). En América Latina la paratuberculosis es endémica, habiéndose realizado estudios en Brasil, Argentina y Chile mediante diferentes pruebas diagnósticas lo que dificulta la comparación (Espeschit *et al.*, 2017); sin embargo, Fernández-Silva *et al.* (2014) estimaron una prevalencia general de 16.9% a nivel animal y de 75.8% a nivel de hato en la región.

En Colombia se reportan altas tasas de prevalencia. En Nariño 94% de las fincas fueron positivas a paratuberculosis bovina con

Cuadro 1. Seroprevalencia de *Mycobacterium avium* subs. *Paratuberculosis* en vacas de hatos de doble propósito en el Municipio de Villavicencia, Meta, Colombia (2016)

Variables		Prevalencia (%)	Intervalo de confianza al 95%
Sexo	Macho	34.6	27.1 – 43.7
	Hembra	56.7	51.7 – 62.1
Edad (años)	<1	20.3	15.0 – 26.9
	1-2	54.7	41.9 – 70.2
	3-4	61.7	46.3 – 80.7
	>4	63.1	56.9 – 69.8
Veredas	Barcelona	56.5	47.2 – 67.1
	Bella Suiza	55.2	47.7 – 64.1
	Amor	49.7	40.6 – 60.3
	Cocuy	47.92	35.49 – 63.36
	Apiay	46.75	37.26 – 57.95

pruebas de ELISA (Benavides *et al.*, 2016), en Antioquia se encontró una prevalencia de 33.8% en 105 animales de orientación cárnica (Vélez *et al.*, 2016). Asimismo, en la región Caribe, Sucre, se reportó 21.1% de positividad en las muestras de heces con la técnica de tinción Ziehl Neelsen y de 11.5% con PCR (Caraballo-Blanco *et al.*, 2018) mostrando diferencias entre técnicas diagnósticas; en tanto que en la sabana de Boyacá se encontró una seroprevalencia del 10.9% (Bulla-Castañeda *et al.*, 2020). Los resultados encontrados indican que la enfermedad se encuentra extendida en el país y, por tanto, se requiere instaurar programas oficiales para el control y prevención de la enfermedad a fin de controlar la diseminación de la enfermedad, programas que pueden integrar estrategias como pruebas diagnósticas, control en la comercialización, vacunación, sacrificio temprano, manejo de terneros, mejora de la higiene y medidas de bioseguridad.

La implementación del diagnóstico puede ser difícil debido a la complejidad inmunológica y al prolongado periodo subclínico de la enfermedad. El diagnóstico mediante ELISA es una prueba de tamizaje que identifica niveles de anticuerpos en las etapas finales de la enfermedad, por tanto, es difícil determinar la presencia de la enfermedad con un solo diagnóstico de referencia. El uso de técnicas diagnósticas en los programas de control debe considerar las limitaciones de cada prueba, determinar el uso de más de una prueba repetidas en el tiempo en el mismo animal para establecer el estadio de la enfermedad tanto en el animal como en el rebaño (Gilarioni *et al.*, 2012). Nuevos avances podrían ser considerados en la construcción de programas de control, como los estudios de modelos multiescala de rutas de comercio, evaluación de medidas de control y estudios genéticos (Ruiz-Larrañaga *et al.*, 2010; Beaunée *et al.*, 2017).

Cuadro 2. Análisis de factores de riesgos asociados con la seroprevalencia de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* en bovinos de Villavicencio, Meta, Colombia (2016)

Variables		Odds Ratio	Intervalo de confianza al 95%	Significancia (p)
Sexo	Macho	1	-	-
	Hembra	2.493	1.801 – 3.451	0.00
Edad (años)	<1	1	-	-
	1-2	1.110	0.741 – 1.663	0.613
	3-4	1.514	0.950 – 2.414	0.080
	>4	2.892	2.229 – 3.753	0.001
Grupo racial	Holstein	1	-	-
	Gyr	1.198	0.459 - 3.131	0.712
	Pardo Suizo	1.007	0.485 - 2.094	0.984
	Cebú	0.392	0.180 - 0.856	0.019
	Criollo	0.469	0.485 - 2.094	0.642
	Girolando	1.341	0.305 - 5.896	0.698
	Angus	1.335	0.490 - 3.642	0.712
Venta de Animales	Sí	2.761	1.644 - 8.970	0.038
	No	1	-	-
Presencia de animales	Porcinos	1	-	-
	Caninos	0.056	0.962 - 22.377	0.056
	Aves	0.139	0.751 - 7.741	0.139

La edad también fue un factor relevante en el estudio. Se identificó una mayor prevalencia en animales mayores de 4 años en comparación con los menores de 1 año, concordando con otros estudios en Dinamarca (Nielsen y Ersboll, 2006), Brasil (Vilar *et al.*, 2015) Egipto (Selim *et al.*, 2019) y Colombia (Bulla-Castañeda *et al.*, 2020). Sin embargo, animales jóvenes son más susceptibles, habiéndose identificado que el acceso de animales jóvenes a pastos contaminados con estiércol adulto es un factor de riesgo (Villamil *et al.*, 2020). Es importante considerar que la enfermedad presenta largos periodos de incubación y que los niveles de anticuerpos de MAP se identifican principalmente al final de periodo de incubación (McAloon *et al.*,

2019), de allí la dificultad de identificar la enfermedad en edades tempranas.

No se observó una raza en particular como factor de riesgo de la enfermedad. Por otro lado, el cebú fue factor de protección. Diversos estudios han identificado la influencia de la raza; así en Nariño se identificó una menor seroprevalencia paratuberculosis (6.7%) en animales Holstein frente al ganado cruzado (12.2%) (Benavides *et al.*, 2016). En este sentido, Bulla-Castañeda *et al.* (2020) en Boyacá, Colombia, evaluaron animales de las razas Jersey, Holstein, Ayrshire y Normando, determinando una mayor tasa de prevalencia en el Jersey, en tanto que Doria *et al.* (2020) en Córdoba encontraron

3.8% de seroprevalencia en el ganado Costeño con Cuernos en comparación con el 0.74% en el Romosinuano. También se ha demostrado que algunas razas *Bos indicus* presentan una predisposición genética a la infección al contar con genes que interfieren en la transducción de señales inmunológicas de las células huéspedes (Fecteau, 2018). Se han realizado estudios que analizan el papel de los genes en la respuesta inmune innata y la variación genética en los procesos infecciosos, buscando identificar variantes alélicas de los genes responsables de la resistencia o la susceptibilidad. Se han identificado polimorfismos en genes como *SLC11A1*, *NOD2*, *SP110*, *TLR2*, *SP110*, *CLEC7A*, *CD209* y *TLR4* (Ruiz-Larrañaga *et al.*, 2010). Por lo tanto, la selección genética de animales resistentes puede ser una de las estrategias promisorias en el control de la paratuberculosis.

El estudio identificó una mayor presencia de la enfermedad en las hembras. Doria *et al.* (2006) en su estudio en Córdoba (Colombia) determinó que las hembras fueron 4.3 veces más afectadas que los machos, atribuyendo el resultado a una mayor predisposición a alteraciones inmunológicas y al estrés ocasionado durante el parto y la lactancia. Las prácticas de ordeño, asimismo, pueden ser un factor influyente en la transmisión de enfermedad, pues se han identificado MAP en ubre, ganglios linfáticos mamarios y muestras de leche de hembras positivas de la paratuberculosis (Eisenberg *et al.*, 2012; Khol *et al.*, 2017). Los resultados del estudio muestran una asociación con el ordeño mecánico, lo cual puede estar asociado a la falta de limpieza y desinfección de los equipos y ubres. La inseminación artificial se identificó como factor de riesgo, habiendo reportes de la presencia del patógeno en semen (Bielanski *et al.*, 2006); sin embargo, se requieren más estudios para conocer la participación de MAP en reproducción animal.

Un factor relevante fue la asociación de la enfermedad con la venta de animales. La paratuberculosis es una enfermedad in-

troducida por el comercio. En Colorado, Estados Unidos, se identificó que los rebaños que habían importado $\geq 8\%$ de su rebaño durante los 5 años anteriores fueron 3.28 veces más propensas a ser seropositivas a MAP, así mismo, los hatos que contaban con más del 25% de las vacas nacidas en otras lecherías fueron 2.1 veces más probabilidades de ser positivas (Hirst *et al.*, 2004). En Irlanda se encontró un incremento de los niveles de seropositividad posterior al comercio internacional de ganado (Barrett *et al.*, 2011). En lo referente a las exposiciones ganaderas, la transmisión puede ocurrir un mayor contacto con otros animales, personas, equipos y vehículos (Villamil *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

- Se estimó una seroprevalencia general de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* de 52.4% (95% CI: 48.0-57.0%) para el ganado y de 100% en los hatos de Villavicencio.
- La enfermedad estuvo asociada al sexo, edad, raza y venta de animales.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la Empresa Colombiana de Productos Veterinarios VECOL S.A, Universidad de los Llanos y Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales – UDCA.

LITERATURA CITADA

1. **Barrett DJ, Mee JF, Mullowney P, Good M, McGrath G, Clegg T, More SJ. 2011.** Risk factors associated with Johnne's disease test status in dairy herds in Ireland. *Vet Rec* 168: 410-410. doi: 10.1136/vr.c6866
2. **Beaunée G, Vergu E, Joly A, Ezanno P. 2017.** Controlling bovine paratuberculosis at a regional scale: towards a decision modelling tool. *J Theor Biol* 435: 157-183. doi: 10.1016/j.jtbi.2017.09.012

3. **Benavides-Benavides B, Arteaga-Cadena AV, Montezuma-Misnaza CA. 2016.** Estudio epidemiológico de paratuberculosis bovina en hatos lecheros del sur de Nariño, Colombia. *Rev Med Vet* 31: 57-66.
4. **Bielanski A, Algire J, Randall GCB, Surujballi O. 2006.** Risk of transmission of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* by embryo transfer of *in vivo* and *in vitro* fertilized bovine embryos. *Theriogenology* 66: 260-266. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.11.010
5. **Buergelt C, Williams JE. 2004.** Nested PCR on blood and milk for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* DNA in clinical and subclinical bovine paratuberculosis. *Aust Vet J* 82: 497-503. doi: 10.1111/j.1751-0813.2004.tb11169.x
6. **Bulla-Castañeda DM, Díaz-Anaya AM, García-Corredor DJ, Pulido-Medellín MO. 2020.** Serodiagnosis of paratuberculosis in cattle of the municipality of Sogamoso, Boyacá (Colombia). *Entramado* 16: 312-320.
7. **Caraballo-Blanco L, Castellar-Martínez A, Pardo-Pérez E. 2018.** *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* en heces de bovinos del municipio de Sincelejo, Sucre, Colombia. *Rev Investig Vet Perú* 29: 987-995. doi: 10.15381/rivep.v29i3.14111
8. **Doria M, Oviedo M, Oviedo T, Canabal M, Pérez J, Fernández, J. 2020.** Seroprevalencia a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* en bovinos criollos colombianos Romosinuano y costeño con cuernos. *Rev MVZ Córdoba* 25: 35-40. doi: 10.21897/rmvz.1611
9. **Dohoo I, Martin. W, Stryhn H. 2003.** *Veterinary epidemiologic research*. 2nd ed. Canada: VER. y 865 p.
10. **Eisenberg SW, Nielen M, Koets AP. 2012.** Within-farm transmission of bovine paratuberculosis: recent developments. *Vet Q* 32: 31-35. doi: 10.1080/01652176.2012.659870
11. **Espescht IF, Schwarz DGG, Faria ACS, Souza MCC, Paolicchi FA, Juste RA, Carvalho IA, Moreira MAS. 2017.** Paratuberculosis in Latin America: a systematic review. *Trop Anim Health Prod* 49: 1557-1576. doi: 10.1007/s11250-017-1385-6
12. **Fecteau ME. 2018.** Paratuberculosis in cattle. *Vet Clin N Am Food Anim Pract* 34: 209-222. doi: 10.1016/j.cvfa.2017.10.011
13. **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. *Trop Anim Health Prod* 6: 1321-1340. doi: 10.1007/s11250-014-0656-8
14. **García AB, Shalloo L. 2015.** Invited review: The economic impact and control of paratuberculosis in cattle. *Int J Dairy Sci* 98: 5019-5039. doi: 10.3168/jds.2014-9241
15. **Gilardoni LR, Paolicchi FA, Mundo SL. 2012.** Bovine paratuberculosis: a review of the advantages and disadvantages of different diagnostic tests. *Rev Argent Microbiol* 44: 201-215.
16. **Hirst HL, Garry FB, Morley PS, Salman MD, Dinsmore RP, Wagner BA, Goodell GM. 2004.** Seroprevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection among dairy cows in Colorado and herd-level risk factors for seropositivity. *J Am Vet Med Assoc* 225: 97-101. doi: 10.2460/javma.2004.225.97
17. **[ICA] Instituto Colombiano Agropecuario. 2016.** *ICA - Censo Pecuario Nacional*. ICA. <https://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Epidemiologia-Veterinaria/Censos-2016/Censo-2017.aspx>
18. **Khol JL, Braun AL, Slana I, Kralik P, Wittek T. 2017.** Testing of milk replacers for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* by PCR and bacterial culture as a possible source for Johne's

- disease (paratuberculosis) in calves. *Prev Vet Med* 144: 53-56. doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.05.013
19. **Manning EJ, Collins MT. 2001.** *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: pathogen, pathogenesis and diagnosis. *Rev Sci Tech Off Int Epizoot* 20: 133-150.
 20. **McAloon CG, Roche S, Ritter C, Barkema HW, Whyte P, More SJ, O'Grady L, et al. 2019.** A review of paratuberculosis in dairy herds—Part 1: Epidemiology. *Vet J* 246: 59-65. doi: 10.1016/j.tvjl.2019.01.010
 21. **Nielsen SS, Toft N. 2008.** Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: a review of accuracies of ELISA, interferon- γ assay and faecal culture techniques. *Vet Microbiol* 129: 217-235.
 22. **Nielsen SS, Ersboll AK. 2006.** Age at occurrence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in naturally infected dairy cows. *Int J Dairy Sci* 89: 4557-4566. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72505-X
 23. **Rasmussen P, Barkema HW, Mason S, Beaulieu E, Hall DC. 2021.** Economic losses due to Johne's disease (paratuberculosis) in dairy cattle. *Int J Dairy Sci* 104: 3123-3143. doi: 10.3168/jds.2020-19381
 24. **Ruiz-Larranaga O, Garrido JM, Manzano C, Iriondo M, Molina E, Gil A, Koets AP, et al. 2010.** Identification of single nucleotide polymorphisms in the bovine solute carrier family 11 member 1 (*SLC11A1*) gene and their association with infection by *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *J Dairy Sci* 93: 1713-1721. doi: 10.3168/jds.2009-2438
 25. **Sechi LA, Dow CT. 2015.** *Mycobacterium avium* ss. *paratuberculosis* zoonosis – The hundred year war—beyond Crohn's disease. *Front Immunol* 6: 96. doi: 10.3389/fimmu.2015.00096
 26. **Selim A, Ali AF, Ramadan E. 2019.** Prevalence and molecular epidemiology of Johne's disease in Egyptian cattle. *Acta Tropica* 195: 1-5. doi: 10.1016/j.actatropica.2019.04.019
 27. **Vélez M, Rendón Y, Valencia A, Ramírez N, Fernández J. 2016.** Seroprevalencia de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) en una granja de ganado de carne de bosque húmedo tropical en Caucasia, Antioquia, Colombia. *Rev Colomb Cienc Anim* 8: 167-176. doi: 10.24188/recia.v8.n2.2016.184
 28. **Vilar AL, Santos CS, Pimenta CL, Freitas TD, Brasil AW, Clementino IJ, Azevedo SS. 2015.** Herd-level prevalence and associated risk factors for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in cattle in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. *Prev Vet Med* 121: 49-55. doi: 10.1016/j.prevetmed.2015.06.003
 29. **Villamil FJ, Yus E, Benavides B, Casal J, Moya SJ, Allepuz A, Diéguez FJ. 2020.** Short communication: risk factors associated with *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* introduction into dairy herds in Galicia, northwestern Spain. *Int J Dairy Sci* 103: 7411-7415. doi: 10.3168/jds.2020-18210
 30. **Whittington R, Donat K, Weber MF, Kelton D, Nielsen SS, Eisenberg S, Arrigoni N, et al. 2019.** Control of paratuberculosis: who, why and how. A review of 48 countries. *BMC Vet Res* 15: 1-29. doi: 10.1186/s12917-019-1943-4
 31. **Woodbine KA, Schukken YH, Green LE, Ramirez-Villaescusa A, Mason S, Moore SJ, Bilbao C, et al. 2009.** Seroprevalence and epidemiological characteristics of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* on 114 cattle farms in south west England. *Prev Vet Med* 89: 102-109. doi: 10.1016/j.prevetmed.2009.02.005
 32. **Yoo HS, Shin SJ. 2012.** Recent research on bovine paratuberculosis in South Korea. *Vet Immunol Immunopathol* 148: 23-28. doi: 10.1016/j.vetimm.2012.06.005