

Tuberculosis Bovina

Bovine Tuberculosis

Elpidio Gonzalo Chamizo Pestana DVM, DrC, DrCs

Departamento Prevención, Facultad de Medicina Veterinaria
Universidad Agraria de La Habana “Fructuoso Rodríguez
Pérez”. Autopista Nacional, carretera Tapaste, km 23 ¹/₂, San José
de Las Lajas, Mayabeque.

Autor para la correspondencia: chamizo@unah.edu.cu

Resumen

Se extrajeron de la literatura, datos actuales sobre tuberculosis bovina, en particular lo referente a su etiología y clasificación. Los aspectos sobre el desarrollo de la infección tuberculosa y el papel del estado de alergia del animal en el cuadro clínico resultante, la formación del granuloma tuberculoso, el desarrollo del complejo primario de la tuberculosis y su importancia diagnóstica, las formas clínicas de la enfermedad. De los programas de erradicación de la tuberculosis bovina, se recogen las experiencias del autor en el trabajo investigativo de matadero. Se logró establecer las siguientes conclusiones: 1) La tuberculosis puede considerarse hoy en día como una enfermedad re-emergente de gran importancia sanitaria debido a que afecta a casi todas las especies de mamíferos y a las aves y el riesgo de transmisión que esto supone.2) El desarrollo de los programas de control y erradicación de la tuberculosis, a la vez de la necesidad de llevarlos a cabo, resultan en cuantiosas pérdidas económicas.3) La detección de lesiones tuberculosas en el matadero, es efectivo, como sistema de vigilancia y resulta una herramienta eficaz para el monitoreo de la progresión de los programas de erradicación.

Palabras clave: Tuberculosis bovina, enfermedad re-emergente, programas de erradicación.

Abstract:

Current data on bovine tuberculosis were extracted from the literature, in particular as regards its etiology and classification. Aspects about the development of tuberculosis infection and the role of the animal's allergy status in the resulting clinical picture, the formation of tuberculous granuloma, the development of the primary tuberculosis complex and its diagnostic importance, the clinical forms of the disease. From the programs for the eradication of bovine tuberculosis, the author's experiences in the slaughterhouse research work are collected. The following conclusions were reached: 1) Tuberculosis can be considered today as a re-emerging disease of great sanitary importance because it affects almost all species of mammals and birds and the risk of transmission that this implies.2) The development of tuberculosis control and eradication programs, as well as the need to carry them out, results in large economic losses.3)

The detection of tuberculous lesions in the slaughterhouse is effective, as a surveillance system and It is an effective tool for monitoring the progression of eradication programs.

Keywords: Bovine tuberculosis, re-emerging disease, eradication programs.

Recibido: 10 de junio de 2019.

Aprobado: 9 de julio de 2019.

Introducción

La tuberculosis bovina (TB) es una enfermedad zoonótica, causada por la bacteria *Mycobacterium bovis* Saidu *et al.* (2015); Caminiti *et al.* (2016); Nava *et al.* (2016). Presenta un impacto directo en la eficiencia de los sistemas productivos y en la industria del sector pecuario, provoca importantes pérdidas en la producción de carne y de leche (Echevarría *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2015); además, constituye una restricción a la exportación de los alimentos de origen animal (OIE, 2012, 2014).

Desarrollo

Etiología. - La tuberculosis es debida a tres tipos clásicos de micobacterias; *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* y *M. avium*; los cuales es posible diferenciar en los exámenes bacteriológicos por sus características culturales y por sus propiedades patogénicas para los animales de laboratorio (figura 1). Los bacilos de la tuberculosis son aeróbicos, ácido-alcohol-resistentes, inmóviles, no esporulan y no poseen cápsula. El método de Ziehl Neelsen es el apropiado para su tinción. Se ven como bastones de color rojo sobre fondo azul oscuro.

Especies susceptibles a los diferentes tipos de micobacterias.- Los bacilos tuberculosos presentan diferente grado de patogenicidad para las especies animales, en condiciones naturales el *M. bovis* causa la enfermedad fundamentalmente en ganado bovino, en

Introduction

Bovine tuberculosis (TB) is a zoonotic disease, caused by the bacterium *Mycobacterium bovis* Saidu *et al.* (2015); Caminiti *et al.* (2016); Nava *et al.* (2016). It has a direct impact on the efficiency of production systems and in the livestock sector industry, causing significant losses in meat and milk production (Echevarría *et al.*, 2014; Carvalho *et al.*, 2015); furthermore, it constitutes a restriction on the export of food of animal origin (OIE, 2012, 2014).

Development

Etiology. - Tuberculosis is due to three classic types of mycobacteria; *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* and *M. avium*; which it is possible to differentiate in bacteriological examinations due to their cultural characteristics and due to their pathogenic properties for laboratory animals (figure 1). Tuberculosis bacilli are aerobic, acid-fast, immobile, do not sporulate, and do not possess capsules. The Ziehl Neelsen method is appropriate for your staining. They look like red canes on a dark blue background.

Species susceptible to different types of mycobacteria.- Tuberculous bacilli present different degrees of pathogenicity for animal species, under natural conditions *M. bovis* causes the disease

cerdos y en el hombre y afecta ocasionalmente al equino, perro, gato, oveja y cabra. El jabalí es susceptible a la tuberculosis (Naranjo *et al.*, 2006). El *M. avium* causa la enfermedad principalmente en aves y ocasionalmente es encontrado en ganado bovino, cerdo, equino, oveja y cabra (Chamizo, 2009). El *M. tuberculosis* es el principal responsable de la enfermedad en el hombre y ocasionalmente afecta al cerdo, mono en cautividad, perro, gato y ganado bovino. La fauna salvaje es afectada por los bacilos tuberculosos. El ciervo es susceptible y puede ser considerado como una potencial, aunque probablemente localizada, fuente de infección para el ganado bovino (Delahay *et al.*, 2006). El reno (*Rangifer tarandus*) y el ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) son susceptibles a la infección por *Mycobacterium bovis*, sin embargo, las lesiones en el reno son menores en número, menos severas y menos ampliamente diseminadas que las observadas en el ciervo de cola blanca (Palmer *et al.*, 2006). La llama (*Lama glama*) es susceptible a la infección por bacilos tuberculosos y representa un riesgo para el humano. El búfalo africano (*Syncerus caffer*) y el búfalo de pantano (*Bubalus bubalis*) son susceptibles a la infección por micobacterias (Guanziroli *et al.*, 2019; Michel *et al.*, 2007; de Garine *et al.*, 2010; Araujo *et al.*, 2014). Los animales pequeños pueden ser infectados en forma experimental con uno o más tipos de bacilos tuberculosos. La diferente patogenicidad de las micobacterias para los cobayos, conejos y aves es la base para la clasificación biológica de estos micro-organismos en los laboratorios de diagnóstico. El bacilo bovino virulento es más patógeno para el cobayo que el bacilo de tipo humano. El bacilo bovino es extremadamente patógeno para el conejo (Chamizo, 2004).

La tuberculosis bovina es una enfermedad zoonótica causada por la infección por *Mycobacterium bovis*, el cual es responsable

mainly in cattle, pigs and man and occasionally affects equine, dog, cat, sheep and goat. Wild boar is susceptible to tuberculosis (Naranjo *et al.*, 2006). *M. avium* causes the disease mainly in birds and is occasionally found in cattle, pigs, horses, sheep and goats (Chamizo, 2009). *M. tuberculosis* is the main cause of the disease in man and occasionally affects pigs, monkeys in captivity, dogs, cats and cattle. Wild fauna is affected by tubercle bacilli. Deer are susceptible and can be considered as a potential, although probably localized, source of infection for cattle (Delahay *et al.*, 2006).

Reindeer (*Rangifer tarandus*) and white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) are susceptible to *Mycobacterium bovis* infection, however, reindeer lesions are fewer in number, less severe, and less widely spread than those seen in deer. white-tailed (Palmer *et al.*, 2006). The llama (*Lama glama*) is susceptible to infection by tubercle bacilli and represents a risk to humans. African buffalo (*Syncerus caffer*) and swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) are susceptible to mycobacterial infection (Guanziroli *et al.*, 2019; Michel *et al.*, 2007; de Garine *et al.*, 2010; Araujo *et al.*, 2014). Small animals can be experimentally infected with one or more types of tubercle bacilli.

The different pathogenicity of mycobacteria for guinea pigs, rabbits and birds is the basis for the biological classification of these micro-organisms in diagnostic laboratories. The virulent bovine bacillus is more pathogenic to the guinea pig than the human-type bacillus. The bovine bacillus is extremely pathogenic for the rabbit (Chamizo, 2004).

Bovine tuberculosis is a zoonotic disease caused by *Mycobacterium bovis* infection, which is responsible for increasing animal and human health problems in several

de incrementar los problemas de salud animal y humana en varios países (Zingue *et al.* 2018; Camarena *et al.* 2011). La mayoría de los estados de África están afectados de tuberculosis y la frecuencia reportada varía desde esporádica hasta enzoótica. Aproximadamente 85 % del ganado bovino y 82 % de la población humana radica en áreas en las cuales la tuberculosis es parcialmente controlada o no controlada totalmente (Pollock *et al.*, 1996; OPS/OMS, 2001; Chamizo, 2004). La tuberculosis es una de las enfermedades más difundidas y la causa principal de muerte debida a una enfermedad entre los adultos en el mundo (Cosivi *et al.*, 1998).

La tuberculosis humana de origen animal, particularmente la causada por *Mycobacterium bovis* ha incrementado su importancia en países en desarrollo (O'Reilly y Daborn, 1995; Pollock *et al.* 2005). *Mycobacterium tuberculosis* es la causa más común de tuberculosis en humanos, pero una proporción no conocida de casos se deben a *M. bovis* (Acha y Szyfres, 1987).

Algunas micobacterias tienen una existencia independiente en la naturaleza (micobacterias atípicas) y son ampliamente distribuidas en el agua, la tierra, vegetales y en la mucosa oro-faríngea. Estos organismos pueden causar enfermedad en sujetos inmunológicamente comprometidos, y las manifestaciones clínico-patológicas son: linfadenitis cervical, lesiones pulmonares semejantes a tuberculosis o lesiones cutáneas asociadas a la penetración del agente a través de heridas o abrasiones de la piel. *Mycobacterium marinum*, el cual está presente en piscinas en regiones de clima templado, causa enfermedad en peces y úlceras cutánea en humanos. El *Mycobacterium kansasii* produce linfadenitis cervical y enfermedad pulmonar en humanos, ha sido aislado de ganado bovino y la leche

countries (Zingue *et al.* 2018; Camarena *et al.* 2011). Most African states are affected by tuberculosis and the reported frequency ranges from sporadic to enzootic. Approximately 85% of cattle and 82% of the human population live in areas where tuberculosis is partially controlled or not totally controlled (Pollock *et al.*, 1996; PAHO / WHO, 2001; Chamizo, 2004). Tuberculosis is one of the most widespread diseases and the leading cause of death due to disease among adults in the world (Cosivi *et al.*, 1998).

Human tuberculosis of animal origin particularly that caused by *Mycobacterium bovis*, has increased in importance in developing countries (O'Reilly and Daborn, 1995; Pollock *et al.* 2005). *Mycobacterium tuberculosis* is the most common cause of tuberculosis in humans, but an unknown proportion of cases are due to *M. bovis* (Acha and Szyfres, 1987).

Some mycobacteria have an independent existence in nature (atypical mycobacteria) and are widely distributed in water, soil, plants and in the oropharyngeal mucosa. These organisms can cause disease in immunologically compromised subjects, and the clinicopathological manifestations are: cervical lymphadenitis, pulmonary lesions similar to tuberculosis or skin lesions associated with the penetration of the agent through wounds or skin abrasions. *Mycobacterium marinum*, which is present in pools in temperate climate regions, causes disease in fish and skin ulcer in humans. *Mycobacterium kansasii* causes cervical lymphadenitis and lung disease in humans, it has been isolated from cattle and cow's milk in the USA and South Africa. *Mycobacterium scrofulaceum*, which is closely related to

de vaca en USA y África del Sur. El *Mycobacterium scrofulaceum*, el cual está estrechamente relacionado con el complejo *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* ha sido aislado de enfermedad en ganado bovino y de lesiones tuberculóticas en perros. *Mycobacterium aquae* ha sido aislado de lesiones nodulares en los pezones de vacas lecheras. Los organismos del complejo *M. avium-M. intracellulare* han sido aislados de ganado bovino y cerdos sensibles a la prueba de la tuberculina, y su patogenicidad para el cerdo y terneros ha sido comprobada experimentalmente. Se considera que algunas cepas son virtualmente no patógenas y otras provocan enfermedad generalizada (Jubb *et al.*, 1985).

Fenómeno de Koch

La reacción a la infección por micobacterias en un animal que nunca ha sido expuesto a los microorganismos (no sensibilizado) difiere de la reacción que se observa en un animal que ha estado en contacto anteriormente con el bacilo tuberculoso (sensibilizado). Esto se conoce con el nombre de fenómeno de Koch (figura 2). Si el cultivo de micobacterias se inyecta subcutáneamente en un cobayo, dentro de 14 días se desarrolla un nódulo en el sitio de la inyección el cual evoluciona hacia la formación de una úlcera persistente. El microorganismo se disemina en el organismo primero al ganglio linfático regional produciendo generalización del proceso tuberculoso y la muerte en dos o tres meses. Por otra parte, si el cultivo de bacilos tuberculosos se inyecta subcutáneamente en un cobayo sensibilizado, se produce reacción local con formación de úlceras en el sitio de la inyección, pero no se produce la diseminación del microorganismo (Chamizo, 2004).

the *Mycobacterium avium-Mycobacterium intracellulare* complex, has been isolated from disease in cattle and from tuberculous lesions in dogs. *Mycobacterium aquae* has been isolated from nodular lesions on the teats of dairy cows. Organisms of the *M. avium-M. intracellulare* complex have been isolated from cattle and pigs sensitive to the tuberculin test, and their pathogenicity for pigs and calves has been experimentally proven. Some strains are considered virtually non-pathogenic and others cause widespread disease (Jubb *et al.*, 1985).

Koch phenomenon

The reaction to mycobacterial infection in an animal that has never been exposed to the microorganisms (not sensitized) differs from the reaction that is observed in an animal that has previously been in contact with the tubercle bacillus (sensitized). This is known as the Koch phenomenon (Figure 2). If the mycobacterial culture is injected subcutaneously into a guinea pig, within 14 days a nodule develops at the injection site which progresses to the formation of a persistent ulcer. The microorganism spreads in the body first to the regional lymph node, producing generalization of the tuberculous process and death in two or three months. On the other hand, if the tubercle bacilli culture is injected subcutaneously into a sensitized guinea pig, a local reaction occurs with the formation of ulcers at the injection site, but the spread of the microorganism does not occur (Chamizo, 2004).

Influence of allergy status in the development of tuberculosis infection

Influencia del estado de alergia en el desarrollo de la infección tuberculosa

La infección primaria del individuo (libre de anticuerpos contra la tuberculosis) puede resultar en (figura 3): establecimiento del complejo primario el cual puede recuperarse completamente por cicatrización o puede desarrollarse el foco o estadio inactivo encapsulado en el cual el microorganismo puede permanecer por meses o años. En estos animales se desarrolla cierta inmunidad, la cual es relativa y nunca absoluta. El foco inactivo puede exacerbarse cuando se produce una baja en la resistencia del huésped y el germen se disemina a través de la sangre o linfa y forma focos en otros órganos (super-infección endógena). En algunos casos el animal posee una resistencia baja y la primera infección resulta en generalización precoz con diseminación inicial de los gérmenes tuberculosos por vía sanguínea o linfática alcanzando distintas porciones del organismo. Generalmente este proceso termina en la muerte del individuo, en algún muy raro caso puede evolucionar hacia la inactividad. Infección post primaria. Cuando las lesiones del complejo primario están en el período de inactividad el animal desarrolla el estado de alergia (aparecen anticuerpos contra el bacilo tuberculoso). En este caso puede producirse exacerbación endógena o super-infección exógena, pero el proceso tuberculoso va a presentar características diferentes: la diseminación se produce por vía intra-canalicular; no se desarrolla calcificación, la lesión se reblandece y se evacua en los canalículos. No hay compromiso de los ganglios linfáticos regionales, por lo cual no se presentan lesiones en estos. Debido a estos factores las lesiones se limitan a los órganos con un desarrollo muy lento. Esto se conoce como tuberculosis orgánica crónica (el mejor ejemplo es la mastitis tuberculosa). Cuando por cualquier causa se produce una

The primary infection of the individual (free of antibodies against tuberculosis) can result in (figure 3): establishment of the primary complex which can be completely recovered by scarring or the focus or encapsulated inactive stage can develop in which the microorganism can remain for months or years. In these animals a certain immunity develops, which is relative and never absolute. The inactive focus can be exacerbated when there is a drop in host resistance and the germ spreads through the blood or lymph and forms foci in other organs (endogenous super-infection). In some cases the animal has a low resistance and the first infection results in early generalization with initial dissemination of the tuberculous germs through the blood or lymphatic routes reaching different parts of the organism. Generally this process ends in the death of the individual, in some very rare case it can evolve towards inactivity. Post primary infection. When the lesions of the primary complex are in the period of inactivity, the animal develops the state of allergy (antibodies against the tubercle bacillus appear). In this case, endogenous exacerbation or exogenous super-infection may occur, but the tuberculous process will present different characteristics: dissemination occurs intra-canalicularly; calcification does not develop, the lesion softens and empties into the canaliculi. There is no involvement of the regional lymph nodes, so there are no lesions in these. Due to these factors the lesions are limited to the organs with a very slow development. This is known as chronic organic tuberculosis (the best example is tuberculous mastitis). When for any cause there is a decrease in the amount of antibodies, the result is the late generalization of the tuberculosis process and the death of the individual (Chamizo, 2009).

disminución en la cantidad de los anticuerpos el resultado es la generalización tardía del proceso tuberculoso y la muerte del individuo (Chamizo, 2009).

Formación del granuloma tuberculoso

La entrada al organismo que no presenta anticuerpos contra el bacilo tuberculoso, se caracteriza al inicio por la participación de los neutrófilos, los cuales fagocitan activamente los bacilos tuberculosos (los neutrófilos no poseen la capacidad para eliminar al bacilo tuberculoso) y hace que se activen los mecanismos de la inmunidad, con la participación de los linfocitos activados, estos a su vez, promueven la participación de los macrófagos, los cuales fagocitan a los neutrófilos conteniendo bacilos tuberculosos y a bacilos tuberculosos aislados y sufren un proceso de adaptación celular transformándose en macrófagos modificados o células epiteloides (los macrófagos provienen de los monocitos de la sangre) (Podinovskaia *et al.*, 2013). Las células epiteloides se caracterizan por poseer abundante citoplasma de color rosado pálido, semejando células epiteliales; son menos fagocíticas que los macrófagos, pero tienen abundante retículo endoplásmico, aparato de Golgi, vesículas y vacuolas, lo cual sugiere que esta célula está adaptada para la secreción más que para la fagocitosis. En estudios experimentales acerca de la formación del granuloma indican que es potenciada o requiere de la presencia de la inmunidad celular, por lo cual los productos de los linfocitos T activados (gamma interferón y posiblemente interleucina-4) y los productos de las células Tm, incrementaron la transformación de los monocitos a células epiteloides y células gigantes multinucleadas y están asociados a la respuesta protectora contra la tuberculosis bovina (Maggioli *et al.*, 2016). El curso y resultado de la infección por micobacterias está determinado por un

Formation of tuberculous granuloma

Entry into the organism that does not present antibodies against the tubercle bacillus is characterized at the beginning by the participation of neutrophils, which actively phagocytose the tubercle bacilli (neutrophils do not have the ability to eliminate the tubercle bacillus) and causes the activation of the tubercle bacilli. Immunity mechanisms, with the participation of activated lymphocytes, these in turn, promote the participation of macrophages, which engulf neutrophils containing tubercle bacilli and isolated tubercle bacilli and undergo a process of cellular adaptation transforming into modified macrophages or epithelioid cells (macrophages come from monocytes in the blood) (Podinovskaia *et al.*, 2013). Epithelioid cells are characterized by having abundant pale pink cytoplasm, resembling epithelial cells; they are less phagocytic than macrophages, but have abundant endoplasmic reticulum, Golgi apparatus, vesicles, and vacuoles, suggesting that this cell is adapted for secretion rather than phagocytosis. In experimental studies about the formation of granuloma indicate that it is enhanced or requires the presence of cellular immunity, for which the products of activated T lymphocytes (gamma interferon and possibly interleukin-4) and the products of Tm cells, increased the transformation of monocytes to epithelioid cells and multinucleated giant cells and are associated with the protective response against bovine tuberculosis (Maggioli *et al.*, 2016). The course and outcome of mycobacterial infection is determined by a complex interplay between the host's immune system and the

complejo re-juego entre el sistema inmune del huésped y el mecanismo de supervivencia desarrollado por el bacilo tuberculoso (Megyeri *et al.*, 2006). En un periodo alrededor de 72 horas, los macrófagos fagocitan a los neutrófilos y se establece un período de latencia que dura de 8 a 10 días, durante los cuales se forman las células epitelioides y aparece la proliferación de histiocitos y macrófagos que más tarde se transforman en fibroblastos, los linfocitos proliferan también en el foco, se forman las células gigantes de tipo Langhans a partir de las células epitelioides en alrededor de 14 días, demostrativo del proceso de adaptación celular, y ya a los 30 días está completamente formado el granuloma con necrosis central, que generalmente se calcifica en alrededor de 45-60 días, y alcanza un tamaño apreciable macroscópicamente de alrededor de un milímetro (figura 4). El desarrollo del granuloma necrótico en respuesta a la infección por *Mycobacterium bovis* en ganado bovino es patognomónico para la tuberculosis bovina (Johnson *et al.*, 2006). En un experimento para clarificar la naturaleza de la respuesta inmunológica a las micobacterias, se evaluó la respuesta de ganado bovino vacunado con *M. bovis*-BCG, que recibió el booster con micobacterias vivas (BCG), antígeno bacteriano soluble (PPD) y PBS. Los resultados indicaron que los macrófagos son principalmente encargados de la ingestión y presentación de las micobacterias que recibieron el booster-BCG; mientras que las células B, parecen ser capaces de ingerir y presentar PPD a las células T en los animales que recibieron el booster con PPD (Villarreal *et al.*, 2006). Según (Ehlers y Schaible, 2012) el granuloma provee un nicho de supervivencia a la micobacteria desde el cual puede diseminarse.

Manifestaciones morfológicas de la infección tuberculosa de

survival mechanism developed by the tubercle bacillus (Megyeri *et al.*, 2006). In a period of about 72 hours, the macrophages phagocytize the neutrophils and a latency period that lasts from 8 to 10 days is established, during which the epithelioid cells are formed and the proliferation of histiocytes and macrophages appears that later transform In fibroblasts, lymphocytes also proliferate in the focus, Langhans-type giant cells are formed from epithelioid cells in about 14 days, demonstrating the cellular adaptation process, and after 30 days the granuloma is fully formed with central necrosis, which generally calcifies in about 45-60 days, and reaches a macroscopically appreciable size of about one millimeter (Figure 4). The development of necrotic granuloma in response to *Mycobacterium bovis* infection in cattle is pathognomonic for bovine tuberculosis (Johnson *et al.*, 2006). In an experiment to clarify the nature of the immune response to mycobacteria, the response of cattle vaccinated with *M. bovis*-BCG, which received the booster with live mycobacteria (BCG), soluble bacterial antigen (PPD) and PBS, was evaluated. The results indicated that macrophages are mainly responsible for the ingestion and presentation of mycobacteria that received the BCG-booster; while B cells seem to be able to ingest and present PPD to T cells in animals that received the PPD booster (Villarreal *et al.*, 2006). According to (Ehlers and Schaible, 2012) the granuloma provides a survival niche for the mycobacterium from which it can spread.

Morphological manifestations of tuberculosis infection according to the

acuerdo con el grado de resistencia y alergia en los animales

Las características morfológicas de la tuberculosis dependen de la virulencia, el número de los bacilos y del grado de hipersensibilidad y de resistencia natural o adquirida que presente el animal (alergia). En general las lesiones tuberculosas pueden presentarse en las formas proliferativa y exudativa. Hipersensibilidad con un bajo grado de resistencia hace para una reacción exudativa y usualmente progresiva de tuberculosis, mientras que un alto grado de resistencia y un bajo grado de sensibilidad hace para el desarrollo de tuberculosis proliferativa o productiva. El tipo exudativo de lesión tuberculosa usualmente se presenta con un curso agudo. El exudado es relativamente voluminoso y consiste en fibrina y neutrófilos, así como también participan los elementos mononucleares. Eventualmente el exudado se coagula y también se calcifica. El tipo proliferativo de lesión tuberculosa se caracteriza por la participación de las células retículo endoteliales en forma de focos (forma granulomatosa) o extendida uniformemente por todo el órgano sin caseificación ni calcificación (forma proliferativa difusa) en la que particularmente las células retículo endoteliales abundan en bacilos de la tuberculosis. A simple vista esta manifestación se caracteriza por presentarse con nodosidades parecidas a neoplasias o por el aumento uniforme del volumen del órgano afectado o ambas. Las lesiones tuberculosas del caballo y los carnívoros y las producidas por bacilos aviares en el cerdo representan el ejemplo de esta forma proliferativa (tabla 1) (Chamizo, 2004). Los equinos son susceptibles a los tres tipos de *Mycobacterium* y generalmente se afecta el tracto digestivo y los ganglios linfáticos regionales, pero con la diseminación hematógena, los pulmones pueden ser

degree of resistance and allergy in the animals.

The morphological characteristics of tuberculosis depend on the virulence, the number of the bacilli and the degree of hypersensitivity and natural or acquired resistance of the animal (allergy). In general, tuberculous lesions can present in proliferative and exudative forms. Hypersensitivity with a low degree of resistance makes for an exudative and usually progressive tuberculosis reaction, while a high degree of resistance and a low degree of sensitivity makes for the development of proliferative or productive tuberculosis. The exudative type of tuberculous lesion usually presents with an acute course. The exudate is relatively voluminous and consists of fibrin and neutrophils, as well as mononuclear elements. Eventually the exudate coagulates and also calcifies. The proliferative type of tuberculous lesion is characterized by the participation of reticulum endothelial cells in the form of foci (granulomatous form) or spread uniformly throughout the organ without caseification or calcification (diffuse proliferative form) in which reticulum endothelial cells are particularly abundant in tuberculosis bacilli. At first glance, this manifestation is characterized by presenting with neoplasm-like nodes or by a uniform increase in the volume of the affected organ, or both. Tuberculous lesions in horses and carnivores and those produced by avian bacilli in pigs represent an example of this proliferative form (Table 1) (Chamizo, 2004). Horses are susceptible to all three types of *Mycobacterium* and the digestive tract and regional lymph nodes are generally affected, but with hematogenous spread, the lungs can be affected. The tuberculous lesions of the horse differ from those

afectados. Las lesiones tuberculosas del caballo difieren de las presentes en cerdos y rumiantes, presentándose en la forma de nódulos sólidos de color gris sin necrosis y calcificación, típicamente aparecen como sarcomas. Microscópicamente se observan macrófagos, células epitelioides y células gigantes multinucleadas. La fibrosis se incrementa con el tiempo y colabora en darle la apariencia de neoplasia. El cerdo es también susceptible a los tres tipos de *Mycobacterium*, los granulomas tuberculosos en cerdos aparecen en los ganglios linfáticos mandibulares y mesentéricos y en menor grado en intestino, hígado y bazo, y solo en casos muy raros el pulmón se afecta por la vía hematógena. Las lesiones microscópicas son básicamente las del granuloma tuberculoso con variado grado de encapsulación, caseificación y calcificación con arreglo al tipo de bacilo tuberculoso infectante, la edad del animal y la respuesta inmunológica del huésped (Thompson, 2001).

Complejo primario de la tuberculosis

El bacilo tuberculoso que se ha multiplicado en el foco es llevado por la linfa a los ganglios linfáticos regionales en estadios tempranos y aquí se desarrollan procesos semejantes a los del foco primario. Generalmente aparecen lesiones con la misma estructura y el mismo tiempo de desarrollo en la puerta de entrada y en el ganglio linfático regional. Cuando esto se produce se dice que el complejo primario de la tuberculosis se ha desarrollado (complejo primario completo). Existen casos en que el foco primario está ausente o no es demostrable, debido al rápido transporte del micro-organismo hacia los ganglios linfáticos, en este caso se denomina: complejo primario incompleto. En general la determinación del complejo primario sirve para conocer la vía de entrada del bacilo tuberculoso (tabla 2) (Chamizo, 2009).

present in pigs and ruminants, presenting in the form of solid gray nodules without necrosis and calcification, typically appearing as sarcomas. Microscopically macrophages, epithelioid cells and multinucleated giant cells are observed. Fibrosis increases over time and helps give it the appearance of a neoplasm. Pigs are also susceptible to the three types of *Mycobacterium*, tuberculous granulomas in pigs appear in the mandibular and mesenteric lymph nodes and to a lesser degree in the intestine, liver and spleen, and only in very rare cases the lung is affected by the hematogenous route. The microscopic lesions are basically those of the tuberculous granuloma with varying degrees of encapsulation, caseification and calcification according to the type of infecting tubercle bacillus, the age of the animal and the immune response of the host (Thompson, 2001).

Primary tuberculosis complex

The tubercle bacillus that has multiplied in the focus is carried by the lymph to the regional lymph nodes in early stages and here, processes similar to those of the primary focus develop. Lesions with the same structure and development time generally appear at the entrance gate and in the regional lymph node. When this occurs the primary tuberculosis complex is said to have developed (complete primary complex). There are cases in which the primary focus is absent or not demonstrable, due to the rapid transport of the micro-organism to the lymph nodes, in this case it is called: incomplete primary complex. In general, the determination of the primary complex serves to determine the entry route of the tubercle bacillus (Table 2) (Chamizo, 2009).

Formas clínicas de la tuberculosis

Tuberculosis congénita. Se produce por vía del cordón umbilical y de esta forma se disemina por la circulación fetal al hígado y ganglios linfáticos portales. El proceso puede permanecer circunscrito a estos órganos, pero en muchos casos pueden presentarse lesiones nodulares en bazo, pulmón y ocasionalmente en el músculo cardíaco con lesiones en todos los ganglios linfáticos. La lesión característica en los ganglios linfáticos consiste en el agrandamiento con infiltración celular difusa y caseación temprana sin llegar a formar verdaderos nódulos. Los ganglios linfáticos bronquiales, mediastinales y portales se presentan afectados con nódulos aislados en pulmón, hígado, bazo y otros órganos. Tuberculosis post natal en terneros se debe a la infección oral y las lesiones ulcerativas o nodulares se asientan en el tracto digestivo y en los ganglios linfáticos regionales (mesentéricos). En los terneros la tuberculosis pulmonar primaria es bastante rara, pero cuando se presenta aparecen lesiones tuberculosas en el pulmón y en los ganglios linfáticos bronquiales (más comúnmente ganglio linfático bronquial izquierdo). La infección primaria en el ternero es frecuentemente seguida de generalización temprana, la cual puede manifestarse en: generalización tardía, la cual es la forma más frecuente; el complejo primario se presenta con lesiones caseosas en los ganglios linfáticos portales y en los mesentéricos, y en adición los mediastínicos caudales pueden también mostrar las lesiones similares. Los ganglios linfáticos bronquiales están menos extensivamente afectados, pero frecuentemente presentan algunos cambios. Además de estas lesiones, nódulos discretos usualmente en pequeño número pueden ser vistos en pulmones, bazo, hígado, riñones y ganglios linfáticos periféricos. Tuberculosis miliar aguda. Este tipo es relativamente infrecuente en el período de la generalización post primaria temprana. Cuando ocurre gran

Clinical forms of tuberculosis

Congenital tuberculosis. It is produced via the umbilical cord and in this way spreads through the fetal circulation to the liver and portal lymph nodes. The process may remain confined to these organs, but in many cases nodular lesions can occur in the spleen, lung, and occasionally in the heart muscle with lesions in all lymph nodes. The characteristic lesion in the lymph nodes consists of enlargement with diffuse cellular infiltration and early caseation without actually forming nodules. The bronchial, mediastinal, and portal lymph nodes are affected with isolated nodules in the lung, liver, spleen, and other organs. Postnatal tuberculosis in calves is due to oral infection, and ulcerative or nodular lesions settle in the digestive tract and regional (mesenteric) lymph nodes. Primary pulmonary tuberculosis is quite rare in calves, but tuberculous lesions appear in the lung and bronchial lymph nodes (most commonly the left bronchial lymph node) when present. Primary infection in the calf is frequently followed by early generalization, which can manifest itself in: late generalization, which is the most frequent form; the primary complex presents with caseous lesions in the portal and mesenteric lymph nodes, and in addition, the caudal mediastinal nodes may also show similar lesions. The bronchial lymph nodes are less extensively affected, but frequently show some changes. In addition to these lesions, discrete nodules, usually in small numbers, can be seen in the lungs, spleen, liver, kidneys, and peripheral lymph nodes. Acute miliary tuberculosis. This type is relatively uncommon in the period of early post-primary generalization. When it occurs large numbers of small miliary tubers are present in the organs. In the lungs, the distribution of the lesions is

número de pequeños tubérculos miliares están presentes en los órganos. En los pulmones la distribución de las lesiones no es uniforme ni tampoco los nódulos son del mismo tamaño. La Tuberculosis perlada, se manifiesta en el mesenterio y se caracteriza por la presencia de nódulos tuberculosos de variado tamaño (Chamizo, 2004, 2009).

En la Tuberculosis nodular generalizada, se presenta un número de focos de gran tamaño diseminados en los pulmones dando la apariencia de una neumonía tuberculosa focal.

Tuberculosis primaria en los bovinos adultos. En estos casos no se considera la enfermedad como una progresión de la infección en el ternero. La mayoría de los bovinos se infectan entre los seis meses y los dos años, período en el cual entran en contacto con otros animales adultos infectados. Se han reportado casos de infección durante la etapa de lactación desarrollando entre 30 y 120 días un cuadro con lesiones múltiples hasta generalizadas. El examen anatómo-patológico de bovinos adultos muestra que el complejo primario se produce en los pulmones y ganglios linfáticos asociados en el 60 % de los casos y no es intestinal, ni hepático. Lo más característico es la presencia de lesiones del mismo tiempo de desarrollo en los pulmones y en los ganglios linfáticos bronquiales y mediastinales. La generalización post primaria temprana por vía hematogena dando lugar a lesiones tuberculosas diseminadas, no se presenta tan frecuentemente en bovinos como en terneros, la forma común de diseminación en estos casos es por agrandamiento de la lesión o lesiones pulmonares iniciales y diseminación subsecuente por vía bronquial. Puede ser observado que el foco o focos primarios tuberculosos en el pulmón de bovinos adultos pueden dar lugar directamente a tuberculosis pulmonar progresiva. En resumen, las lesiones únicas pulmonares de tuberculosis en bovinos adultos indican que la infección se produjo en el período adulto y las lesiones

not uniform, nor are the nodules the same size. Pearl tuberculosis manifests itself in the mesentery and is characterized by the presence of tuberculous nodules of various sizes (Chamizo, 2004, 2009).

In generalized nodular tuberculosis, there are a number of large foci scattered in the lungs giving the appearance of focal tuberculosis pneumonia.

Primary tuberculosis in adult cattle. In these cases the disease is not considered as a progression of the infection in the calf. Most cattle become infected between six months and two years, during which time they come into contact with other infected adult animals. Cases of infection have been reported during the lactation stage, developing between 30 and 120 days a picture with multiple to generalized lesions. The anatomic-pathological examination of adult bovines shows that the primary complex occurs in the lungs and associated lymph nodes in 60% of cases and is not intestinal or hepatic. The most characteristic is the presence of lesions of the same development time in the lungs and in the bronchial and mediastinal lymph nodes. Early post-primary generalization by hematogenous route, giving rise to disseminated tuberculous lesions, does not occur as frequently in cattle as in calves, the common form of dissemination in these cases is by enlargement of the lesion or initial lung lesions and subsequent dissemination through the bronchial route. It can be observed that the primary tuberculosis focus (s) in the lung of adult bovines can directly give rise to progressive pulmonary tuberculosis. In summary, the single pulmonary lesions of tuberculosis in adult cattle indicate that the infection occurred in the adult period and the lesions only in the digestive tract are

solo en el tracto digestivo se consideran producidas en la etapa de ternero, así como las lesiones producidas exclusivamente en el hígado indican la infección durante el período fetal (Chamizo, 2004).

Medidas de control y programas de erradicación de la tuberculosis bovina

La tuberculosis bovina puede ser eliminada de un país o región por la implementación del programa de test y sacrificio, si no existe otro reservorio de la infección. Mientras el método de test y sacrificio es la columna vertebral de los programas nacionales para la eliminación de la tuberculosis, esta política tiene numerosos inconvenientes en países en desarrollo. Estrategias alternativas (programas basados en encuestas en los mataderos y seguimiento de los animales tuberculosos en el rebaño de origen) pueden ser técnicamente y económicamente más apropiados para estos países (SIDF, 2015).

Las medidas para prevenir la transmisión de la infección debe ser el objetivo primario a alcanzar con el personal de salud pública entrenado, educación pública y práctica higiénica apropiada. Los programas de test y sacrificio son más fáciles de llevar a cabo y apropiados en áreas con una baja prevalencia de tuberculosis y un control efectivo de los movimientos del ganado (de Kantor, 2016).

La distribución de las lesiones patológicas, las cuales están concentradas en el aparato respiratorio, y la baja dosis de micobacterias necesaria para iniciar la infección a partir del desafío al aparato respiratorio, sugiere que la enfermedad se disemina por la vía aérea. Crítico para la transmisión aérea de los organismos patógenos es la habilidad para sobrevivir el estrés al estar en el ambiente. Se demostró que *M. bovis* es resistente al estrés impuesto inmediatamente al estar en el medio ambiente, 94 % sobrevive los primeros 10 minutos después de aereolizado. Una vez aereolizado el organismo es robusto, su

considered to be produced in the calf stage, as well as the lesions produced exclusively in the liver indicate the infection during the fetal period (Chamizo, 2004).

Control measures and eradication programs for bovine tuberculosis

Bovine tuberculosis can be eliminated from a country or region by the implementation of the test and slaughter program, if there is no other reservoir of the infection. While the test and sacrifice method is the backbone of national tuberculosis elimination programs, this policy has numerous drawbacks in developing countries. Alternative strategies (programs based on surveys in slaughterhouses and monitoring of tuberculosis animals in the herd of origin) may be technically and economically more appropriate for these countries (SIDF, 2015).

Measures to prevent transmission of infection should be the primary goal to be achieved with trained public health personnel, public education, and proper hygienic practice. Test and slaughter programs are easier to carry out and appropriate in areas with a low prevalence of tuberculosis and effective control of livestock movements (de Kantor, 2016).

The distribution of the pathological lesions, which are concentrated in the respiratory system, and the low dose of mycobacteria necessary to initiate the infection from the challenge to the respiratory system, suggests that the disease spreads through the airway. Critical to the airborne transmission of pathogens is the ability to survive stress while in the environment. It was shown that *M. bovis* is resistant to stress imposed immediately by being in the environment, 94% survive the first 10 minutes after

viabilidad va decreciendo con una vida media aproximada de 1,5 horas. Estos hallazgos soportan la hipótesis que la transmisión aérea es la principal vía de infección de la tuberculosis bovina (Gannon *et al.*, 2006).

Las enfermedades del humano y de los animales domésticos, se hacen difíciles de controlar cuando persisten en los animales de vida salvaje. La tuberculosis se transmite del ganado bovino a los tejones (badgers) y viceversa (Woodroffe *et al.*, 2006).

Además de incrementar las pérdidas económicas, el alza de la tuberculosis bovina posee un riesgo para la salud humana. Existe un requerimiento urgente por estrategias efectivas para la erradicación de la enfermedad, esto puede involucrar la vacunación conjuntamente con el método de test y sacrificio. Una política involucrando la vacunación debe requerir el diagnóstico de certeza de los animales infectados con *M. bovis* y el potencial para diferenciar la infección natural con la vacuna (Sopp *et al.*, 2006).

Vacunación

La vacunación de los animales contra la tuberculosis fue considerada una estrategia viable en dos situaciones particulares de control de la enfermedad: en animales domésticos en países en desarrollo y en fauna salvaje y reservorios ferales de la enfermedad en países industrializados en los cuales el programa test y sacrificio había fallado en la eliminación de la enfermedad (WHO, 1967). Se analizó, que antes que la vacunación se convirtiera en una opción real para el control de la tuberculosis en ganado bovino y otros animales; se requería desarrollar una vacuna altamente efectiva. Los resultados globales obtenidos con el bacilo Calmette-Guerin (BCG) fueron considerados sub-óptimos y la eficacia fue muy variable de una región a la otra (O'Reilly y Daborn, 1995; Malin y Young, 1996). La vacunación en animales domésticos tiene pocos problemas, pero está llena de dificultades en animales salvajes.

aereolized. Once aereolized, the organism is robust, its viability decreases with an approximate half-life of 1.5 hours. These findings support the hypothesis that airborne transmission is the main route of infection for bovine tuberculosis (Gannon *et al.*, 2006). Human and domestic animal diseases become difficult to control when they persist in wildlife. Tuberculosis is transmitted from cattle to badgers and vice versa (Woodroffe *et al.*, 2006). In addition to increasing economic losses, the rise in bovine tuberculosis poses a risk to human health. There is an urgent requirement for effective strategies for the eradication of the disease, this may involve vaccination together with the test and sacrifice method. A policy involving vaccination should require the certainty diagnosis of animals infected with *M. bovis* and the potential to differentiate natural infection with the vaccine (Sopp *et al.*, 2006).

Vaccination

The vaccination of animals against tuberculosis was considered a viable strategy in two particular disease control situations: in domestic animals in developing countries and in wild fauna and feral reservoirs of the disease in industrialized countries in which the program test and sacrifice had failed to eliminate the disease (WHO, 1967). It was analyzed that before the vaccination became a real option for the control of tuberculosis in cattle and other animals; it was required to develop a highly effective vaccine. The overall results obtained with the Bacillus Calmette-Guerin (BCG) were considered suboptimal and the efficacy was highly variable from one region to the other (O'Reilly and Daborn, 1995; Malin and Young, 1996).

Vaccination in domestic animals has few problems, but it is fraught with difficulties in wild animals. On the other hand,

Por otra parte, la vacunación puede comprometer los test de diagnóstico. Una vacuna que induzca reactividad a la tuberculina puede invalidar la herramienta clave para el diagnóstico utilizada en programas de control. (Griffin *et al.*, 1995) señalaron que la eficacia protectora de una nueva vacuna, puede acarrear serias dificultades. Tradicionalmente el cobayo y el ratón han sido utilizados para la evaluación de nuevas vacunas, pero la información obtenida ha sido de poco valor, sin embargo, trabajos más recientes han indicado, que el ciervo puede bien ser un buen modelo animal para evaluar las nuevas vacunas y el sistema óptimo de vacunación. En la actualidad las investigaciones acerca de la producción de una vacuna eficaz se hallan en progresión. El desarrollo de novedosas estrategias de vacunación suplementando al *Mycobacterium bovis*-BCG constituye un urgente desafío de investigación. Con el objetivo de identificar sub-unidades de potenciales candidatos vacunales, se colectaron una serie de ocho recientemente identificados antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* en dos grupos de animales: ganado bovino infectado con *M. bovis* y ganado bovino vacunado con BCG. Estos antígenos fueron caracterizados sobre la base de su habilidad para inducir respuestas vitro-gamma interferón en terneros infectados de tuberculosis o vacunados con BCG. Se estableció una jerarquía de estos antígenos sustentada en cuan frecuente estos fueron reconocidos en ambos grupos de animales. En particular se logró priorizar las proteínas frecuentemente reconocidas como Rv0287, Rv1174 y Rv1196 para futura evaluación como sub-unidades de vacunación para ser utilizadas en los escenarios como refuerzo o reforzador (booster) primario de la vacunación con la proteína BCG-heteróloga. En adición fue reconocido el antígeno Rv3616c como mayormente dominante en ganado bovino infectado con *M. bovis* el cual fue significativamente menos frecuente en ganado bovino vacunado con BCG. Este

vaccination can compromise diagnostic tests. A vaccine that induces reactivity to tuberculin can invalidate the key diagnostic tool used in control programs. (Griffin *et al.*, 1995) pointed out that the protective efficacy of a new vaccine can lead to serious difficulties. Traditionally, the guinea pig and the mouse have been used for the evaluation of new vaccines, but the information obtained has been of little value, however, more recent works have indicated that the deer may well be a good animal model to evaluate the new vaccines and the optimal vaccination system. Research on the production of an effective vaccine is currently in progress. The development of novel vaccination strategies by supplementing *Mycobacterium bovis*-BCG constitutes an urgent research challenge. In order to identify subunits of potential vaccine candidates, a series of eight recently identified *Mycobacterium tuberculosis* antigens were collected in two groups of animals: cattle infected with *M. bovis* and cattle vaccinated with BCG. These antigens were characterized on the basis of their ability to induce vitro-interferon gamma responses in calves infected with tuberculosis or vaccinated with BCG. A hierarchy of these antigens was established based on how frequent they were recognized in both groups of animals. In particular, it was possible to prioritize the proteins frequently recognized as Rv0287, Rv1174 and Rv1196 for future evaluation as vaccination sub-units to be used in the scenarios as a primary reinforcement or booster of the vaccination with the BCG-heterologous protein. In addition, the Rv3616c antigen was recognized as being mostly dominant in cattle infected with *M. bovis*, which was significantly less frequent in cattle vaccinated with BCG. This antigen is considered to be the target to improve BCG by increasing its

antígeno se considera puede ser el blanco para mejorar el BCG mediante el incremento de su secreción en una vacuna recombinante BCG (Mustafa *et al.*, 2006).

Investigaciones de matadero y su efecto en los programas de control y erradicación de la tuberculosis bovina

La prevalencia de algunas enfermedades infecciosas puede ser estimada a través de los hallazgos durante la inspección sanitaria de rutina en el matadero. Las lesiones de carácter crónico y los cambios debidos a enfermedades residuales pueden demostrarse en la inspección sanitaria de las carnes (Chamizo, 1997).

Chamizo (1975) en ganado bovino positivo a la prueba de la tuberculina, (155 animales), realizó un pesquisaje de lesiones tuberculosas en el matadero sanitario y observó que solo 20 animales (12.9 %) mostraron lesiones características de tuberculosis. El resto (135 animales, 87,1 %) no mostraron lesiones visibles macroscópicamente de tuberculosis. Los resultados de este trabajo sugirieron que a medida que avanza la campaña de erradicación, son observadas menos las formas clínicas de la enfermedad, disminuyen los hallazgos del proceso generalizado y las lesiones son más bien localizadas y con poca tendencia a la extensión, y por último aumentan las reacciones inespecíficas a la tuberculina, debidas a la sensibilización por las bacterias tuberculosas atípicas.

Un pesquisaje de lesiones de tuberculosis y sugestivas de tuberculosis se llevo a cabo en los rastros de Mexicali para determinar la incidencia de las lesiones morfológicas. Se observó que, del total de las lesiones tuberculosas y sugerentes de tuberculosis, solo el 33 % eran de tuberculosis; 4 % se

secretion in a recombinant BCG vaccine (Mustafa *et al.*, 2006).

Slaughterhouse research and its effect on bovine tuberculosis control and eradication programs

The prevalence of some infectious diseases can be estimated from findings during routine health inspection at the slaughterhouse. Chronic injuries and changes due to residual diseases can be demonstrated in the sanitary inspection of meats (Chamizo, 1997).

Chamizo (1975) in cattle positive to the tuberculin test, (155 animals), carried out a screening of tuberculous lesions in the sanitary slaughterhouse and found that only 20 animals (12.9%) showed lesions characteristic of tuberculosis. The rest (135 animals, 87.1%) did not show macroscopically visible tuberculosis lesions. The results of this work suggested that as the eradication campaign progresses, the clinical forms of the disease are less observed, the findings of the generalized process decrease and the lesions are rather localized and with little tendency to spread, and finally caused the nonspecific reactions to tuberculin, due to sensitization by atypical tuberculous bacteria.

A screening for tuberculosis and lesions suggestive of tuberculosis was carried out in the Mexicali trails to determine the incidence of morphological lesions. It is believed that, of the total of the tuberculous and suggestive tuberculosis lesions, only 33% were tuberculosis; 4% were classified as tuberculoid, 59% were

clasificaron como tuberculoides, 59 % fueron de actinobacilosis y 3 % de aspergilosis (Montaño y Chamizo, 1994).

En Australia se desarrolló en 1992, un programa nacional de remisión de lesiones granulomatosas, para incrementar la intensidad del monitoreo en el matadero. La despoblación total o selectiva fue utilizada en algunos rebaños para alcanzar los requerimientos de las Definiciones y Regulaciones Standard de la Campaña Nacional (The National Standard Definitions and Rules of the Campaign) y lograr el estatus de área libre de tuberculosis en 1997. El monitoreo de tuberculosis fue realizado durante el Programa de cinco años para la Campaña de Aseguramiento de Liberación de la tuberculosis y fueron implementadas medidas para seguir reduciendo el riesgo de nuevos casos (Cousins y Roberts, 2001).

Milián-Suazo et al (2000) en un ensayo para determinar los factores epidemiológicos asociados con la tuberculosis en ganado lechero sacrificado en seis importantes regiones de México, observaron que de 2500 cadáveres de animales 400 (16 %) tuvieron lesiones macroscópicas típicas de tuberculosis. De los 400 animales afectados, 336 (84 %) tuvieron lesiones en uno o más de un ganglio linfático. La infección fue confirmada histológicamente en 87 % del ganado afectado macroscópicamente; en 77 % por cultivo bacteriológico en USA y 59 % por cultivo bacteriológico realizado en México. La prevalencia media en seis regiones de México fue de 16 %. La infección por micobacterias fue confirmada por varias técnicas en la mayoría de las lesiones. Se concluyó que el reconocimiento de las lesiones macroscópicas en el matadero puede ayudar en el control de la enfermedad.

Pérez *et al* (2002) en Argentina utilizaron la información registrada en la detección de lesiones tuberculosas en ganado bovino sacrificado entre 1995 y 1997 en 126 rastros durante la inspección sanitaria de las carnes,

actinobacilosis and 3% were aspergilosis (Montaño and Chamizo, 1994).

In Australia, a national granulomatous lesion referral program was developed in 1992 to increase the intensity of slaughterhouse monitoring. Total or selective depopulation was used in some herds to meet the requirements of the National Standard Definitions and Rules of the Campaign and achieve TB-free status in 1997. Monitoring tuberculosis was carried out during the five-year Program for the Tuberculosis Release Assurance Campaign and measures were implemented to further reduce the risk of new cases (Cousins and Roberts, 2001).

Milián-Suazo et al (2000) in a trial to determine the epidemiological factors associated with tuberculosis in slaughtered dairy cattle in six important regions of Mexico, observed that out of 2,500 animal carcasses, 400 (16%) had macroscopic lesions typical of tuberculosis. Of the 400 affected animals, 336 (84%) had lesions in one or more than one lymph node. The infection was confirmed histologically in 87% of the macroscopically affected cattle; in 77% by bacteriological culture in the USA and 59% by bacteriological culture carried out in Mexico. The mean prevalence in six regions of Mexico was 16%. Mycobacterial infection was confirmed by various techniques in most of the lesions. It was concluded that the recognition of macroscopic lesions in the slaughterhouse can help in the control of the disease.

Pérez et al (2002) in Argentina used the information recorded in the detection of tuberculosis lesions in cattle slaughtered between 1995 and 1997 in 126 slaughterhouses during the sanitary

para determinar la distribución espacial de tuberculosis bovina endémica en Argentina.

Se condujo un estudio preliminar para estimar la prevalencia de lesiones de tuberculosis en el matadero en el municipio de Nazareth y se concluyó que la prevalencia era más alta que la observada en reportes previos en los mataderos de Etiopía (Ameni y Wudie, 2003).

Teklul *et al* (2004) evaluaron la eficacia de la inspección sanitaria en el matadero para detectar las lesiones tuberculosas en ganado bovino y observaron que de 751 animales examinados 34 (4,5 %) presentaron lesiones de tuberculosis.

Asseged *et al* (2004) condujeron un detallado examen para evaluar la eficiencia de la inspección post mortem para determinar la distribución de las lesiones en ganado infectado por *Mycobacterium bovis*. La inspección sanitaria de rutina detectó solo 55 % del ganado bovino con lesiones confirmadas. Un 54 % de las lesiones fueron encontradas en los pulmones y ganglios linfáticos torácicos, 23 % en ganglios linfáticos de la cabeza y el 23 % restante en otros ganglios linfáticos del cadáver. *M. bovis* fue aislado de animales sin lesiones macroscópicas de tuberculosis.

Fue implementado un sistema de monitoreo de enfermedades en el matadero de Burdur, para estimar la prevalencia anual de tuberculosis en ganado bovino sacrificado e inspeccionado en 2003-2004. La prevalencia de tuberculosis en todos los bovinos sacrificados fue de 0,38 % (Ozmen *et al.*, 2005).

Fue evaluada la presencia de *Mycobacterium bovis* en canales de bovinos con lesiones sugestivas de tuberculosis, se colectaron 72 muestras durante la inspección sanitaria de rutina en el estado de Mato Grosso do Sul, Brasil; 17 (23,6 %) de las muestras demostraron colonias sugestivas de

inspection of meat, to determine the spatial distribution of endemic bovine tuberculosis in Argentina.

A preliminary study was conducted to estimate the prevalence of tuberculosis lesions in the slaughterhouse in the municipality of Nazareth and it was concluded that the prevalence was higher than that observed in previous reports in the slaughterhouses of Ethiopia (Ameni and Wudie, 2003).

Teklul *et al* (2004) evaluated the effectiveness of slaughterhouse sanitary inspection to detect tuberculous lesions in cattle and observed that of 751 animals examined 34 (4.5%) had tuberculosis lesions.

Asseged *et al* (2004) conducted a detailed examination to evaluate the efficiency of post mortem inspection to determine the distribution of lesions in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. Routine health inspection detected only 55% of cattle with confirmed injuries. 54% of the lesions were found in the lungs and thoracic lymph nodes, 23% in lymph nodes of the head and the remaining 23% in other lymph nodes of the cadaver. *M. bovis* was isolated from animals without macroscopic tuberculosis lesions.

A disease monitoring system was implemented at the Burdur slaughterhouse to estimate the annual prevalence of tuberculosis in cattle slaughtered and inspected in 2003-2004. The prevalence of tuberculosis in all slaughtered cattle was 0.38% (Ozmen *et al.*, 2005).

The presence of *Mycobacterium bovis* was evaluated in bovine carcasses with

micobacterias, que fueron confirmadas de ser bacilos ácido alcohol resistentes por el método de Ziehl Neelsen. La Reacción en cadena de la polimerasa, PCR, utilizando primeros específicos para *M. bovis*, identificó *M. bovis* en 13 (76,5 %) de los aislados (Araujo *et al.*, 2005).

Los estudios de matadero acerca de la tuberculosis o pesquizaje al sacrificio, ha sido un importante componente de los programas de control y erradicación de la tuberculosis en los USA (United States of North America). El Servicio de Inspección para la Seguridad Alimentaria (The Food Safety Inspection Service, FSIS) conduce pesquizaje de rutina para enfermedades o condiciones patológicas que hagan la carne no apropiada para el consumo humano, mientras que el Servicio de Salud Animal y Vegetal (Animal and Plant Health Service, APHIS) está involucrado en las pruebas ante mortem de tuberculosis bovina y la investigación de los casos de tuberculosis bovina observados durante la inspección de la carne o de las pruebas ante mortem (Kaneene *et al.*, 2006; Humphrey *et al.*, 2014; Chamizo, 2019).

Diagnóstico

La prueba de la tuberculina resulta el elemento fundamental para la detección de la infección por gérmenes tuberculosos en el ganado bovino. Los programas de erradicación de la tuberculosis están basados en la utilización de esta prueba. La prueba de la tuberculina es altamente sensible, pero no en un 100 % en algunos casos pueden presentarse reacciones inespecíficas o para-específicas, o sea animales con reacción tuberculínica positiva sin lesiones macro o microscópicas de tuberculosis. Entre los factores que intervienen en la aparición de este tipo de reacciones tienen importancia las denominadas micobacterias atípicas (Biel y

lesions suggestive of tuberculosis. 72 samples were collected during the routine sanitary inspection in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil; 17 (23.6%) of the samples showed suggestive colonies of mycobacteria, which were confirmed to be acid-fast bacilli by the Ziehl Neelsen method. The polymerase chain reaction, PCR, using primers specific for *M. bovis*, identified *M. bovis* in 13 (76.5%) of the isolates (Araujo *et al.*, 2005).

Slaughterhouse studies on tuberculosis or screening at slaughter have been an important component of tuberculosis control and eradication programs in the United States of North America. The Food Safety Inspection Service (FSIS) conducts routine screening for diseases or pathological conditions that make meat unsuitable for human consumption, while the Animal and Plant Health Service Health Service, APHIS) is involved in ante-mortem testing for bovine tuberculosis and the investigation of bovine tuberculosis cases observed during meat inspection or ante-mortem testing (Kaneene *et al.*, 2006; Humphrey *et al.*, 2014; Chamizo, 2019).

Diagnosis

The tuberculin test is the essential element for the detection of infection by tuberculosis germs in cattle. Tuberculosis eradication programs are based on the use of this test. The tuberculin test is highly sensitive, but not 100% in some cases nonspecific or para-specific reactions may occur, that is, animals with a positive tuberculin reaction without macro or microscopic tuberculosis lesions. Among the factors that intervene in the appearance of this type of reactions, the so-called atypical mycobacteria are important (Biel and Boschioli, 2014; Alvarez *et al.*, 2014;

Boschiroli, 2014; Alvarez *et al.*, 2014; Clegg *et al.*, 2016). Aunque el test cutáneo (tuberculina) ha sido el principal elemento en los programas de control y erradicación de la tuberculosis bovina, le falta sensibilidad, y puede confundir por exposición a las micobacterias no tuberculosas, y no puede ser repetido hasta 60 días debido a la desensibilización (Palmer *et al.*, 2006). El diagnóstico anátomo-patológico se basa en la observación de las lesiones específicas de la enfermedad, tanto el nódulo tuberculoso macroscópico como el granuloma microscópico resultan lesiones de un alto grado de especificidad para la infección tuberculosa, también los bacilos tuberculosos pueden demostrarse en el área de la lesión utilizando la coloración de Ziehl-Neelsen. La apariencia macroscópica de las lesiones tuberculóticas y la observación microscópica del clásico granuloma típico de la tuberculosis dan un diagnóstico confirmativo de la enfermedad (Chamizo, 2004; Aranaz *et al.*, 2006; de la Rúa *et al.*, 2006). El estudio bacteriológico sirve para controlar los diagnósticos realizados por la prueba alérgica y anátomo-patológica. En general se pueden observar los gérmenes en frotis directos obtenidos de las lesiones o de cultivos en los medios específicos. La prueba biológica en el cobayo es el mejor método para la detección de bacilos tuberculosos de tipo bovino, aunque estudios recientes concluyen que los laboratorios de diagnóstico bacteriológico pueden prescindir de la inoculación al cobayo, optando por realizar cultivos en medios de piruvato (medio de Stonebrink) para la investigación del bacilo bovino. Los cobayos para la prueba biológica se inoculan intramuscularmente en la zona inguinal y se les realiza la prueba de la tuberculina y la necropsia a los 21 y 42 días post inoculación. Cultivo de macrófagos para el aislamiento rápido de bacterias intracelulares ha sido aplicado para el diagnóstico de la tuberculosis (Amadori *et al.*, 2006). Los estudios en el perfil de la expresión de genes en las células mononucleares de la sangre en

Clegg *et al.*, 2016). Although the skin test (tuberculin) has been the main element in the control and eradication programs of bovine tuberculosis, it lacks sensitivity, and can be misleading due to exposure to nontuberculous mycobacteria, and cannot be repeated for up to 60 days due to the desensitization (Palmer *et al.*, 2006). The anatomic-pathological diagnosis is based on the observation of the specific lesions of the disease, both the macroscopic tuberculous nodule and the microscopic granuloma result in lesions of a high degree of specificity for tuberculosis infection, also the tubercle bacilli can be demonstrated in the area of the lesion using the Ziehl-Neelsen stain. The macroscopic appearance of the tuberculous lesions and the microscopic observation of the classic granuloma typical of tuberculosis give a confirmatory diagnosis of the disease (Chamizo, 2004; Aranaz *et al.*, 2006; de la Rúa *et al.*, 2006). The bacteriological study serves to control the diagnoses made by the allergic and anatomic-pathological test. In general, the germs can be observed in direct smears obtained from the lesions or from cultures in the specific media. The biological test in the guinea pig is the best method for the detection of bovine-type tubercle bacilli, although recent studies conclude that bacteriological diagnostic laboratories can dispense with guinea pig inoculation, opting to perform cultures in pyruvate media (Stonebrink medium) for the investigation of the bovine bacillus. Guinea pigs for the biological test are inoculated intramuscularly in the groin area and a tuberculin test and necropsy are performed at 21 and 42 days post inoculation. Macrophage culture for the rapid isolation of intracellular bacteria has been applied for the diagnosis of tuberculosis (Amadori *et al.*, 2006). Studies on the profile of gene expression in blood mononuclear cells in cattle infected with *Mycobacterium bovis* after

ganado bovino infectado con *Mycobacterium bovis* después de la estimulación antigénica invitro con un derivado proteico purificado de la tuberculina PPD (Maede *et al.*, 2006; Ewer *et al.*, 2006). Pruebas serológicas han sido realizadas experimentalmente para el diagnóstico de la tuberculosis: seroaglutinación pasiva, fijación del complemento y la transformación blástica La prueba de IFN gamma (interferón gamma) ha sido utilizada por (Ameni y Tibbo, 2002; Sopp *et al.*, 2006; Ameni *et al.*, 2006; Palmer *et al.*, 2006). El método de fluorescencia ha sido ensayado para el diagnóstico de tuberculosis, es recomendable en los laboratorios que deban realizar más de 50 pruebas diarias. La reacción de la polimerasa (Polymerase chain reaction, PCR) fue utilizada por (Cedeño *et al.*, 2005). Las técnicas de ELISA por (Fraguas *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2006). La inmunohistoquímica por (Johnson *et al.*, 2006), y las técnicas moleculares por (Araujo *et al.*, 2005).

El test de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) y el test de gamma-interferón han probado ser más sensibles y específicos que la tuberculina y pueden facilitar los procedimientos diagnósticos. La tecnología basada en los ácidos nucleicos, notablemente la PCR (polymerase chain reaction) y otros métodos relacionados, pueden proveer más rapidez, mayor sensibilidad y mayor especificidad como herramientas de diagnóstico. La técnica de PCR está basada en el reconocimiento de una secuencia de oligonucleótidos (primers) los que se unen a cordones de ADN opuestos y flanquean la región de interés. Algunos estudios de la aplicabilidad de estas técnicas para el diagnóstico de la tuberculosis humana, han demostrado que su sensibilidad y especificidad, no son tan altas como originalmente se esperó y que muchos problemas requieren ser solventados antes de introducir estas en el diagnóstico de rutina de los laboratorios (Doucet-Populaire *et al.*, 1996) El análisis del fragmento de restricción

invitro antigenic stimulation with a purified protein derivative of tuberculin PPD (Maede *et al.*, 2006; Ewer *et al.*, 2006). Serological tests have been carried out experimentally for the diagnosis of tuberculosis: passive serum agglutination, complement fixation and blast transformation. The IFN gamma (interferon gamma) test has been used by (Ameni and Tibbo, 2002; Sopp *et al.*, 2006; Ameni *et al.*, 2006; Palmer *et al.*, 2006). The fluorescence method has been tested for the diagnosis of tuberculosis, it is recommended in laboratories that have to perform more than 50 daily tests. The polymerase reaction (Polymerase chain reaction, PCR) was used by (Cedeño *et al.*, 2005). ELISA techniques by (Fraguas *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2006). Immunohistochemistry by (Johnson *et al.*, 2006), and molecular techniques by (Araujo *et al.*, 2005).

The ELISA test (Enzyme-linked immunosorbent assay) and the gamma-interferon test have proven to be more sensitive and specific than tuberculin and can facilitate diagnostic procedures. Nucleic acid-based technology, notably PCR (polymerase chain reaction) and other related methods, can provide faster, higher sensitivity, and higher specificity as diagnostic tools. The PCR technique is based on the recognition of a sequence of oligonucleotides (primers) which bind to opposite DNA strands and flank the region of interest. Some studies on the applicability of these techniques for the diagnosis of human tuberculosis have shown that their sensitivity and specificity are not as high as originally expected and that many problems need to be solved before introducing them in the routine diagnosis of patients. laboratories (Doucet-Populaire *et al.*, 1996) Restriction fragment analysis (DNA fingerprinting)

(DNA fingerprinting) puede ser útil en los estudios epidemiológicos de la diseminación de la tuberculosis a otros animales y humanos (van Embden et al., 1995) o en la rápida diferenciación de *M. bovis* en el complejo *M. tuberculosis* (Liebana et al., 1996). El uso de estas técnicas está limitado por los recursos en la mayoría de los países en desarrollo.

Las técnicas de amplificación de los ácidos nucleicos (ADN y ARN) pueden ser utilizadas para detectar e identificar las bacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* en muestras clínicas (van der Zanden, 2002).

Se ha reportado la caracterización molecular de aislados humanos de *M. bovis* multidroga-resistente que comparten el mismo perfil de espacio-tipificación (spoligotyping) que tres aislados bovinos (Romero et al., 2006).

La espectroscopia infrarroja transformativa Fourier (FT-IR) es un método de tipificación fenotípica rápido, que puede ser utilizado para generar impresiones digitales y es usado para caracterizar bacterias (Winder et al., 2006).

La espacio-tipificación y un número variable de análisis de repetición en tandem reveló que la mayoría de los casos de tuberculosis humana en Ibadan, sudoeste de Nigeria era causada, por un simple y estrechamente relacionado grupo de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* (Cadmus et al., 2006).

La definición de antígenos para el diagnóstico de la tuberculosis en humanos y bovinos es una prioridad de investigación. Si el diagnóstico de tuberculosis requiere ser usado conjuntamente con regímenes de la vacunación con M. bovis-BCG, es necesario tener reactivos que permitan la discriminación entre los animales infectados y los vacunados (Ewer et al., 2006).

La principal medida para la acuracidad de los test diagnósticos para tuberculosis es la relación entre la sensibilidad y la

may be useful in epidemiological studies of the spread of tuberculosis to other animals and humans (van Embden et al., 1995) or in the rapid differentiation of *M. bovis* into the *M. tuberculosis* complex (Liebana et al., 1996). The use of these techniques is limited by resources in most developing countries.

Nucleic acid amplification techniques (DNA and RNA) can be used to detect and identify *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria in clinical samples (van der Zanden, 2002).

The molecular characterization of human multidrug-resistant *M. bovis* isolates that share the same space-typing profile (spoligotyping) as three bovine isolates has been reported (Romero et al., 2006).

Fourier transformative infrared spectroscopy (FT-IR) is a rapid phenotypic typing method, which can be used to generate fingerprints and is used to characterize bacteria (Winder et al., 2006).

Space-typing and a variable number of tandem repeat analyzes revealed that the majority of human tuberculosis cases in Ibadan, southwestern Nigeria were caused by a simple and closely related group of *Mycobacterium tuberculosis* strains (Cadmus et al., 2006).

The definition of antigens for the diagnosis of tuberculosis in humans and bovines is a research priority. If the diagnosis of tuberculosis needs to be used in conjunction with vaccination regimens with *M. bovis*-BCG, it is necessary to have reagents that allow discrimination between infected and vaccinated animals (Ewer et al., 2006).

The main measure for the accuracy of diagnostic tests for tuberculosis is the relationship between sensitivity and specificity, which determine the

especificidad, las cuales determinan las proporciones de los falsos positivos y los falsos negativos (de la Rua-Domenech et al., 2006).

La determinación de los niveles séricos de adenosina deaminasa, ADA, una enzima producida por los monocitos/macrófagos y linfocitos, ha sido utilizado en el diagnóstico de la tuberculosis humana (Silva *et al.*, 2006).

Se han identificado los frecuentemente reconocidos péptidos inmuno-dominantes de Rv3873, Rv3879c, Rv0288 y Rv3019c los cuales junto a los péptidos que conforman los antígenos de diagnóstico ESAT-6 y CFP-10 se formularon en un cóctel de péptidos. La especificidad de este cóctel no fue comprometida por la vacunación con el *Mycobacterium bovis*-BCG (Cockle *et al.*, 2006).

Se evaluaron tres técnicas adicionales (Ziehl-Neelsen, auramina O y la inmunotinción usando anti-*M. bovis* policlonal) y la hematoxilina-eosina para el diagnóstico de tuberculosis bovina en 39 muestras procedentes de varios mataderos. La técnica de inmunohistoquímica fue más sensible y pudo detectar un mayor número de ganado positivo. Tiene la misma sensibilidad que la bacteriología, pero es más rápida (WatreLOT *et al.*, 2006).

Conclusiones

1. La tuberculosis puede considerarse hoy en día como una enfermedad re-emergente de gran importancia sanitaria debido a que afecta a casi todas las especies de mamíferos y a las aves y el riesgo de transmisión que esto supone.
2. El desarrollo de los programas de control y erradicación de la tuberculosis, a la vez de la necesidad de llevarlos a cabo,

proportions of false positives and false negatives (de la Rua-Domenech et al., 2006).

The determination of serum levels of adenosine deaminase, ADA, an enzyme produced by monocytes / macrophages and lymphocytes, has been used in the diagnosis of human tuberculosis (Silva et al., 2006).

The frequently recognized immuno-dominant peptides of Rv3873, Rv3879c, Rv0288 and Rv3019c have been identified which, together with the peptides that make up the diagnostic antigens ESAT-6 and CFP-10, were formulated into a peptide cocktail. The specificity of this cocktail was not compromised by vaccination with *Mycobacterium bovis*-BCG (Cockle et al., 2006).

Three additional techniques (Ziehl-Neelsen, auramine O, and immunostaining using polyclonal anti-*M. Bovis*) and hematoxylin-eosin were evaluated for the diagnosis of bovine tuberculosis in 39 samples from various slaughterhouses. The immunohistochemical technique was more sensitive and was able to detect a greater number of positive cattle. It has the same sensitivity as bacteriology, but is faster (WatreLOT et al., 2006).

Conclusions

1. Tuberculosis can be considered today as a re-emerging disease of great sanitary importance because it affects almost all species of mammals and birds and the risk of transmission that this implies.
2. The development of tuberculosis control and eradication programs, as

resultan en cuantiosas pérdidas económicas.

3. La detección de lesiones tuberculosas en el matadero, es efectivo, como sistema de vigilancia y resulta una herramienta eficaz para el monitoreo de la progresión de los programas de erradicación.

well as the need to carry them out, result in large economic losses.

3. The detection of tuberculous lesions in the slaughterhouse is effective as a surveillance system and is an effective tool for monitoring the progress of eradication programs.

Bibliografía / References

- Abdo J. 1993. Epidemiology of bovine tuberculosis in Ethiopia, (MSc dissertation, University of Edinburgh, Centre for Tropical Veterinary Medicine), 1-45 pp.
- Acha PN, Szyfres B. Zoonotic tuberculosis. 1987. In: Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. 2nd edition. Washington: Pan American Health Organization/World Health Organization; Scientific Publication No. 503.
- Álvarez J, Perez A, Marqués S, Bezos J, Grau A, de la Cruz ML, Romero B, Saez JL, del Rosario Esquivel M, Martínez Mdel C, Mínguez O, de Juan L(1), Domínguez L. 2014. Risk factors associated with negative in-vivo diagnostic results in bovine tuberculosis-infected cattle in Spain. *BMC Vet Res.*13;10:14 p.
- Amadori M, Ritelli M, Tagliabue S, Pacciarini ML. 2006. Macrophage cell cultures for rapid isolation of intracellular bacteria: the *Mycobacterium bovis* model. *Methods Mol Biol.*; 345:203-217 pp.
- Ameni G, Aseffa A, Engers H, Young D, Hewinson G, Vordermeier M. 2006. Cattle husbandry in Ethiopia is a predominant factor affecting the pathology of bovine tuberculosis and gamma interferon responses to mycobacterial antigens. *Clin Vaccine Immunol.*, 13(9):1030-1036 pp.
- Ameni G, Miorner H, Francois R, Tibbo M. 1999. Comparison between Comparative tuberculin and Gamma-Interferon Tests for the diagnosis of bovine tuberculosis in Ethiopia. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 32(5), 267-276.
- Ameni G, Tibbo M. 2002. Kinetics of interferon- γ (IFN- γ) release in the peripheral blood of calves vaccinated with BCG. *Immunoassay & Immunochemistry*, 23(2), 245-253 pp.
- Ameni G, Wudie A. 2003. Preliminary study on bovine tuberculosis in Nazareth Municipality abattoir of Central Ethiopia. *Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr.*, 51, 125-132 pp.
- Aranaz A, De Juan L, Bezos J, Alvarez J, Romero B, Lozano F, Paramio JL, Lopez-Sanchez J, Mateos A, Dominguez L. 2006. Assessment of diagnostic tools for eradication of bovine tuberculosis in cattle co-infected with *Mycobacterium bovis* and *M. avium* subsp. *paratuberculosis*. *Vet Res.* ; 37(4):593-606 pp.
- Araujo CP, Leite CQ, Prince KA, Jorge Kdos S, Osorio AL. 2005. *Mycobacterium bovis* identification by a molecular method from post-mortem inspected cattle obtained in abattoirs of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*;100(7):749-52 pp.
- Asseged B, Woldesenbet Z, Yimer E, Lemma E. 2004. Evaluation of abattoir inspection for the diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle at Addis Ababa abattoir. *Trop Anim Health Prod.*:36(6):537-546 pp.

- Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2009. Clasificación taxonómica de las micobacterias 2d Edition.
- Biet F, Boschioli ML. 2014. Non-tuberculous mycobacterial infections of veterinary relevance. *Res Vet Sci.*27(14):00234-3.
- Cadmus S, Palmer S, Okker M, Dale J, Gover K, Smith N, Jahans K, Hewinson RG, Gordon SV. 2006. Molecular analysis of human and bovine tubercle bacilli from a local setting in Nigeria. *J Clin Microbiol.*;44(1):29-34 pp.
- Camarena Miñana JJ, González Pellicer Rosa. 2011. Micobacterias atípicas y su implicación en la patología infecciosa pulmonar. *Enferm Infecc Microbiol Clin.*29.(supl 5):66-75 pp.
- Caminiti A, Pelone F, LaTorre G, De Giusti M, Saulle R, Mannocci A, Sala M, Della Marta U, Scaramozzino P. 2016. Control and eradication of tuberculosis in cattle: a systematic review of economic evidence. *Vet Rec.* 16;179(3):70-5 pp.
- Carvalho RC, Furlanetto LV, Maruyama FH, Araújo CP, Barros SL, Ramos CA, Dutra V, Araújo FR, Paschoalin VM, Nakazato L, Figueiredo, EE. 2015. Evaluation of the efficiency of nested q-PCR in the detection of Mycobacterium tuberculosis complex directly from tuberculosis-suspected lesions in post-mortem macroscopic inspections of bovine carcasses slaughtered in the state of Mato Grosso, Brazil. *Meat Sci.*106:11-5 pp.
- Cedeño I, de Obaldia R, Sanjur O, Bayard V, Ortega-Barria E, Escobar C. 2005. Use of the polymerase chain reaction for diagnosing bovine tuberculosis in Panama. *Rev Sci Tech.* ;24(3):1067-75 pp.
- Chamizo, EG. 2009. Patología Orgánica y Enfermedades de los Animales Domésticos. Editorial "Félix Varela", 1ra Re-impresión, Ciudad Habana, pp 209, ISBN: 978-959-07-0894-7.
- Chamizo, E.G. 2004. Patología Orgánica y Enfermedades de los Animales Domésticos. Editorial "Felix Varela", La Habana, 2da edición, 209 p.
- Chamizo, E.G. 1997. Proyecto "Caracterización del estado de salud del ganado bovino en Baja California". Responsable de Proyecto, financiado por la FUNDACION PRODUCE, Baja California, México.
- Chamizo, EG. 1975. Patomorfología comparativa de los ganglios linfáticos y del bazo en el curso de la tuberculosis y de la brucelosis del ganado bovino en Cuba. Kosice, Checoslovaquia, Tesis, 128 p.
- Clegg TA, Good M, More SJ. 2016 Risk factors for cattle presenting with a confirmed bTB lesion at slaughter, from herds with no evidence of within-herd transmission. *Prev Vet Med.*1;126:111-20 pp.
- Cockle PJ, Gordon SV, Hewinson RG, Vordermeier HM. 2006. Field evaluation of a novel differential diagnostic reagent for detection of Mycobacterium bovis in cattle. *Clin Vaccine Immunol.*;13(10):1119-24 pp.
- Collins, CH, Grange JM. 1983. A review. The bovine tubercle bacillus. *J Appl Bacteriol.*55:13-29 pp.
- Cosivi, O; Grange, J.M.; Dabom, C.J.; Raviglione, M.C.; Fujikura, T.; Cousins, D.; Robinson, R.A.; Cousins DV, Roberts JL. 2001. Australia's campaign to eradicate bovine tuberculosis: the battle for freedom and beyond. *Tuberculosis (Edinb).*81(1-2):5-15 pp.
- Cristina P Araujo, Ana Luiza AR Osorio, Klaudia SG Jorge, Carlos AR Ramos, Antonio F Souza Filho, Carlos ES Vidal, Agueda PC Vargas, Eliana Roxo, Adalgiza S Rocha. 2014 Direct detection of Mycobacterium bovis Complex in bovine and bubaline tissues through nested-PCR. *Braz J Microbiol.* 45(2):633-64. De Garine-Wichatitsky, Alexandre Caron, Calvin Gomo, Chris Foggin, Keith Dutlan, Davis Pfunne, Emily Lane, Sebastien Le Bel, Marcus Hofmeyer, Tiny Hlokne, Anita Michel. 2010. Bovine tuberculosis in buffaloes, Southern Africa. *Emerg Infect Dis.* may 16(5):884-885, doi: 10.3201/eid1605.090710.

- De Kantor IN, Ritacco V.1994.. Bovine tuberculosis in Latin America and the Caribbean: current status, control and eradication programs. *Vet Microbiol*;40:5-14 pp.
- De Kantor IN.2016. La Tuberculosis Bovina en América Latina. Situación actual y recomendaciones. Sitio Argentino de Producción Animal.
- De la Rua-Domenech R, Goodchild AT, Vordermeier HM, Hewinson RG, Christiansen KH, Clifton-Hadley RS. 2006. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Res Vet Sci.*; 81(2):190-210 pp.
- Delahay RJ, Smith GC, Barlow AM, Walker N, Harris A, Clifton-Hadley RS, Cheeseman CL. 2006. Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the South-West region of England: A survey of prevalence and a semi-quantitative assessment of the relative risks to cattle. *Vet J.* Jan 21.
- Doucet-Populaire F, Lalande V, Carpentier E, Bourgoin A, Dailloux M, Bollet ,A .1996..A blind study of the polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* DNA. *Tubercle and Lung Disease*;77:358-62 pp.
- Echeverría G, Ron L, León AM, Espinosa W, Benítez-Ortiz W, Proaño-Pérez F. 2014.Prevalence of bovine tuberculosis in slaughtered cattle identified by nested-PCR in abattoirs from two dairy areas of Ecuador. *Trop Anim Health Prod.*46(6):1015-22 pp.
- Ehlers S, Schaible UE. 2012.The granuloma in tuberculosis: dynamics of a host-pathogen collusion. *Front Immunol* 3:324 Jan 2012, doi 10.3389/fimmu.00324.
- Embden van, JDA, Schouls LM, van Soolingen D. 1995. Molecular techniques: application in epidemiologic studies. In: Thoen CO, Steele JH, editors. *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans. Ames (IA): Iowa State University Press. 15-27 pp.
- Ewer K, Cockle P, Gordon S, Mansoor H, Govaerts M, Walravens K, Marche S, Hewinson G, Vordermeier M.2006..Antigen mining with iterative genome screens identifies novel diagnostics for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Clin Vaccine Immunol*;13(1):90-97 pp.
- Fraguas SA, Cunha-Abreu MS, Marassi CD, Oelemann WM, Fonseca LS, Lilenbaum W.2006.Use of ELISA as a confirmatory test for bovine tuberculosis at slaughter. *Prev Vet Med.*
- Gannon BW, Hayes CM, Roe JM. 2006.Survival rate of airborne *Mycobacterium bovis*. *Res Vet Sci.*
- Grange JM, Yates MD, de Kantor I. 1996..Guidelines for speciation within the *Mycobacterium tuberculosis* complex. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; WHO/EMC/ZOO/96.4.
- Griffin JFT, Mackintosh CG, Buchan GS. 1995..Animal models of protective immunity in tuberculosis to evaluate candidate vaccines. *Trends Microbiol*;3:418-24 pp.
- Guanziroli Stefani María, Cicuta de Gallardo María S. 2019. Primer aislamiento de *Mycobacterium bovis* de búfalos del nordeste argentino. Sitio Argentino de Producción Animal. Resumen v-040. 4 p.
- Huchzemeyer, H.F.A.K.; Cantor,I.; Meslin, F.X. 1998.Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emerging Infectious Diseases* 4:59-70 pp.
- Humphrey HM, Orloski KA, Olea-Popelka FJ. 2014. Bovine tuberculosis slaughter surveillance in the United States 2001-2010: assessment of its traceback investigation function. *BMC Vet Res.* 2014; 15;10:182 pp.

- Johnson L, Gough J, Spencer Y, Hewinson G, Vordermeier M, Wangoo A. 2006. Immunohistochemical markers augment evaluation of vaccine efficacy and disease severity in bacillus Calmette-Guerin (BCG) vaccinated cattle challenged with *Mycobacterium bovis*. *Vet Immunol Immunopathol.*; 111(3-4):219-29 pp.
- Jubb, KVF; Kennedy, PC; Palmer N. 1985. Pathology of Domestic Animals. Third Edition. Volume 2. Academic Press, Inc. pp. 581.
- Kaneene JB, Miller R, Meyer RM. 2006. Abattoir surveillance: the U.S. experience. *Vet Microbiol.*:25;112(2-4):273-82 pp.
- Liebana E, Aranaz A, Francis B, Cousins D.1996. . Assessment of genetic markers for species differentiation within the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J Clin Microbiol*; 34:933-8.
- Liu S, Guo S, Wang C, Shao M, Zhang X, Guo Y, Gong Q.2006. A novel fusion protein-based indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of bovine tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*.
- Maede KG, Gormley E, Park SD, Fitzsimons T, Rosa GJ, Costello E, Keane J, Coussens PM, MacHugh DE.2006. Gene expression profiling of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from *Mycobacterium bovis* infected cattle after in vitro antigenic stimulation with purified protein derivative of tuberculin (PPD). *Vet Immunol Immunopathol.*; 113(1-2):73-89 pp.
- Maggioli Mayara F, Palmer MV, Thacker TC, Voldermeier HM, McGill TL, Whelan AU, Larsen MH, Jacobs WR, Waters WR. 1996. *Front Immunol* 2016, oct 17:7:421, ,doi 10.3389/fimmu.2016.00421. Malin AS, Young DB. Designing a vaccine for tuberculosis. Unraveling the tuberculosis genome can we build a better BCG? *Br Med J*;312:1495.CJ.
- Marcel A Behr. 2015. Comparative genomics of *Mycobacteria*. Some answers, yet more new questions. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2015 Feb 5(2): A021204, doi: 10.1101/cshperspect.a021204.
- Martínez Dalila, Borroto Susana, Arroyo Lellanis, González E. 2015. Evaluación del riesgo de infección latente en trabajadores de la atención primaria de salud. *Rev Cub Med Trop*. 67(1):11-10 pp.
- Megyeri K, Buzas K, Miczak A, Buzas E, Kovacs L, Seprenyi G, Falus A, Mandi Y. 2006. The role of histamine in the intracellular survival of *Mycobacterium bovis* BCG. *Microbes Infect.* ;8(4):1035-44 pp.
- Michel Anita L, de Klark Lin-Mari, Grey van Pitijs, Warren RM, van Helden PD. 2007. Bovine tuberculosis in African Buffaloes: observations regarding *Mycobacterium bovis* shedding into water and exposure to the environmental *Mycobacteria*. *BMC Vet Res* 3:23, doi:10-1186/1746-6-6148-3-23.
- Milian-Suazo F, Salman MD, Ramirez C, Payeur JB, Rhyan JC, Santillan M. 2000. Identification of tuberculosis in cattle slaughtered in Mexico. *Am J Vet Res.*:61(1):86-89 pp.
- Montaño, M, Chamizo, E.G. 1994 Diagnostico histopatologico de tuberculosis en ganado bovino sacrificado en rastros de Baja California. Resúmenes del XIV Congreso Pabamericano de Ciencias Veterinarias, Acapulco, Mexico.
- Mustafa, AS, Skeyky, YA, Al-Attiyah, R, Alderson, MR, Hewinson, RG, Voldermeier, HM. 2006. Immunogenicity of *Mycobacterium tuberculosis* antigens in *Mycobacterium bovis* BCG vaccinated and *M. bovis* infected cattle. *Infect-Immun* 74 (8):4566-4572 pp.
- Naranjo V, Ayoubi P, Vicente J, Ruiz-Fons F, Gortazar C, Kocan KM, de la Fuente J. 2006. Characterization of selected genes upregulated in non-tuberculous European wild boar as possible correlates of resistance to *Mycobacterium bovis* infection. *Vet Microbiol.* 25;116(1-3):224-31 pp.

- National Research Council. 1994. Livestock disease eradication evaluation of the cooperative State-Federal Bovine Tuberculosis Eradication Program. Washington: National Academy Press.
- Nava A, Milián F, Cantó GJ, Rubio Y, Guerrero R, Rodríguez E, Pizano O. 2016. Genetic diversity based on MIRU-VNTR profile of isolates of *Mycobacterium bovis* from Mexican cattle. *Prev Vet Med.* 1;131:75-8 pp.
- OIE.2012. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Lista de pruebas para el comercio internacional. http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/0_02_Pruebas%20prescritas_2012.pdf.
- OIE.2014. Resumen del informe del grupo de trabajo de la OIE sobre seguridad sanitaria de los alimentos derivados de la producción animal. 72a Sesión General. <http://www.oie.int/doc/ged/D958.PDF>, consultado 30 de septiembre.
- OPS/OMS.2001. XII Reunión Inter.-americana a nivel ministerial en salud y agricultura. Zoonosis de importancia para la economía y para la salud pública: brucelosis y tuberculosis bovina: ¿control o eliminación?. São Paulo, Brasil.
- O'Reilly LM, Daborn CJ. 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle and Lung Disease*;76 (Suppl 1):1-46 pp.
- Ozmen O, Kursun O, Ozcelik M. 2005. Bovine tuberculosis in Burdur, southern Turkey: epidemiological, pathological and economic study. *Int J Tuberc Lung Dis.* Dec;9(12):1398-402 pp.
- Palacios JJ, Navarro Y, Romero B, Penedo A, Menéndez González Á, Pérez Hernández MD, Fernández-Verdugo A, Copano F, Torreblanca A, Bouza E, Domínguez L, de Juan L, García-de-Viedma D. 2016. Molecular and epidemiological population-based integrative analysis of human and animal *Mycobacterium bovis* infections in a low-prevalence setting. *Vet Microbiol.* 15;195:30-36 pp.
- Palmer MV, Waters WR, Thacker TC, Greenwald R, Esfandiari J, Lyashchenko KP. 2006. Effects of different tuberculin skin-testing regimens on gamma interferon and antibody responses in cattle experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. *Clin Vaccine Immunol.* 13(3):387-394 pp.
- Palmer MV, Waters WR, Thacker TC, Stoffregen WC, Thomsen BV. 2006. Experimentally induced infection of reindeer (*Rangifer tarandus*) with *Mycobacterium bovis*. *J Vet Diagn Invest.*;18(1):52-60 pp.
- Perez AM, Ward MP, Torres P, Ritacco V. 2002. Use of spatial statistics and monitoring data to identify clustering of bovine tuberculosis in Argentina. *Prev Vet Med.*:56(1):63-74 pp.
- Podinovskaia María, Lee W, Cadwell Shannon, Russell D. 2013. Infection of macrophages with *Mycobacterium tuberculosis* induces global modifications to phagosomes function. *Cell Microbiol.* jun 15(6):844-859, doi 10.1111/cmi.12092.
- Pollock JM, Pollock DA, Campbell DG, Grivin RM, Crockard AD, Neill SD, Mackie DP. 1996. dynamic change in circulating and antigen responsive T-cell population post *M. bovis* infection in cattle. *Immunol.* 87, 236-241pp.
- Pollock JM, Welsh MD, McNair J. 2005. Immune response in bovine tuberculosis: towards new strategies for the diagnosis and control of disease. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 108:37-43 pp.
- Romero B, Aranaz A, de Juan L, Alvarez J, Bezos J, Mateos A, Gomez-Mampaso E, Dominguez L. 2006. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* isolates with the same spoligotyping profile as isolates from animals. *J Clin Microbiol.*; 44(9):3405-3408 pp.
- Saidu AS, Okolocha EC, Gamawa AA, Babashani M, Bakari NA. 2015. Occurrence and Distribution of bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in Slaughtered cattle in the abattoirs of Bauchi State, Nigeria. *Vet World.* Mar;8(3):432-7 pp.

- SIDI. 2015. Manual de Procedimientos del Programa Nacional de Control Progresivo y Erradicación de Tuberculosis Bovina. Mayo.
- Silva MR, Mota PM, Leite Rde M, Lobato FC, Leite RC, Lage AP. 2006. Evaluation of adenosine deaminase seric activity in the diagnosis of bovine tuberculosis. Mem Inst Oswaldo Cruz.;101(4):391-5 pp.
- Sopp P, Howard CJ, Hope JC. 2006. Flow Cytometric Detection of Interferon- γ Can Effectively Discriminate BCG Vaccinated from Mycobacterium bovis Infected Cattle. Clin Vaccine Immunol.; The Center for Food Security and Public Health. .Tuberculosis bovina. 2010:1-7 pp.
- Thoen CO, Kaplan B, Thoen TC, Gilsdorf MJ, Shere JA. 2016. Zoonotic tuberculosis. A comprehensive ONE HEALTH approach. Medicina (B Aires).76(3):159-65 pp.
- Thoen CO, Steele JH. 1995. editors. Regional and Country Status Reports. Part 2. Mycobacterium bovis infection in animals and humans. Ames (IA): Iowa State University Press.167-345 pp.
- Thompson, RG. 2001. Special Veterinary Pathology. Third edition, edited by M. Donald Mc Gavin, William W. Carlton, James F. Zachary. ISBN 0-323-00560-8 .755 p
- Villarreal-Ramos, B; Reed, S; McAulay, M; Prentice, H; Coffey, T; Charleston, BC; Howard, CJ. 2006. Influence of the nature of the antigen on the boosting of responses to mycobacteria in M. bovis-BCG vaccinated cattle. Vaccine.
- Watrelet-Virieux D, Drevon-Gaillot E, Toussaint Y, Belli P. 2006. Comparison of three diagnostic detection methods for tuberculosis in French cattle. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.;53(7):321-5 pp.
- Welte WR, editor. FAO/OIE/WHO Animal Health Yearbook 1993. Washington: The Organization; 1994. FAO Animal Production and Health Series No. 33.1995.
- Winder CL, Gordon SV, Dale J, Hewinson RG, Goodacre R. 2006. Metabolic fingerprints of Mycobacterium bovis cluster with molecular type: implications for genotype-phenotype links. Microbiology.;152(Pt 9):2757-65 pp.
- Woodroffe R, Donnelly CA, Jenkins HE, Johnston WT, Cox DR, Bourne FJ, Cheeseman CL, Delahay RJ, Clifton-Hadley RS, Gettinby G, Gilks P, Hewinson RG, McNerney JP, Morrison WI. 2006. Culling and cattle controls influence tuberculosis risk for badgers. Proc Natl Acad Sci U S A. 3;103(40):14713-7 pp.
- World Health Organization. 1967. Third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Zoonoses. Geneva: The Organization; Technical Report Series No. 378.
- Zanden van der, A. 2002. Spoligotyping, a tool in epidemiology, diagnosis and control of tuberculosis. Thesis, 182 p.
- Zingue, O, Weber P, Sottani F, Raoult D, Drancourt M. 2018. Automatic microscopic detection of mycobacteria in sputum: a proof of concept. Sci Rep 2018; 8, ,doi: 10.1038/s41598-018-29660-8.

Tabla 1. MANIFESTACIONES MORFOLÓGICAS DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA DE ACUERDO CON EL GRADO DE RESISTENCIA Y ALERGIA EN ANIMALES

ALTO GRADO DE RESISTENCIA Y BAJO GRADO DE SENSIBILIDAD		HIPERSENSIBILIDAD Y BAJO GRADO DE RESISTENCIA
GRANULOMA RETICULOENDOTELIAL CON NECROSIS CASEOSA Y CALCIFICACIÓN	PROLIFERACIÓN RETÍCULO ENDOTELIAL DIFUSA CON NÓDULOS CARACTERÍSTICOS QUE SEMEJAN NEOPLASIAS	EXUDACIÓN CONTENIENDO FIBRINA, NEUTRÓFILOS Y MACRÓFAGOS
OBSERVADA EN GANADO BOVINO INFECTADO CON <i>Mycobacterium bovis</i>	OBSERVADA EN CERDOS Y EQUINOS INFECTADOS CON <i>Mycobacterium avium</i>	SE MANIFIESTA EN EL COBAYO INOCULADO CON <i>Mycobacterium bovis</i>
LESIÓN TUBERCULOSA TÍPICA	LESIÓN TUBERCULOSA ATÍPICA	

Tabla 2. RELACIÓN ENTRE LA VÍA DE ENTRADA DEL BACILO TUBERCULOSO Y EL ESTABLECIMIENTO DEL COMPLEJO PRIMARIO.

VÍA DE ENTRADA	COMPLEJO PRIMARIO	CATEGORÍA
ORAL O RESPIRATORIA	FARINGE Y GÁNGLIOS LINFÁTICOS RETROFARINGEOS	TODAS LAS EDADES
RESPIRATORIA	PULMÓN Y GÁNGLIO LINFÁTICO BRONQUIAL IZQUIERDO	PREDOMINA EN ANIMALES ADULTOS
VENA UMBILICAL	HÍGADO Y GÁNGLIOS LINFÁTICOS PORTALES Y HEPÁTICOS	FETO
ORAL	TRACTO DIGESTIVO Y GÁNGLIOS LINFÁTICOS MESENTÉRICOS	TERNEROS
VULVA	TRACTO GENITAL FEMENINO	HEMBRAS ADULTAS
GALACTÓGENA	GLÁNDULA MAMARIA	HEMBRA BOVINA ADULTA DE LECHE

Tabla 3. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DIAGNÓSTICOS DESPUÉS DE UNA PRUEBA POSITIVA A LA TUBERCULINA

REACCIÓN A LA TUBERCULINA	DIAG. MACRO	DIAG. MICRO	SMEAR (<i>acid fast stain</i>)	CULTIVO	TEST BIOLÓGICO			CONCLUSIÓN
					DIAG. MACRO	DIAG. MICRO	SMEAR (<i>acid fast stain</i>)	
+	+	EVAL (+)	-	-	-	-	-	POSITIVO
+	+	-	EVAL (+)	-	-	-	-	
+	-	-	-	EVAL (+)	-	-	-	
+	-	-	-	EVAL (+)	+	+	EVAL (+)	
+	-	-	+	EVAL (+)	-	-	-	
+	-	-	-	EVAL (+)	+	+	EVAL (+)	
+	-	-	-	-	-	-	-	NEGATIVO

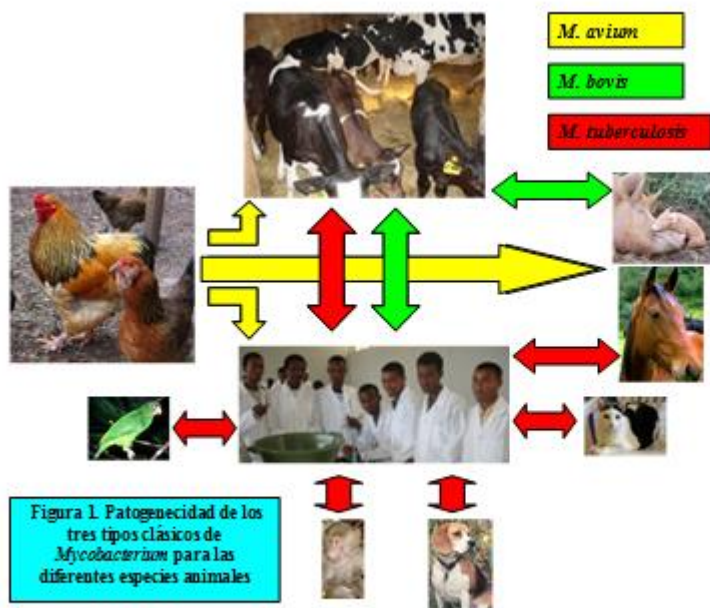


Figura 1. Patogenicidad de los tres tipos clásicos de *Mycobacterium* para las diferentes especies animales

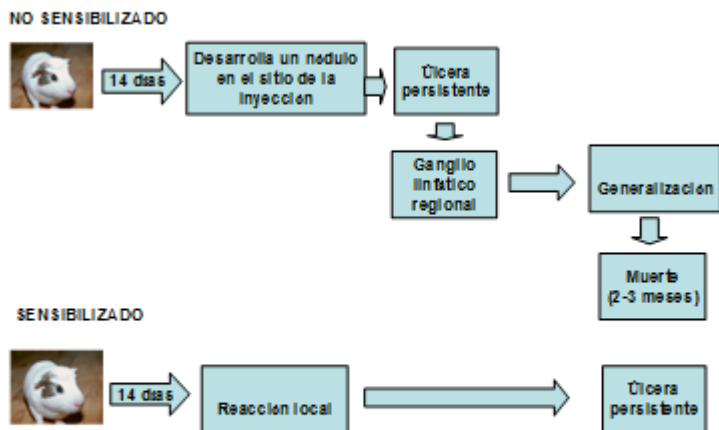


Figura 2. Fenómeno de Koch



Figura 3. DESARROLLO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA EN RELACION CON EL ESTADO INMUNOLOGICO DEL HUESPED.

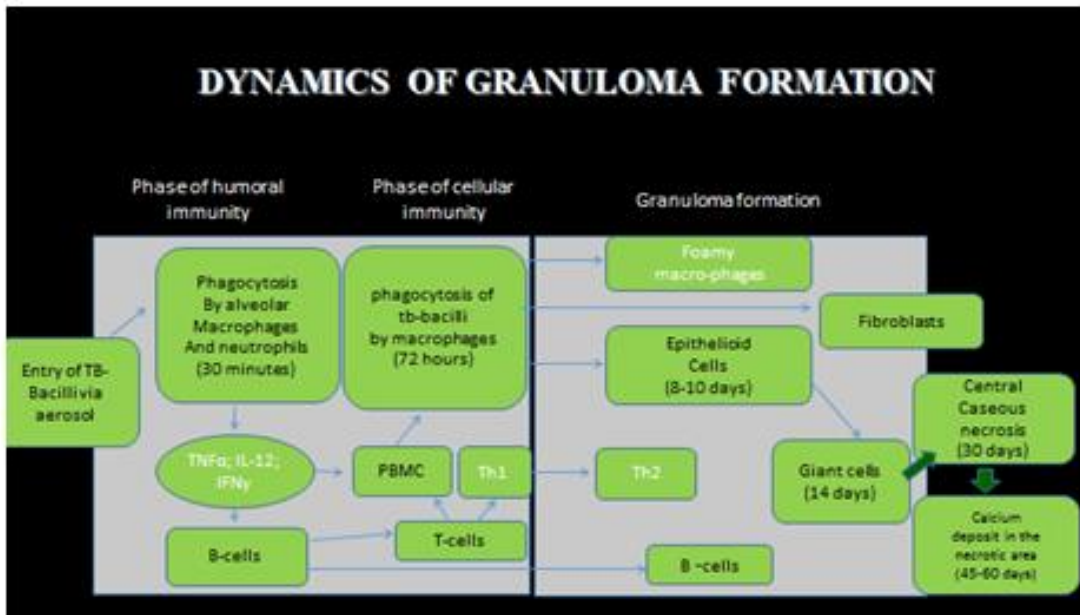


Figura 4. Histogénesis del granuloma tuberculoso