

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA SEROPOSITIVIDAD DE VACAS
HOLSTEIN DE ALTO RENDIMIENTO A LA PRUEBA DE TUBERCULOSIS.

Tesis

Que presenta ELIZABETH PÉREZ REBOLLOSO
como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Torreón, Coahuila

Diciembre 2021

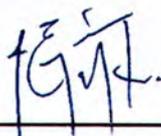
FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA SEROPOSITIVIDAD DE VACAS
HOLSTEIN DE ALTO RENDIMIENTO A LA PRUEBA DE TUBERCULOSIS

Tesis

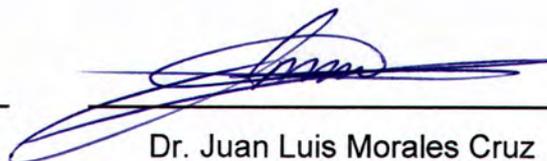
Elaborada por ELIZABETH PÉREZ REBOLLOSO como requisito parcial para
obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Miguel Ángel Mellado Bosque
Asesor Principal



Dr. José Eduardo García Martínez
Asesor



Dr. Juan Luis Morales Cruz
Asesor



Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Jefe de Departamento de Postgrado



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado

AGRADECIMIENTOS

DR. MIGUEL ÁNGEL MELLADO BOSQUE

Por el apoyo incondicional que recibí de su parte desde el inicio de la maestría. Mi admiración y reconocimiento a su gran trayectoria científica y docente.

POSGRADO “UAAAN UL”

A todos los docentes investigadores involucrados en este proyecto, gracias por darme las herramientas, conocimientos y facilidades para realizar este trabajo de tesis al igual que para concluir su presentación.

DEDICATORIA

A MI MADRE

Por acompañarme en cada momento importante, siempre incondicional.

A MI HERMANA

Por su apoyo y cariño, siempre estás en mis pensamientos y también a mis hermosas sobrinas.

EN ESPECIAL A TÍ

Por creer siempre en mí y seguir siendo mi compañero de viaje, espero que me acompañes para siempre como hasta el día de hoy y ahora de la mano de nuestro precioso hijo.

Índice

RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo.....	4
Hipótesis.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Generalidades de la tuberculosis.....	5
Tuberculosis bovina.....	6
Distribución mundial.....	7
Antecedentes.....	8
Etiología.....	8
Morfología y resistencia.....	10
Epidemiología.....	10
Patogenia (fisiopatología).....	11
Factores de riesgo.....	11
Transmisión.....	12
Inmunología de la infección.....	12
Lesiones.....	13
Infección primaria.....	15
Diagnóstico.....	16
Diagnóstico clínico.....	17
Métodos directos.....	17
Prueba bacteriológica.....	18
Prueba histopatológica.....	18
Prueba de intradermotuberculización.....	19
Prueba PCR.....	20
Control y erradicación.....	21
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
Localización.....	22
Manejo de animales.....	22
Manejo de la salud.....	22

Manejo reproductivo	23
Análisis estadístico	24
RESULTADOS.....	25
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	33
REFERENCIAS	34

Lista de figuras

Figura 1. Distribución en el mundo de la tuberculosis bovina en 2017 y los primeros seis meses del 2018.

Figura 2. Microfotografía (microscopia electrónica de barrido) del desarrollo de *M. bovis*.

Figura 3. Tuberculosis miliar en el pulmón de una cabra.

Figura 4. Tuberculosis en pequeños rumiantes domésticos.

Figura 5. Asociación entre la producción de leche promedio por lactancia (una a ocho lactancias) y positiva a la prueba de tuberculina (TB) en vacas Holstein de alto rendimiento.

Figura 6. Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier para vacas rectoras y no rectoras a la tuberculosis.

Lista de cuadros

Cuadro 1. "Odds ratios" y los intervalos de confianza (IC) del 95% para los efectos de varios rasgos de la leche en la aparición de vacas Holstein de alta producción de leche rectoras a tuberculosis (n = 9312).

Cuadro 2. "Odds ratios" y los intervalos de confianza (IC) del 95% para los efectos de la ocurrencia de metritis puerperal y gemelos sobre el reactor a tuberculosis en vacas Holstein de alta producción de leche (n = 9312).

RESUMEN

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA SEROPOSITIVIDAD DE VACAS HOLSTEIN DE ALTO RENDIMIENTO A LA PRUEBA DE TUBERCULOSIS.

Elizabeth Pérez Reboloso

Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna

Miguel Ángel Mellado Bosque

En vacas lecheras la enfermedad causada por *Mycobacterium bovis* continúa siendo una de las patologías infecciosas importantes en la actualidad, en humanos los casos de tuberculosis causada por *M. bovis* en el mundo han aumentado en los últimos años. Este estudio tuvo como objetivo evaluar varios factores de riesgo asociados con la prueba positiva de tuberculosis bovina (TBb) en vacas Holstein altas productoras. En un estudio retrospectivo observacional se incluyeron 9312 registros de vacas de un hato lechero manejado de manera intensiva al norte de México. La tasa de incidencia de vacas lactantes que reaccionaron a la TBb fue de 7.3 casos por cada 100 vacas-año. Los modelos múltiples de regresión logística mostraron que las vacas con una producción de leche alta fueron más propensas a ser detectadas como rectoras en comparación con vacas de producciones inferiores cuando se analizaron diferentes rasgos de la producción de leche de estas vacas (producción durante la primera lactancia, producción total de leche por lactancia, pico máximo de producción, producción a 305 días). Vacas con metritis en el puerperio o con parto gemelar fueron menos propensas a ser rectoras a la TBb. En este estudio se expuso que el aumento de la producción de leche se relacionó con un mayor riesgo de dar positivo a la prueba cutánea de tuberculina en vacas de alta producción de leche de la raza Holstein.

Palabras clave: Alta producción, Tuberculina, Seropositividad, Metritis, tuberculosis.

ABSTRACT

RISK FACTORS ASSOCIATED WITH THE SEROPOSITIVITY OF HOLSTEIN COWS WITH HIGH PERFORMANCE TESTED FOR TUBERCULOSIS.

Elizabeth Pérez Reboloso

Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna

Miguel Ángel Mellado Bosque

In dairy cows, the disease caused by *Mycobacterium bovis* continues to be one of the important infectious diseases today, in humans the cases of tuberculosis caused by *M. bovis* in the world have increased in recent years. This study aimed to evaluate various risk factors associated with positive bovine tuberculosis (TBb) test in high producing Holstein cows. A retrospective observational study included 9,312 records of cows from an intensively managed dairy herd in northern Mexico. The incidence rate of lactating cows reacting to TBb was 7.3 cases per 100 cow-years. Multiple logistic regression models reported that cows with high milk production were more likely to be detected as reactors compared to lower production cows when different traits of the milk production of these cows were analyzed (production during the first lactation), total milk production per lactation, maximum production peak, production at 305 days). Cows with metritis in the puerperium or with twin calving were less likely to be reactive to TBb. This study found that increased milk production was associated with an increased risk of positive tuberculin skin testing in high-milk-producing Holstein cows.

Keywords: High production, Tuberculin, Seropositivity, Metritis, tuberculosis.

INTRODUCCIÓN

Los humanos a través del tiempo han sido blanco de infecciones causadas por diferentes microorganismos que ponen en riesgo su supervivencia. Muchos de ellos son impredecibles pudiendo causar de manera ocasional la emergencia o reemergencia de infecciones en millones de personas lo que podría desencadenar en una pandemia con secuelas inimaginables, el agente causal de la tuberculosis o la malaria son ejemplos claros de microorganismos que han ocasionado millones de muertes por año (Lozano, 2002). La tuberculosis persiste como un importante problema de salud pública y una seria amenaza socioeconómica. A pesar de los diversos programas de vigilancia y “cribado”, basados en pruebas intradérmicas con tuberculina, el sacrificio de animales positivos y los resultados de los rastros, la enfermedad sigue causando estragos en muchos países del mundo, especialmente en los países en desarrollo (Djafar *et al.*, 2020). La tuberculosis bovina (TBb) es una enfermedad crónica del ganado causada por la bacteria *Mycobacterium bovis*. El patógeno puede transmitirse del ganado infectado a otros animales de sangre caliente y los humanos a través de descargas de aerosoles, incluido el contacto con saliva, orina y estiércol, a través de sitios de alimentación y abrevadero. La infección se adquiere también consumiendo leche no pasteurizada o calostro de animales infectados. Los animales infectados con TBb son difíciles de identificar solo por los síntomas clínicos. En las primeras etapas de la infección, los animales infectados con TBb no muestran ningún signo clínico. En etapas posteriores de la infección, los animales infectados pueden mostrar pérdida de peso, debilidad, neumonía, tos húmeda crónica y agrandamiento de los ganglios linfáticos (Verteramo *et al.*, 2019). La correlación directa entre la infección con *M. bovis* en el ganado y la presencia de esta enfermedad en humanos ha sido bien documentada en países industrializados (Cosivi *et al.*, 1995; Olea-Popelka *et al.*, 2017). En el periodo que comprende el mes de enero de 2017 y el mes de junio de 2018, países que representan 44% de los países que notifican a la OIE reportaron casos de tuberculosis bovina por medio del sistema mundial de información sanitaria de la OIE. De estos países afectados por casos de tuberculosis tan solo un cuarto de

ellos estuvo llevando a cabo todas las medidas de control necesarias y pertinentes para el control de esta enfermedad. Una mejoría en la vigilancia y la presentación de informes puntuales por parte de los Servicios Veterinarios nacionales contribuyen a la prevención y el control de la TBb de origen animal (Kiyokazu *et al.*, 2019). En general en los países desarrollados, el éxito en el control y erradicación de la tuberculosis se logró en una época en que los hatos eran más pequeños y la intensidad y las demandas de producción eran menores. En tales circunstancias, la base de un control eficaz de la tuberculosis en el ganado incluía la eliminación de los animales reactivos a la tuberculina y el ganado sospechoso, la desinfección de las instalaciones y la implementación de buenas prácticas de higiene, seguidas de una revisión periódica del estado de la enfermedad del hato mediante la prueba de la tuberculina y la vigilancia de las plantas cárnicas (Collins, 2006). En nuestro país y en otros países en vías de desarrollo, los programas que se implementan por el gobierno para el control de esta enfermedad se basan principalmente en eliminar lo más rápido posible a los animales reactivos a la prueba de tuberculina, pero sigue existiendo el rechazo de algunos productores a estas medidas al significar altas pérdidas económicas y productivas, lo que dificulta la pronta erradicación de esta enfermedad (Spergser *et al.*, 2013). De acuerdo con el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA, 2015) la situación actual de la TBb en México al 12 de noviembre de 2020 se ha reconocido que el 86.12% del territorio nacional está en fase de erradicación (prevalencia menor al 0.5%). La incidencia de TBb en el ganado lechero se encuentra alrededor del 16%, y el 35% de la leche producida se vende como leche cruda (Pérez-Guerrero *et al.* 2008). Esto podría implicar un alto riesgo de infección con *M. bovis* entre ganado y en las personas que tienen relación directa con el ganado infectado. La Comarca Lagunera que comprende regiones del estado de Coahuila y Durango en México se concentran la mayor parte del inventario de bovinos productores de leche en México, con un aproximado de 506,207 cabezas, que representan alrededor de 20 % del hato lechero nacional (SADER, 2020). Debido a esta gran concentración de ganado en la región y el riesgo latente de diseminación de este agente

infeccioso, resulta necesario conocer los factores de riesgo que contribuyen a la presentación de esta patología. Es probable que la importancia relativa de los factores de riesgo identificados hasta la fecha varíe entre granjas y entornos y, con el tiempo, resulte difícil identificar patrones genéricos (Broughan *et al.*, 2016). Por tanto, la comprensión de estos factores de riesgo y su interacción es necesaria para comprender la epidemiología de esta enfermedad y mejorar las estrategias de erradicación y control de la TBb en hatos lecheros intensivos.

Objetivo

El objetivo de este estudio fue evaluar diversos factores de riesgo asociados con la seropositividad a la TBb en vacas Holstein de alta producción de leche en una explotación lechera intensiva.

Hipótesis

A medida que se incrementa la producción de leche en vacas Holstein con alto potencial genético para este rasgo, se incrementa la incidencia de vacas reactoras a TBb. El ambiente extremadamente caliente, aunado a una población abundante de vacas en los establos lecheros de la Comarca Lagunera presentan una tasa de positividad a esta enfermedad mayor a las reportadas previamente en la literatura. A los factores anteriores se añaden la alta endemicidad de esta enfermedad en el área de estudio y al alto potencial de producción de leche de las vacas utilizadas en el estudio presente.

REVISIÓN DE LITERATURA

Tuberculosis

El descubrimiento del bacilo causante de la tuberculosis en humanos fue realizado en 1882 por Robert Koch y un poco más tarde el año de 1898 Theobald Smith publicó sus hallazgos sobre el bacilo tuberculoso, humano y bovino, donde demostró que la infección en humanos y en bovinos eran ocasionados por diferentes organismos conocidos como *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium bovis* (OIE, 2021).

Las especies que se incluyen en el complejo *Mycobacterium tuberculosis* se caracterizan por causar tuberculosis en mamíferos domésticos, mamíferos salvajes y también en humanos; son patógenos de gran éxito y matan a casi 3 millones de personas cada año. Este patógeno y sus parientes cercanos se resumen en un grupo clonal único y compacto que se remonta a unas pocas decenas de miles de años (Gutiérrez *et al.*, 2005). Las especies que se incluyen en el nombrado complejo *Mycobacterium tuberculosis* se encuentran *M. tuberculosis*, *M. africanum* y *M. bovis* (Coscolla *et al.*, 2021) y otras especies de micobacterias menos frecuentes pero oportunistas y potencialmente patógenas para el hombre (Lozano, 2002).

Uno de los agentes de mayor interés en la medicina veterinaria de bovinos productores de leche es el *Mycobacterium bovis*, al ser el agente causal de la tuberculosis en el ganado bovino. Al ser una enfermedad zoonótica este agente también puede causar enfermedad en los seres humanos. En un estudio elaborado en Argentina, en la provincia de Santa Fe, donde se tiene una prevalencia relativamente elevada de tuberculosis en el ganado (5%), demostró que durante los años de 1984 y hasta 1989 *M. bovis* fue el responsable de entre el 2% y el 6.2% de los casos de tuberculosis humana y el 64% de esos pacientes fueron personas que trabajaban en mataderos o personas que laboran en áreas rurales. El Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias E. Coni, en Santa Fe, conserva un registro de los casos de tuberculosis a partir de 1977.

Los casos que se confirmaron por cultivo en los años comprendidos desde 1988 y hasta 2006 fueron 2,485 casos de tuberculosis pulmonar, de estos casos los que fueron ocasionados por *M. bovis* fueron el 2.7% en los años entre 1988 y 1993, 1.7% entre 1994 y 1999, y 1.3% entre 2000 y 2006. De estos casos de tuberculosis bovina un aproximado del 70% de las personas con la infección tuvieron contacto directo con bovinos, la mayoría de ellos eran personas que laboraban en frigoríficos y mataderos. Esta disminución en los porcentajes de las infecciones por tuberculosis podría relacionarse con el avance del Programa de Control y Erradicación en Argentina llevado por el SENASA y un aumento en la mejora de las condiciones sanitarias en la producción de alimentos (Rothel *et al.*, 1992; Burrels *et al.*, 1995; Segal *et al.*, 1956; Rivera y Giménez, 2010).

Tuberculosis bovina

Esta enfermedad de curso crónico causada por *Mycobacterium bovis* se presenta en el ser humano y también en el ganado. En una gran parte del mundo la tuberculosis bovina es aun una enfermedad de alta relevancia en el ganado bovino y en otros animales domésticos, también algunas poblaciones de animales salvajes pueden verse afectadas. La transmisión de esta infección a los humanos es un problema importante de salud pública (OIE, 2018; Vayr *et al.*, 2018).

Si un animal ingiere las secreciones directamente de otro animal infectado o a través de comederos o bebederos se corre un riesgo alto de infección, ya que un solo animal enfermo puede transmitir la infección a un gran numero de animales aun siendo asintomático (Byrne *et al.*, 2017). Los principales síntomas son debilidad progresiva, pérdida de apetito, pérdida de peso, fiebre fluctuante, tos seca intermitente y dolorosa, aceleración de la respiración (taquipneas), dificultad de respirar (disnea), sonidos anormales en la auscultación y percusión (Aboukhassib *et al.*, 2016; PRONABIVE, 2018).

Mycobacterium bovis BCG (Bacillo Calmette-Guérin) es una cepa de *Mycobacterium bovis* atenuada conseguida entre los años 1908 y 1919 mediante cultivos realizados de manera sucesiva. De esta cepa original se han mantenido subcultivos a través de muchos años, originando derivaciones genéticas que han

producido diferentes cepas (Grange *et al.*, 1983). *M. bovis* BCG es utilizado como vacuna en niños recién nacidos para prevenir infecciones de tuberculosis en los países en vías de desarrollo y en aquellos países en los que la es considerada endémica esta enfermedad (Bezoz, 2011).

Distribución mundial

En el mundo hay 82 países que son afectados con esta patología, estos países notificaron la existencia de infecciones en ganado y también en fauna silvestre. Dos países que representan el 2.4% notificaron que solo habían observado casos de tuberculosis bovina en la fauna silvestre, por otro lado el 62.2 % que representan 51 países mencionaron que esta enfermedad solo había sido identificada en el ganado. Conjuntamente, 66 países que representa el 80.5% de los 82 países afectados facilitaron datos cuantitativos sobre los brotes a través de la interfaz WAHIS, esto demuestra que la transmisión de información sobre la situación mundial de esta enfermedad es relativamente buena (Kiyokasu *et al.*, 2019).

Se ha documentado la presencia de tuberculosis causada por *Mycobacterium bovis* en humanos en cuatro países de América Latina: Argentina, Ecuador, Brasil y Venezuela. También, se ha comprobado el vínculo entre casos de tuberculosis diagnosticados en EE. UU. y productos lácteos producidos en México con leche no pasteurizada (Kelso, 1995; Pollock y Neill, 2002; Vordermeier, 2003; Rivera y Giménez, 2010).

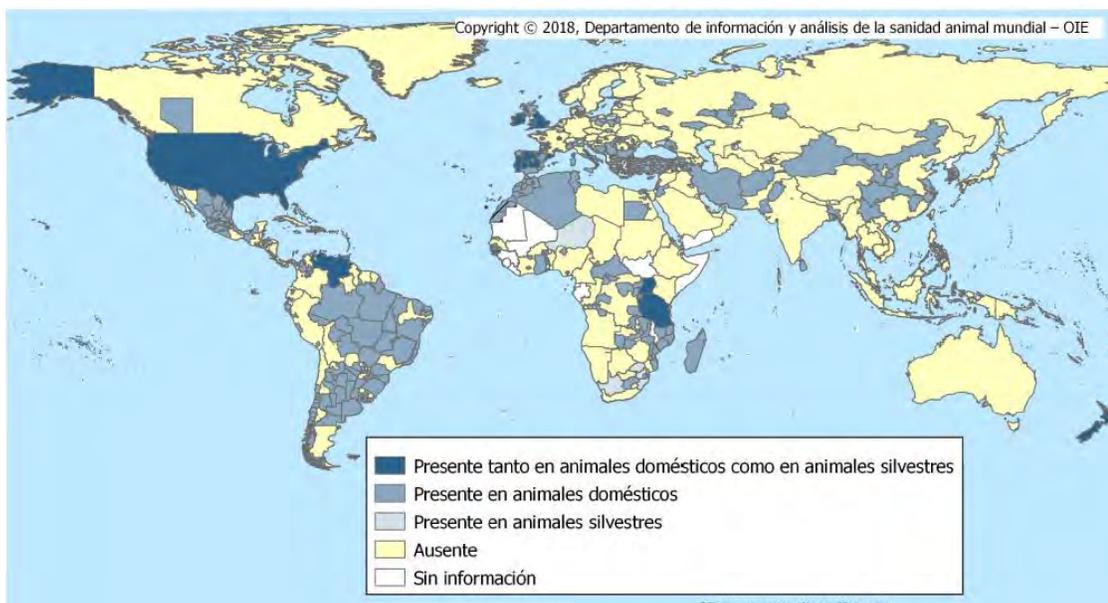


Figura 1. Distribución en el mundo de la tuberculosis bovina en 2017 y los primeros seis meses del 2018.

Antecedentes

La paleomicrobiología ha detectado el agente de la tuberculosis en esqueletos de animales y humanos que tienen miles de años (Cambau y Drancourt, 2014). La tuberculosis es una enfermedad antigua con una historia entrelazada con la evolución y migración de la humanidad, así como con los orígenes de la microbiología. *Mycobacterium tuberculosis* es un antiguo agente infeccioso de la raza humana, con evidencia de infección observada ya hace 5,000 años (Sakamoto, 2012). Se cree que el principal agente etiológico de la tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, evolucionó a partir de un progenitor temprano en África oriental hace 3 millones de años (Gutiérrez *et al.*, 2005).

Etiología

Mycobacterium bovis es el principal agente etiológico de la tuberculosis bovina (Prodinger *et al.*, 2005; Palmer, 2007). También afecta a muchos otros hospedadores, donde se incluye al hombre (Cosivi *et al.*, 1998; Duffy *et al.*, 2020).

La tuberculosis bovina es una enfermedad crónica. El patógeno puede transmitirse del ganado infectado a otros animales de sangre caliente y humanos a través de descargas de aerosoles, incluido el contacto con saliva, orina y estiércol; a través de sitios de alimentación y abrevadero; y consumiendo leche no pasteurizada o calostro de animales infectados. Los animales infectados con TBb son difíciles de identificar solo por los síntomas clínicos. En las primeras etapas de la infección, los animales infectados con TBb no muestran ningún signo clínico. En las etapas posteriores de la infección, los animales infectados pueden mostrar pérdida de peso, debilidad, neumonía, tos húmeda crónica y agrandamiento de los ganglios linfáticos. Las vacas infectadas también muestran una disminución en la producción de leche (Vertramo *et al.*, 2018).

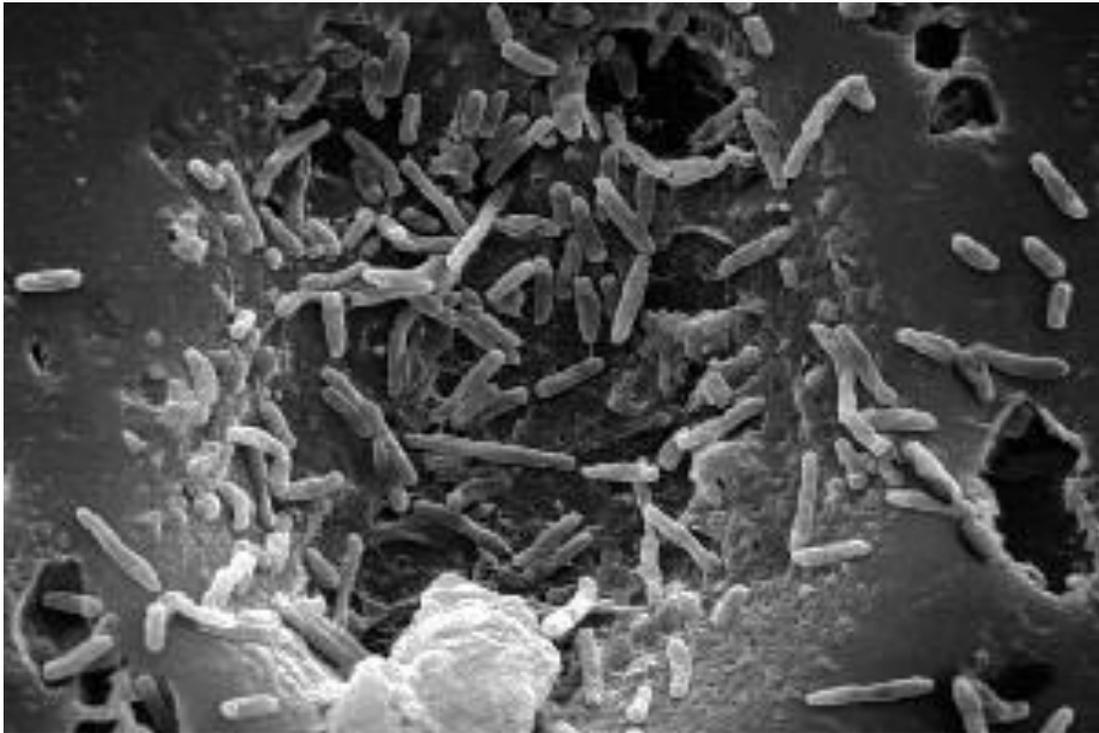


Figura 2. Microfotografía (microscopia electrónica de barrido) del desarrollo de *M. bovis*.

Morfología y resistencia

Son bacilos delgados de forma recta o ligeramente curvada, de tamaño de 1-10 μ de largo por 0.2-0.6 μ de ancho. Pueden formar ramificaciones verdaderas de forma ocasional pueden observarse en cultivos enriquecidos y en frotis de ganglios linfáticos. Son bacilos aerobios estrictos, inmóviles, sin cápsula, que no forman esporas y se tiñen con dificultad con la tinción de Gram (irregularmente gram-positivos) (Pérez del Molino *et al.*, 2002). El bacilo es resistente a los ácidos, álcalis y a la desecación; puede sobrevivir varios meses en ambientes fríos, en condiciones de humedad, oscuridad y temperaturas bajas. En invierno, resiste por 5 meses y en verano por dos meses en las heces (O Reilly y Daborn, 1995; Manyi-Loh *et al.*, 2016).

Epidemiología

La incidencia y epidemiología de la TBb varía ampliamente tanto a nivel internacional como local (Abernethy *et al.*, 2013). De los 300 millones de bovinos en América Latina y el Caribe, 80 millones se encuentran en países donde las tasas de infección por *Mycobacterium bovis* va de muy baja a nula. Los restantes 220 millones se encuentran en países con una prevalencia de moderada a alta, o simplemente no existen datos recientes disponibles (Rivera y Giménez, 2010). Las diferencias en la prevalencia de casos en rastros también pueden surgir debido a la naturaleza regionalizada de la enfermedad, por lo que un gran número de animales sacrificados de áreas de baja incidencia reducirá la prevalencia (Abernethy *et al.*, 2013). En el ganado lechero la infección tuberculosa está presente en la mayor parte de la región de América Latina y el Caribe con variedad en importancia. En la totalidad de los países se llevan a cabo actividades de control y vigilancia. Algunos se encuentran ya en la etapa de erradicación (Cuba, Costa Rica, Panamá, Uruguay) (Marrugo, 1996; De Kantor, 2008).

Patogenia

Las características patológicas de la tuberculosis en el ganado bovino se conocen bien a partir de estudios de campo y experimentales y, con pocas excepciones particulares, la mayor parte de este conocimiento se puede aplicar a otras especies domésticas, como cabras, ovejas, cerdos y caballos (Domingo *et al.*, 2010). La TBb presenta un proceso inflamatorio necrotizante caseoso granulomatoso crónico que afecta principalmente a los pulmones y sus ganglios linfáticos drenantes. Los cambios patológicos asociados con la infección por TBb reflejan la interacción entre los mecanismos de defensa del huésped y los factores de virulencia de las microbacterias y el equilibrio entre las respuestas protectoras inmunológicas y los procesos inflamatorios dañinos (Domingo *et al.*, 2010). Cuando un animal se infecta por la inhalación del agente infeccioso, las lesiones comúnmente son encontradas en el tracto respiratorio inferior y en la nasofaringe al ser la vía de infección la que determina el sitio y espectro de las lesiones causadas por *M. bovis* (Neill *et al.*, 2001). Siguiendo esta lógica, cuando el animal es infectado por el consumo de pastos, piensos o agua contaminados, suele causar lesiones de los ganglios linfáticos mesentéricos (Menzies y Neill, 2000) y pocas o nulas lesiones visibles en la pared intestinal (Domingo *et al.*, 2010). Se han descrito otras vías de transmisión de la infección, como la que se da por vía transplacentaria, vía genital o vía intramamaria, pero estas rutas son poco frecuentes, debido a que la mayoría de los países ya cuentan con mejores y más activos programas de erradicación de esta enfermedad y esto aporta a mejorar las situaciones epidemiológicas de las regiones (Vural y Tunca, 2001).

Factores de riesgo

La transmisión de *M. bovis* está influenciada por muchos factores, incluidas las características intrínsecas de la bacteria y el hospedador potencial, la persistencia de la bacteria en diferentes ambientes, la probabilidad de exposición de animales infectados. Por ejemplo, vectores y/o fómites de ganado o vida

silvestre y la eficacia de estrategias de control como la eliminación de animales infectados (Broughan *et al.*, 2016). Un factor de riesgo se define como una característica, que, en su presencia, aumenta la probabilidad de detección de infección, y puede ser causal o no causal (Thrusfield, 2007).

Transmisión

La exposición a *M. bovis* por aerosol se considera la vía más frecuente de infección del ganado bovino, pero la infección por ingesta de material contaminado también es posible (OIE, 2018). La transmisión de *M. bovis* está influenciada por muchos factores, incluidas las características intrínsecas de la bacteria y el hospedador potencial, la persistencia de la bacteria en diferentes ambientes, la probabilidad de exposición de animales infectados; por ejemplo, vectores y/o fómites de ganado o vida silvestre y la eficacia de estrategias de control como la eliminación de animales infectados (Broughan *et al.*, 2016).

Especies autóctonas de comadreja overa, zorro gris y rata son capaces de adquirir la infección de *Mycobacterium bovis* cuando comparten hábitat con bovinos con alto nivel de infección. En fauna silvestre se ha detectado la presencia de *Mycobacterium bovis* lo que demuestra que existe transmisión desde los bovinos hacia otros hospedadores (Abdala *et al.*, 2015). El consumo de leche sin pasteurizar infectada o sub-productos lácteos que se producen con esta leche infectada puede transmitir al hombre tuberculosis intestinal, cuando los aerosoles son la vía de entrada del agente infeccioso se produce tuberculosis de tipo pulmonar, o también pueden desarrollarse lesiones en piel cuando es inoculado de manera traumática durante la manipulación de carne proveniente de algún animal infectado en el matadero (Rivera y Giménez, 2010).

Inmunología de la infección

El sistema inmune de los bovinos produce varios tipos de respuesta inmunológica que depende del tipo de patógeno que lo infecta y de la progresión de la enfermedad. Una donde los linfocitos TCD8+ secretan citocinas tales como INF-

y el factor de necrosis tumoral α (TNF α); los linfocitos TCD4+ inflamatorios con patrón de citocinas IL-2, IFN- γ y TNF α o patrón de respuesta Th1 o T1 que son altamente efectivas contra infecciones intracelulares y caracteriza la respuesta del tipo celular. La respuesta humoral es estimulada por la intervención de linfocitos productores de citocinas tales como como IL-4, IL-5, IL-6 IL-10 constituyen el patrón de respuesta Th2 o T2, con esto se propicia la producción de anticuerpos de tipo IgG, IgA o IgE, dependiendo del estímulo proporcionado por el antígeno (Neill *et al.*, 2001). Después de infectarse pueden ser detectados granulomas nodulares del tipo no vascular que se denominan tubérculos. Estas lesiones tuberculosas muy características se encuentran con alta frecuencia en pulmón y en ganglio linfático retrofaríngeo, bronquial y mediastínico. Se han encontrado también lesiones en ganglios linfáticos mesentéricos, hígado, bazo, las superficies de las serosas y otros órganos (OIE, 2018; Palmer *et al.*, 2019).

Lesiones

La lesión macroscópica típica de la tuberculosis se conoce como tubérculo, que es un nódulo inflamatorio granulomatoso amarillento circunscrito de aproximadamente 2 a 20 mm de diámetro que está más o menos encapsulado por tejido conectivo y que a menudo contiene necrosis caseosa central y mineralización (Ahmad *et al.*, 2018). Histológicamente, los pequeños granulomas tuberculosos están formados por neutrófilos, epitelioides que a veces tienen citoplasma espumoso y algunas células gigantes multinucleadas tipo Langhans. Esta lesión crece con el tiempo y la necrosis caseosa se desarrolla en el centro del tubérculo y aparece como material eosinofílico amorfo con restos de células necróticas y mineralización central (Neill *et al.*, 2001).

La presencia de grandes lesiones necróticas caseosas que están mineralizadas, fibróticas y a menudo confluentes en un órgano (ya sea un órgano parenquimatoso o un ganglio linfático) da como resultado la clasificación de tuberculosis crónica (o posprimaria) que incluye el tejido u órgano afectado en el nombre. En el pulmón, la lesión crónica se caracteriza por la extensión a través del árbol bronquiolar y bronquial con necrosis caseosa confluyente multifocal y,

eventualmente, la formación de lesiones cavernosas en el interior del lóbulo inicialmente afectado (Liebana *et al.*, 2008; Domingo *et al.*, 2010).

Si la respuesta inmune inicial es ineficaz, una infección primaria puede generalizarse durante esta etapa inicial; este proceso se conoce como generalización temprana. De manera similar, la generalización puede ocurrir en la fase posprimaria o después de la reinfección, en cuyo caso se denomina generalización tardía. La generalización resulta de la diseminación hematógica o linfática de las micobacterias después de la erosión de pequeños vasos sanguíneos o linfáticos por el crecimiento de tubérculos (Domingo *et al.*, 2010).

Durante la fase de generalización, algunos animales pueden ser "anérgicos" y no mostrar ninguna reacción en las pruebas de CMI (ya sean pruebas de tuberculina o pruebas de IFN- γ en sangre) (Domingo *et al.*, 2010).

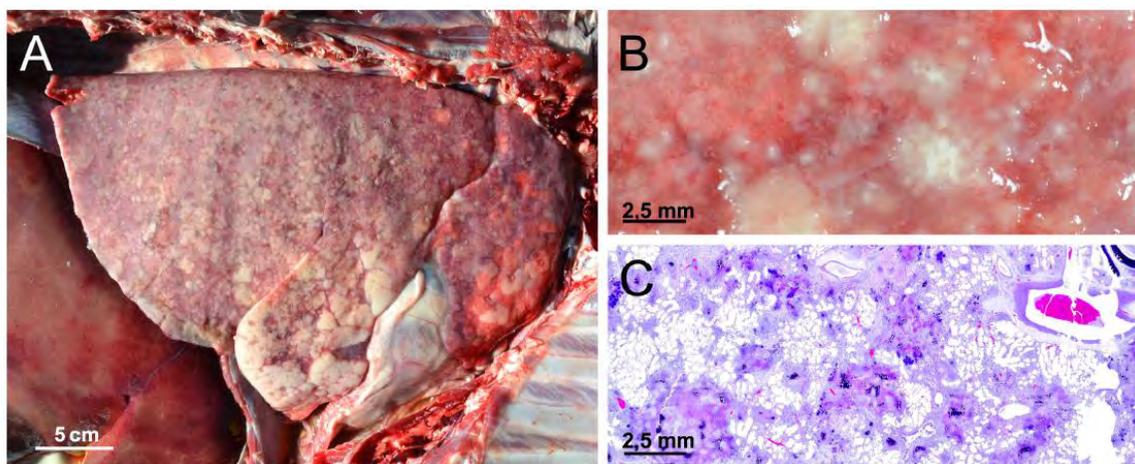


Figura 3. Tuberculosis miliar en el pulmón de una cabra. A. Vista lateral del pulmón derecho después de la extirpación de la pared torácica derecha. Se pueden encontrar múltiples granulomas pequeños, confluentes en todo el pulmón. B. Corte transversal del mismo pulmón que muestra granulomas miliares. C. Corte histológico del mismo pulmón con el mismo aumento que en B. Obsérvese la distribución multifocal de los granulomas miliares, que probablemente se originaron a partir de una diseminación hematológica masiva de micobacterias. Se utilizó tinción H&E (Domingo *et al.*, 2010).

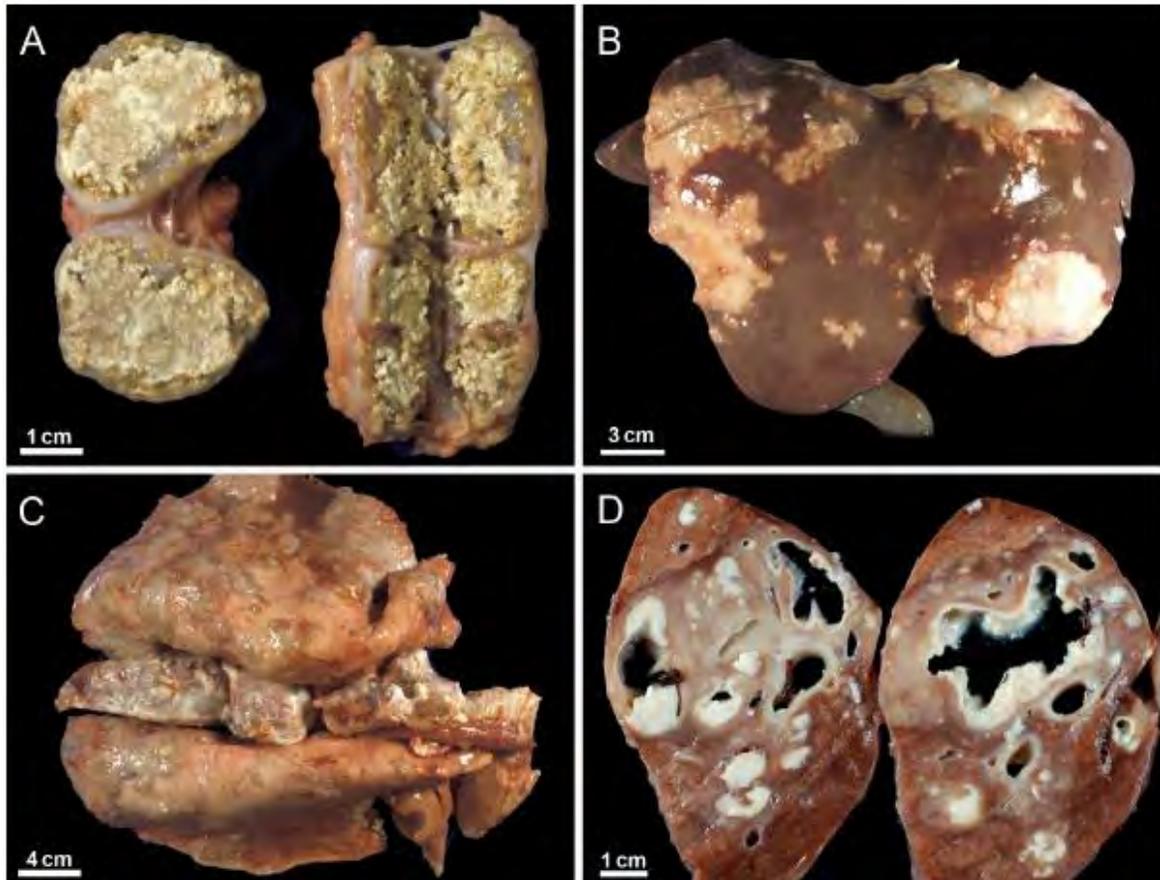


Figura 4. Tuberculosis en pequeños rumiantes domésticos. A. Ganglios linfáticos traqueobronquiales y mediastínicos de ovino. Granulomas confluentes con necrosis caseosa y mineralización. B y C. Lesiones granulomatosas multifocales en (B) el hígado de una oveja y (C) el pulmón de una cabra. Son evidentes el agrandamiento de los ganglios linfáticos torácicos y múltiples lesiones granulomatosas que afectan a todos los lóbulos pulmonares. D. Lesiones cavitarias extensas en el pulmón de una cabra. (Domingo *et al.*, 2010).

Infección primaria

La entrada de micobacterias a través de las membranas mucosas o en los espacios alveolares conduce al reconocimiento de los componentes de la pared celular bacteriana y a la activación de las vías de señalización inflamatoria en los fagocitos. A continuación, los macrófagos fagocitan las micobacterias y los neutrófilos son atraídos y acumulados en el sitio de la infección inicial. Estas

células interactúan con otras células involucradas en las respuestas inmunológicas innatas y adquiridas (Arentz y Hawn, 2007).

No existe una forma práctica de detectar infecciones latentes en el ganado, y sería necesario el examen y cultivo de muchos ganglios linfáticos diferentes en todo el cuerpo antes de declarar que una canal no está infectada. Independientemente del estado real de los animales que exhiben inmunidad mediada por células (CMI) a los antígenos de *M. bovis*, estos animales generalmente se sacrifican como una medida para controlar y erradicar la enfermedad en los hatos. Además, esta evaluación se mezcla y se confunde con los conocidos problemas de especificidad de la prueba cutánea de la tuberculina en bovinos (de la Rúa-Domenech *et al.*, 2006).

Después de la infección inicial, las células fagocíticas transportan fácilmente las micobacterias viables a través de los vasos capilares linfáticos hasta el ganglio linfático de drenaje, donde establecen un nuevo foco de infección. Esta infección dual se conoce como complejo primario y generalmente se subclasifica como completa o incompleta dependiendo de si ambas lesiones están presentes o falta la lesión en el sitio de entrada (McIlroy *et al.*, 1986).

Diagnóstico

Las pruebas de diagnóstico para la TBb van desde las que se utilizan en el ganado vivo [por ejemplo, prueba cutánea de tuberculina (TST) y análisis de sangre para interferón-gamma (IFN- γ) o anticuerpos] hasta la inspección post mortem confirmada con cultivo de *M. bovis*. El rendimiento de la prueba intrínseca varía con el perfil inmunológico del animal, la etapa de infección de la enfermedad y muchos otros factores (Thom *et al.*, 2006).

El análisis microbiológico es el utilizado para diagnosticar con certeza la tuberculosis. La estrategia de base para controlar esta enfermedad debe ser un rápido y correcto diagnóstico en animales con infección activa de tuberculosis y con mayor énfasis en enfermos basílicos. El buen diagnóstico y seguimiento

microbiológico de la tuberculosis está claramente reconocida y consensuada en todos los programas de control de la tuberculosis. (Pérez del Molino *et al.*, 2002).

Diagnóstico clínico

Se emite con alta dificultad ya que la falta de signos visibles en la mayor parte de los casos disminuye la capacidad de realizarlo en campo, muy pocos animales presentan enflaquecimiento progresivo, pelaje áspero y seco, diarreas intermitentes y lesiones pulmonares. Y aun cuando los animales muestran estos signos es aún difícil diferenciar a la tuberculosis de otras enfermedades con cuadros clínicos parecidos como lo son neumonías causadas por otros agentes, la paratuberculosis o mastitis, entre otras (Blood y Henderson, 2000; Contreras, 1999; Hamdan Alameri, 2020).

Métodos directos

Estos métodos a los que se denominan directos son aquellos que usan para detectar el agente causal de la tuberculosis como el cultivo, la histopatología, PCR (reacción en cadena de la polimerasa). De manera particular el cultivo y la histopatología, son usados para confirmar la presencia de *M. bovis* en tejidos obtenidos de la examinación en la necropsia o de secreciones nasales obtenidos de hisopados nasales, leche o calostro. Las tasas de detección para el cultivo, en general, oscilan entre 30 y 95% (Hines *et al.*, 2006; Robbe-Austerman *et al.*, 2013) mientras que en un estudio reciente que utilizó un enfoque bayesiano, la sensibilidad diagnóstica y la especificidad del cultivo fueron 78.1 y 99.1%, respectivamente (Courcoul *et al.*, 2014). Esta variación entre estudios puede explicarse por diferentes factores asociados a la técnica y las muestras, que pueden afectar el desempeño del método.

Las muestras que se obtienen de tejidos en los mataderos son en primer lugar la clave para el éxito en el cultivo. Los ganglios linfáticos anormales y los órganos parenquimatosos con lesiones compatibles con TBb siempre deben incluirse cuando estén presentes. Cuando no se manifiestan lesiones patológicas, se

deben tomar ganglios linfáticos específicos (retrofaríngeos, bronquiales, mediastínicos, supramamarios, mandibulares y mesentéricos) para examen y cultivo. La etapa de la descontaminación química y refrigerar las muestras o congelarlas hasta el momento del cultivo son un punto importante para considerar en segundo lugar, esto para disminuir los riesgos de contaminar la muestra con otros microorganismos.

Prueba bacteriológica

Esta prueba debe ser realizada post mortem, tiene algunas desventajas ya que el agente causal tiene un crecimiento lento en medios de cultivos. El aislamiento de *Mycobacterium bovis* necesita de aproximadamente de 6 a 8 semanas para su desarrollo. Después del aislamiento se procede a la tipificación en base de las siguientes características: desarrollo: crecimiento y morfología de las colonias. La muestra enviada en solución de borato de sodio se le practicará los exámenes de baciloscopía y cultivo, esta muestra debe ser trabajada dentro de los 10 días después de su obtención y deben tomarse en cuenta factores como la distancia del laboratorio en donde se procesa se recomienda considerar en promedio un lapso de 5. La muestra es triturada, descontaminada y sembrada en medios de cultivos especiales como Herrolds con o sin huevo, Middle Brook, Stonebrink, Petragnani, ATS y Lowenstein - Jensen. Los contenedores deberán someterse a incubación durante 9 semanas a una temperatura de 37 °C y cada semana se realizan las lecturas para anotar los tiempos de crecimiento y la formación de pigmentos. Las micobacterias que no son comúnmente aisladas, crecen más rápido en un promedio de 7 a 21 días, por otro lado, cuatro semanas son necesarias para comenzar el crecimiento de *Mycobacterium bovis* (SENASICA, 2015).

Prueba histopatológica

La muestra se recibe en un medio de formalina y se trabaja con la técnica de inclusión en parafina o congelación y así se obtienen cortes histológicos que se

colorean por el método de Hematoxilina-eosina y Ziehl-Neelsen y se observan al microscopio. Los resultados emitidos pueden ser:

1. Negativo a tuberculosis. – No se encontraron lesiones compatibles con tuberculosis.
2. Compatible con tuberculosis - Se encuentran lesiones por micobacteriosis típicas de tuberculosis y bacterias resistentes al ácido y alcohol.
3. Sugestivas de tuberculosis – En este caso se pueden ver granulomas típicos de tuberculosis, aquí no se localizan bacterias resistentes al ácido y alcohol.

Gracias a este análisis se puede encontrar la presencia de tuberculosis si existen lesiones microscópicas o macroscópicas en la muestra de origen (SENASICA, 2015; da Silva *et al.*, 2018).

Prueba de intradermotuberculización

Esta prueba es la usada generalmente para diagnosticar y controlar la tuberculosis desarrollada en el hombre y en los animales. Robert Koch científico que describió por primera vez la reacción a la tuberculina, como un ensayo para el inmunodiagnóstico de la tuberculosis en humanos, en 1891 (Contreras, 2000). Esta prueba tiene como fundamento inmunológico la reacción de hipersensibilidad retardada o de tipo IV. Esta prueba se realiza aplicando de manera intradérmica antígenos específicos de micobacterias (tuberculinas). Cuando se realiza una intradermotuberculización simple, se aplica únicamente derivado proteico purificado (PPD) extraída de *M. bovis* AN5 (PPD bovina). Otra variante de esta prueba es la intradermotuberculización comparada donde se inyectan PPD bovina y otra PPD extraída de *M. avium* subsp. *Avium* D4 ER (PPD aviar). La mayor ventaja de este tipo de prueba comparada es la mayor especificidad en detrimento de la sensibilidad, pues permite hacer un diagnóstico diferencial entre tuberculosis y la infección por otro tipo de micobacterias que no se incluyen dentro del complejo *M. tuberculosis* (Gutiérrez *et al.*, 1998; Álvarez *et al.*, 2008; Schiller *et al.*, 2010).

La inoculación suele realizarse en las tablas de cuello o en la región de la espalda (escápula), rasurando una zona de piel de unos 5 cm² para facilitar la medición y la lectura. Antes de la aplicación de la tuberculina, el veterinario realiza la medición de un pliegue de la piel en la región rasurada con ayuda de un cutímetro (en mm) y la anota para que esté disponible el día de la lectura. En la IDTBs se inyecta la PPD bovina: 100 µL de una concentración 1 mg/mL, conteniendo un mínimo de 2000 UI. Para definir de manera correcta las UI de alguna sustancia se estableció un acuerdo internacional emitido por el Comité de Estandarización Biológica de la Organización Mundial de la Salud, que proporciona una preparación de referencia de sustancias determinadas (de manera arbitraria) y establece el número de UI contenidas en esa preparación y especifica un procedimiento biológico que permite la comparación con otras preparaciones y con la preparación de referencia (Bezoz, 2011).

Según la legislación de la Unión Europea, el diagnóstico oficial de TBb se basa en la detección de la respuesta inmune celular (prueba única de tuberculina intradérmica) en animales reactivos (animales con prueba cutánea positiva), que es seguida por el sacrificio, examen histopatológico de ganglios linfáticos atípicos o agrandados, u órganos parenquimatosos con lesiones tipo tuberculosis (TBL) y/o cultivo de MTC en medio de aislamiento primario. Si bien se realiza un gasto económico sustancial para garantizar sistemas de vigilancia y programas de control eficientes, la detección y confirmación de la infección por TBb en los hatos bovinos, debería ser más confiable y rápida (Courcoul *et al.*, 2014).

Prueba PCR

Los problemas que genera el aislamiento de esta micobacteria, se debe considerar el diagnóstico de TBb utilizando el examen de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que utiliza oligonucleótidos específicos para amplificar los fragmentos de ADN en el genoma de bacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (Dametto *et al.*, 2020; Sánchez-Carvajal *et al.*, 2021). La PCR para el gen que codifica la proteína MPB70 tiene gran especificidad y buena sensibilidad para diagnosticar la tuberculosis en bovinos y en humanos. Se ha

confirmado la presencia de una sola copia de este gen en cepas de *M. bovis* y bacterias que forman parte del complejo *M. tuberculosis*, así como su ausencia en 24 especies diferentes de micobacterias y en otros géneros bacterianos. Por su especificidad han sido cuestionadas otras técnicas dirigidas contra secuencias de inserción (IS) a diferencia de la PCR contra MPB70.1 (Cousins *et al.*, 1991, 1992; De Kantor y Ritacco, 1994). La PCR en tiempo real (qPCR) dirigida a la secuencia de inserción IS6110 es una prueba confirmatoria eficiente que puede implementarse en los programas de control y vigilancia de la TBb, acortando el tiempo de respuesta para mantener a los tomadores de decisiones con notificaciones rápidas, y así reducir los costos económicos (Sánchez-Carvajal *et al.*, 2021)

Control y erradicación

Utilizando la interfaz WAHIS se analizaron los datos disponibles y se realizó un análisis de la aplicación las medidas para prevenir y controlar la tuberculosis bovina en cada país. Este análisis muestra que el 23% de los países con afectación si practicaban todas las medidas pertinentes para el control, como son la vigilancia activa, el sacrificio parcial o total de animales positivos y el control de los movimientos de ganado. El 62% de los países aplico al menos algunas de las medidas de control para la tuberculosis. El 3% no aplicó ninguna medida de prevención o control, se recomienda que estos países pongan mayor esfuerzo para el control de esta enfermedad. Los países que notificaron no tener casos de tuberculosis el 82% reporto la aplicación de al menos una de las medidas para prevenir la enfermedad, a saber, la vigilancia o el control fronterizo (Kiyikasu *et al.*, 2019). Un paquete personalizado de medidas de control, que aborde muchas vías de transmisión, que sea posible gracias a la identificación de factores de riesgo relevantes, probablemente sea el enfoque más eficaz para el control de la TBb (Broughan *et al.*, 2016).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El presente estudio fue realizado en el municipio de Matamoros, Coahuila, en una explotación lechera comercial (\approx 2000 vacas lecheras). Ésta se localiza en la carretera Filipinas km. 8 en el municipio de Matamoros del estado de Coahuila, México. Se encuentra en las coordenadas GPS: Longitud: 103°13'45 "W Latitud: 25.27'19 N. Durante el periodo de enero 2014 a diciembre 2019 se presentó una temperatura media anual de 23.7 °C; rango 3.4 a 42.8 °C).

Manejo de las vacas

Todos los aspectos de los procedimientos experimentales y condiciones de cuidado animal fueron aprobados por el Comité de Ética del Departamento de Investigación de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (protocolo 42520-3001-2258). En este estudio retrospectivo se incluyeron un total de 9312 lactancias (solo una lactancia por vaca, por lo que se cumplió el supuesto estadístico de independencia de las observaciones), generadas durante 2014 a 2019. La producción de leche promedio diaria anual fue de 34 kg. Las vacas se mantuvieron en corrales abiertos con piso de tierra equipados con sombreaderos de estructura metálica en el centro de los corrales y otros sombreaderos que cubrían los callejones de alimentación. Se instaló un sistema de nebulización debajo del techo de los cobertizos. Las vacas lactantes fueron alimentadas con dietas totalmente mezclas, dos veces al día y con aproximadamente 2.5% de rechazos del alimento (sobrante resultante de la alimentación a libre acceso). Estos residuos se eliminaron inmediatamente antes de cada alimentación matutina. La ración se calculó para cumplir con los requisitos nutricionales para sustentar la producción de 41 kg/día de leche para vacas que consumen 25 kg de MS/día según NRC (2001). Las vacas se ordeñaron diariamente a las 0600, 1400 y 2100 h.

Manejo de la salud

Las vacas fueron vacunadas anualmente contra enfermedades infecciosas que causan abortos. Las vacas también se vacunaron anualmente para prevenir la

pierna negra, el edema maligno, la enfermedad negra (hepatitis necrótica infecciosa), la gangrena gaseosa y la enteritis. Posteriormente, las vacas recibieron vacunación anual contra el carbunco. La prueba de tira de orina Ketostix® (Bayern, CD México, México) se utilizó para detectar la cetosis una semana después del parto, y la salud de la glándula mamaria se controló regularmente mediante la prueba de mastitis de California. Las pruebas cutáneas de tuberculina consistieron en la inyección de 0.1 cc de derivado proteico purificado de bovino, aplicada aproximadamente 5 cm por debajo de la base de la cola en el pliegue caudal. Las reacciones se leyeron 72 h después de la inyección y los animales reactivos fueron aquellos con un espesor de piel aumentado >4 mm en comparación con el espesor de la preinyección, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana, Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina (NOM-031-ZOO-1995). Esta prueba se realizó dos veces al año en todos los animales de más de 6 meses de edad. Los animales positivos se apartaron en un corral separado y se sacrificaron al final de la lactancia. Además, todas las vacas fueron examinadas periódicamente para detectar brucelosis y los reactivos seropositivos a las pruebas de filtro se descartaron una vez finalizada la lactancia.

Manejo reproductivo

Se aplicó una dosis i.m. de 25 mg. de PGF₂α (Lutalyse®, Zoetis, CD México, México) 40 días después del parto para mejorar la involución uterina. Una semana después se aplicó la hormona liberadora de gonadotropinas (Fertagil®, MSD Salud Animal México). Una semana después, se aplicaron dos inyecciones de PGF₂α con 11 días de diferencia para sincronizar el estro. Se utilizó semen comercial congelado-descongelado de 74 toros de alto mérito genético de los EE. UU. Los diagnósticos de gestación se realizaron a los 45 ± 3 días desde la última IA registrada por el veterinario del hato. La pérdida de gestación entre 42 y 48 (diagnóstico de gestación por palpación por recto) y a los 260 días de gestación se consideró un aborto (Thurmond and Picanso, 1990). La mayoría de estas vacas presentaban fetos sin vida reconocibles expulsados o tenían membranas extraembrionarias o resultaron negativas a la segunda palpación realizada entre 105 y 145 días después de la inseminación. La metritis puerperal se definió como

vacas que presentaban un útero anormalmente agrandado con una secreción uterina fétida y acuosa de color rojo-marrón (Sheldon *et al.*, 2006). Se asignó una puntuación de condición corporal a las vacas en el parto utilizando el sistema de puntuación de 5 puntos, donde 1 indica condición emaciada y 5 indica obesidad severa (Ferguson *et al.*, 1994).

Análisis estadístico

La variable de respuesta para los factores de riesgo a nivel de vaca fue binomial, con vacas clasificadas como negativas o positivas/reactoras a TBb. Se realizó un proceso de selección para detectar variables candidatas explicativas utilizando un modelo de regresión logística con vaca como efecto aleatorio ajustado con el procedimiento step-wise y eliminación hacia atrás utilizando el procedimiento LOGISTIC (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Las variables se retuvieron en el modelo multivariable si $P < 0.10$ o si la eliminación de la variable cambiaba las estimaciones de otras variables en un 20% o más, lo que indica evidencia de alteración por una de las variables. El modelo preliminar contenía las siguientes variables potencialmente explicativas: paridad (primíparas versus multíparas) ocurrencia de partos prematuros, parto distócico o gemelar; seropositividad a la brucelosis; la aparición de metritis puerperal (sí vs. no); ocurrencia de aborto (sí versus no); la ocurrencia de cetosis subclínica (sí vs. no); abomaso desplazado (sí vs. no); edad al primer parto (<720 o >720 días); producción máxima de leche al pico de lactancia (<48 vs. >48 kg); días hasta la producción máxima de leche (<60 vs. >60 kg); días totales en leche; ocurrencia de mastitis (sí vs. no); días secos (<60 o >60 días). Variables adicionales fueron la producción de leche a los 305 días (<10,200 vs. >10.200 kg); producción total de leche (<11,500 vs. >11.500 kg); y producción total de leche en la primera lactancia (<10,200 vs. >10,200 kg). Los valores de corte para las características de la leche se basaron en valores por encima o por debajo de la media. Los factores causantes de alteración identificados fueron el total de terneros producidos por las vacas durante su vida útil y temporada de parto (invierno contempló los meses de enero-marzo;

primavera, abril-junio; verano, julio-septiembre; y otoño, octubre-diciembre); por lo tanto, este conjunto de variables se incluyó en el modelo multivariado para controlar estos factores de confusión. El año de parto al momento de inicio de la lactancia se añadió al modelo como covariable. Se utilizó el procedimiento GENMOD de SAS para evaluar el efecto de \bar{x} producción total de leche/lactancia sobre la incidencia de rectoras a TBb. Las medias de los grupos se compararon utilizando la opción LSMEANS/PDIFF de SAS. Los modelos de regresión logística mixta multivariado produjeron odds ratios (OR) como estimaciones de la fuerza de asociación entre los factores de riesgo potenciales y las rectoras a la TBb. La probabilidad acumulada de la duración de la lactancia a un tiempo definido después del parto se determinó utilizando las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier producidas con el software estadístico Statgraphics Centurion XV (Statpoint Technologies Inc., Warrenton, VA, EE. UU.). La asociación entre la producción de leche por lactancia y el porcentaje de vacas rectoras a TBb se evaluó utilizando el software CurveExpert Professional 2.5.6 (Hyams Development, Madison, AL). Para todos los análisis estadísticos, los valores con $P < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

RESULTADOS

La tasa de incidencia de vacas lactantes rectoras a TBb entre 2014 y 2019 fue de 7.3 casos/100 vacas por año. Los factores de riesgo relacionados con las características de la leche ajustados para el número total de terneros producidos durante la vida útil de la vaca y la temporada de parto se enumeran en la Tabla 1. Las vacas con una producción total de leche en su primera lactancia $\geq 10,200$ kg fueron 1.3 veces ($P < 0.01$) más susceptibles de resultar rectoras a TBb en comparación con vacas con $< 10,200$ kg. La proporción de vacas que reaccionaron a la prueba de tuberculina fue casi tres veces mayor en vacas con una producción de leche/lactancia total promedio $> 11,500$ kg en comparación con la observada en vacas cuya producción total de leche/lactancia fue $< 11,500$ kg. Las comparaciones entre los dos grupos con diferentes picos de producción de leche mostraron que aquellos con > 48 kg tuvieron dos veces más probabilidades ($P < 0.01$) de ser rectoras a TBb que las vacas con menores picos de producción

de leche (Tabla 1). Las vacas que produjeron > 10,200 kg en 305 días tuvieron 1.3 más probabilidades de ser rectoras a la TBb, en comparación con las vacas con una producción de leche a los 305 días >10,200 kg (Tabla 1). La Figura 1 muestra la asociación entre la producción total de leche y la proporción de rectoras a TBb. La incidencia de TBb fue más baja ($P < 0.01$) en vacas con producción total de leche <9,200 kg, luego los animales rectoras a TBb aumentaron poco ($P > 0.05$) entre 9,200 y 12,400 kg de producción total de leche. Pero cuando la producción total de leche fue mayor que 13,200 kg, hubo una marcada aceleración ($P < 0.01$) de vacas rectoras a tuberculina, con una tendencia a disminuir con más de 14,000 kg de producción total de leche. Las curvas de Kaplan-Meier mostraron un aumento ($P < 0.01$) promedio de días en leche asociado con una reacción positiva a la prueba cutánea de tuberculosis (Fig. 5). Las vacas que padecieron metritis puerperal fueron menos propensas a reaccionar a la TBb en comparación con las vacas sin este trastorno reproductivo (Tabla 2). Del mismo modo, las vacas que tuvieron gemelos tuvieron menos probabilidades de ser rectoras a TBb que las compañeras del hato que parieron un solo ternero.

Cuadro 1. Odds ratios e intervalos de confianza (IC) del 95% para los efectos de varios rasgos de la leche en la seropositividad a tuberculosis de vacas Holstein de alta producción de leche (n = 9312).

Variables	Incidencia	Odds ratio (OR)	95% IC, OR	P valor
Producción total de leche 1era lactancia				0.0002
>10,200 kg	8.2 (394/4796)	1.3	1.2-1.6	
<10,200 kg	6.4 (288/4516)	Reference		
\bar{x} total de producción / lactancia				<0.0001
>11,500 kg	10.4 (490/4703)	2.7	2.3-3.3	
<11,500 kg	4.2 (192/4609)	Reference		
Leche al pico de producción de la última lactancia				<0.0001
>48 kg	9.2 (466/5079)	1.9	1.6-2.2	
<48 kg	5.1 (216/4233)	Reference		
305-días de producción de leche de la última lactancia				0.0007
>10,200 kg	8.2 (394/4796)	1.3	1.1-1.5	
<10,200 kg	6.4 (288/4489)	Reference		

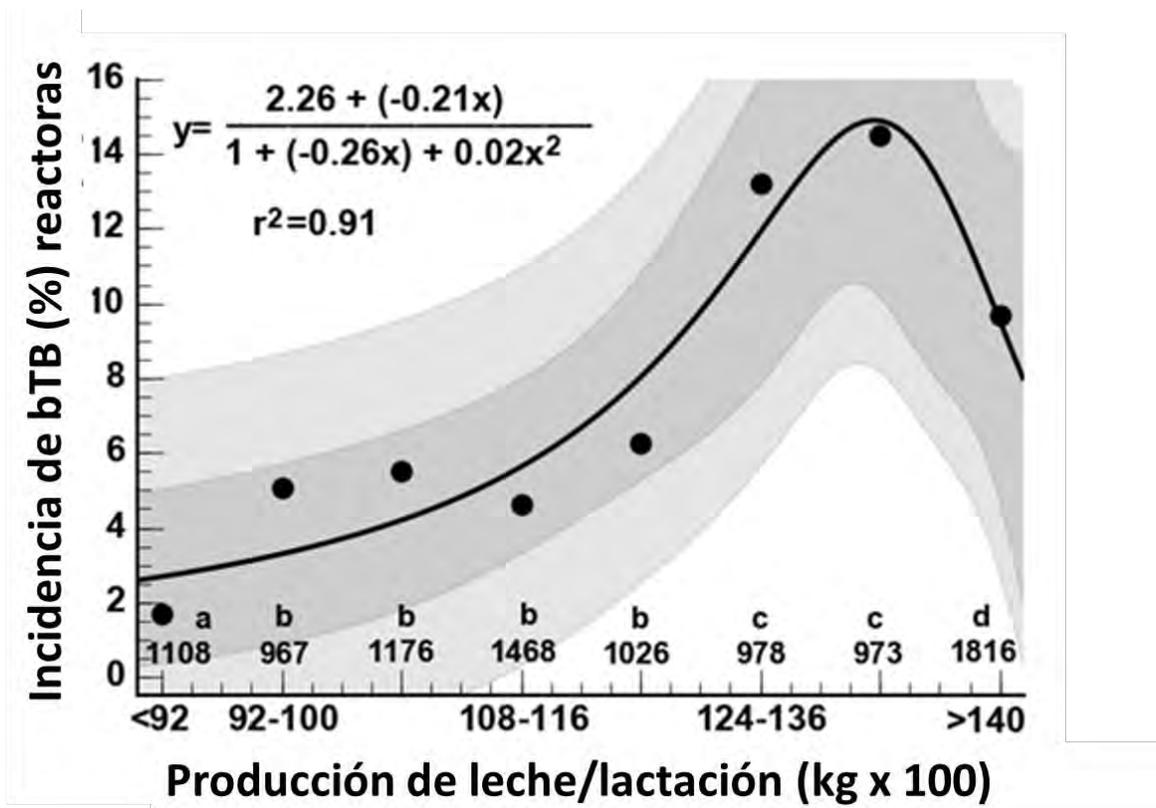


Figura 5. Asociación entre la producción de leche promedio por lactancia (una a ocho lactancias) y positivas a la prueba de tuberculina (TB) en vacas Holstein de alto rendimiento. Los valores por encima del eje x son el número de observaciones. Las incidencias con letra diferente difieren ($P < 0.01$). Las bandas más oscuras son intervalos de confianza del 95% para los valores estimados. Las bandas más claras son intervalos de confianza del 95% para valores reales.

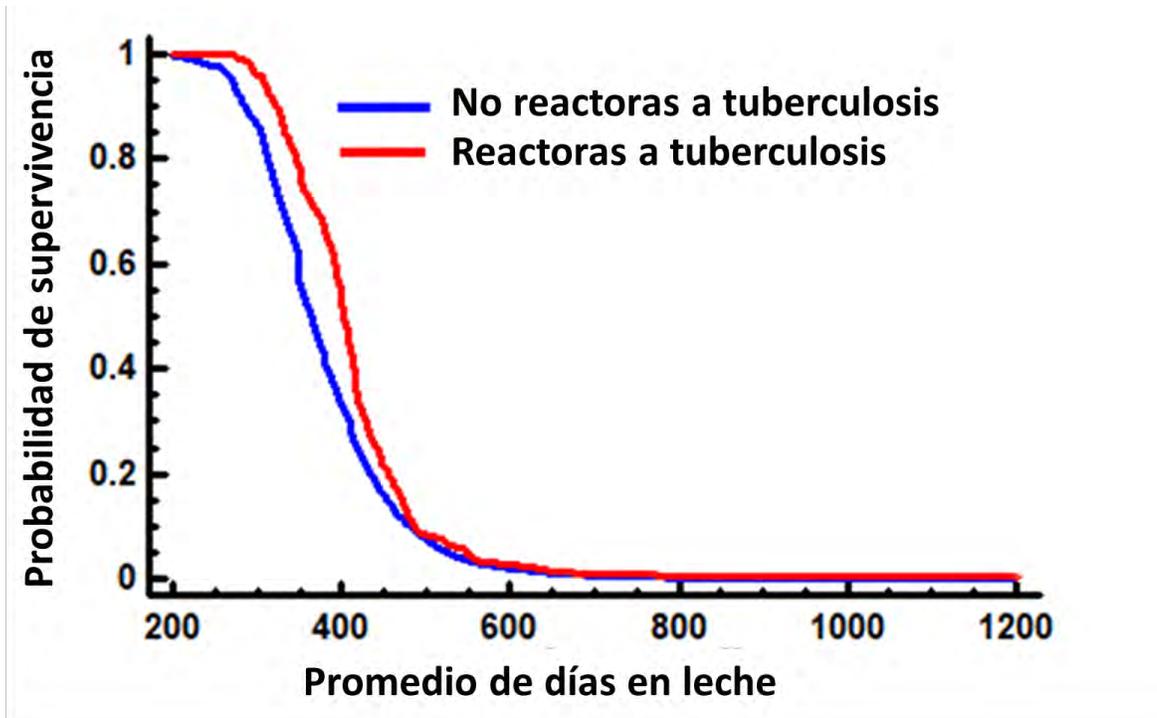


Figura 6. Análisis de supervivencia de Kaplan-Meier para vacas reactivas y no reactivas a la tuberculosis. Las vacas que no reaccionaron tuvieron una lactancia más corta (75.0% de las vacas presentaron 321 días en leche) que las vacas positivas a tuberculosis (75.0% de las vacas presentaron 354 días en leche; $P < 0.0001$; prueba de Wilcoxon).

Cuadro 2. Odds ratios e intervalos de confianza (IC) del 95% para los efectos de la ocurrencia de metritis puerperal y gemelos sobre el reactor a tuberculosis en vacas Holstein de alta producción de leche (n = 9312).

VARIABLES	INCIDENCIA	ODDS RATIO (OR)	95% IC, OR	P VALOR
Metritis puerperal				0.0148
Si	5.4 (65/1207)	0.7	0.5-0.9	
No	7.6 (617/8105)	Referencia		
Gemelos				<0.0001
Si	0.4 (2/493)	0.05	0.01-0.19	
No	7.7 (680/8819)	Referencia		

DISCUSIÓN

Una fortaleza notable de este estudio fue el gran número de vacas rectoras a TBb, que permitió inferir con bastante precisión una relación de causa y efecto entre factores de riesgo y vacas rectoras a TBb con la prueba del pliegue caudal. Sin embargo, una debilidad de este estudio es que algunas vacas diagnosticadas negativas a la prueba del pliegue caudal pueden presentar lesiones de TBb (37.2%; Sinclair *et al.* 2016) o pueden resultar positivas a TBb con pruebas paralelas de IFN γ o ELISA (2.6%; Al-Mouqatea *et al.*, 2018). Una limitación adicional del presente estudio es que los resultados se basan en un solo hato, y los resultados no pueden extrapolarse hasta que se hayan considerado más explotaciones lecheras de esta zona. La tasa de prevalencia de las vacas rectoras a TBb en el presente estudio es cercana a la encontrada en ganado criado en un sistema extensivo (Awah-Ndukum *et al.*, 2012; Mondal *et al.*, 2014) o ganado bien alimentado (Norby *et al.*, 2004). El riesgo de tener una prueba cutánea de TBb positiva en vacas fue más probable en vacas con mayor producción total de leche durante su primera lactancia que en vacas primíparas

con menor potencial de producción de leche. Existen pocos hallazgos indiscutibles sobre la relación entre la producción de leche y la incidencia de ciertas enfermedades (Fleischer *et al.*, 2001), porque la ocurrencia de enfermedades es multifactorial y las condiciones de manejo y la cría juegan un papel importante. Las diferencias en la prevalencia de TBb entre vacas jóvenes con producción de leche alta y moderada puede deberse, en parte, a la mayor demanda de energía y nutrientes para la síntesis de calostro y leche en las vacas de alto rendimiento, junto con una menor ingesta de alimento que conduce a un mayor balance energético negativo (NEB; Contreras *et al.*, 2018). Los ácidos grasos no esterificados (NEFA) y el β -hidroxibutirato (BHBA) aumentan en la sangre cuando las vacas presentan un balance negativo de energía (Esposito *et al.*, 2014) y estos metabolitos suprimen la respuesta inmune (Ster *et al.*, 2012; Vanacker *et al.*, 2020) que consecuentemente conduce a las enfermedades infecciosas (Goff, 2006). Sin embargo, el estado de NEB es transitorio después del parto; por lo tanto, deben resolverse los mecanismos que median los efectos de la alta producción de leche sobre el aumento del riesgo de reacción positiva a la prueba de la tuberculina. Otra posible explicación del vínculo entre la alta producción de leche y una mayor probabilidad de positividad en la prueba cutánea de TBb es la mayor y más pronunciada pérdida de puntaje de condición corporal en vacas de mayor capacidad de producción de leche (Gallo *et al.*, 1996). Se cree que las puntuaciones de la condición corporal del ganado están relacionadas con la prevalencia de *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* (McKenna *et al.*, 2004). Esto sugiere un efecto directo negativo a largo plazo de la producción de leche sobre las probabilidades de convertirse en una vaca reactiva. La movilización de lípidos más intensa en vacas de alta producción de leche posiblemente afectó negativamente la capacidad de fagocitosis y el estallido oxidativo de los leucocitos polimorfonucleares y la proliferación de las funciones de las células mononucleares de sangre periférica (Vanacker *et al.*, 2020). Esto haría que las vacas fueran más propensas a convertirse en reactivas, lo que respalda la hipótesis de que las vacas de alta producción de leche tienen mayores probabilidades de convertirse en un reactor a TBb en comparación con

las vacas con menor capacidad de producción de leche. La lipogénesis y la lipólisis del tejido adiposo ligadas a la producción de leche y que desencadenan la expresión de muchos genes que controlan la inflamación y los procesos inmunes (Rocco y McNamara, 2013) pueden desempeñar un papel en la predisposición a la reacción a TBb en las vacas lecheras, posiblemente al comprometer el sistema inmunológico debido a un proceso metabólicamente alto. (Viney *et al.*, 2005; Swangchan-Uthai *et al.*, 2013; Kvidera *et al.*, 2017). Tanto un alto pico de lactancia como la producción de leche a 305 días se asociaron significativamente con las probabilidades de las vacas a convertirse en rectoras a TBb, lo que respalda la opinión de que las vacas que experimentan un balance energético negativo severo experimentan un estado de inmunosupresión y tienen un mayor riesgo de reaccionar positivamente a la prueba cutánea de TBb. La imagen que arrojó este estudio fue que las tasas más altas de rectoras a TBb están asociadas con una mayor capacidad de producción de leche en vacas Holstein de alto rendimiento. Estos resultados están parcialmente de acuerdo con los datos de Kemal *et al.* (2019) e Inangolet *et al.* (2008) donde las vacas lactantes tenían más probabilidades de reaccionar positivamente a la tuberculina bovina en comparación con las vacas no lactantes. Por otro lado, los resultados del presente estudio son inconsistentes con los reportados por Brotherstone *et al.* (2010) quien señaló que las vacas lecheras de múltiples hatos en Gran Bretaña que presentan un mayor mérito genético para la producción de leche tenían menos probabilidades de ser susceptibles a la TBb. Además, Boland *et al.* (2010) observaron que la producción de leche fue significativamente menor en las vacas detectadas como rectoras a TBb que en las vacas que no reaccionaron a esta prueba. Esta contradicción puede explicarse por las características contrastantes de los sistemas de producción de leche. Los datos utilizados en el presente estudio se obtuvieron de un solo hato lechero bien administrado, con lactancias completas de vacas de alta producción de leche (producción de leche diaria promedio de 34 kg), un buen programa de prevención de enfermedades y en un ambiente muy caluroso. En estudios de Irlanda y Gran Bretaña, los datos provenían de cientos de hatos con grandes diferencias en los

sistemas de alimentación y manejo, donde los casos clínicos de TBb son muy raros y hay una rápida remoción de las vacas rectoras a TBb. La ocurrencia de metritis puerperal se asoció significativamente con menos vacas que se convirtieron en rectoras a TBb. Esta asociación no es clara, pero un posible escenario es que la función inmune innata de las vacas puede mejorarse durante la infección uterina, ya que las vacas con infección uterina activa tienen alteraciones en el sistema inmunológico periférico posparto (Hine *et al.*, 2011; Machado y Silva 2020), y los efectos de la metritis puerperal sobre el sistema inmunológico persisten semanas después de que se haya resuelto la inflamación uterina (Magata *et al.*, 2016). Por lo tanto, existen alteraciones a largo plazo de las respuestas inmunitarias sistémicas que posiblemente permitan que las vacas sean más capaces de reducir la susceptibilidad a la reacción a la prueba de TBb. El parto gemelar también fue un factor de protección para convertirse en un animal reactor a TBb. El parto gemelar es un factor de riesgo importante asociado con el desarrollo de metritis (Hosseini-Zadeh y Ardalan, 2011) y, por lo tanto, el efecto del parto gemelar podría estar mediado por un aumento de la competencia inmunitaria sistémica en vacas con metritis (Sheldon *et al.*, 2019), lo que conduce a una disminución de la susceptibilidad a TBb. En el presente estudio, no hubo diferencia en las tasas de reacción entre las vacas primíparas y multíparas, lo que concuerda con los hallazgos de Akinseye *et al.* (2018) en bovinos bajo un sistema de pastoreo y Ghebremariam *et al.* (2016) en pequeños productores de leche. Otros autores han encontrado que las tasas de vacas rectoras aumentaron con la edad durante los primeros 2-3 años de vida, permaneciendo constante o disminuyendo en vacas viejas en regiones de alta incidencia de Gran Bretaña (Brooks-Pollock *et al.*, 2013). Otros estudios en comunidades de cría de ganado en Camerún han encontrado una mayor prevalencia de TBb entre los bovinos adultos que entre los animales más jóvenes (Awah-Ndukum *et al.*, 2012). Estas discrepancias resaltan que los patrones dependientes de la edad varían con los sistemas de producción y la raza de las vacas. Los resultados del presente estudio ayudarán a dilucidar el patrón de vacas rectoras a TBb en vacas Holstein de alta producción de leche.

La regresión logística generó un valor de $P > 0.05$ para los trastornos metabólicos y reproductivos derivados del parto, como distocia, aborto, placenta retenida, cetosis y metritis, lo que indica una fuerte evidencia a favor de la hipótesis nula de que no hay una correlación entre las enfermedades periparto y las vacas que se convierten en rectoras a TBb. Las vacas rectoras a TBb presentaron más lactancias prolongadas no planeadas, como resultado de un marcado retraso en su fecundación post-parto que las vacas que no reaccionaron a la prueba de tuberculina. Las lactancias prolongadas se debieron a que no pudieron concebir dentro de los 6 meses posteriores al parto o porque las vacas no pudieron quedar preñadas durante la lactancia. Mellado *et al.* (2015) encontraron que la tasa de preñez es más baja en las vacas rectoras a TBb que en las vacas sanas, lo que explica la mayor duración de la lactancia en las vacas positivas a la prueba cutánea de tuberculina.

CONCLUSIONES

La evidencia epidemiológica presentada en el presente estudio demuestra que varios rasgos de la producción de leche indicativos de una alta capacidad de producción de este alimento, ya sea temprano en la vida o durante la vida adulta de las vacas Holstein de alto rendimiento, son factores de riesgo importantes para que las vacas resulten positivas a la prueba de tuberculosis. Por lo tanto, en las circunstancias actuales, los programas de control de la tuberculosis en los sistemas de producción de leche intensivos reducirían inevitablemente las vacas de mayor capacidad de producción de leche.

REFERENCIAS

- Abdalaa, A., Garbaccio S., Zumárraga M., Tarablaa, D.H., 2015. *Mycobacterium bovis* en fauna silvestre de la cuenca lechera de Santa Fe, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 47, 174-182.
- Abernethy, D.A., Upton, P., Higgins, I. M., McGrath, G., Goodchild, A.V., Rolfe, S. J., Broughan, J.M., Downs, S.H., Clifton-Hadley, R., Menzies, F.D., de la Rua-Domenech, R., Blissitt, M.J., Duignan, A., More, S.J., 2013. Bovine tuberculosis trends in the UK and the Republic of Ireland, 1995-2010. *The Veterinary Record* 172(12), 312.
- Aboukhassib, H., Haraji, M., Bouslikhane, M., Bitar, A., 2016. Bovine tuberculosis: clinical presentation and diagnosis. *Journal of Bacteriology and Mycology* 3(2), 214-217.
- Ahmad, I., Kudi C.A., Abdulkadir A.I., Saidu S.N., Chafe U.M., Abdulmalik Z., 2018. *Open Veterinary Journal* 8(4), 463-470.
- Akinseye, V.O., Adebayo, M.D., Genesis, O.O., Adelokun, O.D., Cadmus, S.I.B., 2018. Prevalence and risk factors of mycobacterial infections in farm and trade cattle in southwestern Nigeria. *Tropical Animal Health and Production* 50, 761–772.
- Al-Mouqatea, S., Alkhamis, M., Akbar, B., Ali, A., Al-Aqeel, H., BinHeji, A., Razzaque, M., Alvarez, J., Perez, A., 2018. Bayesian estimation of ELISA and gamma interferon test accuracy for the detection of bovine tuberculosis in caudal fold test–negative dairy cattle in Kuwait. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 30, 468– 470.
- Alvarez, J., de Juan, L., Bezos, J., Romero, B., Sáez, J.L., Reviriego-Gordejo, F.J., Briones, V., Moreno, M.A., Mateos, A., Domínguez, L., Aranaz, A., 2008. Interference of paratuberculosis with the diagnosis of tuberculosis in a goat flock with a natural mixed infection. *Veterinary Microbiology* 128(1-2), 72–80.

- Arentz, M., Hawn, T.R., 2007. Tuberculosis Infection: Insight from Immunogenomics. *Drug discovery today. Disease mechanisms*, 4(4), 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.ddmec.2007.11.003>
- Awah-Ndukum, J., Kudi, A.C., Bradley, G., Ane-Anyangwe, I., Titanji, V.P.K., Fon-Tebug, S., Tchoumboue, J., 2012. Prevalence of bovine tuberculosis in cattle in the highlands of Cameroon based on the detection of lesions in slaughtered cattle and tuberculin skin tests of live cattle. *Veterinari Medicina* 57, 59–76.
- Bezoz, G.J., 2011. Tuberculosis caprina: Estudio de la respuesta inmune y aportaciones a su diagnóstico. Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria. Tesis doctoral. [En línea Noviembre 2021 <https://www.visavet.es/data/tesis/tuberculosis-caprina-estudio-de-la-respuesta-inmune-y-aportaciones-a-su-diagnostico.pdf>].
- Blood, D.I., Henderson, J.A., 2000. *Medicina Veterinaria*. 6ta Edición. Editorial
- Boland, F., Kelly, G.E., Good, M., More, S.J., 2010. Bovine tuberculosis and milk production in infected dairy herds in Ireland. *Preventive Veterinary Medicine*, 93, 153–161.
- Brooks-Pollock, E., Conlan, A.J., Mitchell, A.P., Blackwell, R., McKinley, T.J., Wood, J.L., 2013. Age-dependent patterns of bovine tuberculosis in cattle. *Veterinary Research* 44, 97.
- Brotherstone, S., White, I.M.S., Coffey, M., Downs, S.H., Mitchell, A.H., Clifton-Hadley, R.S., More, S.J., Good, M., Woolliams, J.A., 2010. Evidence of genetic resistance of cattle to infection with *Mycobacterium bovis*. *Journal of Dairy Science* 93, 1234–1242.
- Broughan, J.M., Judge, J., Ely, E., Delahay, R.J., Wilson, G., Clifton-Hadley, R.S., Goodchild, A.V., Bishop, H., Parry, J.E., Downs, S.H., 2016. Review article a review of risk factors for bovine tuberculosis infection in cattle in the UK and Ireland. *Epidemiology and Infection* 144, 2899–2926.
- Burrells, C., Inglis, N.F., Davies, R.C., Sharp, J.M. Detection of specific T cell reactivity in sheep infected with *Mycobacterium avium* subspecies *silvaticum*

and paratuberculosis using two defined mycobacterial antigens. *Veterinary immunology and immunopathology* 45(3-4), 311–320.

- Byrne, A.W., Graham, J., Brown, C., Donaghy, A., Guelbenzu-Gonzalo, M., McNair, J., Skuce, R., Allen, A., McDowell S., 2017. Bovine tuberculosis visible lesions in cattle culled during herd breakdowns: the effects of individual characteristics, trade movement and co-infection. *BMC Veterinary Research* 13, 400.
- Cambau, E., Drancourt M., 2014. Pasos hacia el descubrimiento de *Mycobacterium tuberculosis* por Robert Koch, 1882. *Clinical Microbiology and Infection*.
- Collins, D.J., 2006. Tuberculosis in cattle: Strategic planning for the future. *Veterinary Microbiology* 112, 369-381.
- Contreras, J.A. 2000. Enfermedades de los bovinos. 2da Edición. Editorial Bogue. Barquisimeto. Pp. 560-583.13. Corner, LA.
- Contreras, G.A., Strieder-Barboza, C., De Koster, J., 2018. Symposium review: Modulating adipose tissue lipolysis and remodeling to improve immune function during the transition period and early lactation of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 101, 2737-2752.
- Contreras, J.A., 1999. Enfermedades de los bovinos: Distrito Capital, Venezuela: Coordinación Lara. ISBN: 978-980-303-533-4.
- Coscolla, M., Gagneux, S., Menardo, F., Loiseau, C., Ruiz-Rodriguez, P., Borrell, S., Otchere I., Asante-Poku A., Asare, P., Sánchez-Busó, L., Gehre, F., Sanoussi, C., Antonio, M., Affolabi, D., Fyfe, J., Beckert, P., Niemann, S., Alabi, A., Grobusch, M., Kobbe, R., Parkhill, J., Beisel, C., Fenner, L., Böttger, E., Meehan, C., Harris, S., de Jong B., Yeboah-Manu, D., Brites D., 2021. Phylogenomics of *Mycobacterium africanum* reveals a new lineage and a complex evolutionary history. *Microbial Genomics* 7, 000477.

- Cosivi, O., Grange, J., Daborn, C., Raviglione, M., Fujikura, T., Cousins, D., Robinson, R.A., Huchzermeyer, H.F.A.K., Kantor, I., Meslin, F., 1998. Synopses zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emerging Infectious Diseases* 4, 59-70.
- Cosivi, O., Meslin, F.X., Daborn, C.J., Grange, J.M., 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans, with particular reference to Africa. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* 14(3), 733–746.
- Courcou, A., Moyen, J-L., Brugère, L., Faye, S., Hénault, S., Gares, H., Boschioli, M.L., 2014. Estimation of sensitivity and specificity of bacteriology, histopathology and PCR for the confirmatory diagnosis of bovine tuberculosis using latent class analysis. *PLoS ONE* 9, e90334.
- Cousins, D.V., Wilton, S.D., Francis, B.R., 1991. Use of DNA amplification for the rapid identification of *Mycobacterium bovis*. *Veterinary Microbiology* 27(2), 187–195.
- Cousins, D.V., Wilton, S.D., Francis, B.R., Gow, B.L., 1992. Use of polymerase chain reaction for rapid diagnosis of tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology* 30(1), 255–258.
- da Silva, D.A.V., Siconelli M.J.L., Bürger, K.P., Keid, L.B., 2018. Comparison between tests for tuberculosis diagnosis in slaughtered bovines. *Arquivos do Instituto Biológico* 85 (0). <https://doi.org/10.1590/1808-1657000652016>.
- Dametto, L.L., Davi dos Santos, E., Santos, L.R., Dickel, E.L., 2020. Bovine tuberculosis: Diagnosis in dairy cattle through the association of analyzes. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* 40 (1) <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6294>.
- De Kantor, I.N., Paolicchi, F., Bernardelli, A., Torres, P.M., Canal, A., Lobo, J.R., Zollin de Almeida, M.A., Paredes Noack, L.A., López, J.F., Garín, A., López Insaurralde, A., Boschioli-Cara, M.L., Cataldi, A., Ambroggi, M., 2008. La Tuberculosis Bovina en América Latina. Situación actual y recomendaciones.

- Taller patrocinado por OIE, III Congreso Latino Americano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina, junio 19, 2008.
- De Kantor, I.N., Ritacco, V., 1994. Bovine tuberculosis in Latin America and the Caribbean: current status, control and eradication programs. *Veterinary Microbiology* 40, 5–14.
- De la Rúa-Domenech, R., Goodchild, A.T., Vordermeier, H.M., Hewinson, R.G., Christiansen, K.H., Clifton-Hadley, R.S., 2006. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle. A review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Research in Veterinary Sciences* 81, 190–210.
- Djafar, R.Z., Benazi, N., Bounab, S., Sayhi, M., Diouani, M.F., Benia, F., 2020. Distribution of seroprevalence and risk factors for bovine tuberculosis in east Algeria. *Preventive Veterinary Medicine* 183, 105127.
- Domingo, M., Vidal, E., Marco, A., 2014. Pathology of bovine tuberculosis, *Research in veterinary science*, 97 Suppl, S20–S29.
- Duffy, S.C., Srinivasan, S., Schilling, M.A., Stuber, T., Danchuk, S.N., Michael, J. S., Venkatesan, M., Bansal, N., Maan, S., Jindal, N., Chaudhary, D., Dandapat, P., Katani, R., Chothe, S., Veerasami, M., Robbe-Austerman, S., Juleff, N., Kapur, V., Behr, M.A., 2020. Reconsidering *Mycobacterium bovis* as a proxy for zoonotic tuberculosis: a molecular epidemiological surveillance study. *The Lancet Microbe* 1, e66-73.
- Esposito, G., Irons, P.C., Webb, E.C., Chapwanya, A., 2014. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science* 1443, 60–71.
- Ferguson, J.D., Galligan, D.T., Thomsen, N., 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 77, 2695-2703.

- Fleischer, P., Metzner, M., Beyerbach, M., Hoedemaker, M., Klee, W., 2001. The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84, 2025– 2035.
- Gallo, L., Garnier, P., Cassandro, M., Mantovani, R., Bailoni, L., Contiero, B., Bittante, G., 1996. Change in body condition score of holstein cows as affected by parity and mature equivalent milk yield. *Journal of Dairy Science* 79, 109-115.
- Ghebremariam, M.K., Rutten, V.P.M.G., Vernooij, J.C.M., Uqbazghi, K., Tesfaalem, T., Butsuamlak, T., Idris, A.M., Nielen, M., Michel, A.L., 2016. Prevalence and risk factors of bovine tuberculosis in dairy cattle in Eritrea. *BMC Veterinary Research* 12, 80.
- Goff, J.P., 2006. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. *Journal of Dairy Science* 894, 1292–1301.
- Grange, J.M., Gibson, J., Osborn, T.W., Collins, C.H., Yates, M.D., 1983. What is BCG? *Tubercle* 64(2), 129–139.
- Gutiérrez, M.C., Brisse, S., Brosch, R., Fabre, M., Omais, B., Marmiesse, M., Supply, P., Vincent, V., 2005. Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathogens* 1 (1).
- Hamdan Alameri O., 2020. Bovine tuberculosis in young heifer. *Current Research in Microbiology and Infection* 1(1), 1-4.
- Hine, B.C., Cartwright, S.L., Mallard, B.A., 2011. Effect of age and pregnancy status on adaptive immune responses of Canadian Holstein replacement heifers. *Journal of Dairy Science* 94, 981–991.
- Hines, N., Payeur, J.B., Hoffman, L.J., 2006. Comparison of the recovery of *Mycobacterium bovis* isolates using the BACTEC MGIT 960 system, BACTEC 460 system, and Middlebrook 7H10 and 7H11 solid media. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.* 18(3), 243–250.

- Hosseini-Zadeh, N.G., Ardalan, M., 2011. Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. *Veterinary Research Communications* 35, 345–354.
- Inangolet, F, Demelash, B, Oloya, J, Opuda-Asibo, J, Skjerve, E., 2008. A cross-sectional study of bovine tuberculosis in the transhumant and agro-pastoral cattle herds in the border areas of Katakwi and Moroto districts, Uganda. *Tropical Animal Health and Production* 40, 501–508.
- Kelso, A., 1995. Th1 and Th2 subsets: paradigms lost? *Immunology today* 16(8), 374–379.
- Kemal, J., Sibhat, B., Abraham, A., Terefe, Y., Tulu, K.T., Welay, K., Getahun, N., 2019. Bovine tuberculosis in eastern Ethiopia: Prevalence, risk factors and its public health importance. *BMC Infectious Diseases* 19, 39.
- Kiyokazu, M., Tizzani, P., Awada, L., Mur, L., Mapitse, N.J., Caceres, P., 2019. Tuberculosis bovina: distribución mundial y aplicación de medidas de prevención y control según los datos de WAHIS. <http://dx.doi.org/10.20506/bull.2019.1.2912>.
- Kvidera, S.K., Horst, E.A., Abuajamieh, M., Mayorga, E.J., Fernandez, M.V., Baumgard, L.H., 2017. Glucose requirements of an activated immune system in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 100, 2360–2374.
- Liebana, E., Johnson, L., Gough, J., Durr, P., Jahans, K., Clifton-Hadley, R., Spencer, Y., Hewinson, R.G., Downs, S.H., 2008. Pathology of naturally occurring bovine tuberculosis in England and Wales. *Veterinary Journal* 176, 354–360.
- Lozano, J.A., 2002. Tuberculosis. Patogenia, diagnóstico y tratamiento. *Offarm*. 21(8), 11-194.
- Machado, V.S., Silva, T.H., 2020. Adaptive immunity in the postpartum uterus: potential use of vaccines to control metritis. *Theriogenology* 150, 201-209.

- Magata, F., Kitaoka, R., Morino, I., Teramura, M., Kawashima, C., Haneda, S., Shimizu, T., 2016. Long-term impact of puerperal metritis on the profiles of peripheral blood leukocytes in peripartum dairy cows. *Animal Science Journal* 871, 151-155.
- Manyi-Loh, C.E., Mamphweli, S.N., Meyer E.L., Makaka, G., Simon, M., Okoh, A.I., 2016. An overview of the control of bacterial pathogens in cattle manure. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 13(9), 843.
- Marrugo, J., Marsh, D., Ghosh, B., 1996. The conserved lymphokine element O in the IL-5 promoter binds to a high mobility group-1 protein. *Molecular Immunology* 33(14), 1119–1125.
- McIlroy, S.G., Neill, S.D., McCracken, R.M., 1986. Pulmonary lesions and *Mycobacterium bovis* excretion from the respiratory tract of tuberculin reacting cattle. *Veterinary Record* 118, 718–721.
- McKenna, S.L.B., Keefe, G.P., Barkema, H.W., McClure, J., VanLeeuwen, J.A., Hanna, P., Sockett, D.C., 2004. Cow-level prevalence of paratuberculosis in culled dairy cows in Atlantic Canada and Maine. *Journal of Dairy Science* 87, 3770-3777.
- Mellado, M., Reséndiz, D., Martínez, A.M., de Santiago, M.A., Véliz, F.G., García, J.E., 2015. Milk yield and reproductive performance of Holstein cows testing positive for bovine tuberculosis. *Tropical Animal Health and Production* 47, 1061-1066.
- Menzies, F.D., Neill, S.D., 2000. Cattle-to-cattle transmission of bovine tuberculosis. *Veterinary Journal* 160(2), 92–106.
- Mondal, M., Parvin, M., Sarker, S., Rahman, A., Islam, M., 2014. Prevalence and risk factors of bovine tuberculosis in cattle in Mymensingh Sadar. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine* 12, 179-183.

- Neill, S.D., Bryson, D.G., Pollock, J.M., 2001. Pathogenesis of tuberculosis in cattle. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)* 81(1-2), 79–86.
- Norby, B., Bartlett, P.C., Fitzgerald, S.D., Granger, L.M., Bruning-Fann, C.S., Whipple, D.L., Payeur, J.B., 2004. The sensitivity of gross necropsy, caudal fold and comparative cervical tests for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 16, 126.
- NRC, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- OIE 2018. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres 2018 OIE en línea 08-2021 https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.04.06_BO_VINE_TB.pdf.
- OIE. Tuberculosis bovina en línea 08-2021 <https://www.oie.int/es/enfermedad/tuberculosis-bovina/>.
- Olea-Popelka, F., Muwonge, A., Perera, A., Dean, A.S., Mumford, E., Erlacher-Vindel, E., Forcella, S., Silk, B.J., Ditiu, L., El Idrissi, A., Raviglione, M., Cosivi, O., LoBue, P., Fujiwara P.I., 2017. Zoonotic tuberculosis in human beings caused by *Mycobacterium bovis*: a call for action. *The Lancet Infectious Diseases*. 17(1), e21-e25.
- O'Reilly, L.M., Daborn, C.J., 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease* 76, 1–46.
- Palmer, M.V., 2007. Tuberculosis: a reemerging disease at the interface of domestic animals and wildlife. *Current topics in microbiology and immunology* 315, 195–215.

- Palmer, M.V., Wiarda, J., Kanipe, C., Thacker, T.C. 2019. Early pulmonary lesions in cattle infected via aerosolized *Mycobacterium bovis*. *Veterinary Pathology* 56(4), 544–554.
- Pérez del Molino, M.L., Tuñez Bastida, V., García Ramos, M.R. Lado Lado, F.L., 2002. Diagnostico microbiológico de la tuberculosis. *Medicina Integral* 39(5), 207-15.
- Pérez-Guerrero, L., Milián-Suazo, F., Arriaga-Díaz, C., Romero-Torres, C., Escartín-Chávez, M., 2008. Molecular epidemiology of cattle and human tuberculosis in México. *Salud Pública México* 50, 4. <http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v50n4/a06v50n4.pdf>
- Pollock, J.M., Neill, S.D., 2002. *Mycobacterium bovis* infection and tuberculosis in cattle. *Veterinary Journal* 163(2), 115–127.
- Prodinger, W.M., Brandstätter, A., Naumann, L., Pacciarini, M., Kubica, T., Boschioli, M.L., Aranaz, A., Nagy, G., Cvetnic, Z., Ocepek, M., Skrypnik, A., Erler, W., Niemann, S., Pavlik, I., Moser, I., 2005. Characterization of *Mycobacterium caprae* isolates from Europe by mycobacterial interspersed repetitive unit genotyping. *Journal of Clinical Microbiology* 43(10), 4984–4992.
- PRONABIVE, 2018. En línea 26-07-2021. <https://www.gob.mx/pronabive/articulos/tuberculosis-bovina-en-mexico>
- Rivera, P., Giménez, J., 2010. La tuberculosis bovina en Venezuela: patogénesis, epidemiología, respuesta inmunitaria y nuevas alternativas para el diagnóstico. *Revista Electrónica de Veterinaria* 11, 1-27.
- Robbe-Austerman, S., Bravo, D.M., Harris, B., 2013. Comparison of the MGIT 960, BACTEC 460 TB and solid media for isolation of *Mycobacterium bovis* in United States veterinary specimens. *BMC Veterinary Research* 9, 74.
- Rocco, S.M., McNamara, J.P., 2013. Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 7. Metabolism and gene expression as a function

of genetic merit and dietary energy intake. *Journal of Dairy Science* 96, 3108–3119.

Rothel, J.S., Jones, S.L., Corner, L.A., Cox, J.C., Wood, P.R., 1992. The gamma-interferon assay for diagnosis of bovine tuberculosis in cattle: conditions affecting the production of gamma-interferon in whole blood culture. *Australian Veterinary Journal* 69(1), 1–4.

SADER, 2020. Bovino para leche. Población ganadera 2011 - 2020 Cabezas. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/655393/Inventario_2020_ovino_para_leche.pdf

Sakamoto, K., 2012. The Pathology of *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *The Veterinary Pathology*. 49(3), 423-439.

Sánchez-Carvajal, J.M., Galán-Relaño, Á., Ruedas-Torres, I., Jurado-Martos, F., Larenas-Muñoz, F., Vera, E., Gómez-Gascón, L., Cardoso-Toset, F., Rodríguez-Gómez, I. M., Maldonado, A., Carrasco, L., Tarradas, C., Gómez-Laguna, J., Luque, I., 2021. Real-time pcr validation for *Mycobacterium tuberculosis* complex detection targeting is6110 directly from bovine lymph nodes. *Frontiers in Veterinary Science* 8, 643111.

Schiller, I., Oesch, B., Vordermeier, H.M., Palmer, M.V., Harris, B.N., Orloski, K. A., Buddle, B. M., Thacker, T. C., Lyashchenko, K. P., Waters, W. R. 2010. Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication. *Transboundary and emerging diseases* 57(4), 205–220.

Segal, W., Bloch, H. 1956. Biochemical differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* grown in vivo and in vitro. *Journal of Bacteriology* 72(2), 132–141.

SENASICA, [Consultado en línea Agosto 2021] <https://www.gob.mx/senasica/documentos/situacion-actual-de-tuberculosis-bovina?state=published>

SENASICA, 2015. Guía para el seguimiento epidemiológico de la Tuberculosis bovina.

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/150601/10_GUIADESEGUIMIENTOEPIDEMIOLOGICO09-07-2015.pdf

Sheldon, I.M., Cronin, J.G., Bromfield, J.J., 2019. Tolerance and innate immunity shape the development of postpartum uterine disease and the impact of endometritis in dairy cattle. *Annual Review of Animal Biosciences* 7, 361–384.

Sheldon, I.M., Lewis, G.S., LeBlanc, S., Gilbert, R.O., 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65, 1516-1530.

Sinclair, J.A., Dawson, K.L., Buddle, B.M., 2016. The effectiveness of parallel gamma-interferon testing in New Zealand's bovine tuberculosis eradication programme. *Preventive Veterinary Medicine* 197,94-99.

Spergser, J., Macher, K., Kargl, M., Lysnyansky, I., Rosengarten R., 2013. Emergence, re-emergence, spread and host species crossing of *Mycoplasma bovis* in the Austrian Alps caused by a single endemic strain. *Veterinary Microbiology* 164(3-4), 299–306.

Ster, C., Loiselle, M.C., Lacasse, P., 2012. Effect of postcalving serum non-esterified fatty acids concentration on the functionality of bovine immune cells. *Journal of Dairy Science* 95, 708–717.

Swangchan-Uthai, T., Chen, Q., Kirton, S.E., Fenwick, M.A., Cheng, Z., Patton, J., Fouladi-Nashta, A.A., Wathes, D.C., 2013. Influence of energy balance on the antimicrobial peptides S100A8 and S100A9 in the endometrium of the post-partum dairy cow. *Reproduction* 145, 527–539.

Thom, M.L., Hope, J.C., McAulay, M., Villarreal-Ramos, B., Coffey, T.J., Stephens, S., Vordermeier, H.M., Howard, C.J., 2006. The effect of tuberculin testing on the development of cell-mediated immune responses during *Mycobacterium bovis* infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 114(1-2), 25–36.

- Thrusfield, M.V., 2007. *Epidemiologia Veterinaria*, 3^a ed. Wiley-Blackwell.
- Thurmond, M.C., Picanso, J.P., 1990. A surveillance system for bovine abortion. *Preventive Veterinary Medicine* 8, 41-53.
- Vanacker, N., Girard, C.L., Blouin, R., Lacasse, P., 2020. Effects of feed restriction and supplementary folic acid and vitamin B12 on immune cell functions and blood cell populations in dairy cows. *Animal* 14, 339-345.
- Vayr, F., Martin-Blondel, G., Savall, F., Soulat, J.M., Deffontaines, G., Herin, F., 2018. Occupational exposure to human *Mycobacterium bovis* infection: A systematic review. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 12 (1), e0006208.
- Verteramo C.J., Tauer W.J., Smith L. R., Grohn T.Y., 2019. Assessment of the bovine tuberculosis elimination protocol in the United States. *Journal of Dairy Science* 102, 2384–2400.
- Viney, M.E., Riley, E.M., Buchanan, K.L., 2005. Optimal immune responses; immunocompetence revisited. *Trends in Ecology and Evolution* 20, 665–669.
- Vordermeier, M., Whelan, A., Hewinson, G., 1980. Recognition of mycobacterial epitopes by T cells across mammalian species and use of a program that predicts human HLA-DR binding peptides to predict bovine, epitopes. *Infection and immunity* 71(4), 1980–1987.
- Vural, S.A., Tunca, R., 2001. Generalized tuberculosis in a 45 day-old calf. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift* 108(11), 468–470.