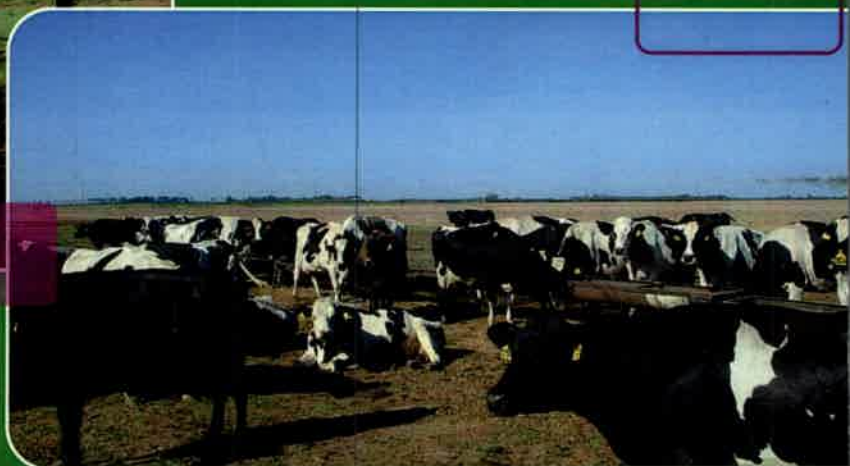


Impacto de la tuberculosis bovina sobre la producción láctea en un establecimiento lechero de la provincia de Córdoba, Argentina.



Aspirante: Méd. Vet. Walter Severina

Director: Méd. Vet. PhD Gabriel Gustavo Magnano

Río Cuarto, junio del 2015

73936

SEVERINA, WALTER

Impacto de la tuberc

2015

73936



*ESPECIALIZACIÓN EN SANIDAD DE LOS RUMIANTES
DOMÉSTICOS*

FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO

**Impacto de la tuberculosis bovina sobre la
producción láctea en un establecimiento
lechero de la provincia de Córdoba,
Argentina.**

Aspirante: **Méd. Vet. Walter Severina**

Director: Méd. Vet. PhD Gabriel Gustavo Magnano

Río Cuarto, junio del 2015

7.936

MFN:
Clasif:
T 903

DEDICATORIA

Dedicado especialmente a mis padres que gracias a sus esfuerzos he logrado ser la persona que soy

A mis hermanos Paola y Davit que son mi felicidad

A Eugenia, mi mujer, que aunque no esté más, me dejó los mejores consejos que fueron el motor de vida y trabajo

Y por último a mis amigos que en las buenas y las malas están conmigo

AGRADECIMIENTOS

A los propietarios del establecimiento y a los tamberos que me permitieron realizar el trabajo y colaboraron desinteresadamente con todas las actividades: José (Tito) Merlo, Cristian Merlo, Marcos Merlo, Juan Rivata, Ariel Rivata, Juan Rivata (hijo).

A Analía Macías, Javier Sanchez, Fernando Orias y José María Raviolo por su participación en el análisis de los datos y en la escritura de la tesis

INDICE

	Páginas
RESUMEN.....	6
INTRODUCCIÓN.....	9
ETIOLOGÍA.....	11
INMUNOPATOLOGÍA.....	13
TRANSMISIÓN.....	14
SÍNTOMAS.....	18
DIAGNÓSTICO.....	19
DIAGNÓSTICO CLÍNICO.....	20
PRUEBA TUBERCULÍNICA	
DE INTRADERMORREACCIÓN.....	21
PRUEBA DE GAMMA INTERFERÓN.....	22
DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO.....	22
DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO.....	23
DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO.....	23
DETECCIÓN DE ANTICUERPOS (ELISA)	24
PÉRDIDAS ECONÓMICAS.....	25
POTENCIAL ZONÓTICO.....	26
HIPÓTESIS.....	29
OBJETIVO.....	29
OBJETIVOS GENERAL.....	29
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
MATERIALES Y MÉTODOS.....	30



DATOS DEL ESTABLECIMIENTO	
Y DE LOS ANIMALES.....	30
TÉCNICA DIAGNÓSTICA.....	33
SELECCIÓN DE LOS ANIMALES EN ESTUDIOS	
Y FORMACIÓN DE LOS GRUPOS.....	35
ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	36
RESULTADOS.....	37
DISCUSIÓN.....	41
CONCLUSIÓN.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47

Impacto de la tuberculosis bovina sobre la producción láctea en un establecimiento lechero de la provincia de Córdoba, Argentina

RESUMEN

La Tuberculosis (TBC) es una enfermedad infecciosa crónica que afecta a los bovinos y otras especies de animales domésticos y silvestres libres o en cautiverio, y al hombre, siendo por lo tanto una importante zoonosis a nivel mundial.

Aunque el factor determinante del inicio de los programas de control y erradicación de la TBC bovina en los países desarrollados es el impacto de la enfermedad sobre la Salud Pública, su importancia económica también ha sido demostrada. Se calcula que las pérdidas debidas a TBC bovina en la Argentina, estarían en los 63 millones de dólares al año, siendo el principal componente la pérdida de peso en los bovinos (36%), las pérdidas en producción de leche (13% del total) y el decomiso en frigoríficos y mataderos (10%).

Son escasas las publicaciones sobre la disminución en la cantidad de litros de leche en aquellas vacas infectadas. En Irlanda, Boland y col., (2010) estudiaron estas pérdidas en 419 rodeos lecheros donde la producción de leche fue significativamente menor en las vacas reaccionantes con un rango de diferencia de 120 kg de leche en vacas de tercera lactancia hasta una diferencia de 573 kg de leche en vacas de primera lactancia. Hernandez y Baca (1998) también evaluaron la producción de leche en un rodeo de 369 vacas Holstein; los animales positivos produjeron 347 litros menos que las negativas. Rahman y Samad (2008) observaron un 17% menos de producción de leche de los animales positivos al compararlos con los negativos.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la producción láctea entre animales positivos y negativos a la prueba tuberculínica, la incidencia de la enfermedad y el porcentaje de animales descartados por TBC, en un establecimiento lechero bovino de la provincia de Córdoba.

El estudio se realizó en un establecimiento lechero ubicado en la zona rural de Arroyo Cabral, provincia de Córdoba, Argentina, durante el período comprendido entre octubre del 2010 a noviembre del 2011.

Se seleccionaron un total de 60 animales divididos en dos grupos: 22 (36.67%) con resultado positivo a la prueba de intradermorreacción (IDR) y 38 (63.33%) con resultado negativo.

Durante los 13 meses que se extendió el trabajo, se evaluó la producción de litros de leche totales por animal en ambos grupos. Para predecir la relación entre producción de leche a 305 días se usaron animales con días en lactación mayores o iguales a 200 días y menores o iguales a 400 días. A partir de esta información se construyó un modelo de regresión lineal con una interacción entre estado de TBC y días en lactación ajustados por número de lactación.

Por otra parte, se analizó la incidencia de la enfermedad durante el período en estudio y la tasa de descartes debida a TBC en el rodeo general.

Todos los análisis fueron realizados usando el programa estadístico STATA11.2.

Los resultados arrojaron una diferencia favorable de 422,215 litros de leche /vaca a los 305 días para el grupo de animales negativos a la IDR.

La pérdida económica que significó la diferencia de producción entre ambos grupos a los 305 días, fue de \$633.32 (u\$s154,42).

La tasa de incidencia de la enfermedad fue del 24,2% durante el período que duró el estudio.

Con respecto al descarte de animales por TBC, el 46% de las 119 vacas eliminadas, fue por ser positivas a esa enfermedad.

Por los resultados obtenidos, se ha observado una menor producción en litros de leche total de los IDR positivos comparados con animales negativos.

Además, debido a la elevada tasa de incidencia demostrada, es oportuno plantear al productor la necesidad de eliminar lo más urgente posible los animales positivos para disminuir el riesgo de transmisión.

Impacto de la tuberculosis bovina sobre la producción láctea en un establecimiento lechero de la provincia de Córdoba, Argentina

INTRODUCCIÓN

La Tuberculosis (TBC) es una enfermedad infecciosa crónica que afecta a los bovinos y otras especies de animales domésticos y silvestres libres o en cautiverio y al hombre (Thoen y Bloom, 1995), siendo por lo tanto una importante zoonosis a nivel mundial.

El nombre de “tuberculosis” proviene de los nódulos, llamados “tubérculos”, lesiones que se forman en los ganglios linfáticos y en los tejidos del animal afectado (Jubb y col., 2007).

En Argentina, los datos sobre la presencia de la enfermedad en los rodeos bovinos se pueden extraer a través del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) mediante la información de decomisos anuales de faena, de publicaciones realizadas por diferentes grupos de trabajo e investigación y/o por comunicaciones personales de médicos veterinarios que realizan diagnósticos sobre esta enfermedad.

Con respecto a la información aportada por SENASA según datos a nivel nacional recolectados en frigoríficos, estos indicaron que en el año 2011, sobre 9.034.220 cabezas faenadas, el 0,6% presentaron lesiones tuberculosas (Torres, 2011).

En casos de estudios a campo para evaluar tanto la presencia como la prevalencia de la enfermedad, se utiliza la prueba tuberculínica de intradermorreacción (IDR). Los datos obtenidos son superiores a los que tienen como base el decomiso durante la faena debido a características propias de la enfermedad y de la técnica diagnóstica; hay animales positivos a la IDR que no

presentan lesiones o son muy pequeñas y pasan desapercibidas al momento de la inspección veterinaria.

En un trabajo para evaluar la prevalencia en una cuenca lechera del sur de la provincia de Santa Fe, Noste y col., (1999) observaron un 83,3% de tambos positivos y un 5,69% de animales reaccionantes.

Estudios prevalenciales comparando dos cuencas lecheras de la provincia de Córdoba, Argentina, arrojaron resultados dispares. En uno de ellos, Navarro y col., (1997) observaron un 71% de establecimientos infectados y el 12,3% de animales positivos. Por otro lado, Magnano y col., (1997) encontraron prevalencias del 30,8% y 2,1% para tambos y animales respectivamente. Estas diferencias estarían sustentadas principalmente por un elevado movimiento y comercialización de animales sin controles sanitarios observado en la cuenca de mayor prevalencia.

El grupo de Sanidad en Rumiantes de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto, realiza investigación sobre tuberculosis bovina desde el año 1995 y recibe periódicamente consultas de veterinarios que abordan establecimientos de cría y especialmente lecheros, con problemáticas muy serias de esta enfermedad. Prevalencias mayores al 30% e incluso mortandad en animales en la guachera (menores de 60 días) son frecuentes de encontrar (Magnano, G.; comunicación personal). Otros autores en nuestro país, también hallaron lesiones en terneros que apenas superaban los 90 días de vida (Garro y col., 2011).

Aunque se considera que el verdadero hospedador del *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) es el ganado vacuno, también se ha descrito la enfermedad en muchos otros animales domésticos y silvestres (Jorge y col., 2005).

En nuestro país existe desde 1993 un Plan Nacional de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina donde las acciones estaban dirigidas casi exclusivamente a la especie bovina; las pruebas tuberculínicas intradérmicas son las reconocidas para diagnosticar la enfermedad en los animales vivos. En el año 2012 se realizaron algunas modificaciones al plan, incluyendo a otras especies (principalmente ovinos y caprinos) y se aprobó nuevamente como Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina en la República Argentina (Resolución 128/2012 SENASA).

Se destacan tres razones básicas para erradicar la TBC animal:

1) Se transmite al hombre principalmente a aquellos que trabajan en contacto con animales infectados (veterinarios, tamberos, trabajadores rurales y personal del frigorífico, entre otros).

2) Genera importantes pérdidas económicas en la producción de carne y leche.

3) Limita el comercio internacional de productos cárneos y lácteos influyendo negativamente en la rentabilidad de las explotaciones (Young y col., 1986; Dey y Parham, 1993; Komijn y col., 1999)

ETIOLOGÍA

Las micobacterias se incluyen taxonómicamente dentro del género *Mycobacterium* que es el único de la familia Micobacteriaceae, y pertenecen al orden Actinomycetales; se distinguen por su capacidad de producir ácidos micólicos y la complejidad de la pared rica en lípidos (Brock y Madigan, 1993; Holt y col., 1994).

El género *Mycobacterium* incluye especies patógenas, no patógenas y saprófitas (Holt y col., 1994; Hines y col., 1995). Tanto las especies patógenas

estrictas como las oportunistas pueden afectar al hombre y a los animales. En estos últimos las micobacterias que más frecuentemente provocan enfermedad son patógenas estrictas y entre ellas están el *M. bovis* causante de la TBC en bovinos; el *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, causante de la enfermedad de Johne o paratuberculosis y el *M. avium* causante de TBC en cerdos y aves (Rastogni y col., 2001).

Las micobacterias son aerobias, inmóviles y no formadoras de esporas. El tamaño varía según la especie, siendo aproximadamente de 0,2-0,6 x 1-10 μ . La temperatura óptima de crecimiento es 37° C y la mayoría de las especies requieren entre 2 y 8 semanas para su desarrollo (Holt y col., 1994; Hines y col., 1995). Todas las micobacterias tienen un alto contenido de lípidos en su pared lo cual le confiere la característica ácido-alcohol resistencia ante la tinción de Ziehl Neelsen (Brock y Madigan, 1993; Rastogni y col., 2001, Angala y col., 2014).

Son agentes extremadamente resistentes al alcohol, los ácidos, la desecación y a muchos desinfectantes. Pueden sobrevivir durante meses en las instalaciones y durante años en el suelo. Se destruyen por el calor a 65,6°C durante 10 minutos o con desinfectantes como fenol, aldehído e hipoclorito de sodio (Mores y col., 1997).

En Nueva Zelanda, Jackson y col., (1995) encontraron menor tiempo de supervivencia de *M. bovis* en condiciones experimentales al embeber cintas de algodón con esta micobacteria y colocarlas sobre pasturas; el período máximo de supervivencia fue de 28 días para la estación de invierno.

INMUNOPATOLOGÍA

Los aspectos generales de la respuesta inmune ante las infecciones micobacterianas son aceptados en forma universal. La interacción y las funciones efectoras de los linfocitos y de los macrófagos es la base de la respuesta inmune del huésped (Hines y col., 1995).

Cuando los bacilos llegan al tejido provocan una respuesta macrofágica de tipo cuerpo extraño; si no son destruidos por los macrófagos proliferan dentro de ellos junto con el material antigénico que sensibiliza a los linfocitos T. Los linfocitos sensibilizados provocan atracción, proliferación y activación de los macrófagos que derivan principalmente de los monocitos sanguíneos. Los macrófagos mononucleares son considerados los más importantes en la protección del huésped contra las micobacterias (Jubb y col., 2007; Thoen y Bloom, 1995) Se generan así células T de memoria que son capaces de responder ante la entrada del Ag micobacteriano por diversas vías. Esto determina que la hipersensibilidad retardada puede observarse aún varios años después de la exposición ya que las células de memoria tienen una larga vida (Tizard, 2000).

Si el microorganismo se multiplica y destruye al macrófago, otros macrófagos de la zona fagocitan las bacterias libres y se repite el proceso. Esta agrupación de los macrófagos forma el llamado granuloma que, si continúa aumentando de tamaño, se puede observar a simple vista lo que se conoce como tubérculo (Thoen y Bloom, 1995).

El crecimiento del tubérculo es en forma centrífuga, al igual que el desarrollo en los ganglios linfáticos satélites infectados por la difusión de los bacilos desde el foco primario. Si los animales no están sensibilizados previamente, la diseminación ocurre en forma rápida y los bacilos, ya sea que

están libres o dentro de los macrófagos infectados, llegan a los distintos tejidos mediante vasos linfáticos, sanguíneos o por contiguidad. Dependiendo de la cantidad de microorganismos que lleguen a los tejidos, las nuevas lesiones serán múltiples y pequeñas (tuberculosis miliar) o escasas y de mayor volumen (Jubb y col., 2007).

La lesión histopatológica está caracterizada por una gran proliferación de linfocitos, entremezclados con macrófagos, células epiteloides y células gigantes de Langhans; estas últimas presentan varios núcleos excéntricos y derivan de la fusión de macrófagos. A medida que la lesión progresa, el tubérculo presenta necrosis central y fibroplasia periférica (Jubb y col., 2007). La necrosis es de tipo caseoso; el material necrótico suele estar condensado en una masa blanco-amarillenta que puede licuarse o caseificarse.

La calcificación es un hallazgo frecuente pero no se presenta en todas las especies animales. La fibrosis que forma la cápsula es observada en los animales con mayor poder de respuesta ante la infección (Jubb y col., 2007; Hines y col., 1999; Menin y col., 2013).

Luego de la infección de un bovino con *M. bovis* se desarrollan granulomas nodulares no vascularizados que se presentan con más frecuencia en pulmones y ganglios linfáticos retrofaríngeos, bronquiales y mediastínicos. Aunque también pueden encontrarse lesiones en ganglios linfáticos mesentéricos, hígado, bazo, sobre membranas serosas y en otros órganos (OIE, 2013).

TRANSMISIÓN

La enfermedad es contagiosa y se propaga por contacto con animales domésticos o salvajes infectados. La transmisión depende en gran medida del



grado de exposición al agente y está directamente relacionada con el tipo de producción y de la edad del animal.

En un trabajo realizado sobre más de 1.700 rodeos en España, para evaluar la transmisión de acuerdo al tipo de rodeo, Álvarez y col., (2012) observaron que la diseminación de la tuberculosis ocurría más rápidamente en rodeos lecheros comparados con otros tipos de explotación debido a factores de manejo y geográficos.

Diversos autores coinciden en que el movimiento de animales es uno de los factores de riesgo crítico en la transmisión de la enfermedad. Esto fue demostrado en Gran Bretaña e Inglaterra al determinar mediante biología molecular que el movimiento de animales fue el responsable de la mayoría de los brotes de TBC ocurridos entre 1985 y 2003 y entre 2002 y 2004 respectivamente (Gilbert y col., 2005; Garro y col., 2010).

También se ha demostrado que las deficiencias nutricionales en términos de proteína-energía afectan la capacidad de defensa de la inmunidad mediada por células reduciendo significativamente la cantidad de subpoblaciones de linfocitos circulantes (Doherty y col., 1996). En un estudio de casos y controles realizado por Griffin y col., (1993) observaron asociación entre brotes recurrentes de TBC bovina y la presencia de alimentación con forraje nutricionalmente pobre, lo cual refuerza la influencia de una adecuada nutrición en la resistencia de la TBC bovina.

Por otra parte, el *stress* asociado a eventos como la gestación y el parto también produce efectos adversos en la inmunidad mediada por células, si bien hay poca información acerca de la influencia de estos factores, resultan de suma importancia en la progresión de la TBC en el ganado vacuno.

Diversos estudios indican que la susceptibilidad a la infección por *M. bovis* aumenta en animales con infecciones asociadas a virus como el de la diarrea viral bovina que produce efectos inmunosupresores (Welsh, 1995). Se ha reportado que la infección con este virus tiene una asociación positiva con una rápida progresión de la TBC en terneros (Monies y Head, 1999).

La principal ruta de infección en los bovinos adultos es la exposición a aerosoles de animales infectados. Del 80% al 90% de los casos la transmisión ocurre por esta vía; con la tos o espiración de un animal infectado se expelen gran cantidad de micro gotitas que contienen las bacterias las cuales al ser inhaladas por otro bovino llegan al sistema respiratorio. El riesgo es superior si los animales están confinados como en los tambos o en sistemas de engorde a corral. Un solo animal puede transmitir la enfermedad a muchos otros antes de manifestar los síntomas clínicos (Pollock y Neill, 2002).

La eliminación del bacilo por vía respiratoria ha sido ampliamente estudiada; en terneros inoculados experimentalmente por vía intranasal con *M. bovis*, luego de un período de 10-60 días post-infección, se pudo aislar *M. bovis* a partir de hisopados nasales (Neill y col., 1991).

Evidencia de la eliminación por esta vía también fue demostrada en estudios a campo en donde el 20% de los animales infectados presentó aislamiento de *M. bovis* a partir de hisopados nasales (Neill y col. 1988).

Por su parte Magnano y col., (2011) realizaron cultivos, a partir de hisopados nasales seriados, a 20 bovinos IDR positivos, durante 5 meses. Obtuvieron aislamientos positivos confirmados como *M. bovis* en el 40% de los casos lo cual reafirma la importancia y magnitud de esta vía de transmisión.

Algunos autores mencionan que la mejor evidencia de las rutas de transmisión de *M. bovis* en bovinos son los patrones de lesiones observadas en los bovinos sacrificados. En el 90 % de los bovinos afectados por TBC la lesión primaria involucra a los ganglios linfáticos del sistema respiratorio, lo que hace sugerir que ésta es la principal vía de transmisión (Matthias, 1980; O'Reilly y Daborn, 1995; Menzies y Neill, 2000; Kistermann y Torres, 2000). Asimismo, Dean y col., (2005) demostraron que los bovinos pueden infectarse por vía intratraqueal y desarrollar la patología pulmonar típica de la TBC con tan solo 1 unidad formadora de colonias de *M. bovis*. Es por ello que, la vía más probable de infección por *M. bovis* en bovinos, sería a través de la inhalación de aerosoles contaminados.

También ocurre el contagio por vía digestiva a través de alimentos, comederos o bebederos contaminados.

En los terneros lactantes, la leche de madres infectadas con *M. bovis* pasa a ser muy importante. Esta vía cobra mayor relevancia en terneros con sistema de crianza en guacheras (Schneider y col., 2007). Se estima que solo el 4 % de los bovinos positivos a la prueba de la tuberculina excreta *M. bovis* por leche (Mathias, 1980). No obstante se ha comprobado que vacas con tuberculosis pueden excretar hasta 103 UFC por mL de leche (Phillips y col., 2003) dosis suficiente para infectar un ternero.

Estudios recientes han demostrado evidencia del *M. bovis* en calostro bovino (Serrano-Moreno y col., 2008) lo que podría indicar el rol del mismo como vehículo transmisor de la enfermedad.

Garro y col., (2010) en un estudio de casos y controles en las provincias de Santa Fe y Córdoba, estudiaron factores de riesgo de transmisión de TBC en

31 rodeos lecheros positivos y 31 rodeos negativos. Observaron como factor de mayor riesgo, el desmadre mayor a los 4 días y en segundo lugar el ingreso de más de 19 vaquillonas al campo.

Serrano-Moreno y col., (2008) evaluaron por PCR la presencia de *M. bovis* en diferentes secreciones de bovinos pertenecientes a un tambo con 48% de prevalencia. Encontraron que el 62% de calostro y el 18% de las leches examinadas fueron positivas a *M. bovis*. Para los autores, esto indicaría una reactivación periparto debido a menor actividad de los macrófagos en la glándula mamaria.

La alimentación de los terneros con sustitutos de la leche o la utilización de un equipo de pasteurización para la leche, ayudaría al control de la enfermedad en campos con problemas de TBC, ya que estos métodos asegurarían la ausencia de micobacterias en la alimentación del ternero (Schneider y col., 2007).

Otras posibles rutas de infección pero menos probables son la vía cutánea, congénita y genital (Thoem y Bloom, 1995).

SÍNTOMAS

La TBC suele ser de curso crónico y los síntomas pueden tardar meses o años en aparecer. En muchas ocasiones son poco manifiestos en el bovino o directamente no son observables. Ejemplo de ello es lo publicado por Menin y col., (2013) quienes analizaron 247 bovinos naturalmente infectados que fueron positivos a la IDR con PPD bovino. De ellos 228 (92%) presentaron diferentes grados de lesiones a la faena pero ninguno presentó signos clínicos.

La vía de ingreso del *M. bovis*, la localización de la lesión y el tamaño de la misma, están íntimamente relacionadas en el tipo de síntoma.

Suelen observarse síntomas inespecíficos y otros más específicos (Smith, 2010). Se pueden mencionar:

- Caída de la producción láctea.
- Debilidad progresiva.
- Pérdida de apetito.
- Pérdida de peso.
- Fiebre fluctuante.
- Tos seca, intermitente y dolorosa.
- Taquipnea y dificultad de respirar.
- Sonidos anormales en la auscultación y percusión.
- Ganglios linfáticos agrandados y prominentes.
- Muerte en etapas avanzadas de la enfermedad.

DIAGNÓSTICO

En la lucha contra la TBC animal a nivel mundial las acciones están dirigidas especialmente a controlar y erradicar la enfermedad en los bovinos.

El diagnóstico de la TBC bovina in vivo se realiza por reacciones de hipersensibilidad retardada. La IDR utilizando el derivado proteico purificado bovino es la técnica aprobada internacionalmente para la detección de la enfermedad y la comercialización de bovinos (OIE, 2013). La misma es la única prueba aprobada para la comercialización de bovinos en Argentina (SENASA, 1993).

En los países que poseen programas nacionales de control y erradicación de TBC bovina, los animales tuberculino positivos son separados del rebaño y enviados a faena; con este procedimiento se consigue sanear los rodeos al interrumpir la cadena epidemiológica (Kantor y Ritaco, 2006).

Las técnicas que más frecuentemente se utilizan actualmente para el diagnóstico de la TBC en animales son:

In vivo:

*examen clínico

*prueba tuberculínica de intradermorreacción (IDR)

In vitro:

*gamma interferón (IFN γ)

*enzimoinmunoensayo (ELISA)

*lesiones macroscópicas

*histopatología

*tinción de Ziehl-Neelsen

*cultivo bacteriano

*biología molecular con amplificación de ADN por PCR:

-análisis de fragmentos de restricción (RFLP)

-spoligotyping

Diagnóstico clínico

Es de escasa importancia ya que los síntomas son poco específicos. Cuando los animales presentan lesiones graves, los mismos pueden ser observables.

La presentación más frecuente está relacionada con la pérdida de peso, disminución en la producción de leche y síntomas respiratorios.

El diagnóstico clínico es un aporte muy valioso en los animales anérgicos, que son aquellos con lesiones muy extensas y que resultan negativos a la prueba de IDR (Smith, 2010).

Prueba tuberculínica de intradermorreacción

El diagnóstico de TBC mediante la IDR se basa en la hipersensibilidad retardada o hipersensibilidad de tipo IV y resulta de la interacción entre el Ag inoculado, las células presentadoras de Ag y los linfocitos T. Cuando un animal está sensibilizado contra un Ag y el mismo se inocula vía intradérmica, es capturado por las células dendríticas que atraen a linfocitos Th1 circulantes los que secretan IFN γ e IL-2 y otras sustancias vasoactivas como la serotonina, IL-8 y factores quimiotácticos para linfocitos y basófilos. Todo este mecanismo provoca una mayor inflamación que se manifiesta macroscópicamente como una tumoración, firme y roja en el lugar de inoculación, alcanzando su mayor intensidad a las 48 o 72 h posteriores a la aplicación del Ag por vía intradérmica (Benjamini y col., 1996; Tizard, 2000). La prueba tuberculínica no diferencia infección de enfermedad y tampoco tiene relación la magnitud de la respuesta con la evolución de la infección (Kantor, 1999). Aún cuando los resultados de la IDR son satisfactorios, su sensibilidad y especificidad no llegan al 100% y con frecuencia se observan animales sin reacción que presentan lesiones al momento de la faena. Este fenómeno conocido como anergia se debe a estados de caquexia, inmunodepresión o a la presencia de enfermedades concomitantes, especialmente de origen viral (Kantor, 1979). En otras situaciones los animales presentan reacción a las pruebas tuberculínicas pero no se observan lesiones macroscópicas, correspondiendo entre otras causas a infecciones recientes con lesiones pequeñas que no se ven a simple vista, lesiones en otros órganos diferentes a los inspeccionados rutinariamente, errores en la inspección en frigorífico, animales que controlan la infección permaneciendo sin lesiones pero que reaccionan a las pruebas o reacciones cruzadas con otras micobacterias (Kantor, 1979; Corner, 1994; Pellegrino y col., 1996).

Prueba de gamma interferón (IFN γ)

Otra técnica basada en la respuesta celular que se realiza *in vitro* es el gamma interferón, pero el costo y la falta de infraestructura en la Argentina la hacen por el momento no aplicable como prueba masiva en los planes de control y erradicación de la TBC bovina (Jorge y col., 2005). La misma cuantifica la liberación de gamma interferón que producen los linfocitos sensibilizados por su estimulación con antígenos de *M. bovis* (Jorge y col., 2005; de la Rúa-Domenech y col., 2006).

Diagnóstico anatomopatológico

El diagnóstico post mortem de la enfermedad puede realizarse al encontrar lesiones típicas durante la necropsia. Las lesiones pueden variar dependiendo de la localización anatómica y la forma de diseminación (Corner, 1994). Las presentaciones más frecuentes se podrían enumerar en:

a- Lesiones pulmonares nodulares o como áreas difusas, de tamaño variable con apariencia caseificada y zonas de mineralización.

b- Presentaciones en las superficies serosas, incluyendo las cápsulas de los órganos, con características de nódulos firmes, de superficie lisa, varían de 2 a 10 centímetros de diámetro (Tuberculosis perlada).

c- Lesiones nodulares, firmes de aspecto granulomatoso con áreas de calcificación y caseificación en ganglios linfáticos y órganos parenquimatosos como el hígado y el riñón.

d- Focos muy pequeños menores de 1cm de diámetro en cualquier órgano (Tuberculosis miliar).

Diagnóstico histopatológico

La histopatología con tinción de hematoxilina/eosina, es un aporte valioso para el diagnóstico de la TBC. En cualquiera de las formas en que se presenta la TBC, se caracteriza por la formación de granulomas. Con focos de necrosis caseosa y reacción celular compuesta casi exclusivamente por células mononucleares, como son linfocitos, macrófagos, células epitelioides y células gigante tipo Langhans.

La tinción con Zielh Nelsen del corte histológico, permite detectar bacilos ácido alcohol resistentes libres en el citoplasma de los macrófagos, histiocitos y células gigantes de la lesión granulomatosa.

Diagnóstico bacteriológico

La confirmación definitiva de la enfermedad depende del aislamiento del *M. bovis*. De todas las técnicas mencionadas, el cultivo de micobacterias es considerada la "prueba de oro" (gold estándar), con una especificidad del 100% y una sensibilidad dependiente del número de bacilos viables en la muestra (Corner, 1994). La mayor dificultad que presenta es el elevado tiempo de cultivo, ya que se necesitan al menos 8 semanas para clasificar una muestra como negativa.

También la presencia de micobacterias se puede demostrar microscópicamente mediante la tinción de Ziehl-Neelsen realizada en frotis directos de muestras clínicas o sobre secciones de tejidos preparados. Esta técnica se caracteriza por su rapidez, bajo costo y sin necesidad de laboratorios especializados. Como inconveniente muchas de las lesiones son a menudo paucibacilares, por ello la presencia de organismos ácido-alcohol resistentes puede no ser detectada (OIE, 2013).

En los últimos años la biología molecular ha contribuido a la identificación y caracterización molecular del complejo *M. tuberculosis*, principalmente *M. tuberculosis* y *M. bovis*. El método de identificación por excelencia es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Collins y col., 1994; Zumárraga y col., 1999). Dentro de ellas se destaca la técnica de spoligotyping. El principio de la misma se basa en la detección del polimorfismo de una región específica del genoma de las micobacterias que forman parte del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, llamada región de las repeticiones directas (DR) (Kamerbeek y col., 1997). Esta técnica se destaca por su reproducibilidad, sensibilidad y sencillez de realización e interpretación permitiendo la identificación inter e intraespecie de las micobacterias que integran el complejo *M. tuberculosis*.

DetECCIÓN DE ANTICUERPOS (ELISA)

La respuesta humoral en la TBC ha sido estudiada durante varias décadas con la finalidad de desarrollar ensayos serológicos. El desarrollo del ELISA fue aplicado en el diagnóstico de la enfermedad y permite evaluar los anticuerpos séricos en forma sencilla y rápida. Este sistema es económico y de fácil automatización. Actualmente hay estandarizados diversos métodos de ELISA indirectos para la determinación de anticuerpos dirigidos contra el bacilo. Su utilización se propone en casos de animales anérgicos o para la detección de animales con infecciones crónicas ya que la detección de una respuesta inmune de tipo humoral en la tuberculosis se describe como más eficaz en estadios avanzados de la enfermedad, asociándose a cuadros severos (de la Rúa-Domenech y col. 2006; Koo y col., 2005).

En líneas generales, se acepta que combinando las pruebas se obtiene una mayor sensibilidad en el diagnóstico (De la Rúa-Domenech y col., 2006; Wood y col., 1991; Whelan y col., 2011; Waters y col., 2011).

El éxito en las estrategias de erradicación de la enfermedad está basado en su detección temprana y en la eliminación de los animales enfermos del rodeo por lo que la evaluación de las técnicas diagnósticas utilizadas para tal fin es relevante y de gran importancia.

PÉRDIDAS ECONÓMICAS

La enfermedad en los bovinos provoca relevantes pérdidas económicas directas al reducir la eficiencia productiva de los animales e indirectas debido a las dificultades en la comercialización de los productos (Kantor y Ritacco, 2006).

Aunque el factor determinante del inicio de los programas de control y erradicación de la TBC bovina en los países desarrollados es el impacto de la enfermedad sobre la Salud Pública, su importancia económica también ha sido demostrada. Se calcula que las pérdidas debidas a TBC bovina en la Argentina, estarían en los 63 millones de dólares al año, siendo el principal componente la pérdida de peso en los bovinos (36%), las pérdidas en producción de leche (13% del total) y el decomiso en frigoríficos y mataderos (10%) (SENASA, 2012).

También se estima un 12% menos en la producción de terneros a partir de madres infectadas.

Son muy escasas las publicaciones sobre la disminución en la cantidad de litros de leche en aquellas vacas infectadas. En Irlanda, Boland y col., (2010) estudiaron estas pérdidas en 419 rodeos lecheros. Evaluaron un total de 4340 vacas (2342 reaccionantes a TBC y 1998 no reaccionantes). Los resultados demostraron que en todos los años que duró la investigación, la producción de

leche fue significativamente menor en las vacas reaccionantes con un rango de diferencia de 120 kg de leche en vacas de tercera lactancia hasta una diferencia de 573 kg de leche en vacas de primera lactancia.

Hernandez y Baca, (1998) evaluaron la producción de leche en un rodeo de 369 vacas Holstein; 170 eran IDR positivas y 199 negativas. Analizaron la producción entre los 200 y 360 días de lactancia. Los animales positivos produjeron 347 litros menos que las negativas.

En otro estudio realizado en Bangladesh pero en vacas de razas indígenas, Rahman y Samad, (2008) observaron un 17% menos de producción de leche de los animales positivos al compararlos con los negativos, en los 5 meses que duró el estudio.

POTENCIAL ZONÓTICO

Actualmente la TBC humana, continúa siendo la causa más frecuente de muerte en adultos por un único agente infeccioso en los países en vías de desarrollo. Según la Organización Mundial de la Salud, en Argentina aproximadamente unas 10.000 personas por año se enferman de TBC (WHO, 2012), donde un porcentaje de ellos es debido a contagio de la enfermedad a partir de los animales. Datos presentados por Kantor y col., (2012) muestran una tendencia a disminuir la TBC humana por *M. bovis* en nuestro país, siendo actualmente entre 0.36% y 1,7% en tres Hospitales de referencia de las provincias de Santa Fé y Buenos Aires. La mayoría de estos casos, están relacionados con los grupos de riesgo, en donde más del 50% tienen asociación comprobada con actividades relacionadas con el ganado, ejemplo: peones rurales, encargados de rodeos, especialmente vinculados al tambo y empleados de frigoríficos en la playa de faena (Kantor y col., 2012).

El hombre adquiere la TBC del ganado por vía aerógena, digestiva o cutánea. Se considera que el porcentaje de casos de TBC pulmonar en adultos por *M. bovis*, estaría en el país alrededor del 2% y en el 8% en los casos extra pulmonares (Kantor y col., 2008).

En la Argentina, Kantor (1987), comunicó que un 0.47% de las micobacterias cultivadas de muestras de esputo humano fueron *M. bovis*. Por otro lado en la provincia de Santa Fé, Argentina, donde se concentra la mayor parte de la industria lechera, se observó un 6,2% de aislamientos de *M. bovis* en casos de tuberculosis humana (Sequeira y col., 1990).

En nuestro país se evaluaron por RFLP aislamientos de *M. bovis* que pertenecían a 17 porcinos, 19 bovinos, 13 humanos y 2 felinos, los hallazgos pusieron en evidencia la transmisión horizontal intra e interespecie. Se confirmó además la transmisión de *M. bovis* de las especies mamíferas domésticas al hombre en la provincia de Buenos Aires y se identificó al bovino como la principal fuente de transmisión de *M. bovis* a los humanos y en menor grado al cerdo, de acuerdo a los genotipos circulantes (Martínez Vivot y col., 1996).

En la provincia de Córdoba, Argentina, se determinó la frecuencia de casos de TBC en pacientes que asistieron al Hospital Tránsito Cáceres de Allende en un período de trece años (1991-2003). Se diagnosticaron 790 casos de tuberculosis, 9 fueron causados por *M. bovis*; Sorprendentemente, sólo dos de los pacientes con *M. bovis* vivían en zona rural mientras que los restantes lo hacían en zonas urbanas (Soldá y col., 2005).

Resulta de suma importancia destacar que en nuestro país, Etchechoury y col., (2010) confirmaron mediante tipificación molecular la transmisión humano-humano de una cepa de *M. bovis* resistente a múltiples drogas. Este hecho marca

la magnitud que puede alcanzar la tuberculosis por *M. bovis* en humanos requiriéndose intensificar los esfuerzos por controlar la enfermedad en el ganado, su hospedador principal.

Mantener un adecuado saneamiento del ganado y rigurosos controles en el sacrificio de los animales es clave para la prevención de esta enfermedad. Es por esto que consideramos importante en nuestra función de médicos veterinarios sanitaristas continuar trabajando seriamente en nuevas herramientas para el control y erradicación de la TBC bovina de nuestro país ya que constituye un importante riesgo en salud pública.

HIPÓTESIS

Las vacas en lactación reaccionantes positivos a la IDR producen menos litros de leche que vacas en lactación con resultados negativos a dicha prueba.

OBJETIVO

General

- Evaluar la producción láctea (litros totales) entre animales positivos y negativos a la IDR, la incidencia de la enfermedad y el porcentaje de animales descartados por tuberculosis, en un establecimiento lechero bovino de la provincia de Córdoba, Argentina.

Específicos

- Clasificar animales positivos y negativos a TBC mediante la IDR.
- Cuantificar los litros de leche totales producidos en ambos grupos de animales en un período de tiempo determinado y a partir de ello estimar las pérdidas económicas.
- Calcular la tasa de incidencia de tuberculosis en el período de estudio.
- Determinar el porcentaje de animales descartados por tuberculosis en el establecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en un establecimiento lechero ubicado en la zona rural de Arroyo Cabral, provincia de Córdoba, Argentina, durante el período de octubre del 2010 a noviembre del 2011.

Datos del establecimiento y de los animales

El campo poseía 145 ha de las cuales un 40% eran bajo salino y las demás cultivables. El tambo comenzó a funcionar en el 2007 con vacas adquiridas en la zona de Morteros, Córdoba, las que contaban únicamente con antecedentes de diagnóstico negativo de brucelosis. Inicialmente la producción por vaca oscilaba los 12-14 Lts/vaca/día y en aproximadamente 8 meses, al cambiar de propietario, pasaron a producir 22 Lts/vaca/día.

En cuanto a la alimentación, las vacas y vaquillonas paridas y las vacas secas, se encontraban en un sistema semi extensivo a base de alfalfa con suplementación de silo de maíz, grano de maíz y algunos aditivos que se entregaban en el lote. Además se les anexaba alimento balanceado junto con silo en el momento del ordeño.

Las categorías de recria 1, recria 2 y machos en engorde, estaban en un corral y se les daba alimento de acuerdo a los requerimientos de los mismos.

El sistema de crianza de los terneros era en guachera con estaca hasta los 60 días de vida. Allí se alimentaban con leche cruda del tambo y alimento iniciador para terneros.

Con respecto al manejo reproductivo se utilizaba el sistema de inseminación artificial y repaso con toros a las hembras que tenían dificultad para quedar preñadas.

La reposición de animales del tambo se realizaba con terneras propias seleccionadas de acuerdo a la producción de leche de sus madres.

Dentro del plan sanitario, se incluía la vacunación a todas las vacas y vaquillonas con una dosis del complejo reproductivo (Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR); Diarrea Viral Bovina (DVB), Leptospirosis y Campilobacteriosis) cada 6 meses.

A los terneros se les aplicaba conjuntamente una vacuna contra el complejo respiratorio y otra contra enfermedades clostridiales; la primera dosis era a partir de los 45 días de vida; una segunda dosis a los 15 a 20 días posteriores y finalmente una tercera dosis a los 6 meses de la primera.

Las vacunas obligatorias de Fiebre aftosa, a todos los animales, y la de brucelosis, a las terneras entre 3 y 8 meses de vida, se aplicaban dentro de las actividades programadas por los sistemas sanitarios nacionales.

Mensualmente se realizaba el control lechero de todas las vacas en ordeño donde se obtenían datos individuales de producción láctea. Esto permitía acceder a un registro pormenorizado de la producción de cada animal a lo largo de toda su vida productiva.

Los datos reproductivos, productivos, sanitarios y nutricionales, de todos los animales, fueron obtenidos mediante el sistema SW Dr Sola el que constituye un conjunto de herramientas de software para la gestión de información de rodeos lecheros (SW Agropecuaria SRL).



Figura 1. Sala de ordeño del establecimiento donde se realizó el estudio



Figura 2. Hembra bovina incluida en el estudio

Técnica diagnóstica

Para el diagnóstico in vivo de la TBC se utilizó la IDR con derivado proteico purificado de *M. bovis* (DPP bovino) en el pliegue anocaudal interno. Previa del limpieza del pliegue, se realizó la medición del mismo y luego se inyectó 0.1 ml de DPP bovino con una jeringa multidosis autoregulable y con agujas metálicas de 6x5.

La lectura se realizó a las 72 hs posteriores a la inoculación. Los resultados se interpretaron según lo establece el Plan Nacional de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina (SENASA, 2012), considerando como animal positivo todo aquel que presentaba más de 5 mm de diferencia entre ambas mediciones e induración del pliegue, y como sospechoso a aquellos cuya diferencia era mayor a 3 mm. Debido a que en el rodeo había animales positivos, todos los sospechosos pasaron a considerarse como positivos.

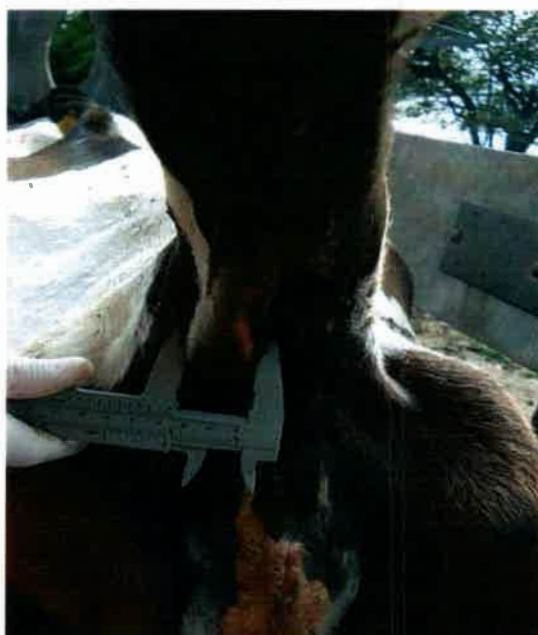


Figura 3. Reacción positiva a la IDR realizada en el pliegue anocaudal interno.

El primer diagnóstico se realizó en el mes de octubre del 2010 sobre un total de 122 vacas, que en ese momento estaban en ordeño, y 2 toros. El resultado fue un 25 % de animales positivos. En noviembre del 2011 se realiza un segundo diagnóstico a los animales que habían resultado negativos al primero.

Por una decisión empresarial del propietario, durante el período de esos 13 meses (octubre del 2010 a noviembre del 2011) no se eliminaron animales positivos a la IDR. Los mismos, permanecieron juntos con los negativos compartiendo los mismos potreros y la misma comida, incluida la ración que se suministraba en los comederos de la sala al momento del ordeño. Esto determinó que no hubiera diferencia en el manejo sanitario, alimentario, reproductivo ni espacial entre los animales positivos y los negativos a la prueba tuberculínica.

Selección de animales en estudio y formación de los grupos

Para homogeneizar los grupos de estudio y disminuir el error, se utilizaron solamente aquellas vacas que estaban entre los 200 y los 400 días de lactancia. Había animales con valores extremos de días de lactancia (ej: menores a 150 y mayores a 850 días) debido a causas de manejo productivo independientes de la enfermedad los cuales no se incluyeron en el análisis. También se dejaron de lado aquellas vacas que fueron eliminadas durante el período del estudio, por diversas razones: venta, muerte, entre otras. Quedaron finalmente seleccionados en total 60 animales divididos en dos grupos: 22 (36.67%) con resultado positivo a la IDR y 38 (63.33%) con resultado negativo.

Durante los 13 meses que se extendió el trabajo, se evaluó la producción de litros de leche totales por animal en ambos grupos. También se analizaron y compararon la producción de leche discriminada según el número de lactancia en

que se hallaba cada vaca (de 1ra hasta 4ta lactancia) y la producción según los días de lactancia (200 - 250 – 305 – 350 – 400 días).

Por otra parte, se analizó la incidencia de la enfermedad durante el período de los 13 meses. Para ello se tuvieron en cuenta los animales que resultaron negativos en la primera tuberculinización (octubre del 2010) y que se positivizaron en la segunda (noviembre del 2011). Este grupo de animales negativos a la 1^{ra} prueba estuvo integrado por 70 vacas e incluyó: 38 vacas del grupo IDR (-) al que se le realizó el análisis de la producción de litros de leche, 15 negativas con valores extremos de lactancia por lo cual no se incluyeron en el estudio de producción de leche y 17 que se hicieron positivas durante el estudio que tampoco fueron incluidas dentro del grupo de IDR (+).

Otra información que se generó fue la tasa de descartes debida a tuberculosis en el rodeo general. Luego de la tuberculización realizada en noviembre de 2011, en el establecimiento se inician tareas de saneamiento una de las cuales fue la repetición de la IDR a todos los animales negativos y la venta de todos los reaccionantes. Desde ese momento y hasta diciembre del 2012 se aplicó la IDR en dos oportunidades. Durante este período se fueron eliminando periódicamente todos aquellos animales que habían dado positivo desde octubre del 2010 y los nuevos positivos en esas repeticiones. Con estos datos se discriminó el porcentaje de animales descartados por TBC de los descartados por otras causas (fallas reproductivas, leucosis, abortos, mastitis crónica, problemas de pata, baja producción, entre otras).

Análisis de los resultados

La evaluación de los datos de producción láctea entre ambos grupos se realizó mediante un análisis de regresión lineal utilizando el programa STATA11.2

donde las variables fueron: animal positivo o negativo a TBC, días de lactancia y cantidad de litros de leche producidos.

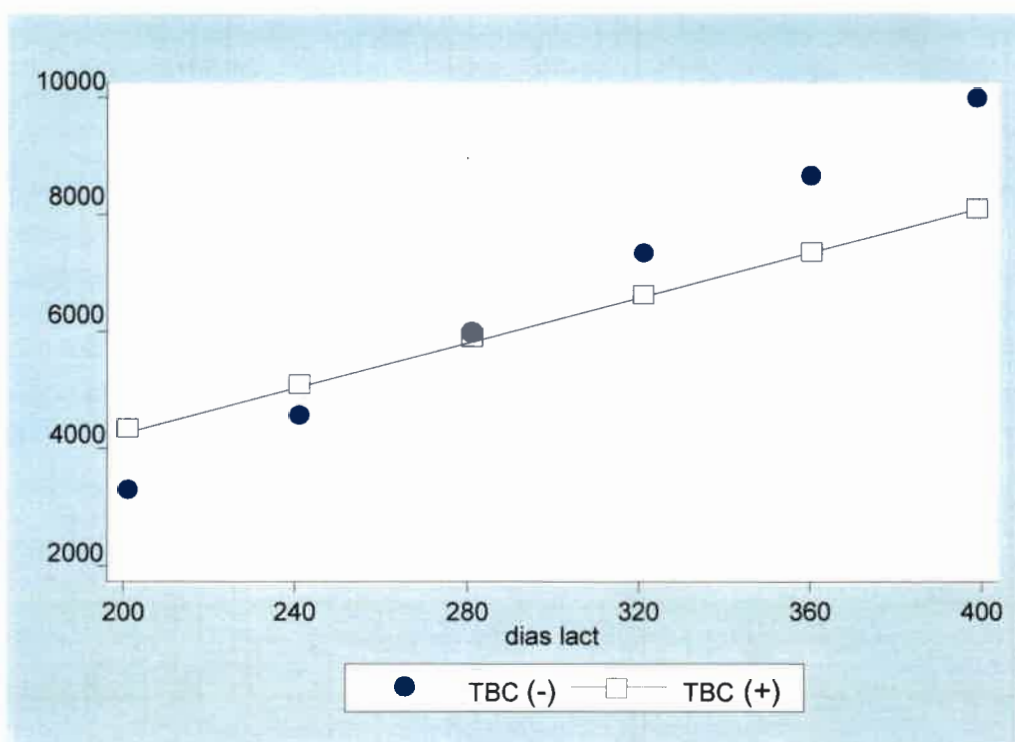
RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los grupos de animales negativos y positivos a TBC discriminados según el número de lactancia.

Nro. lactancia	Negativos a TBC	Positivos a TBC	Total
1	9	1	10
2	7	3	10
3	13	13	26
4	9	5	14
Total	38	22	60

Inicialmente se estudió la diferencia de producción de litros de leche en animales positivos y negativos a la IDR que estaban entre los 200 y 400 días de lactancia.

En el gráfico 1 se muestran las tendencias, emitidas mediante el programa STATA 11.2, en la producción total de litros de leche según días de lactancia para ambos grupos durante los 13 meses de ensayo.

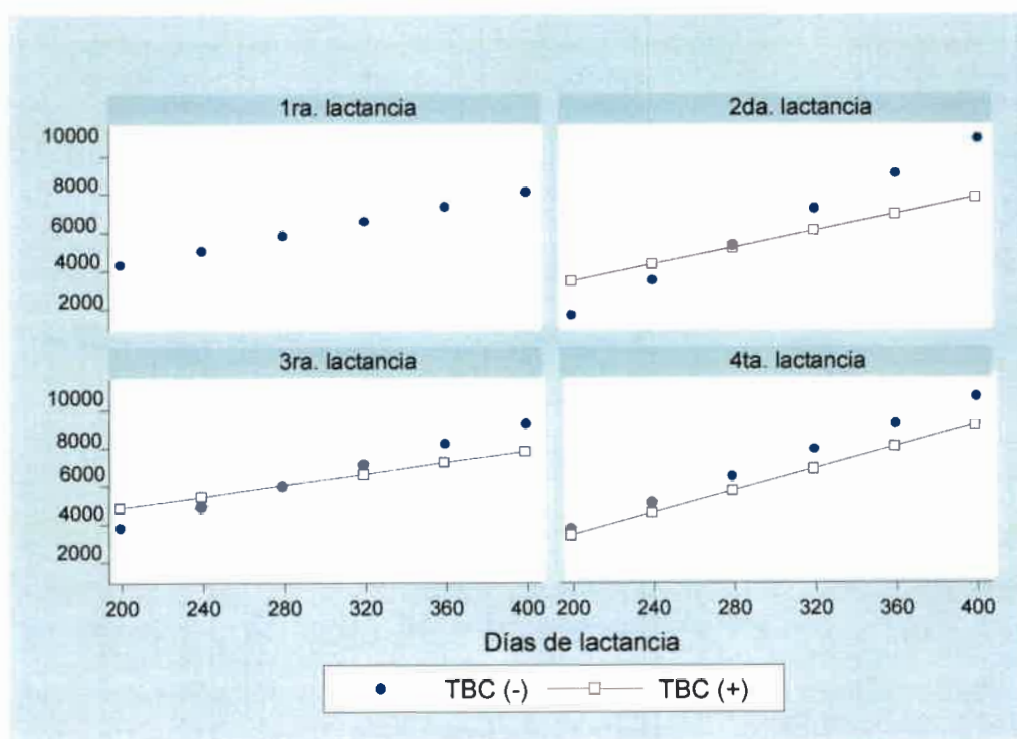


En la tabla 2 se detallan las predicciones de litros totales a 200, 250, 305, 350 y 400 días en lactación para el grupo TBC (-) y el grupo TBC (+).

Días de lactancia / TBC (-) o TBC (+)	Promedio de litros totales
200 TBC (-)	3187,516
200 TBC (+)	4311,514
250 TBC (-)	4882,992
250 TBC (+)	5270,698
305 TBC (-)	6748,016
305 TBC (+)	6325,801
350 TBC (-)	8273,944
350 TBC (+)	7189,066
400 TBC (-)	9969,42
400 TBC (+)	8148,251

La diferencia en la producción de litros de leche a los 305 días, valor promedio de una lactancia regular, fue superior en 422,215 litros para el grupo de animales negativos IDR.

En el gráfico 2 se muestra la distribución de producción de litros de leche en ambos grupos, analizados de acuerdo al número de lactancia (1ra, 2da, 3ra y 4ta) durante los 13 meses de ensayo.



Otro de los objetivos fue estimar la pérdida económica que significaba la diferencia de producción entre ambos grupos. Basándose en la lactancia de 305 días, existió una diferencia de 422,215 litros de leche/vaca a favor del grupo de los animales negativos lo que equivale aproximadamente a un 6,25%. Durante el período de estudio (octubre del 2010 y noviembre del 2011) el precio del litro de leche tuvo un promedio de un peso con 50 centavos (\$1,50) lo que representó

una pérdida de pesos seiscientos treinta y tres con 32 centavos (\$633,32) por cada vaca del grupo positiva con respecto a las negativas. Si tomamos como referencia el valor del dólar estadounidense para ese momento, el mismo se cotizaba en cuatro pesos con 10 centavos (\$4,10) por dólar (u1), lo que las pérdidas representan un total de ciento cincuenta y cuatro dólares con 46 centavos (u\$s154,46) por cada vaca positiva.

Por otro lado, se estudió la tasa de incidencia de la enfermedad durante el periodo de estudio (13 meses). De las 70 vacas que inicialmente fueron negativas, 17 (24,2%) se positivizaron en la segunda tuberculinización (noviembre del 2011).

Finalmente se determinó el porcentaje de animales descartados por la enfermedad. Desde noviembre del 2011 a diciembre del 2012 se eliminaron un total de 119 animales, de los cuales 51 (46%) fueron descartados por ser reaccionantes a la IDR.

DISCUSIÓN

Con respecto a la hipótesis que se había planteado, donde los animales reaccionantes positivos a la IDR producen menos litros de leche que los animales negativos, la misma es aceptada en nuestras condiciones de estudio.

Los resultados indicaron que el grupo de animales negativos a la IDR produjo 422,215 Lts/vaca más de leche en promedio, a los 305 días de lactancia, que el grupo de animales positivos lo que representa un 6,25% (tabla 2). Si evaluamos el mismo parámetro a los 400 días observamos que la brecha es más grande aún ya que los animales negativos produjeron 1821.17 Lts más, lo que representa el 18,26% (tabla 2). Estas diferencias también fueron observadas por Boland y col.; (2010) en Irlanda donde las vacas negativas produjeron 120 kgs más de leche que las positivas en la tercera lactancia. Por su parte Hernandez y Baca (1998) también encontraron una producción promedio de 347 Lts más de leche en animales negativos que en positivos a la IDR. Si bien en su estudio se analizan otras variables, la tuberculosis fue la responsable del 4% de las pérdidas en la producción láctea impactando negativamente en el establecimiento y considerándola una causa importante a controlar.

Rahman y Samad, (2008) en Bangladesh, también observaron una menor producción de leche en bovinos positivos a tuberculosis. Si bien estos animales eran de razas índicas, con muy baja producción láctea, las vacas positivas produjeron un 17.8% menos de leche en un período de estudio de 5 meses.

Cuando se compara la tendencia global (gráfico 1) con las tendencias discriminadas por lactancia (gráfico 2) se observa un comportamiento similar para la 2da, 3ra y 4ta lactancia, donde el grupo de negativos inicia con una producción levemente menor (2da y 3ra) o similar (4ta) a los 200 días, pero en el transcurso

del tiempo los TBC(-) superan a los TBC (+); llegando a los 400 días donde se observa un claro distanciamiento de las líneas de producción láctea favorable en los animales negativos. Por lo tanto lo observado en la tendencia global se mantiene en forma similar en las diferentes lactancias.

En el caso de la 1er. lactancia, 9 animales fueron negativos pero solamente 1 integraba el grupo de positivos (tabla 1), por lo tanto consideramos que no es significativo para hacer referencia alguna.

Una situación que también se pudo percibir en nuestro estudio, es lo planteado por Boland y col., (2010) donde la mayor diferencia en la producción de leche entre positivos y negativos a TBC se da en los animales de menor edad. Si bien el número de vacas no fue elevado, en el gráfico 2 se observa que las líneas se distancian entre ellas más acentuadamente en los animales de 2da lactancia que en los de la 3ra y menos aún en los de la 4ta; considerando dichas líneas desde el inicio a los 200 días de lactancia hasta el final a los 400 días

Si bien se desconoce el momento en que se infectaron los animales que integraron el grupo de positivos, ya que no se cuentan con datos previos de tuberculinizaciones, con estos resultados podríamos presuponer, que a medida que se hace más crónica la enfermedad, va impactando negativamente en la producción láctea de las vacas. Según Demas y col., (1997) y Romayukha y col., (2006) los animales infectados utilizan sus reservas para desarrollar la respuesta inmune contra las micobacterias, utilizando recursos energéticos que podrían utilizarse para otros procesos fisiológicos, en este caso la producción de leche.

Una posible explicación sobre porque los animales infectados produjeron más litros de leche al inicio de la lactancia, como se observa en el gráfico 1, es expresada por Boland y col., (2010) y podríamos compartir. Los animales de

mayor producción serían más propensos a contraer la enfermedad ya que están normalmente en condiciones metabólicas mucho más exigentes y más estresantes. Pollock y Neill., (2002) plantean además la posibilidad que la enfermedad podría controlarse y las micobacterias quedar en latencia reactivándose en algunos períodos fisiológicos de baja de defensas o de mayores exigencias de producción (Pollock y Neill, 2002).

Si bien en este modelo analizado se incluyeron sólo tres variables (animales positivos y negativos a tuberculosis, litros de leche producidos y días de lactancia) todos los animales en estudio se encontraban en el mismo establecimiento y bajo las mismas condiciones nutricionales y de manejo lo cual disminuye el número de variables que podríamos incorporar entre ambos grupos. La condición corporal y la genética son algunas de las que no se tuvieron en cuenta y podrían estar modificando en algún punto nuestros resultados.

No obstante con respecto a la selección genética, en el establecimiento normalmente no se hacía ningún tipo de manejo por lo que podríamos presuponer, por cuestiones del azar, que los grupos estarían equilibrados en este sentido.

Con respecto a las pérdidas económicas que significó la diferencia de producción de leche entre ambos grupos teniendo de referencia los 305 días como tiempo promedio de una lactancia regular, se considera que los \$633,32 (u\$d154,46 en ese momento) son pérdidas importantes, no tanto al considerar en forma individual, sino al multiplicar ese valor por la totalidad de animales enfermos. Únicamente en el ensayo se evaluaron 22 vacas los que sería un total de \$13933,04 (u\$d 3398,30). Debemos tener en cuenta que ese monto es mayor al considerar todos los otros animales infectados del campo, que por las razones ya explicadas, no se incluyeron en el análisis.

Al analizar la tasa de incidencia de la enfermedad durante el período de 13 meses, la misma se puede considerar elevada, con un 24,2% de nuevos casos. Algunos autores (O'Reilly y Costello, 1988) no lograron demostrar la transmisión de la enfermedad partir de 22 bovinos positivos a los contactos negativos durante un período de 125-257 días en condiciones extensivas.

Una tasa mayor a la de nuestro trabajo fue observada por Costello y col., (1998) los cuales aislaron micobacterias en 4 de 10 animales sanos en contacto con infectados durante 12 meses que duró el ensayo; no obstante este trabajo fue realizado en animales alojados en boxes y muchas veces es difícil trasladar los resultados de reproducciones experimentales a la posibilidad que suceda en forma similar en condiciones de campo

Finalmente, dentro de las pérdidas que consideramos más importantes se encuentra la venta de animales descartados por TBC. Como se mencionó anteriormente durante un poco más de un año (noviembre de 2011 a diciembre de 2012) se vendieron 119 vacas de las cuales 51 eran reaccionantes a TBC lo que representó el 46%. Ante esta situación se podrían destacar al menos cuatro puntos importantes: por un lado al tomar la decisión de eliminar los positivos que habían permanecido en el campo, se tuvo que vender una gran cantidad de animales en un periodo de tiempo muy corto; el inconveniente que ello genera es la disminución brusca en el número de vacas en ordeño y por lo tanto en la producción láctea. Para solventar esta situación se hace necesario salir a comprar rápidamente una cantidad importante de animales con la posibilidad de no conseguir la calidad de animal deseada y por otro lado tener que desembolsar un monto importante de dinero.

Otro punto importante es que al mantener los animales enfermos durante mucho tiempo en el establecimiento sin separarlos de los sanos, compartiendo potreros, bebidas, corrales y sala de ordeño, se aumenta en gran medida el riesgo de transmisión de la enfermedad entre ambos grupos, como también quedo demostrado en este estudio.

Otro eje a considerar es que los terneros en la guachera, fueron alimentados con leche cruda del tambo durante todo ese período. Esto lleva a aumentar considerablemente el riesgo de infectar a esa categoría que es muy susceptible a las infecciones. Y como la reposición en el establecimiento se hacía casi exclusivamente con animales propios, tener terneras infectadas repercute desfavorablemente con el número de animales para poder seleccionar.

Y finalmente, el otro punto que podríamos considerar como el más importante, es que la situación epidemiológica presente en el establecimiento, eleva ampliamente el riesgo de zoonosis tanto para los tamberos, el productor y todas las personas que estén en contacto con los animales infectados.

CONCLUSIÓN

Por los resultados obtenidos, se ha observado una menor producción en litros de leche totales de los animales positivos a la IDR comparados con animales negativos, en este establecimiento. Si bien diversas variables, aparte de la TBC, pueden influir en mayor o menor medida sobre la producción láctea, cada sistema de producción es diferente y debe ser analizado en particular.

Nos parece importante además, seguir generando información sobre esta temática mediante estudios a campo en condiciones naturales, que ayuden al momento de tomar medidas sanitarias tendientes al control de la enfermedad.



BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, J.; Perez, A.; Bezos, J.; Casal, C.; Romero, B.; Rodriguez-Campos, S.; Saez-Llorente, J.; Diaz, R.; Carpintero, J.; de Juan, L.; Dominguez, L. 2012. Eradication of bovine tuberculosis at a herd-level in Madrid, Spain: study of within-herd transmission dynamics over a 12 year period. *BMC Veterinary Research*, 8:100 <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/8/100>
- Angala, S.; Belardinelli, J.; Huc-Claustre, E.; Wheat, W.; Jackson, M. 2014. The cell envelope glycoconjugates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, Early Online: 1–39. ISSN: 1040-9238 (print), 1549-7798 (electronic).
- Benjamini, E.; Sunshine, G.; Leskowitz, S. 1996. *Inmunology. A short course*. 3ed. Edit Zoonosis. Serie de monografías científicas y técnicas. Nº 11.
- Boland, F.; Kelly, G.; Good, M.; More, S. 2010. Bovine tuberculosis and milk production in infected dairy herds in Ireland, *Preventive Veterinary Medicine*, 93 (2-3): 153-161
- Brock, T.; Madigan, M. 1993. *Microbiología. Capítulo 19: Mycobacterium*. 6 ed. Prentice Hall Hispanoamericana S.A. México, 851-853.
- Collins, D.; Radford A.; de Lisle G.; Jacobe H. 1994. Diagnosis and epidemiology of bovine tuberculosis using molecular biological approaches. *Veterinary Microbiology*, 40(1-2): 83-90.
- Corner, L. 1994. Postmortem diagnostic of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Vet. Microbiol.* 40: 53-63.

- Costello, E.; Doherty, M.; Monaghan, M.; Quigley, F.; O'Reilly, P. 1998. A study of cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis* infection. *The Veterinary Journal*, 155(3), 245–250.
- de la Rúa-Domenech, R.; Goodchildb, A.; Vordermeierc, H.; Hewinsonc, R.; Christiansenb, K.; Clifton-Hadleyd, R. 2006. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests, γ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Research in Veterinary Science*, 81(2), 190–210.
- Demas, G.; Chefer, V.; Talan, M.; Nelson, R. 1997. Metabolic costs of mounting an antigen-stimulated antibody response in adult and aged C57BL/6J mice. *American Journal of Physiology*, 273:1631-1637.
- Dey, B.; Parham, G. 1993. Incidence and economics of tuberculosis in swine slaughtered from 1976 to 1988. *J.A.V.M.A.* 203 (4): 516-519.
- Doherty, M.; Monaghan, M.; Bassett, H.; Quinn, P.; Davis, W. 1996. Effect of dietary restriction on cell-mediated immune responses in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 49: 307-20.
- Etchechoury, I.; Valencia, G.; Morcillo, N.; Sequeira, M.; Imperiale, B.; López, M.; Caimi, K.; Zumárraga, M.; Cataldi, A.; Romano, M. 2010. Molecular typing of *Mycobacterium bovis* isolates in Argentina: first description of a person-to-person transmission case. *Zoonoses Public Health*, 57(6): 375-381.
- Garro, C.; Abdala, A.; Garbaccio, S.; Spath, E.; Leon, E.; Paolicchi, F. 2010. Factores de riesgo en tuberculosis bovina en rodeos lecheros de las

provincias de Córdoba y Santa Fe. *Revista Argentina de Producción Animal*, 30(2): 167-178.

- Garro, C.; Morris, W.; Delgado, F.; Garbaccio, S. 2011. Tuberculosis Bovina en terneros. *Veterinaria Argentina*. 28(276).
<http://www.veterinariargentina.com/revista/2011/04/tuberculosis-bovina-en-terneros/>
- Gilbert, M.; Mitchell, A.; Bourn, D. 2005. Cattle movement and bovine tuberculosis in Great Britain. *Nature* 435: 491-496
- Griffin, J.; Hahsey, T.; Lynch, K.; Salman, M.; McCarthy, J.; Hurley, T. 1993. The association of cattle husbandry practices, environmental factors and farmer characteristics with the occurrence of chronic bovine tuberculosis in dairy herds in the Republic of Ireland. *Preventive Veterinary Medicine*, 17: 145-60.
- Hernandez, J.; Baca, D. 1998. Effect of tuberculosis on milk production in dairy cows. *Journal American Veterinary Medicine Association*, 213(6): 851-854.
- Hines, M.; Balwin, C.; Styer, E.; Hullinger, G.; Cole, J. 1999. Effects of macrophage inhibitory factor-A3 (MIF-A3) on cytokine secretion and phagolysosome fusion in murine macrophages. *Vet. Microbiol.* 65: 47-60.
- Hines, M.; Kreeger, J.; Herron, A. 1995. Mycobacterial infections of animals: pathology and pathogenesis. *Laboratory Animal Science*, 45(4): 334-351.

- Holt, J.; Krieg, V.; Sneath, P.; Staley, J.; Willians, S. 1994. Bergey's Manual of determinative bacteriology. 9 ed. The Mycobacteria. Editorial Lippincott Willians & Wilkins, USA, 597-603.
- Jackson, R.; de Lisle, G.; Morris, R. 1995. A study of the environmental survival of *Mycobacterium bovis* on farm in New Zealand. New Zealand Veterinary Journal, 43: 346-352.
- Jorge, C.; Alito, A.; Bernardelli, A.; Canal, A.; Cataldi, A.; Cicuta, M.; Gentile, F.; Kistermann, J.; Magnano, G.; Martinez Vivot, M.; Oriani, D. S.; Paolicchi, F.; Romano, I.; Schneider, M.; Torres, P.; Zumárraga, J. 2005. Manual de diagnóstico de Micobacterias de importancia en medicina veterinaria. Comisión Científica de Micobacterias. 1ª ed. ISBN: 987-21667-1-4. Imprenta Acosta Hnos. Santa Fe, Argentina
- Jubb, K.; Kennedy, P.; Palmer, N. 2007. Pathology of Domestic Animals. 5 ed. Tomo 2. Elsevier Saunders. ISBN: 978-0-7020-2823-6
- Kamerbeek, J.; Schouls L.; Kolk, A.; van Agterveld, M.; van Soolingen, D.; Kuijper, S.; Bunschoten, A.; Molhuizen, H.; Shaw, R.; Goyal, M.; Embden, J. 1997. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. Journal of Clinical Microbiology, 35(4): 907-914.
- Kantor, I. 1979. Tuberculosis: bacteriología de la tuberculosis humana y animal. Centro Panamericano de Zoonosis. Serie de monografías científicas y técnicas, Nº 11.
- Kantor, I. 1987. Nontuberculous mycobacteria and *Mycobacterium bovis* as a cause of human disease in Argentina. Tropical and Geographical Medicine. 39: 222-227.

- Kantor, I. 1999. Agente etiológico. En Actualización de Tuberculosis Bovina. SAGYP- INPPAZ (SENASA). Subcomisión Nacional de Tuberculosis Bovina, Buenos Aires, Argentina, 7-8.
- Kantor, I.; Ambroggi, M.; Poggi, S.; Morcillo, N.; Da Silva, M.; Telles, M.; Ribeiro, O.; Torres, M.; Polo, C.; Ribón, W.; García, V.; Kuffo, D.; Asencios, L.; Vásquez, L.; Rivas, C.; de Waard, J. 2008. Human *Mycobacterium bovis* infection in ten Latin American countries. *Tuberculosis*, 88(4): 358-360.
- Kantor, I.; Ritacco, V. 2006. An update on bovine tuberculosis programmes in Latin American and Caribbean countries. *Veterinary Microbiology*, 112: 111-118.
- Kantor, I.; Torres, P.; Morcillo, N.; Imaz, M.; Sequeira M. 2012. La tuberculosis zoonótica en la Argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 72: 514-520. Disponible en: <http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol72-12/6/514-520-med6-17.pdf>
- Kistermann, J., Torres, P. 2000. Epidemiología de la tuberculosis bovina. En: Torres P. Actualización en Tuberculosis bovina. SENASA. Buenos Aires. pp. 39-48.
- Komijn, R.; Haas, P.; Schneider, M.; Eger, T.; Nieuwenhuijs, J.; Hoek, R.; Bakker, D.; Zijd Erveld, F.; Soolingen, D. 1999. Prevalence of *Mycobacterium avium* in slaughter pigs in The Netherlands and comparison of IS1245 restriction fragment length polymorphism patterns of porcine and human isolated. *J. Clinical Microbiology*. 37(37): 1254-1259.

- Koo, H.; Park, Y.; Ahn, J.; Waters, W.; Palmer, M.; Hamilton, M.; Barrington, G.; Mosaad, A.; Park, K.; Jung, W.; Hwang, I.; Cho, S.; Shin, S.; Davis, W. 2005. Use of rMPB70 protein and ESAT-6 peptide as antigens for comparison of the enzyme-linked immunosorbent, immunochromatographic, and latex bead agglutination assays for serodiagnosis of bovine tuberculosis. *Journal Clinical Microbiology*, 43(9):4498-506.
- Magnano, G.; Schneider, M.; Macias, A.; Sticotti, E.; Perez Zavala, V.; Giraud, J.; Mació, M.; Zumarraga, M. 2011. Eliminación de micobacterias por vía respiratoria en bovinos positivos a la prueba tuberculínica. V Jornada Científico Técnica de la Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNRC, 01 de abril, Universidad de Río Cuarto.
- Magnano; G.; Schneider, M.; Sassia, E.; Navarro, F.; Larriestra, A.; Giraud, J.; Busso, J.; Dicola, G.; Bérghamo, E.; Romanini, S.; Zapata, L. 1997. **Estudio Prevalencial de tuberculosis bovina en tambos de la cuenca lechera de Coronel Moldes, Provincia de Córdoba.** En "Acreditación de Veterinarios. Cursos de capacitación. Plan Nacional de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina". ISBN: 950-665-054-3.
- Martínez Vivot, M.; Saez, G.; Ritacco, V.; Reniero, A.; Pellegrino, F.; Poggio, G.; Torres, P. 1996. Inter-species transmission of *Mycobacterium bovis* in Argentina: molecular analysis. *Tubercle Lung Dis.* 77(Suppl. 2): 121. orial Wiley-Liss, Nueva York, 299-314.

- Matthias, D.1980. Infecciones por micobacterias: Tuberculosis. En: Beer, J. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. T. 2. Acribia. España, 229-252.
- Menin, A.; Fleith, R.; Reck, C.; Marlow, M.; Fernandes, P.; Pilati, C.; Bafica, A. 2013. Asymptomatic cattle naturally infected with *Mycobacterium bovis* present exacerbated tissue pathology and bacterial dissemination. PLOS ONE, www.plosone.org, Volume 8, Issue 1
- Menzies, F.; Neil, S. 2000. Cattle-to-cattle transmission of bovine tuberculosis. *The Veterinary Journal*, 160 (2); 92–106.
- Monies, R.; Head, J. 1999. Bovine tuberculosis in housed calves. *Veterinary Record* 145: 743.
- Morés, N.; Silva, V.; Dutra, V. 1997. Linfódenite tuberculóide em suínos: o que pode ser feito para seu controle. Instrução Técnica para o Suinocultor. EMBRAPA Suínos e Aves, Brasil, N°4.
- Navarro, F.; Samartino, L.; Magnano, G.; Schneider, M.; Di Cola, G.; Busso, J.; Larriestra, A. 1997. Determinación de la prevalencia de brucelosis bovina en una zona del sur de córdoba. IV Jornadas Científico Técnicas de la FAV. 20 y 21 de agosto . Universidad Nacional de Río Cuarto.
- Neill, S.; O'brien, J.; Hanna, J. 1991. A mathematical model for *Mycobacterium bovis* excretion from tuberculous cattle. *Veterinary Microbiology* 28: 103-109.

- Neill, S; Hanna, J; O'Brien, J.; McCracken, R. 1998. Excretion of *Mycobacterium bovis* by experimentally infected cattle. *Veterinary Record*, 123(13): 340-343.
- Noste, J.; Risso, R.; Costa, A. 1999. Prevalencia de tuberculosis bovina en la cuenca lechera de Cotar. Jornadas de divulgación científica técnica. Facultad de Ciencias Veterinarias, Casilda, Universidad Nacional de Rosario, Argentina.
- OIE, 2013. Terrestrial Manual, chapter 2.4.7. Bovine tuberculosis.
- O'Reilly, I.; Costello, F. 1988. Bovine tuberculosis with special reference to the epidemiological significance of pulmonary lesions. *Irish Veterinary News*, 10: 11–21
- O'Reilly, L.; Daborn, C. 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: A review. *Tubercle and Lung Disease*. 76(1): 1–46.
- Pellegrino, F.; Oliva, G.; Carfagnini, J.; Kantor, I.; Pinto, S.; Underwood, S.; Reniero, A.; Puentes, A.; Torres, P.; Alvarez Peralta, E. 1996. Bases anatómicas para los criterios de decomiso parcial por tuberculosis en bovinos. *Rev. Med. Vet.* 77: 42-48.
- Phillips, C.; Foster, C.; Morris, P.; Teverson, R. 2003. The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. *Research in Veterinary Science*, 74: 1-15.
- Pollock, J.; Neill, S. 2002. *Mycobacterium bovis* infection and tuberculosis in cattle. *Veterinary Journal*, 163(2): 115-127.

- Rahman, M.; Samad, M. 2008. Prevalence of bovine tuberculosis and its effects on milk production in Red Chittagong cattle. *Bangl. J. Vet. Med.* 6(2): 175–178.
- Rastogni, N.; Legrand, E.; Sola, C. 2001. The Mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. *Rev.Sci.Tech. Off.Int.Epiz.* 20(1): 21-54.
- Romanyukha, A.; Rudnev, S.; Sidorov, I. 2006. Energy cost of infection burden: an approach to understanding the dynamics of host-pathogen interactions. *J Theor Biol.*, 241(1):1-13.
- Schneider, M.; Macías,A.; Magnano, G.; Bergamo, E.; Zumarraga, M.; Cataldi, A.; Sticotti, E.; Perez Zavala, V.; Giraudo, J. 2007. Eliminación de micobacterias por leche en animales reactivos a la prueba tuberculínica. *Revista Argentina de Microbiología.* 39(1):174.
- SENASA. 2012 Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina en la República Argentina, Resolución 128/2012.
- Sequeira, M; Latini, O.; Lopez, M.; Cecconi, J. 1990. Tuberculosis bovina en seres humanos. 2ª.parte: periodo 1977-1989. *Revista Argentina del Torax.* 51: 13-14.
- Serrano-Moreno, B.; Romero, T.; Arriaga, C.; Torres, R.; Pereira-Suarez, A.; Garcia-Salazar, J.; Estrada-Chavez, C. 2008. High frequency of *Mycobacterium bovis* DNA in colostrum from tuberculous cattle detected by Nested PCR. *Zoonoses Public Health,* 55: 258–266
- Smith, B. 2010. Medicina interna de grandes animales. Cuarta edición. Ed. ELSEVIER, pp: 661-662

- Software para la gestión de información reproductiva, productiva, sanitaria y nutricional de rodeos lecheros <http://www.swagropecuaria.com.ar/productos.php>. 23 de abril 2013.
- Soldá, P.; Rojo, S.; Cosiansi, M.; Barnes, A. 2005. Frecuencia de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar en un hospital de referencia de la provincia de Córdoba, 1991-2003. ISSN 0325-758491 Revista de Microbiología 37: 89-91.
- Stata 11 (StataCorp. 2009. Stata Statistical Software: Release 11. College Station, TX: StataCorp LP) y BLCM (Bayes Latent Class Models)
- Thoen, C.; Bloom, B. 1995. Pathogenesis of *Mycobacterium bovis*. In *Mycobacterium bovis* infections in animals and humans. Thoen. C. and Steele, J. 1 ed. Ed. Iowa State University Press, USA, 3-14.
- Tizard, I. 2000. Type IV hypersensitivity: delayed hypersensitivity. En *Veterinary Immunology: An introduction*. 6 ed. W.B. Saunder Company, USA, pp: 343-347.
- Torres. 2011. Situación de la tuberculosis bovina en la Republica Argentina. www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File1013-situacion_tuberculosis_bovina_junio_2011.pdf
- Waters, W.; Buddle, B.; Vordermeier, H.; Gormley, E.; Palmer, M.; Thacker, T.; Bannantine, J.; Stabel, J.; Linscott, R.; Martel, E.; Milian, F.; Foshaug, W.; Lawrence, J. 2011. Development and evaluation of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for use in the detection of bovine tuberculosis in cattle. *Clin Vaccine Immunol.*, 18(11): 1882–1888.

- Welsh, M. 1995. Effects of bovine viral diarrhoea virus/mucosal disease virus on the functional properties of bovine mononuclear cells. Ph.D. Thesis. Belfast: Queen's University of Belfast.
- Whelan, C.; Shuralev, E.; Kwok, H.; Kenny, K.; Duignan, A.; Good, M.; Davis, W.; Clarke, J. 2011. Use of a multiplex enzyme-linked immunosorbent assay to detect a subpopulation of *Mycobacterium bovis*-infected animals deemed negative or inconclusive by the single intradermal comparative tuberculin skin test. *J Vet Diagn Invest.*, 23(3):499-503.
- Wood, P.; Corner, L.; Rothel, J.; Baldock, C.; Jones, S.; Cousins, D.; McCormick, B.; Francis, B.; Creeper, J.; Tweddle, N. 1991. Field comparison of the interferon-gamma assay and the intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Aust Vet J.*, 68(9):286-290.
- World Health Organization (WHO), 2012. Global tuberculosis report.
Disponible en:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75938/1/9789241564502_eng.pdf
- Young, L.; Inderling, C.; Berlin, G.; Gottlieb, M. 1986. Mycobacterial infections in AIDS patients, with an emphasis on the *Mycobacterium avium* complex. *Reviews of Infectious Diseases.* 8(6): 1024-1033.
- Zumárraga, M.; Martín, C.; Samper, S.; Alito, A.; Latini, O.; Bigi, F.; Roxo, E.; Cicuta, E.; Errico, F.; Ramos, M.; Cataldi, A., van Soolingen, D.; Romano, I. 1999. Usefulness of spoligotyping in molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis*-related Infections in South America. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(2): 269-303.

