

Resistencia natural contra la tuberculosis en ganado. Revisión

Natural resistance to tuberculosis infection in cattle. Review

Sara González Ruiz^a

Germinal Jorge Cantó Alarcón^b

Elba Rodríguez-Hernández^c

Susana Flores Villalba^c

Sergio I. Román Ponce^c

Feliciano Milián Suazo^{b*}

^a Universidad Autónoma de Querétaro. Av. de las ciencias S/N Juriquilla, Delegación Santa Rosa Jáuregui, 76230. Tel. 442 192 12 00, ext. 5384. Querétaro, Qro. México.

^b Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, México.

^c Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología Animal-INIFAP. México.

*Autor de correspondencia: feliciano.milian@uaq.mx.

● Resumen:

La tuberculosis bovina (TBb) es una enfermedad crónica del ganado y otras especies animales. Es causada por *Mycobacterium bovis*, y su importancia radica en el riesgo que representa para la salud pública y en las severas pérdidas ocasionadas a la industria ganadera. Actualmente, muchos países tienen programas de control pero de éxito parcial; por lo tanto, son necesarias nuevas estrategias contra esta enfermedad. En México la prevalencia de tuberculosis bovina se estima en 16 % en ganado lechero, y poco menos de 1 % en ganado para carne; sin embargo, observaciones de campo indican que a pesar de las altas prevalencias en algunos hatos (25-35 %) y la exposición prolongada, la prevalencia nunca llega al 100 %, lo que sugiere que algunos animales son naturalmente resistentes. Considerando que la



manifestación clínica de la tuberculosis depende de la interacción de varios factores, es lógico pensar que las variaciones genéticas en el hospedero pueden estar asociadas a resistencia o susceptibilidad. En este trabajo se presenta el resultado de una revisión minuciosa de reportes en la literatura sobre este tema. Se describen de manera resumida trabajos cuyo objetivo es identificar variaciones genéticas entre individuos con y sin la enfermedad, con el propósito de determinar variación genética asociada con resistencia a enfermedades. Se hace mención de los genes frecuentemente relacionados con resistencia. Se concluye que la resistencia a la tuberculosis en el ganado presenta una variación genética que puede ser identificada, medida e incorporada a procesos actuales de selección en ganadería para obtener animales resistentes a la infección.

● **Palabras clave:** Tuberculosis, Resistencia, Genética, Ganadería, *M. bovis*.

● **Abstract:**

Bovine tuberculosis (bTB) is a chronic disease of cattle and other animal species caused by *Mycobacterium bovis*. The importance of bTB is that it represents a risk to public health, and causes economic losses to the livestock industry. Because of this, many countries have established control and eradication programs with partial success. Therefore, the search for new strategies to control this disease is relevant. In Mexico, the prevalence of bTB is estimated in 16 % in dairy cattle and in less than 1 % in beef cattle; however, field studies have proved that in spite of the high prevalence in some herds (25-35 %), and long periods of exposure (3 to 5 yr average), the prevalence never reaches 100 %; this suggests that some animals are naturally resistant to tuberculosis. Considering that clinical manifestation of bTB depends on the interaction of various factors, it is reasonable to think that genetic variations in the host can be associated to resistance to this disease. This review, presents the state of the art in this matter; it describes the results of studies performed in different animal species and humans with the purpose of detecting genetic variation associated with disease resistance. The main genes associated with resistance are described and discussed individually. The conclusion is that genetic variation in cattle is associated with resistance to tuberculosis, and that this variation can be identified, measured, and incorporated into the current process of animal selection in the livestock industry to obtain animals more resistant to infection.

● **Key words:** Tuberculosis, Resistance, Genetics, Livestock, *M. bovis*.

Recibido: 05/03/17.

Aceptado: 23/09/2017.



❖ Introducción ❖

La tuberculosis bovina (TBb) es causada por *Mycobacterium bovis*, patógeno filogénicamente cercano a *Mycobacterium tuberculosis*, el causante de la enfermedad en el humano (TBh). La TBb representa un riesgo para la salud pública, puesto que entre el 3 y el 15 % de los casos de TBh son causados por *M. bovis*^(1,2) y tiene un fuerte impacto económico en la ganadería debido a bajas en la producción, al decomiso total o parcial de animales en rastro y las limitantes en la comercialización del ganado y sus productos. En la actualidad existe interés en muchos países por erradicar la tuberculosis del ganado; sin embargo, a pesar de los múltiples esfuerzos y la enorme cantidad de recursos invertidos, la enfermedad está lejos de ser eliminada. Aunque los países desarrollados han logrado llevar a niveles mínimos la prevalencia en el ganado, en la fauna silvestre la tuberculosis se ha convertido en un problema más difícil de resolver^(3,4).

En el caso de México la prevalencia de la TBb se estima en 16 % para el ganado productor de leche, y en poco menos del 1 % para ganado de carne en la mayor parte del territorio nacional⁽³⁾. En el ganado lechero, el problema se agrava por la baja participación de los productores en actividades de campaña, la cual es menor al 30 %, como consecuencia del pobre comportamiento de las pruebas de diagnóstico *in vivo* y la falta de esquemas de compensación por los animales sacrificados⁽⁵⁾.

Observaciones de campo indican que, a pesar de la alta prevalencia en algunos hatos lecheros, que llega a ser de 25 a 35 %, ésta nunca alcanza el 100 %⁽⁶⁾. Parte de la respuesta a este fenómeno es la alta tasa de desechos sustituidos por nuevos reemplazos, libres de la enfermedad⁽⁷⁾. Se ha observado que algunos animales nunca presentan la enfermedad, a pesar de estar expuestos al patógeno por períodos prolongados (meses e incluso años), lo que sugiere que estos animales pueden ser naturalmente resistentes a la tuberculosis, y quizá a otras enfermedades frecuentes en el hato. Experimentalmente se ha reportado que algunos animales inoculados con altas concentraciones de *M. bovis* no desarrollan lesiones, reforzando la hipótesis de que en estos animales existe una resistencia innata a la tuberculosis⁽⁷⁾. Investigaciones recientes han intentado identificar marcadores genéticos de resistencia a enfermedades, de modo que se puedan incorporar a la mejora genética de animales con fines comerciales. Es así que ya existen marcadores que se usan para mejorar los índices de producción, reducir el intervalo entre partos, incrementar los pesos al destete y mejorar el porcentaje de grasa en leche, entre otros⁽⁸⁾.



● Factores en la infección de *Mycobacterium bovis* ●

Los factores que influyen en el desarrollo de infecciones son: el hospedero, el patógeno y el ambiente^(9,10). Todos ellos interactúan e influyen en la manifestación de la misma⁽⁹⁾. En el caso de la TBb se ha determinado que existe una heredabilidad significativa para la resistencia del huésped a la enfermedad en el ganado; este parámetro es de gran importancia ya que es uno de los factores que determinarán el éxito potencial de los esquemas de selección en la producción ganadera^(9,11,12). Potencialmente el seleccionar individuos genéticamente resistentes a la TBb, puede contribuir a reducir el problema⁽¹²⁾.

● Estudios de resistencia ●

Tanto en humanos como en animales se han realizado estudios tratando de diferenciar individuos genéticamente resistentes a la tuberculosis. Estudios en gemelos proporcionan una prueba definitiva de que los factores hereditarios son determinantes para el desarrollo de la enfermedad, es decir que existe una mayor tasa de concordancia entre gemelos monocigóticos *versus* dicigóticos, lo cual indica que la susceptibilidad hereditaria es un factor determinante para el desarrollo de la tuberculosis en los seres humanos⁽¹¹⁾.

En 1926, 251 infantes fueron accidentalmente “vacunados” con una cepa viva virulenta de *M. tuberculosis*, los cuales mostraron una amplia gama de respuestas a la infección, demostrando la existencia de factores innatos que influyen en el desarrollo de la infección⁽¹³⁾. En el caso específico de *M. bovis*, en los años 40s se encontró que dos cepas consanguíneas de conejos mostraron dos fenotipos, uno susceptible y otro resistente a la infección, lo que sugirió que el perfil de la enfermedad desarrollada por los conejos tiene un fuerte componente de herencia genética⁽¹⁴⁾. La diferencia de susceptibilidad de ratones a la cepa vacunal BCG (Bacillus de Calmette y Guérin, vacuna contra la tuberculosis a partir de extracto atenuado

de *Mycobacterium bovis*) de *M. bovis* llevó a la identificación del primer locus de susceptibilidad a la TBb, conocido como el gen *Nramp1*⁽¹⁵⁾.

La resistencia genética a enfermedades se ha explorado en varios países⁽¹⁶⁻²⁰⁾, y la información generada se ha implementado ya en programas de mejora genética en el ganado, como ha ocurrido con mastitis⁽²¹⁾. En tuberculosis, algunos estudios han reportado razas de ganado con diferente nivel de susceptibilidad; la raza cebú demostró ser más resistente que la Holstein y las cruas de Holstein con cebú, a diferencia de las razas europeas que mostraron un patrón de lesiones más severo^(6,22).

Bermingham *et al*⁽²³⁾ estimaron índices de heredabilidad entre 0.14 y 0.18 para la respuesta positiva a la prueba de la tuberculina y la infección confirmada de TBb en ganado Holstein-Friesian. Estudios en ciervo rojo han demostrado diferencias en susceptibilidad y transmisión de la especie, sugiriendo fuertes bases genéticas⁽²⁴⁾; la heredabilidad de resistencia en esta especie fue estimada en 0.48. En venado cola blanca se demostró que los animales con infección eran genéticamente más similares entre ellos que los no infectados⁽²⁴⁾.

En ganado cebú se han reportado dos alelos asociados significativamente con una baja incidencia de TBb en una región microsatélite del gen *Nramp1* (25)⁽¹⁹⁾. De igual manera, en ganado europeo (*Bos taurus*) se encontraron dos microsatélites, BMS2753 y INRA111 fuertemente asociados con una respuesta positiva a la prueba de la tuberculina⁽¹⁸⁾; este último (INRA111), también ha sido asociado con la susceptibilidad de padecer mastitis⁽²⁵⁾.

El escaneo del genoma completo también ha sido utilizado con éxito en el ganado Holstein-Friesian⁽²⁰⁾. Un estudio reveló tres SNP (polimorfismos de un solo nucleótido) en el cromosoma 22 asociados con susceptibilidad a la TBb⁽²⁰⁾. También se ha encontrado asociación significativa entre el receptor TLR1 en el sitio TLR1-G1596A y la susceptibilidad a la TBb⁽²⁶⁾.

Un estudio reciente que incluye el análisis de diferentes fenotipos (animales reactivos a tuberculina, lesiones visibles y aislamiento de *M. bovis* por cultivo) en la susceptibilidad a TBb, identificó 2 SNP, en los cromosomas 2 y 23, asociados significativamente con diferentes rasgos de susceptibilidad, los cuales proporcionan posibles marcadores para la selección de individuos susceptibles, diferenciándolos de aquéllos con el potencial de resistencia a la enfermedad⁽²⁷⁾.

● Genes asociados a resistencia ●

En estudios de expresión génica se han identificado genes diferencialmente expresados entre animales infectados y no infectados con TBb. Los más frecuentes son: Adam17, Cxcr3, Ier5, Phb2, Cd84, Tbk1, Tlr2, Tlr3, Bcl2, Nfatc4, Ifng, Ifngr1, Tnfsf13b, Kiaa1971, Slamf1, Casp1, Defb10, Ifnar1, Kir3ds1, Myd88, Ptpn2, Stat1, Stat2, Trem1, Tyk2, Tyrobp, Cd83, Ctla4, IL1A, IL8, e IL15⁽²⁸⁻³¹⁾.

Se ha propuesto que algunos otros patógenos, tales como *Brucella abortus*, *Mycobacterium avium* y *Mycobacterium paratuberculosis* pueden activar genes similares⁽³²⁾; por lo tanto, al seleccionar animales con resistencia a la TBb, se podría beneficiar también el control de las enfermedades causadas por estos microorganismos. Varios de los genes mencionados, además del Vdr y el Tlr2, también se han asociado a respuesta inmune y a TBh⁽³³⁾.

Cuadro 1: Polimorfismos de nucleótido único (SNP) asociados a resistencia y susceptibilidad a tuberculosis bovina

SNP	Cromosoma	Asociado a:	Referencia
ARS-BFGL-NGS-60576	22	Susceptibilidad a <i>M. bovis</i> . Ubicados en el gen <i>Slc6a6</i> .	Finlay <i>et al.</i> , 2012 ⁽²⁰⁾
ARS-BFGL-NGS-21481	22		
ARS-BFGL-NGS-102776	22		
rs136617760	2	Resistencia a <i>M. bovis</i>	Bermingham <i>et al.</i> , 2014 ⁽¹⁰⁾
rs42494357	13		
rs110465273	13		
rs42494342	13		
rs109809949	13		
rs109042660	13		
rs137562332	13		
rs132841890	13		
Hapmap50596-BTA-121389	23	Resistencia a la infección de tuberculosis bovina	Richardson <i>et al.</i> , 2016 ⁽³⁴⁾
SNP41	12		
BovineHD0100019801	1	Asociado a la susceptibilidad a tuberculosis	Richardson <i>et al.</i> , 2016 ⁽³⁴⁾
SNP137	26	Susceptibilidad a <i>M. bovis</i>	le Roex <i>et al.</i> , 2013 ⁽⁹⁾
SNP144	11		
g.27534932A>C		SNP en el gen TNF- α asociado con el riesgo de tuberculosis bovina	Cheng <i>et al.</i> , 2016 ⁽³⁵⁾
rs55617172	17	Resistencia a <i>M. bovis</i>	Bhaladhare <i>et al.</i> , 2016 ⁽³⁶⁾
Nramp1 (<i>Natural resistance associated macrophage protein 1</i>) codificado por el gen <i>Slc11A1</i>		Asociado significativamente con una baja incidencia de TB	Kadarmideen <i>et al.</i> , 2011 ⁽¹⁹⁾

● Estrategias de estudio de marcadores asociados a resistencia ●

En general, los estudios de asociación genética a la TBb se dividen en dos grandes grupos: 1) de genes candidatos específicos y 2) de genoma completo⁽²⁰⁾. Los primeros estudian SNP u otras variaciones en genes de relevancia biológica. Por ejemplo, se han seleccionado genes

relacionados con respuesta inmune o asociados a otras enfermedades. En este tipo de estudios se utiliza un número relativamente bajo de marcadores⁽⁹⁾. Los estudios de genoma completo, por su parte, incluyen la genotipificación de marcadores polimórficos en todo el genoma. Este último procedimiento posee la ventaja de que en el proceso se pueden identificar otros genes que confieran resistencia y no necesariamente estén asociados a respuesta inmune⁽³⁷⁾. No obstante, el procedimiento a seguir depende de la información disponible, y de si se conoce o no el genoma completo de la especie de interés. Aunque el mejor método de estudio es el de "genoma completo", en especies con poca información genómica, el método recomendable será el de identificación de genes específicos⁽⁹⁾.

● Limitantes en el diseño de los estudios de resistencia ●

Los estudios de asociación genética en ganado no están libres de errores. Uno de los principales riesgos es el de encontrar asociación ficticia entre variación genética y resistencia o susceptibilidad a la tuberculosis, por lo que es necesario que toda asociación sea verificada por la replicación de los resultados⁽³⁸⁾. Varios son los factores a considerar en estudios genéticos de susceptibilidad y resistencia. Es vital la precisión del diagnóstico de la enfermedad utilizando las pruebas diagnósticas con la mejor sensibilidad y especificidad para definir casos y controles, es decir, animales verdaderamente enfermos y animales verdaderamente sanos. La identificación de fenotipos debe ser precisa de acuerdo a la pregunta de interés; por ejemplo, en el caso de TBb si se tiene interés en determinar la enfermedad activa, la prueba de la tuberculina no es la mejor opción debido a su baja sensibilidad; el grupo de casos (animales verdaderamente enfermos) debe estar conformado únicamente por animales que presenten lesiones sugestivas de tuberculosis en rastro, y que la enfermedad sea posteriormente confirmada por el aislamiento del *Mycobacterium* por cultivo (prueba de oro)⁽³⁹⁾. El grupo control, por su parte, debe estar conformado por animales que no presenten lesiones sugestivas en rastro y que sean negativos al cultivo. Ambos grupos, casos y controles deben tener exposiciones comparables al patógeno para clasificar correctamente a los fenotipos de susceptibilidad y resistencia, y ser ajustados por otros factores tales como edad, medio ambiente, etc.⁽³⁹⁾. Es muy recomendable que ambos grupos provengan de los mismos hatos, de los cuales se tenga la tasa de incidencia de la enfermedad⁽³⁹⁾.

El tamaño de la muestra es también importante, y debe ser lo suficientemente grande para asegurar potencia estadística en la detección de variantes con efectos pequeños. El poder

estadístico es una función del tamaño de la población de estudio, así como de la frecuencia alélica del SNP y del tamaño de su efecto sobre el fenotipo evaluado. En este aspecto el tamaño de la muestra debe estar en el orden de los cientos y hasta de los miles. La falta de potencia estadística debido a tamaños de muestra inadecuadas es una de las causas más frecuentes de resultados de asociación no reproducibles⁽³⁸⁾.

● Uso de SNP para asociar resistencia a tuberculosis ●

El ADN está compuesto por cuatro bases nitrogenadas: adenina, guanina, citosina y timina. Cuando se detectan diferencias en una sola base se le conoce como polimorfismo de un solo nucleótido o SNP. La ubicación de los SNP puede estar asociada a genes relacionados con características importantes de los individuos para mejorar diferentes parámetros productivos, por ejemplo, producción y porcentaje de grasa y proteínas en leche, intervalo entre partos y peso al destete, entre otras⁽⁴⁰⁾. Estos marcadores se han utilizado también con éxito en la determinación de identidad genética y del parentesco de los animales⁽³⁵⁾. Incluso, existen estudios que utilizando esta herramienta han identificado ya fenotipos de resistencia y susceptibilidad a enfermedades en ganadería, como es el caso de la mastitis^(8,41,42,43).

En estudios de asociación se comparan las frecuencias alélicas de marcadores específicos entre individuos infectados, enfermos, no infectados y no enfermos. Los estudios de asociación se dividen en aquéllos que tienen un gen como candidato y los que estudian todo el genoma⁽⁹⁾. Dentro de los genes candidatos se investigan los SNP considerados de importancia biológica. En el caso de tuberculosis, generalmente se seleccionan genes implicados en la respuesta inmune o que han demostrado asociación a otras enfermedades infecciosas⁽⁹⁾.

Como ya se mencionó, la estructura genética de los individuos juega un papel importante en el desarrollo de la tuberculosis, tanto para humanos como para animales. El estudiar el patrón de expresión génica de un fenotipo en particular, da lugar a la identificación de genes candidatos, como el *Slc11a1* (Solute Carrier Family 11 Member 1), que modula la actividad de los macrófagos contra parásitos intracelulares durante las primeras etapas de la infección⁽²⁰⁾. En estudios de transcriptómica se identifican las diferencias en los perfiles de expresión génica entre los grupos de animales seleccionados para identificar los marcadores de infección que garanticen, en conjunto con datos poblacionales, la selección de animales resistentes o susceptibles a la enfermedad⁽⁹⁾.



Los SNP también se han utilizado para determinar asociación de genes con la resistencia a medicamentos utilizados en el tratamiento de la TBh; uno de los principales es la isoniazida (INH). Algunos estudios han indicado que la tasa media de resistencia primaria a INH es del 7.3 %⁽⁴⁴⁾. Con el análisis de 20 genes (FurA, KatG, MabA, InhA, AhpC, Rv0340, IniB, IniA, IniC, SrmR homolog, FabD, KasA, AccD6, FbpC, FadE24, EfpA, Rv1592c, Rv1772, Ndh, NhoA) implicados en la resistencia a INH y secuenciados para obtención de SNP, se encontraron 17 (44.7 %) aislados resistentes a INH, con mutaciones en los genes KatG, MabA y Rv1772. Setenta y seis (76) por ciento de todos los aislados resistentes a INH mostraban una mutación en el gen KatG, confirmando variabilidad genética de individuos resistentes y susceptibles al fármaco, igual que ocurre con las enfermedades⁽⁴⁵⁾.

Los estudios de resistencia a TBb son escasos pero muy informativos. Bermingham *et al*⁽¹⁰⁾, utilizando 592 casos y 559 controles, y marcadores de alta densidad (777,692 SNP), encontraron tres SNP significativamente asociados a resistencia a TBb en los cromosomas 2 y 13. Richardson *et al*⁽³⁴⁾, con 3,240 hatos lecheros irlandeses divididos en casos y controles, de acuerdo a resultados a la prueba de la tuberculina, y asumiendo el mismo nivel de exposición, obtuvieron un SNP (BovineHD0100019801) asociado a susceptibilidad a TBb, localizado en el cromosoma 1, y un SNP (Hapmap50596-BTA-121389) en el cromosoma 23 asociado con resistencia a TBb. Ello demuestra que existen SNP asociados con características de interés, y que pueden tener un efecto protector en las infecciones por *M. bovis*⁽³⁶⁾, o contra la infección de tuberculosis pulmonar causada por *M. tuberculosis* en humanos⁽⁴⁵⁾. Un ejemplo claro es el gen *NOS2*, esencial en la regulación de óxido nítrico, que puede matar o limitar el crecimiento de *M. tuberculosis*⁽³⁵⁾.

M. bovis posee una amplia gama de huéspedes, incluyendo especies de vida silvestre⁽⁴⁾, por lo que estudios en estas especies también son relevantes. En un estudio relativamente reciente donde se estudiaron 198 casos y 670 controles de búfalo africano (*Syncerus caffer*), definidos como positivos o negativos, respectivamente a la prueba de ELISA (Bovigam) y la prueba de la tuberculina, se buscaron marcadores SNP situados en genes relacionados con el sistema inmunológico y el estado de la infección de la tuberculosis. Como resultado, se encontraron los polimorfismos SNP41, SNP137 y SNP144, en los genes *Slc7a13*, *Dmbt1* e *IL1A*, respectivamente, asociados a la susceptibilidad a TBb⁽⁹⁾.

● Variaciones en el número de copias (CNV) ●

La secuenciación del genoma completo está abriendo una nueva era en la gestión de los recursos genéticos en las poblaciones de ganado. El genoma bovino está constituido por 29 autosomas y los cromosomas sexuales, con un tamaño estimado de 3,600 mpb y al menos 22 mil genes⁽⁴⁶⁾. La variación en el número de copias (CNV, por sus siglas en inglés) son segmentos de ADN que miden desde una kilobase hasta varias megabases. Los CNV representan otra fuente de variación genética que puede complementar al SNP en la selección de animales. Los resultados de la genotipificación con SNP están disponibles y pueden ser utilizados para la identificación de CNV⁽⁴⁷⁾. Las variaciones en estas regiones pueden ser por eliminación o duplicación, lo que produce ganancias o pérdidas específicas de ADN genómico, que a su vez resulta en un número anormal de copias de una o más secciones de ADN. Los CNV son segmentos de repeticiones en tándem, que incluyen genes y otros elementos conservados con funciones potenciales, además de la alta tasa de mutación⁽⁴⁸⁾.

Se ha encontrado que los CNV pueden proporcionar una mayor cobertura al SNP del genoma. Esto ayuda en estudios de asociación para la identificación de variabilidad fenotípica⁽⁴⁸⁾. De acuerdo con resultados recientes en humanos, las variaciones estructurales que incluyen a los CNV afectan la expresión génica y están relacionados con la aparición de varias enfermedades; cerca del 12 % del genoma humano está afectado o cubierto por CNV⁽⁴⁹⁾.

Actualmente se cuenta con varios métodos para identificar CNV; uno de ellos es el método aCGH (array comparative genome hybridization), que necesita la secuenciación de todo el genoma para diseñar matrices de mosaicos con oligonucleótidos regularmente espaciados⁽⁵⁰⁾. Dos muestras de ADN genómico se hibridan en la misma matriz de oligonucleótidos y la información de los CNV es relativa a una muestra de referencia. Los paneles de alta densidad de SNP actuales permiten obtener fácilmente información relativa de los CNV⁽⁵¹⁾.

Liu *et al*⁽⁵²⁾ realizaron un análisis sistemático de CNV de 539 bovinos con el chip BovineSNP50, donde identificaron 682 candidatos de CNV con 139.8 megabases, asociados significativamente a inmunidad, producción láctea y reproducción. En ganado Holstein chino se han identificado 367 regiones de CNV, 1.61 % del genoma bovino, con 218 CNV conteniendo 610 genes, considerados de alta función molecular⁽⁵³⁾.

La mayor parte de los reportes sobre CNV y su asociación con susceptibilidad o resistencia a TB son de estudios en genoma humano; los estudios en ganado productor de leche son escasos⁽⁵³⁾; sin embargo, algunos autores reportan que los CNV en ganado son comunes. Algunos estudios de asociación han sido realizados usando aCGH (array comparative genome hybridization)^(52,54), otros con información de genotipos provenientes del

BovineSNP50 BeadChip^(40,55). Dos estudios han identificado 855 nuevos CNV en 256 muestras en *Bos taurus coreanae*⁽⁵⁵⁾. En bovinos, con marcadores de mediana densidad (50K SNP), sólo se ha podido identificar una fracción de los CNV, y se espera que con el uso de marcadores de alta densidad (770K SNP) se logre identificar un mayor número de CNV en el genoma bovino⁽⁴⁰⁾.

● Ventajas de los estudios de asociación genética y TBb en México ●

Exceptuando a los países africanos y algunos sudamericanos, una de las ventajas de México sobre los países que han realizado estudios de asociación genética de resistencia a la TBb, es la alta prevalencia de la enfermedad en el ganado para leche (~16 %)⁽³⁾, con tasas de exposición al patógeno muy uniformes y la facilidad de identificar fenotipos de manera precisa. Mientras que en la mayoría de los países la identificación de los casos (animales infectados) y los controles (animales no infectados) se hace a través de diferentes pruebas indirectas, lo que resta precisión al diseño⁽⁵⁶⁾, en México se pueden hacer estudios de resistencia a la TBb con un alto grado de precisión. Dada la prevalencia de la enfermedad en algunas regiones del país se puede identificar perfectamente a los casos por la presencia de lesiones visibles en canales en rastro confirmados por aislamiento del patógeno en el laboratorio, y entonces identificar a los controles, animales provenientes de los mismos hatos que los casos, pero sin lesiones visibles y negativos al aislamiento en el laboratorio. La información sobre tiempo de exposición se puede obtener de los registros de producción de las unidades de producción⁽⁵⁾.

Uno de los problemas fuertes en estudios de asociación entre estructura genética y susceptibilidad o resistencia a la TBb actuales es precisamente la identificación confiable de los fenotipos, algo que en México puede lograrse sin dificultad como se explica en el párrafo anterior, y así poder realizar estudios donde se comparen los genomas de casos y controles para encontrar variantes alélicas que pudieran asociarse con fenotipos de interés⁽¹²⁾.

❖ Conclusiones ❖

Debido a la dificultad de erradicar a la TBb se deben considerar medidas adicionales o complementarias para su control. Una estrategia puede ser la identificación y selección de animales naturalmente resistentes, ya sea por medio de genes específicos relacionados con respuesta inmune o por estudio del genoma completo, mediante la identificación de SNP y CNV asociados. La información actual indica la existencia de bases genéticas asociadas a resistencia y, por lo tanto, la posibilidad de seleccionar individuos de manera natural. México tiene ventajas sobre países que han realizado estudios de asociación genética con resistencia a la TBb por su alta prevalencia de la enfermedad, las tasas uniformes de exposición y la facilidad de identificar fenotipos de manera precisa. Mientras que en la mayoría de los países la identificación de fenotipos se lleva a cabo a través de pruebas indirectas, en México se pueden detectar por presencia/ausencia de lesiones características de la enfermedad confirmadas por cultivo, incluyendo información sobre tiempo de exposición a través de registros de producción.

● Literatura citada

1. Michel AL, Bengis RG, Keet DF, Hofmeyr M, de Klerk LM, Croos PC, *et al.* Wildlife tuberculosis in South African conservation areas: implications and challenges. *Vet Microbiol* 2010;112(91):91-100.
2. Torres-González P, Soberanis-Ramos O, Martínez-Gamboa A, Chávez-Mazari B, Barrios-Herrera MT, Torres-Rojas M, *et al.* Prevalence of latent and active tuberculosis among dairy farm workers exposed to cattle infected by *Mycobacterium bovis*. *PLoS Negl Trop Dis* 2013;7(4):e2177.
3. Pérez-Guerrero L, Milián-Suazo F, Arriaga-Díaz C, Romero-Torres C, Escartín-Chávez M. Epidemiología molecular de las tuberculosis bovina y humana en una zona endémica de Querétaro, México. *Salud Pública Méx* 2008;50(4):1-6.
4. Milián F, Rubio Y, Pérez L. Epidemiología de la tuberculosis bovina. En: La tuberculosis bovina en México: las bases. Libro técnico INIFAP-CENIDFA, Querétaro, México. 2013;13:51-76.

5. Milián SF, Harris B, Arriaga C, Thomsen B, Stuber T, González D, Álvarez G, *et al.* Sensibilidad y especificidad de PCR anidada y Spoligotyping como pruebas rápidas de diagnóstico de tuberculosis bovina en tejido fresco. *Rev Méx Cienc Pecu* 2010;1(4):403-415.
6. Ameni G, Aseffa A, Engers H, Young D, Gordon S, Hewinson G, *et al.* High prevalence and increased severity of pathology of bovine tuberculosis in Holsteins compared to Zebu breeds under field cattle husbandry in central Ethiopia. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14:1356-1361.
7. Cantó-Alarcón GJ, Rubio-Venegas Y, Bojorquez-Narváez L, Pizano-Martínez OE, García-Casanova L, Sosa-Gallegos S, *et al.* Efficacy of vaccine formula against tuberculosis in cattle. *PLOS ONE* 2013;8(19):e76418.
8. Ángel-Marín PA, Cardona-Cadavid H, Cerón-Muñoz MF. Genómica en la producción animal. *Rev Colombiana Cienc Anim* 2013;5(2):497-518.
9. le Roex N, Koets AP, van Helden PD, Hoal EG. Gene polymorphisms in African buffalo associated with susceptibility to bovine tuberculosis infection. *PLOS ONE* 2013;8(5):e64494.
10. Bermingham ML, Bishop SC, Woolliams JA, Pon-Wong R, Allen AR, McBride SH, *et al.* Genome wide association study identifies novel loci associated with resistance to bovine tuberculosis. *Heredity* 2014;112:543-551.
11. Comstock GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Proffit survey. *Am Rev Respir Dis* 1978;117:621-624.
12. Allen AR, Minozzi G, Glass EJ, Skuce RA, McDowell SWJ, Woolliams JA, Bishop SC. Bovine tuberculosis: the genetic basis of host susceptibility. *Proc Royal Society B: J Biol Sci* 2010;(277):2737-2745.
13. Rieder HL. Clarification of the Luebeck infant tuberculosis. *Pneumologie* 2003;57:402-405.
14. Lurie MB. Experimental epidemiology of tuberculosis: hereditary resistance to attack by tuberculosis and to the ensuing disease and the effect of the concentration of tubercle bacilli upon these two phases of resistance. *J Exp Med* 1944;79:573-589.
15. Gros P, Skamene E, Forget A. Genetic control of natural resistance to *Mycobacterium bovis* (BCG) in mice. *J Immunol* 1981;127:2417-2421.
16. Acevedo WK, Vicente J, Gortazar C, Hofle U, Fernández de Mera IG, Amos W. Genetic resistance to bovine tuberculosis in the Iberian wild boar. *Mol Ecol* 2005;14:3209-3217.

17. Naranjo V, Acevedo WK, Vicente J, Gortazar C, de la Fuente J. Influence of methylmalonyl-CoA mutase alleles on resistance to bovine tuberculosis in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Anim Genet* 2008;39:316-320.
18. Driscoll EE, Hoffman JI, Green LE, Medley GF, Amos W. A preliminary study of genetic factors that influence susceptibility to bovine tuberculosis in the British cattle herd. *PLOS ONE* 2011;6(4):e18806.
19. Kadarmideen HN, Ali AA, Thomson PC, Müller B, Zinsstag J. Polymorphisms of the SLC11A1 gene and resistance to bovine tuberculosis in African Zebu cattle. *Anim Genet* 2011;42:656-658.
20. Finlay EK, Berry DP, Wickham B, Gormley EP, Bradley DG. A genome wide association scan of bovine tuberculosis susceptibility in Holstein-Friesian dairy cattle. *PLOS ONE* 2012;7(2):e30545.
21. Rupp R, Boichard D. Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle. *Vet Res* 2003;34:671-688.
22. Biffa D, Bogale A, Godfroid J, Skjerve E. Factors associated with severity of bovine tuberculosis in Ethiopian cattle. *Trop Anim Health Prod* 2012;44:991-998.
23. Bermingham ML, More SJ, Good M, Cromie AR, Higgins IM, Brotherstone S, *et al.* Genetics of tuberculosis in Irish Holstein-Friesian dairy herds. *J Dairy Sci* 2009;92:3447-3456.
24. Hernández-Marín JA, Cortez-Romero C, Clemente-Sánchez F, Gallegos-Sánchez J, Salazar-Ortiz J, Tarango-Arámbula LA. Risk of transmission of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis (Map) in domestic and wild species. *AGROProductividad* 2014;7:65-70.
25. Shulman NF, Viitala SM, de Koning DJ, Virta J, Mäki-Tamila A, Vilkki JH. Quantitative trait loci for health traits in Finnish Ayrshire cattle. *J Dairy Sci* 2004;87:443-449.
26. Sun L, Song Y, Ria H, Yang H, Hua G, Guo A, *et al.* Polymorphisms in toll-like receptor 1 and 9 genes and their association with tuberculosis susceptibility in Chinese Holstein cattle. *Vet Immunol Immunopathol* 2012;147:195-201.
27. Raphaka, K, Matika, O, Sánchez-Molano, E, Mrode, R, Coffey, MP, *et al.* Genomic regions underlying susceptibility to bovine tuberculosis in Holstein-Friesian cattle. *BMC Genet* 2017;18:27.

28. Meade KG, Gormley E, Park SDE, Fitzsimons T, Rosa GJM, Costello E, *et al.* Gene expression profiling of peripheral blood mononuclear Cells (PBMC) from *Mycobacterium bovis* infected cattle after in vitro antigenic stimulation with purified protein derivative of tuberculin (PPD). *Vet Immunol Immunopathol* 2006;113:73-89.
29. Meade KG, Gormley E, Doyle MB, Fitzsimons T, O'Farrelly C, Costello E, *et al.* Innate gene repression associated with *Mycobacterium bovis* infection in cattle: toward a gene signature of disease. *BMC Genomics* 2007;8:400.
30. Blanco FC, Shierloh P, Bianco MV, Caimi K, Meikle V, Alito AE, *et al.* Study of the immunological profile towards *Mycobacterium bovis* antigens in naturally infected cattle. *Microbiol Immunol* 2009;53:460-467.
31. Killinck KE, Browne JA, Park SDE, Magee DA, Martin I, Meade KG, *et al.* Genome-wide transcriptional profiling of peripheral blood leukocytes from cattle infected with *Mycobacterium bovis* reveals suppression of host immune genes. *BMC Genomics* 2011;12:611.
32. Qureshi T, Templeton JW, Adams LG. Intracellular survival of *Brucella abortus*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Salmonella dublin* and *Salmonella typhimurium* in macrophages from cattle genetically resistant to *Brucella abortus*. *Vet Immunol Immunopathol* 1995;50:55-66.
33. Bukhari M, Aslam MA, Khan A, Iram Q, Akbar A, Naz AG, *et al.* TLR8 gene polymorphism and association in bacterial load in southern. *Int J Immunogenet* 2015;42(1):46-51.
34. Richardson IA, Berry DP, Wiencko HL, Higgins IM, More SJ, McClure J, *et al.* A genome wide association study for genetic susceptibility to *Mycobacterium bovis* infection in dairy cattle identifies a susceptibility QTL on chromosome 23. *Genet Sel Evol* 2016;48:19-23.
35. Cheng Y, Huang C, Tsai HJ. Relationship of bovine NOS2 gene polymorphisms to the risk of bovine tuberculosis in Holstein cattle. *J Vet Med Sci* 2016;78(2):281-286.
36. Bhaladhare A, Sharma D, Kumar A, Sonwane A, Chauhan A, Singh R, *et al.* Single nucleotide polymorphisms in toll-like receptor genes and case-control association studies with bovine tuberculosis. *Vet World* 2016;9(5):458-464.
37. Amos W, Driscoll E, Hoffman JI. Candidate genes *versus* genome-wide associations: which are better for detecting genetic susceptibility to Infectious disease? *Proc Biol Sci* 2011;278:1183-1188.

38. Cardon LR, Bell JI. Association study designs for complex diseases. *Nat Rev Genet* 2001;(2):91-99.
39. Stein CM. Genetic epidemiology of tuberculosis susceptibility: impact of study design. *PLOS Pathog* 2011;7:e1001189.
40. Matukumalli LK, Lawley CT, Shnabel RD, Taylor JF, Allan MF, Heaton MP, *et al.* Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PLOS ONE* 2009;4(4):e5350.
41. Martínez NCA, Manrique PC, Elzo M. Cattle genetic evaluation: a historical perception. *Rev Colom Cienc Pecu* 2012;25(2):293-311.
42. Muhasin VN, Kumar A, Rahim A, Sebastian R, Mohan V, Dewangan P, *et al.* An overview on single nucleotide polymorphism studies in mastitis Research. *Vet World* 2014;7(6):416-421.
43. Durán-Aguilar M, Román-Ponce SI, Ruiz-López FJ, González-Padilla E, Vásquez-Pelaéz CG, Bagnato CG, *et al.* Genome wide association study for milk somatic cell score in Holstein cattle using copy number variation as markers. *J Anim Breed Genet* 2016;134:49-59.
44. Cohn DL, Bustreo F, Raviglione MC. Drug resistant tuberculosis: review of the worldwide situation and the WHO/IUATLD global surveillance. *Project Clin Infect Dis* 1997;24(1):121-130.
45. Srinivas V, Reich R, Dou S, Jasperse L, Pan X, Wanger A, *et al.* Single nucleotide polymorphisms in genes associated with isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(4):1241-1250.
46. Elsik CG, Tellam RL, Worley KC. The genome sequence of Taurine cattle: A window to ruminant biology and evolution. *Science* 2009;324(5926):522-528.
47. Hou Y, Liu G, Bickart D, Cardone MF, Wang K, Kim E, *et al.* Genomic characteristics of cattle copy number variations. *BMC Genomics* 2011;12:127.
48. Stranger BE, Forrest MS, Dunning M, Ingle CE, Beazley C, Thorne N, *et al.* Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science* 2007;315(5813):848-853.
49. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, *et al.* Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006;444:444-454.
50. Fiegler H, Geigl JB, Langer S, Rigler D, Porter K, Unger K, *et al.* High resolution array-CGH analysis of single cells. *Nucleic Acids Res* 2007;35(3):15.

51. Wang K, Li M, Hadley D, Liu R, Glessner J, Grant SFA, *et al.* PennCNV: An integrated hidden Markov model designed for high resolution copy number variation detection in whole genome SNP genotyping data. *Genome Res* 2007;17(11):1665-1674.
52. Liu GE, Hou Y, Zhu B, Cardone MF, Jiang L, Cellamare A, *et al.* Analysis of copy number variations among diverse cattle breeds. *Genome Res* 2010;5:693:703.
53. Jian L, Jiang J, Yang J, Liu X, Wang J, Ding X, *et al.* Genome-wide detection of copy number variations using high-debsuty SNP genotyping platforms in Holsteins. *BMC Genomics* 2013;14:131.
54. Fadista J, Thomsen B, Holm LE, Bendixen C. Copy number variation in the bovine genome. *BMC Genomics* 2010;11:284.
55. Bae JS, Cheong HS, Kim LH, NamGung S, Park TJ, Chun JY, *et al.* Identification of copy number variations and common deltion polymorphisms in cattle. *BMC Genomics* 2010;11:232.
56. Bishop SC, Woolliams JA. Genomics and disease resistance studies in livestock. *Livestock Sci* 2014;166:190-198.