

Tuberculosis en terneros: resultados de un estudio prospectivo (Tuberculosis in calves: results of a prospective study)

Garro, C.: Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, INTA Castelar. | **Cobos Roldán M.:** Asesor privado. | **Oriani, S.:** Facultad de Ciencias Veterinarias, General. Pico, La Pampa. | **Garbaccio S.:** INTA Castelar.

Contacto: cgarro@cnia.inta.gov.ar

Resumen

Un estudio prospectivo fue realizado en un rodeo lechero con tuberculosis bovina (TB) endémica para investigar el riesgo atribuido a la alimentación con leche cruda en terneros durante la crianza artificial. Posterior al parto, los terneros tuvieron un período de calostro de 24 h y fueron luego separados en dos grupos con diferente alimentación. El grupo expuesto consumió una mezcla de leche cruda procedente de las vacas del rodeo general y el grupo no expuesto consumió sustituto lácteo, durante un período de 2 a 90 días. Tres días previos a retirarlos de la crianza artificial, todos los terneros fueron sometidos a la prueba de la tuberculina aplicada en el pliegue ano-caudal (PAC) para detectar la exposición a *M. bovis*. La incidencia de TB fue del 65% para el grupo expuesto y del 46% para el grupo no expuesto. Los terneros que consumieron leche cruda tuvieron un 40% más de riesgo de ser expuestos a *M. bovis* que los terneros que consumieron sustituto lácteo. Los estudios complementarios realizados en terneros positivos a la PAC indican que las reacciones fueron causadas por *M. bovis*. Sin embargo, el riesgo atribuible al consumo de leche cruda fue del 19% lo cual indica que otros factores estarían involucrados en la transmisión. Futuros estudios deberán investigar el rol de otros factores en la epidemiología de la TB en rodeos lecheros endémicos.

Palabras claves: Tuberculosis bovina | terneros | Leche cruda | riesgo | expuestos.

Summary

A prospective study was conducted in a dairy herd with endemic bovine tuberculosis (BT) to assess the risk attributed to raw milk in feeding calves during the artificial rearing. After birth, calves had a period of 24 hours of weaning and then they were separated into two groups with different feeding. The exposed group consumed a mixture of raw milk from cows₁

from a general herd and the unexposed group consumed a milk substitute for a period of 2 to 90 days. Three days prior to removal from the artificial rearing, all calves were subjected to the tuberculin test applied in the caudal fold (CFT) to detect exposure to *M. bovis*. The incidence of BT was 65% for the exposed group and 46% in unexposed group. Calves consuming raw milk were 40% more likely to be exposed to *M. bovis* than calves consuming milk substitute. Complementary studies in calves that resulted positive to the CFT was due to *M. bovis*. However, the attributable risk to raw milk consumption was 19%, indicating that other factors could be involved in the transmission. Future studies should be done to evaluate the role of other factors that could be involved in the epidemiology of endemic BT in dairy herds.

Keywords: Bovine tuberculosis | calf | raw milk | risk | exposed.

Introducción

La Tuberculosis bovina (TB) es una enfermedad infectocontagiosa producida por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), siendo el bovino además susceptible a la infección por otras bacterias del complejo *M. tuberculosis*. La vía de transmisión más importante en bovinos es la respiratoria (Collins, 2006), aunque también se describe la transmisión por ingestión de leche procedente de vacas infectadas. El agua y/o los pastos contaminados podrían tener además un rol en la transmisión de *M. bovis*. Sin embargo, la radiación solar y la desecación eliminan el *M. bovis* del ambiente en un período variable, dependiendo de las condiciones climáticas (O'Reilly and Daborn, 1995). En varios países se ha demostrado además la transmisión por especies silvestres que actúan como reservorio de la infección. La transmisión congénita podría ocurrir por transmisión de *M. bovis* a través de los vasos umbilicales, pero se describe que esto solo ocurriría solo en el 1% de los casos (Phillips et al., 2003).

Existen evidencias que sugieren que, en rodeos endémicos, el calostro bovino podría cumplir un rol importante en la transmisión del *M. bovis* (Serrano-Moreno et al., 2008). En rumiantes, el consumo de calostro no se puede eludir ya que es fundamental para el buen desarrollo del neonato (Chappuis, 1998), debido a que el tipo de placentación impide el traspaso de la inmunidad materna. La transmisión de *M. bovis* por leche cruda se describe como importante en rodeos endémicos (Radostits et al., 2002). Sin embargo, algunos estudios han desestimado la importancia del consumo de leche cruda sobre el riesgo de infección por *M. bovis* en el rodeo (Gonzalez Alvarez, 1949). Se ha determinado que *M. bovis* se excreta por leche en el 4% de las vacas positivas a la prueba de la tuberculina (Mattias, 1980), aunque otros estudios sugieren que esta excreción podría ocurrir hasta en el 40% de las vacas positivas (Garbaccio et al., 2011). Un bovino infectado sin signos clínicos aparentes puede

excretar hasta 10^3 UFC de *M. bovis* por mL de leche (Phillips et al., 2003). En la TB con afección de la glándula mamaria por infiltración lobular de *M. bovis*, la leche puede aparecer inalterada en su aspecto externo (Mattias, 1980). El *M. bovis* no sobrevive al proceso de pasteurización de la leche (Grant et al., 1996) por lo cual, este proceso evita el riesgo de transmisión por esta vía. Se ha demostrado un menor riesgo de exposición a *Mycobacterium spp.* en terneros que consumen sustituto lácteo durante su crianza (Evangelista and De Anda, 1996), por lo que el suministro de sustitutos lácteos para la alimentación de los terneros disminuiría el riesgo de transmisión por vía digestiva.

En Argentina, la reglamentación indica para el saneamiento de TB la aplicación de la prueba de la tuberculina, utilizando derivado proteico purificado (DPP) de *M. bovis*, y la eliminación de los reactores positivos. La prueba de la tuberculina, se ha desempeñado muy bien como prueba tamiz en bovinos, al poner en evidencia la exposición retrospectiva a la infección (Collins, 2006). La TB se describe generalmente como una enfermedad crónica y es por ello que su presentación ocurre más frecuentemente en animales adultos. Sin embargo, se ha descrito la presencia de reactores positivos a la prueba de la tuberculina en terneros de entre 15 días y dos meses de edad (Antognoli et al., 1998). En concordancia, estudios recientes han demostrado la presencia de lesiones y el aislamiento de *M. bovis* en bovinos de entre 3 y 7 meses de edad que pertenecían a rodeos lecheros endémicos (Garro et al., 2011). Estos trabajos sugieren que la infección por *M. bovis* puede ocurrir a una temprana edad y que la misma puede identificarse a través de la prueba de la tuberculina. Se ha descrito que la inducción de una respuesta inmune mediada por células a la tuberculina no difiere entre terneros neonatos y bovinos adultos (Outteridge, 1985). Asimismo, estudios experimentales han demostrado que la respuesta de hipersensibilidad a la tuberculina puede identificarse a las tres semanas post-infección (Thom et al., 2006) aunque en infecciones naturales este período podría ser mayor (OIE, 2009).

La información existente indica que la leche puede vehiculizar el *M. bovis* y ser la fuente de infección para terneras de reposición en rodeos endémicos. Sin embargo, la alimentación con leche cruda es una práctica habitual en algunos rodeos lecheros (Garro et al., 2010), por lo que la magnitud del riesgo asociado a este manejo debería ser cuantificada. De esta manera, se podría informar de manera objetiva a veterinarios y productores sobre la importancia de la utilización de equipos de pasteurización o remplazantes de la leche en rodeos endémicos. El objetivo de este estudio fue investigar la asociación entre el suministro de leche cruda durante la crianza artificial de terneros y la exposición de los mismos a *M. bovis*, como así también realizar estudios complementarios que confirmen los resultados de la prueba tuberculínica.

Materiales y Métodos

Historia del rodeo lechero

El estudio se realizó sobre un rodeo lechero con TB endémica, que presentó una prevalencia en vacas adultas de entre el 0,8 y el 2,7% durante el período en estudio (enero 2010 a enero 2011). El mismo, estaba conformado por 261 vacas totales y 250 bovinos en recría de entre 2 y 24 meses de edad distribuidos en una superficie de 436 Ha. El rodeo mantenía un historial de reactores positivos a la PAC en vacas sin poder concretar el saneamiento y en los cuatro años previos a este estudio presentó una incidencia de TB en terneros que osciló entre el 10 y el 95 %.

Diseño del estudio

Se realizó un estudio observacional de cohortes con dos grupos de terneros, de los cuales uno fue expuesto al factor (consumo de leche cruda). Luego del parto, los terneros eran mantenidos en un piquete durante 24 horas con sus respectivas madres, para promover el consumo natural de calostro. Posteriormente, ambos grupos de terneros fueron criados artificialmente durante los 2 a 90 días de edad. El grupo expuesto consumió leche cruda procedente de una mezcla de leche de vacas del rodeo general y el grupo no expuesto consumió sustituto lácteo. El consumo de leche o de sustituto lácteo fue de 4 litros/animal/día suministrado en dos tomas diarias. Ambos grupos recibieron además agua *ad libitum* y alimento sólido. Cada ternero fue sujeto al suelo por una estaca y separados entre sí de manera tal de no tocarse entre ellos. Los grupos fueron separados espacialmente por 50 metros. Todos los terneros fueron alimentados por la misma persona, comenzando primero por el grupo no expuesto y continuando luego por el grupo expuesto. Se consideró que todos los terneros eran sanos al momento de comenzar la crianza artificial.

Prueba de la tuberculina

Al finalizar el período de crianza artificial los terneros fueron inoculados con 0,1 mL de DPP de *M. bovis* (PPD BOVINA, Sanidad Ganadera S.R.L.) en forma intradérmica y 72 ± 6 h después se evaluó la presencia de edema, eritema o induración. Se utilizó un calibre para cuantificar el tamaño del pliegue ano-caudal previo y posterior a la inoculación. Un aumento del tamaño en el pliegue ano-caudal mayor o igual a 3 mm fue el indicador de reacción positiva a la PAC (PAC-positivo). La edad de los terneros sometidos a la PAC era de entre 60 y 90 días y todas las pruebas fueron realizadas por el mismo veterinario. Una respuesta PAC positiva fue considerada como un indicador de exposición a *M. bovis*.

Estudios complementarios

Al finalizar el ensayo se sometió a 25 terneros positivos a la PAC a la prueba cervical comparada (PCC) utilizando 0,1 mL DPP de *M. bovis*, *M. avium*, *M. fortuitum* y *M. plhei*, estas dos últimas tuberculinas fueron elaboradas con cepas aisladas del ambiente. En la región cervical media se rasuro una zona de 15 cm² y se inyectó DPP en forma intradérmica en cuatro puntos distanciados por 12 cm. El pliegue de piel cervical fue medido previo y 72 ± 6 h posteriores a la inoculación.

Un ternero PAC-positivo fue sometido a necropsia para intentar aislar e identificar el *M. bovis*. Se tomaron muestras para bacteriología de los ganglios retrofaríngeos, mediastínicos, traqueo-bronquiales, mesentéricos, hepáticos y del pulmón. Todo crecimiento micobacteriano fue analizado por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR IS6110) y la tipificación de oligonucleótidos espaciadores (Spoligotyping).

Para evaluar la presencia de *M. bovis* en el ambiente se tomaron muestras del agua suministrada a los terneros y que es utilizada para la preparación del sustituto lácteo. Asimismo, se tomaron muestras de suelo de la capa superficial de tierra donde el grupo expuesto y no expuesto fueron mantenidos durante la crianza artificial. Las mismas se incubaron a 25, 37 y 42 °C durante dos meses. A todo crecimiento de micobacterias se le realizó la tipificación molecular mediante análisis de los productos de amplificación y restricción (PRA) de un segmento del gen del hsp65 y la secuenciación parcial del gen que codifica para el 16S RNA.

Análisis de los datos

La descripción del tiempo y el tamaño del pliegue ano-caudal son expresados por la media y desvío estándar ($M \pm DE$). Se utilizó el riesgo relativo para medir el grado de asociación en el factor de exposición y los resultados y la prueba de chi-cuadrado para determinar la significancia de la asociación. Se calculó el riesgo atribuible a la exposición, es decir, la incidencia de la enfermedad que se hubiera evitado si los animales no hubieran estado expuestos al factor de riesgo, asumiendo que el factor es causal. Asimismo, se calculó la fracción atribuible, que es la proporción de la exposición atribuible al factor de exposición (Thrusfield, 2007). Los datos fueron analizados con el software Win episcopo 2,0.

Resultados

Prueba de la tuberculina

Un total de 108 terneros fueron evaluados, de los cuales 58 pertenecían al grupo expuesto y 50 al grupo no expuesto. La edad de los terneros sometidos a la PAC fue de 92 ± 29 días y 86 ± 20 para el grupo expuesto y

no expuesto respectivamente. La incidencia de terneros PAC-positivos fue del 65% ($n = 38$) y el 46% ($n = 23$) para el grupo expuesto y no expuesto respectivamente (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). El tamaño de reacción promedio de los terneros PAC-positivos fue de 14 ± 4 mm. El riesgo relativo fue de 1,4 (IC 95% = 1 – 2; $P = 0,04$), es decir que, los terneros que consumieron leche cruda tuvieron un 40% más de riesgo de ser expuestos a *M. bovis* en relación a aquellos terneros que consumieron sustituto lácteo. El riesgo atribuible a la exposición fue del 19%. Es decir que, un 19% de la incidencia se hubiera evitado si los terneros no hubieran consumido leche cruda. En términos relativos, la proporción atribuible al consumo de leche cruda fue del 28%. Es decir que, en este estudio, no se pudo demostrar cuál fue la fuente de infección a la cual atribuirle el 72% de las infecciones en los terneros expuestos.

Grupo	N	TB +		RR	IC 95 %
		n	%		
Expuesto	58	38	65.5	1.4	1.01 - 2
No expuesto	50	23	46.0	1.0	

Tabla 1: Resultados obtenidos a la PAC en 108 terneros de entre 60 y 90 días de edad, riesgo relativo e intervalo de confianza. Expuesto: grupo expuesto al consumo de leche cruda; No expuesto: grupo no expuesto al consumo de leche cruda.

Estudios complementarios

Todos los terneros que fueron sometidos a la PCC, fueron positivos a *M. bovis* y negativos a las demás tuberculinas. La diferencia en el tamaño del pliegue cervical pre y post-inoculación fue de: $10,8 \pm 4$ mm para *M. bovis*; $4,4 \pm 2$ mm para *M. avium*; 1 ± 1 mm para *M. fortuitum* y $2,6 \pm 2$ mm para *M. plhei*.

Del ternero sometido a necropsia se logro aislar e identificar *M. bovis* del tejido pulmonar. No se observaron lesiones macroscópicas en la cadena ganglionar digestiva pero si una importante afección de los lóbulos medios de ambos pulmones.

No se identificó el crecimiento de *M. bovis* en muestras de suelo y agua. Sin embargo, se logró aislar e identificar micobacterias no tuberculosas (MNT) en el agua utilizada para la alimentación de los terneros (20-40 UFC/mL) y el suelo (2×10^2 UFC/gr.) sobre el cual los animales eran criados. La tipificación molecular demostró un perfil de restricción concordante con *Mycobacterium simiae*, confirmándose por 16S RNA, cuya secuencia demostró una identidad del 99,7%.

Discusión

Este estudio demostró que en este rodeo lechero, la alimentación con leche cruda estuvo asociada a la exposición a *M. bovis* en terneros de entre 60

y 90 días de edad. Sin embargo, la elevada incidencia observada en ambos grupos de terneros sugiere que las condiciones epidemiológicas de este rodeo fueron inusuales. Se encontró que los terneros que consumieron leche cruda tuvieron un 40% más de riesgo de ser expuestos a *M. bovis* que aquellos terneros que consumieron sustituto lácteo. Sin embargo, solo el 19% de la incidencia de TB en el grupo expuesto puede atribuírsele al consumo de leche cruda, habiendo una gran proporción de terneros en los cuales no se logró determinar la fuente de infección. Es por ello que los valores obtenidos deben interpretarse considerando la elevada incidencia observada en el grupo no expuesto, que sugiere que otros factores no identificados en este estudio estarían involucrados en la transmisión de la infección.

Los resultados demuestran que los terneros de ambos grupos presentaron una elevada incidencia de TB, aunque la misma fue mayor en el grupo expuesto. Aunque algunos autores indican que la diseminación por leche es baja, las nuevas técnicas más sensibles demuestran que su importancia en la diseminación de *M. bovis* por leche habría sido subestimada. Una sola vaca puede excretar una gran cantidad de bacterias por leche lo cual puede ser suficiente para hacer infectiva a una mayor cantidad de la misma (Moda et al., 1996). La incidencia en el grupo expuesto de este estudio duplicó la prevalencia de grupos de terneros de alto riesgo encontrado en otro trabajo, bajo situaciones similares (Evangelista and De Anda, 1996). Es posible que animales anérgicos puedan haber estado excretando una gran cantidad de *M. bovis* a través de la leche, y que los mismos no hayan sido detectados por las pruebas convencionales. Evitar el consumo de leche cruda podría disminuir en un 19% la incidencia en terneros de rodeos endémicos, por lo que es una medida preventiva a considerar en los planes de saneamiento.

El consumo de leche cruda ha sido desde siempre, un reconocido factor de riesgo para la ocurrencia de tuberculosis en humanos producida por *M. bovis* (O'Reilly and Daborn, 1995; Abalos and Retamal, 2004), especialmente en niños, debido aparentemente a una mayor susceptibilidad relacionada a la edad (Moda et al., 1996). Es por ello que, el hallazgo de este estudio implica que la leche puede representar un gran riesgo para aquellas personas que están expuestas al consumo de leche bovina sin el tratamiento térmico adecuado.

Este trabajo encontró además que, el riesgo de que los terneros se expongan a *M. bovis*, no se eliminó completamente con el uso de sustitutos lácteos. A una conclusión similar llegaron otros investigadores (Evangelista and De Anda, 1996) que encontraron reactores positivos en terneros alimentados con sustitutos lácteos. Esto también sugiere que otras vías de transmisión no evaluadas en este estudio estarían involucradas en la transmisión de la infección. La transmisión en el grupo no expuesto podría haber ocurrido por vía congénita, por la ingestión de calostro de vacas

falso negativas a la PAC y/o por contagio directo de su madre inmediatamente después del parto. También es factible que algunos terneros se hayan infectado al consumir calostro de vacas con TB y que los mismos hayan actuado como fuente de infección para otros terneros durante la etapa de crianza artificial.

La elevada incidencia de terneros PAC-positivos encontrada en ambos grupos fue inesperada, y difiere de la baja prevalencia registrada en vacas adultas. La TB se describe generalmente como una enfermedad crónica y es tal vez por ello que, debido a su relativa longevidad, las vacas tienen más probabilidad de ser expuestas a *M. bovis* que las categorías más jóvenes, pero esto no concuerda con nuestros resultados. Se desconoce el rol que podrían haber tenido las especies silvestres y/o demás especies domésticas presentes en el establecimiento en la transmisión de la enfermedad. Algunos países han tenido serios impedimentos en la erradicación de la TB debido al contacto de los bovinos con animales silvestres (Collins, 2006) aunque en nuestro estudio esta situación no fue considerada.

Las pruebas complementarias utilizadas refuerzan los resultados de la PAC indicando que, la bacteria que causó las reacciones positivas en estos terneros fue *M. bovis*. La concordancia entre la PAC y la PCC fue total, lo cual asegura una mayor confiabilidad en los resultados de la PAC. En al menos un espécimen pudo identificarse el agente causal, lo cual refuerza drásticamente los resultados. Dicho animal no presentó lesiones macroscópicas en la cadena ganglionar intestinal pero sí una marcada afección pulmonar, de la cual se pudo aislar el *M. bovis*. Esto sugiere que la vía de infección de este ternero fue respiratoria y no digestiva, lo cual refuerza la hipótesis de la presencia de otras fuentes de infección que habrían estado involucradas en la transmisión. La ausencia de *M. bovis* en el ambiente sugiere que el mismo no representaría un riesgo para la transmisión de la infección en terneros. El *M. bovis* tiene además una sobrevivencia limitada en el ambiente a diferencia de otras bacterias como las que producen el carbunco o el tétano. Mientras que, la presencia de MNT en suelo y agua sería un hallazgo esperable aunque su importancia radicaría en que podrían producir reacciones inespecíficas a la prueba de la tuberculina (Oriani and Sagardoy, 2005). La micobacteria identificada (*M. simiae*) puede estar presente en el ambiente y causar una infección progresiva en humanos (Barrera et al., 2010; Oldrino et al., 2010), por lo que su importancia en bovinos debería ser evaluada. La evidencia recabada por las pruebas complementarias confirma que el *M. bovis* estaba presente en terneros PAC-positivos y sugieren que el ambiente no habría sido un factor influyente sobre la transmisión de la infección.

Para un eficiente control y erradicación de la TB es importante identificar todas las potenciales fuentes de infección para proceder a su remoción y evitar de esta manera la persistencia de *M. bovis* en el rodeo. De igual

manera, es importante aplicar la prueba de la tuberculina a las categorías más jóvenes con el fin de identificar rápidamente a aquellos animales que pueden convertirse en los potenciales reservorios y fuentes de infección para el rodeo. Los terneros nacidos de madres positivas a la tuberculina deberían ser separados luego del parto y suministrarles calostro de vacas negativas a la prueba diagnóstica. Mientras que, el uso suministro de sustitutos lácteos, reduciría de manera significativa la exposición a *M. bovis* en terneros lactantes.

Es importante destacar que los resultados de este estudio prospectivo sólo son aplicables a este rodeo lechero. No obstante, son indicativos de la complejidad que puede existir en algunos rodeos endémicos que intentan concretar el saneamiento de TB. Por este motivo, nuevos esfuerzos deberán abordarse para intentar identificar otras potenciales vías de transmisión, conforme progresen los esfuerzos para controlar y erradicar la TB de nuestros rodeos.

Agradecimientos

A los productores de este rodeo lechero que nos permitieron evaluar el impacto de una herramienta preventiva sobre la transmisión de esta enfermedad. Agradecemos también a Pablo Huertas, Liliana Rodríguez, Claudia Moreno, Daniel Funes, Martín Zumarraga, Andrea Gioffre y Fernando Delgado, por las contribuciones aportadas para con este estudio.

Bibliografía

- Abalos, P., Retamal, P., 2004. Tuberculosis: ¿una zoonosis re-emergente? *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 23 (2), 583-594.
- Antognoli, M.C., Pereira, J.J., Rodríguez, F., Garbaccio, S., 1998. Tuberculosis bovina en guachera. *Veterinaria Argentina*, Vol. XV n° 149.
- Barrera, L., Palmero, D., Paul, R., Lopez, B., 2010. Enfermedad por *Mycobacterium simiae* y *Mycobacterium sherrisil* en la Argentina. *Medicina* 70, 343-346.
- Chappuis, G., 1998. Neonatal immunity and immunisation in early age: lessons from veterinary medicine. *Vaccine*, Vol.16, p. 1468-1472.
- Collins, J.D., 2006. Tuberculosis in cattle: Strategic planning for the future. *Veterinary Microbiology*, Vol. 112, p. 369-381.
- Evangelista, T.B.R., De Anda, J.H., 1996. Tuberculosis in dairy calves: risk of *Mycobacterium spp.* exposure associated with management of colostrum and milk. *Preventive Veterinary Medicine*, Vol. 27, p. 23-27.
- Garbaccio, S., Garro, C., Rodríguez, L., Huertas, P., Delgado, F., 2011. Detección de *M. bovis* en leche bovina a través de pcr y bacteriología. Primer congreso internacional de zoonosis y enfermedades emergentes y VII congreso argentino de zoonosis.,

- p. 125.
- Garro, C., Abdala, A., Garbaccio, S., Späth, E., León, E., Paolicchi, F., 2010. Factores de riesgo de tuberculosis bovina en rodeos lecheros de las provincias de Córdoba y Santa Fe. *Revista Argentina de Producción Animal* Vol. 30, 167-178.
 - Garro, C., Morris, W., Delgado, F., Garbaccio, S., 2011. Tuberculosis Bovina en Terneros. *Veterinaria Argentina*, Vol. XXVIII, n° 276.
 - Gonzalez Alvarez, R., 1949. La tuberculosis bovina. Hojas divulgadoras. Servicio de Capacitación y Propaganda, Madrid Núm. 5-49 H, p. 1-12.
 - Grant, I.R., Ball, H.J., Rowe, M.T., 1996. Thermal inactivation of several *Mycobacterium spp.* in milk by pasteurization. *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 22,, p. 253-256.
 - Mattias, D., 1980. Infecciones por micobacterias: Tuberculosis En: Beer, J. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. T. 2. Acribia. España. , p. 229-252.
 - Moda, G., Daborn, C.J., Grange, J.M., Cosivi, O., 1996. The zoonotic importance of *Mycobacterium bovis*. *Tubercle and Lung Disease* 77, 103-108.
 - O'Reilly, L.M., Daborn, C.J., 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: A review. *Tubercle and Lung Disease* Vol. 76, pp. 1-46.
 - OIE, 2009. [Consulta: 21 de junio de 2011] Disponible de World Wide Web <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/bovine_tuberculosis.pdf>
 - Oldrino, M., Rojo, S., Consiansi, M.C., Bertoni, L., Glatstein, E., Barnes, A.I., 2010. Micobacteriosis por *Mycobacterium simiae* en niño infectado por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). *Rev Panam Infectol.* 12(2), 58-60.
 - Oriani, D.S., Sagardoy, M.A., 2005. Susceptibilidad de *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium phlei* y *Mycobacterium kansasii* frente a tres soluciones germicidas. *InVet.* Vol. 7(1), 55-62.
 - Outteridge, P.M., 1985. Development of Cell-Mediated Immunity in Young Ruminants. *Journal of Dairy Science*, Vol. 68, p. 257-260.
 - Phillips, C.J.C., Foster, C.R.W., Morris, P.A., Teverson, R., 2003. The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. *Research in Veterinary Science*, Vol. 74, p. 1-15.
 - Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C., Hinchcliff, K.W., 2002. Enfermedades causadas por bacterias-IV. En su: *Medicina Veterinaria: tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* McGraw-Hill. España. 9 ed., pp. 1075-1105.
 - Serrano-Moreno, B.A., Romero, T.A., Arriaga, C., Torres, R.A., Pereira-Suárez, A.L., García-Salazar, J.A., Estrada-Chávez, C.,

2008. High Frequency of *Mycobacterium bovis* DNA in Colostra from Tuberculous Cattle Detected by Nested PCR. *Zoonoses and Public Health*, Vol. 55, p. 258-266.

- Thom, M.L., Hope, J.C., McAulay, M., Villarreal-Ramos, B., Coffey, T.J., Stephens, S., Vordermeier, H.M., Howard, C.J., 2006. The effect of tuberculin testing on the development of cell-mediated immune responses during *Mycobacterium bovis* infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, Vol. 114, p. 25-36.
- Thrusfield, M., 2007. *Veterinary Epidemiology*. Ed. Blackwell Science, 3 ed., p. 266-284.