

Universidad Autónoma de Sinaloa

Colegio en Ciencias Agropecuarias

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Maestría en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

“Prevalencia de Mycobacterium spp. en lesiones granulomatosas de bovinos sacrificados mediante matanza regular en rastros del estado de Sinaloa”

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA:

MVZ. Abraham Abimael Rocha García

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Manrique Ojeda Ayala

ASESORES:

Dr. Jesús José Portillo Loera

MC. Claudia Leonor Barraza Tizoc

Dr. Juan Carlos Sainz Hernández

Culiacán, Sinaloa, México. Junio de 2024

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **–ABRAHAM ABIMAEEL ROCHA GARCÍA–**, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

**(SELLO DE
POSGRADO)**

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTORA

DRA. SOILA MARIBEL GAXIOLA CAMACHO

CO-DIRECTOR

DR. MANRIQUE OJEDA AYALA

ASESOR

DR. JESÚS JOSÉ PORTILLO LOERA

ASESORA

MC. CLAUDIA LEONOR BARRAZA TIZOC

ASESOR

DR. JUAN CARLOS SAINZ HERNÁNDEZ

Culiacán Rosales, Sinaloa, México. Junio de 2024



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
REPOSITORIO INSTITUCIONAL BUELNA

CESIÓN DE DERECHOS

A QUIEN CORRESPONDA. -

Ciudad de Culiacán, Sinaloa ,a 30 de mayo de 2024 ; quien suscribe:
C. Soila Maribel Gaxiola Camacho , profesor del programa de posgrado:
 en maestria en ciencias agropecuarias.

de la Unidad Académica: Facultad de medicina veterinaria y zootecnia , en la Unidad
Regional Centro . Manifiesto ser director del presente trabajo de Tesis y de acuerdo al
artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor, cedo y comparto mis derechos de crédito
adquiridos durante el proceso de asesoría de la Tesis intitulada:

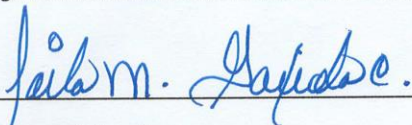
Prevalencia de Mycobacterium spp. en lesiones granulomatosas de bovinos
sacrificados mediante matanza regular en rastros del estado de Sinaloa"

a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su publicación, difusión, y distribución en medios
impresos y digitales, con fines académicos y de investigación, la que será titular del mismo, en
forma conjunta o separada con el autor.

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de
Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta Tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas,
texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines
educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al autor del
presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o
modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será
perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

En apego al Art. 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor Cedo y comparto el derecho de
publicación, difusión, y distribución en medios impresos y digitales, con fines académicos y de
investigación a la Universidad Autónoma de Sinaloa.



Nombre completo y firma



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
REPOSITORIO INSTITUCIONAL BUELNA

CESIÓN DE DERECHOS

A QUIEN CORRESPONDA. -

Ciudad de Culiacán, Sinaloa ,a 30 de mayo de 2024 ; quien suscribe:
C. Abraham Abimael Rocha García número de cuenta: 07065574 , egresado
del programa de posgrado:

de maestria en ciencias agropecuarias

de la Unidad Académica: Facultad de medicina veterinaria y zootecnia , en la Unidad
Regional Centro Manifiesto ser autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la
dirección de: Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho y de acuerdo al
artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor, cedo y comparto los derechos de mi trabajo de
Tesis intitulado:

Prevalencia de Mycobacterium spp. en lesiones granulomatosas de bovinos
sacrificados mediante matanza regular en rastros del estado de Sinaloa”

a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su publicación, difusión, y distribución en medios
impresos y digitales, con fines académicos y de investigación, la que será titular del mismo, en
forma conjunta o separada con el autor.

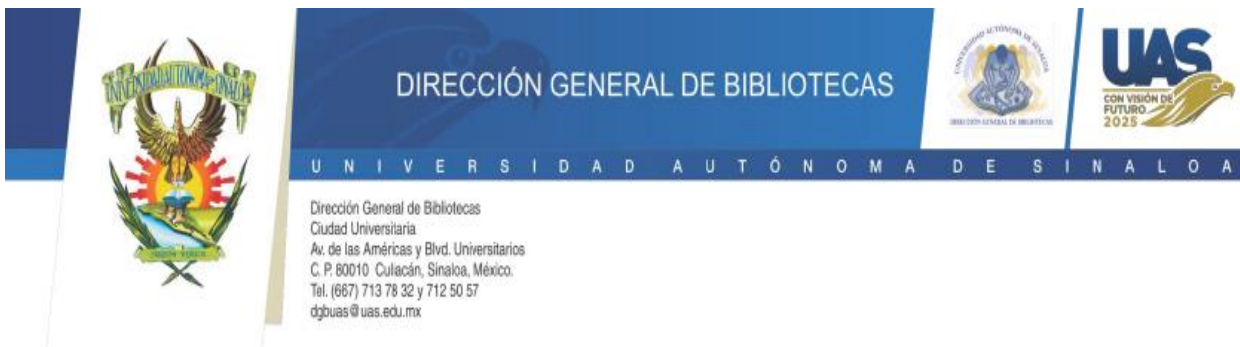
Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de
Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta Tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas,
texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines
educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al autor del
presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o
modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será
perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

En apego al Art. 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor Cedo y comparto el derecho de
publicación, difusión, y distribución en medios impresos y digitales, con fines académicos y de
investigación a la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Abraham Abimael Rocha García

Nombre completo y firma



UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial Compartir Igual, 4.0 Internacional



DEDICATORIA

En memoria a todos los médicos humanos, médicos veterinarios y biólogos que nos dedicamos a estudiar las Micobacterias, así como la incansable lucha contra las enfermedades que estas desarrollan.

AGRADECIMIENTOS

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho por aceptarme como su estudiante de maestría en ciencias agropecuarias, por ayudarme crecer académicamente, y poder cumplir mis metas en mi vida profesional.

Dr. Felipe Juárez Barranco por ser un ejemplo a seguir en el área de la patología veterinaria y siempre aconsejarme como amigo y tutor.

Centro de Diagnóstico Especializado de Culiacán por permitirme trabajar en sus instalaciones y junto a su equipo de trabajo poder iniciar el diagnóstico oficial de la tuberculosis bovina en Sinaloa.

La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por formarme como médico veterinario y zootecnista.

Dr. José Jesús Porillo Loera por siempre tener tiempo para ayudarme, asesorarme y creer en mis capacidades.

Dr. Manrique Ojeda Ayala por estar al pendiente de mi trabajo, motivarme, a sacar mi trabajo de tesis.

Dr. Juan Carlos Sainz Hernández que me ayudado con asesorías para poder acreditar mis clases de maestría.

MC. Claudia Leonor Barraza Tizoc por motivarme a entrar al posgrado de ciencias agropecuarias.

María de Rosario García Herrera por siempre estar en mi formación académica y moral, que sin su ayuda nada de esto fuese posible.

CONTENIDO	PÁGINA
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Características de <i>Mycobacterium bovis</i>	5
2.2. Transmisión de la enfermedad en bovinos	6
2.3. Epidemiología de la tuberculosis bovina	7
2.4. Hospederos de <i>M. bovis</i>	7
2.5. Patogenia de la tuberculosis	8
2.5.1. La calidad y cantidad de aerosoles infecciosos; y el surfactante	8
2.5.2. El espacio alveolar y el macrófago alveolar	9
2.5.3. Necrosis del macrófago alveolar como mecanismo esencial de virulencia	10
2.5.4. La etapa ganglionar. Inducción de la respuesta inmune...	10
2.5.5. El viaje del bacilo hacia la diseminación extra-pulmonar..	11
2.6. Métodos de diagnóstico para la tuberculosis	12
2.6.1. Pruebas de ante mortem	12
2.6.2. Pruebas de escrutinio posmortem	12
2.6.3. Métodos Directos de Diagnóstico	13
2.6.3.1. Baciloescopia	13
2.6.3.2. Cultivo	13
2.6.3.3. Histopatología	13
2.6.3.4. Reacción en cadena de polimerasa (PCR)	14
2.7. Impacto de la tuberculosis bovina en la producción pecuaria	15
2.8. Distribución geográfica	15
3. HIPOTÉSIS	22
4. OBJETIVOS	22
3.1. Objetivo general	22
3.2. Objetivos específicos	22

5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
5.1. Diseño del estudio.....	23
5.1.2. Alcance.....	23
5.2. Procedimiento.....	23
5.2.1. Muestra.....	23
5.2.2. Manejo de muestras.....	24
5.3. Caracterización macroscópico.....	24
5.4. Caracterización microscópica.....	24
5.4.1. Inclusión en parafina.....	25
5.4.2. Corte y recolección de la muestra.....	25
5.5. Tinción de hematoxilina y eosina.....	26
5.6. Tinción de Zielh Neelsen.....	26
5.7. Interpretación de resultados.....	27
5.8. Análisis estadístico	27
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
6.1. Caracterización macroscópica de las muestras sugestivas a TB..	28
6.2. Caracterización microscópica de las muestras sugestivas a TB..	30
6.3. Identificación de bacilos ácido resistentes (BSA) por tinción Zielh-Neelsen.....	32
6.4. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos del estado de Sinaloa.....	32
6.5. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos por municipio.....	35
6.6. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos por sexo.....	37
6.7. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos por raza.....	38
6.8. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos por diagnóstico.....	38
6.9. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos por tipo de inflamación.....	42
7. CONCLUSIONES GENERALES.....	45
8. PERSPECTIVAS.....	46
9. LITERATURA CITADA.....	47
10. ABREVIATURAS.....	57

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Número de muestras positivas y negativas a <i>Mycobacterium spp.</i> remitidas al Centro Especializado Culiacán en 2020-2021.	34
2	Número de muestras positivas y negativas a <i>Mycobacterium spp.</i> de los municipios del estado de Sinaloa en 2020-2021.	36
3	Número de muestras positivas y negativas a <i>Mycobacterium spp.</i> por sexo remitidas al Centro Especializado Culiacán en 2020-2021.	38
4	Número de muestras positivas y negativas a <i>Mycobacterium spp.</i> por raza remitidas al Centro Especializado Culiacán en 2020-2021.	40
5	Número de muestras por diagnostico morfológico positivas y negativas a <i>Mycobacterium spp.</i> remitidas al Centro Especializado Culiacán en 2020-2021.	42
6	Número de muestras por diagnostico morfológico por tipo de inflamación positivas y negativas a <i>Mycobacterium spp.</i> remitidas al Centro Especializado Culiacán en 2020-2021.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Informes WAHIS de <i>M. bovis</i> en animales salvajes y domésticos, 2015 – 2016.	18
2	Mapa actual del estatus de la campaña de la tuberculosis bovina en México.	20
3	Clasificación de Estados o regiones reconocidos por Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en Tuberculosis Bovina.	21
4	Evaluación macroscópica de lesiones por TBb. (A): Cavidad torácica bovina en la cual se aprecian múltiples lesiones caseosas y granulomatosas graves multifocales a nivel de pleura parietal, (B): Linfonodo con múltiples focos de exudado caseoso, (C): Linfonodo el cual presenta una lesión central caseosa grave y (D): sección longitudinal de pulmón la cual presenta múltiples focos de exudado caseoso.	29
5	Evaluación microscópica de lesiones por TB en linfonodo y pulmón de bovinos teñidos con H&E. (A): Corte transversal de linfonodo donde se aprecia una reacción Splendore-Hopple, compatible con <i>Actinobacillus lignieresii</i> , (B): Corte transversal de linfonodo compatible con <i>Coccidioides immitis</i> , (C): Corte transversal de linfonodo en donde se aprecia un granuloma, con abundantes células gigantes y un centro necrótico, (D): Corte transversal de linfonodo donde se aprecia un granuloma insipiente con presencia de macrófagos epitelioides y células gigantes tipo Langhans y (E): Corte transversal de pulmón donde se aprecia abundantes focos de necrosis caseosa e infiltrado granulomatoso supurativo.	31
6	Evaluación microscópica de lesiones por TB en linfonodo y pulmón de bovinos teñidos con Zielh-Neelsen. (A): Corte transversal de linfonodo en donde se aprecia una estructura filamentosa ácido-alcohol resistente compatible con <i>Nocardia spp</i> , (B): Corte transversal de linfonodo en donde se aprecia una célula gigante multinucleada tipo Lanhans. (C) y (D): Corte transversal de pulmón, en donde se aprecian abundantes bacilos ácido-alcohol resistentes compatibles con <i>Mycobacterium spp</i> .	33

RESUMEN

La tuberculosis es una enfermedad crónica que se presenta en animales y seres humanos, causada por las bacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. La característica de esta, es la formación del granuloma. Un granuloma es la acumulación focal de células inflamatorias donde predominan los macrófagos, macrófagos epitelioides, células gigantes multinucleadas tipo Langhans y linfocitos. Dicha enfermedad se distribuye a nivel global debido a su fácil propagación entre los animales, teniendo a favor que los animales salvajes son reservorios de la enfermedad. Las muestras granulomatosas recolectadas de los rastros de 10 municipios del estado de Sinaloa en el periodo 2020-2021, se llevaron al Centro de Diagnóstico Especializado Culiacán, área de histopatología para el diagnóstico de la tuberculosis bovina, de la Unión Ganadera Regional Sinaloa. Las cuales se les realizó una caracterización macroscópica de las muestras (órganos) de linfonodos, hígado y pulmón, después se llevó a cabo una caracterización microscópica de las muestras y finalmente una tinción Zielh-Neelsen. La caracterización macroscópica permitió la identificación de 242 muestras sugerentes a TB, posteriormente la caracterización microscópica 223/242 (92.1 %) muestras sugerentes a TB y con la tinción Zielh-Neelsen 18/219 (7.4 %) muestras con bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR). Registrando una frecuencia del 7.4 % (IC 95% 4.5; 11.5 %) para el estado de Sinaloa. Las principales incidencias en los municipios fueron Culiacán (4.7 %), El Fuerte (100 %), Guasave (23.8 %), Mazatlán (20 %) y Navolato (11.1 %). En cuanto a sexo las muestras de machos (11.7 %) presentaron diferencia significativa comparadas con las hembras (4.3 %). Las razas criollas (6.6 %) y cruza (13.5 %) presentaron mayor tasa de infección que las razas puras. El diagnóstico morfológico de las muestras fueron bronconeumonía 2/3 (66.7 %) y linfadenitis 16/224 (7.1 %). Los tipos de inflamación que presentaron las muestras fueron granulomatosa exudativa 200/224 (82.6 %) y granulomatosa 22/224 (9.1 %). Los resultados de la caracterización macroscópica, microscópica y la tinción de Zielh-Neelsen sugieren la presencia de *Mycobacterium spp.* en 18 muestras de tejidos linfonodos y pulmón de bovinos del estado de Sinaloa.

Palabras claves: Prevalencia, Tuberculosis, *Mycobacterium spp.*, caracterización macroscópica, caracterización microscópica y tinción Zielh-Neelsen.

ABSTRACT

Tuberculosis is a chronic disease that occurs in animals and humans, caused by bacteria of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. The characteristic of this is the formation of granuloma. A granuloma is the focal accumulation of inflammatory cells where macrophages, epithelioid macrophages, Langhans-type multinucleated giant cells and lymphocytes predominate. This disease is distributed globally due to its easy spread among animals, with wild animals being reservoirs of the disease. The granulomatous samples collected from the slaughterhouses of 10 municipalities in the state of Sinaloa in the period 2020-2021 were taken to the Culiacan Specialized Diagnostic Center, histopathology area for the diagnosis of bovine tuberculosis, of the Sinaloa Regional Livestock Union. Which underwent a macroscopic characterization of the samples (organs) of lymph nodes, liver and lung, then a microscopic characterization of the samples was carried out and finally a Zielh-Neelsen stain. The macroscopic characterization allowed the identification of 242 samples suggestive of TB, subsequently the microscopic characterization of 223/242 (92.1%) samples suggestive of TB and with Zielh-Neelsen staining 18/219 (7.4%) samples with acid-fast bacilli (BAAR). Registering a frequency of 7.4% (95% CI 4.5; 11.5%) for the state of Sinaloa. The main incidences in the municipalities were Culiacan (4.7%), El Fuerte (100%), Guasave (23.8%), Mazatlan (20%) and Navolato (11.1%). In terms of sex, the male samples (11.7%) presented a significant difference compared to the females (4.3%). Creole breeds (6.6%) and crossbreeds (13.5%) had a higher infection rate than pure breeds. The morphological diagnosis of the samples were bronchopneumonia 2/3 (66.7%) and lymphadenitis 16/224 (7.1%). The types of inflammation that the samples presented were exudative granulomatous 200/224 (82.6%) and granulomatous 22/224 (9.1%). The results of macroscopic and microscopic characterization and Zielh-Neelsen staining suggest the presence of *Mycobacterium spp.* in 18 samples of lymph node and lung tissues from bovines from the state of Sinaloa.

Keywords: Prevalence, Tuberculosis, *Mycobacterium spp.*, macroscopic characterization, microscopic characterization and Zielh-Neelsen staining.

I. INTRODUCCIÓN.

La tuberculosis es una enfermedad crónica con registros antiguos en animales y seres humanos, causada por las bacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTC) donde se encuentran: *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microtti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. canetti* (Zachary 2017).

La característica distintiva de la tuberculosis es el granuloma, una estructura inmune altamente dinámica que contiene los bacilos durante la infección crónica (Taylor *et al.* 2008). Los granulomas están compuestos por múltiples células inmunes, principalmente monocitos y linfocitos, que se reclutan en el sitio de la infección a través de una red compleja de citosinas y quimiosinas (Fuller *et al.* 2003). El desarrollo de granulomas en mamíferos es el resultado de la estimulación antigénica crónica, y representa un intento del hospedador por localizar el proceso de la enfermedad (Fuller *et al.*, 2003). Un granuloma se define como la acumulación focal de células inflamatorias donde predominan los macrófagos, macrófagos epitelioides, células gigantes multinucleadas tipo Langhans y linfocitos (Fuller *et al.*, 2003; Cotran *et al.* 1999). Las células gigantes multinucleadas (MGC) son el sello distintivo clásico de los granulomas, organizados por colecciones de macrófagos y linfocitos activados (Wang *et al.* 2020). Las MGC se describieron por primera vez por Langhans a principios de 1868 y fueron consideradas como un signo de tuberculosis (Langhans, 1868). Las células MGC rara vez excede las 50 micras y normalmente no contiene más de 10–20 núcleos por célula (McNally y Anderson, 2011). Varias moléculas de citosinas se ha reportado que desencadenan la inducción de diferentes tipos de MGC. La citosina de los linfocitos Th1 (IFN- γ), expresada en diferencialmente lesiones tuberculosas de lepra (Yamamura *et al.* 1991; Cooper *et al.* 1989), inducen la formación de células morfológicamente similares a las LGC (Fais *et al.*, 1994; Takashima *et al.* 1993; Enelow *et al.* 1992; Weinberg *et al.* 1985, 1984). Las formaciones de las células LGC también pueden ser inducidas por el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), macrófagos-CSF (M-CSF) e IL-3. Los inductores de las células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño (FBGC) incluyen IL-4, IL-13, DAP12 y α -tocoferol (Mizuno *et al.* 2001; McNally & Anderson, 1995). La IL-15 es producida en gran parte

por células inmunes innatas que incluyen monocitos en respuesta a IFN- γ y microorganismos (Carson *et al.* 1995). Se ha descrito un espectro de cambios granulomatosos desde la resolución completa hasta el recambio continuo de granulomas con inflamación protectora y nociva, necrosis caseosa, fibrosis y cicatrización del tejido que conduce a una discapacidad funcional a largo plazo (Drain *et al.* 2018).

Histológicamente se establecen cuatro etapas en el desarrollo de un granuloma en la tuberculosis bovina:

Etapa I (inicial o incipiente). Se observan grupos irregulares de macrófagos epitelioides no encapsulados, linfocitos intercalados y pequeñas cantidades de neutrófilos. Las células gigantes multinucleadas de Langhans están a veces presente, pero sin necrosis (Wangoo *et al.* 2005).

Etapa II (Sólido). Los granulomas en esta etapa están compuestos principalmente de macrófagos epitelioides, y están encerrados parcial o completamente por una delgada cápsula. Las hemorragias a menudo se observan, con infiltración de linfocitos, neutrófilos y, a menudo se observan células gigantes multinucleadas tipo Langhans. Las áreas necróticas a veces estaban presentes, pero son mínimas, generalmente compuesto de células inflamatorias necróticas (Wangoo *et al.* 2005).

Etapa III (necrosis mínima). En esta etapa los granulomas fueron totalmente encapsulados, con áreas necróticas centrales, las cuales se encuentran con exudado caseoso y mineralizado. Los macrófagos epitelioides se encuentran mezclados con las células gigantes multinucleadas tipo Langhans rodeando las áreas necróticas. También se observa la zona periférica con macrófagos mezclados con grupos de linfocitos y neutrófilos dispersos extendido a la cápsula fibrosa (Wangoo *et al.* 2005).

Etapa IV (Necrosis y mineralización). Los granulomas se encuentran encapsulados por una capa de gran espesor, los cuales son grandes e irregulares, con necrosis caseosa prominente y multicentrica. Con extensas islas de mineralización que ocupan una gran parte de la lesión. Macrófagos epitelioides y células gigantes multinucleadas rodearon la necrosis, con grupos de linfocitos particularmente densos cerca de la cápsula fibrótica periférica (Wangoo *et al.* 2005).

Los miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis* son bacterias Gram positivas, estrictamente intracelular y se caracteriza por una envoltura de pared celular muy compleja, que impacta en la permeabilidad celular y permite el procedimiento de tinción diferencial (Ziehl Neelsen, es decir, resistencia al ácido-alcohol) (Forrellad *et al.* 2013).

Mycobacterium bovis, al ser la causa de la tuberculosis de tipo bovino, tiene un rango excepcionalmente amplio de hospedadores. Las especies susceptibles incluyen bovinos, humanos, primates no humanos, cabras, gatos, perros, cerdos, búfalos, tejones, zarigüeyas, ciervos y bisontes. En países donde la transmisión frecuentemente es propagada por poblaciones endémicas de vida silvestre al ganado u otros animales de granja, hacen que la erradicación no sea fácil y las medidas de control deben aplicarse indefinidamente. La infección por *M. bovis* es reconocida como un problema importante de salud pública ya que este organismo se transmite al hombre a través de la leche de vacas infectadas. En países industrializados la pasteurización ha ayudado a controlar esta enfermedad; sin embargo, sigue siendo un problema de co-infección de individuos VIH positivos (O'Reilly *et al.* 1995).

De acuerdo con la OMS se registran alrededor de 10,4 millones de nuevos casos de tuberculosis cada año, casi un tercio de la población mundial es portadora del bacilo de la tuberculosis y corren el riesgo de desarrollar una enfermedad activa (OMS, 2016).

En humanos, los principales factores de riesgo son: la intensidad de la exposición, la edad, estatus inmunológico, genético, co-infección con el virus VIH, vacunación y el estatus socio-económico. La entrada del bacilo *M. bovis* al humano puede ser por ingestión, inhalación, o contacto directo con mucosas, membranas y heridas en la piel (Ashford *et al.* 2001; Grange y Yates, 1994;). Existen poblaciones de alto riesgo: trabajadores de establos (corraleros, ordeñadores, veterinarios) y trabajadores de rastro, donde la infección por inhalación es factible. Una situación similar se da en grupos de poblacionales que consumen leche bronca o quesos elaborados con este tipo de leche, donde la vía de contagio es la oral (Collins, 2000; O'Reilly y Daborn, 1995). En países en desarrollo y en países con programas

pobres de control y erradicación, la leche bronca y los productos lácteos son considerados los principales vehículos de transmisión de TB del ganado al humano (Ashford *et al.* 2001), donde la principal forma de presentación es la extra-pulmonar (Cossivi *et al.* 1998; Moda *et al.* 1996).

El objetivo de esta investigación es conocer la prevalencia de *Mycobacterium bovis* en el estado de Sinaloa, mediante pruebas de diagnóstico histopatológico de bovinos sacrificados en matanza regular en los rastros municipales de Sinaloa. Y de esta manera poder detectar los hatos infectados, cuarentenarlos y despoblarlos, con la finalidad de recuperar y mejorar el estatus zoonosológico.

II. REVISIÓN DE LA LITERARURA

2.1. Características de *Mycobacterium bovis*.

El principal causante de la tuberculosis bovina es el *Mycobacterium bovis*, un bacilo ligeramente curvado y delgado (0.3-1 x 2-4 μm) que no forma esporas, no presenta flagelos (son inmóviles), ni cápsula, es microaerófilo, y altamente susceptible a la luz solar. La temperatura óptima para su desarrollo es de 35-37° C y pH de 6.7-6.9. *Mycobacterium bovis* está catalogado como bacteria ácido-alcohol resistente (presenta resistencia a la decoloración con ácido clorhídrico al 3%). Esta característica se debe a que su pared celular, contiene lípidos de alto peso molecular, que las hace impermeables a los colorantes habituales de anilina, por lo que no se pueden apreciar con claridad en la tinción de Gram. Para poder visualizar a estos bacilos son necesarios colorantes arilmetanos con los que una vez teñidas no se decoloran (Dorrnsoro y Torroba, 2007; Lopez *et al.*, 2006; Prat *et al.*, 2003). El bacilo es resistente a los ácidos, álcalis y a la degradación, puede sobrevivir varios meses en ambiente fríos, particularmente en condiciones de humedad, oscuridad y bajas temperaturas. En invierno perdura por 5 meses en las heces y en el verano por 2 meses (O'Reilly y Doborn, 1995), Es sensible a la luz solar directa, rayos UV, temperaturas mayores de los 70°C y desinfectantes como fenol y cresoles (Flakinham, 2003; Vadillo *et al.* 2002). Las temperaturas de pasteurización (63.5°C por 30 min. o 72°C por 15 segundos inactivan a bacilo) (Holsinger *et al.* 1997; Grant *et al.* 1996). En condiciones de laboratorio, requiere una incubación de 4 a 8 semanas para producir colonias visibles, las cuales son lisas, redondas e irregulares, presentan un crecimiento disgónico y no producen pigmentos carotenoides (no cromógenas). (Lake *et al.* 2002). Debido a su exigencia nutritiva no crecen en medios de cultivos simples, el de elección es Stonebrick ya que el piruvato sódico beneficia su crecimiento (Prat *et al.* 2003).

La envoltura celular del bacilo se compone de tres elementos principales: la membrana plasmática, la pared celular y la membrana externa (Kaur *et al.* 2009). Ésta envoltura le proporciona soporte, protección y mecanismos que le permiten el intercambio de sustancias con el medio ambiente con los que pueden vivir dentro del hospedador y replicarse dentro de los macrófagos (Dinadayala, 2008).

Estructuralmente *M. bovis* está compuesto de proteínas entremezcladas en una matriz de peptidoglicano (PG), ácidos micólicos (AM), arabinogalactano (ARB), lípidos y carbohidratos (Wolfe *et al.* 2010). Aproximadamente el 25% del peso seco de la bacteria está constituido por lípidos libres. Estos contienen ceras y micósidos específicos de cada especie (glucolípidos complejos y péptido-glucolípidos) y el factor de cordón (6,6" dimicolato de trehalosa); la cadena peptídica de la capa externa constituye el 15% del peso de la membrana celular, dentro de ellos PG (principalmente N-glucolil-murámico) son los elementos fundamentales de la membrana, estos se encuentran unidos a través de puentes intrapeptídicos de cadenas de peptidoglicanos (De la Parte-Pérez *et al.* 2001). Los AM son el principal componente de la envoltura (hasta el 60% del peso seco de la membrana), causan agregación bacteriana, contribuyen al crecimiento lento y son un importante factor de virulencia. La principal función del PG es mantener la forma y el tamaño celular, el ARB es un polisacárido compuesto de subunidades de arabinosa y galactosa y su función aparente es la inmovilización de la capa de AM a la de PG (Kaur *et al.* 2009). La membrana externa está formada principalmente por fosatidil-inositol manosidasa, lipomanano, lipoarabinomanano (LAM) y otros componentes. La pared celular se compone de un núcleo interno de AM, ARB, PG, y LAM (Crick *et al.* 2001), contiene lipoproteínas y lipoglicoproteínas de superficie, algunas se han asociado a la virulencia del bacilo, sin embargo, hay muchas otras que tienen una función desconocida (Wolfe *et al.* 2010).

2.2. Transmisión de la enfermedad en bovinos.

Se estima que en todas las especies afectadas la vía de infección puede ser deducida por la ubicación de las lesiones en el animal sacrificado. Así como, animales con lesiones en tórax se asume que la infección fue inhalación de aerosoles contaminados, en tanto que aquellos, con lesiones en linfonodos mesentéricos, se piensa adquirieron el bacilo por ingestión (Garnier *et al.* 2003). En casos de campo, la mayoría de las lesiones se observarán en la parte superior e inferior del tracto respiratorio y principalmente en linfonodos. Por ende, se considera que la principal vía de infección es la respiratoria. De hecho, se hipotetiza que se

requiere el desarrollo de lesiones en tracto respiratorio alto para que se pueda dar la excreción de bacilos. La vía de excreción e inhalación respiratoria se considera como la de mayor valor epidemiológico en la diseminación de la enfermedad en el ganado.

2.3. Epidemiología de la tuberculosis bovina.

La tuberculosis bovina causada por el bacilo *Mycobacterium bovis* presenta un patrón epidemiológico complejo, el cual incluye la transmisión entre animales domésticos y de fauna silvestre (Collins y Grange, 1983). Además del ganado, infecciones con *Mycobacterium bovis* se han reportado en camellos, llamas, búfalos, bisontes, kudu, antílopes, leones, elefantes, simios, perros, gatos, cabras, venados, castores, zorras, etc., (Sales *et al.* 2001; Monies, 2000; Liébana *et al.*, 1998; O'Reilly y Daborn, 1995; Flamand *et al.* 1994; Cooke *et al.* 1993; De Lisle *et al.* 1993; Collins y Grange, 1987; Stumpff *et al.* 1984; Himes *et al.* 1980; Clancey *et al.* 1977; Sawa *et al.* 1974; Francis, 1958), provocando consecuencias graves en la biodiversidad. Aunado a esto, *M. bovis*, tiene un potencial zoonótico de importancia, varios son los casos en humanos donde se ha detectado al bacilo del bovino (Esteban *et al.* 2005; Young y O'Connor, 2005; Danker *et al.* 2004;). El bacilo causante de la tuberculosis en humanos y bovinos puede ser diferenciado por su rango de hospedadores, su virulencia y sus características fisiológicas. No obstante, las bases genéticas que originan estas diferencias son aún desconocidas (Garnier *et al.* 2003). Cabe recordar que el *M. bovis* (bacilo de Calmette-Guérin) fue el único progenitor de la única vacuna hasta la actualidad existente contra la TB en humanos, cepa que fue atenuada por medio de pases en medios de cultivos coagulados a base de rebanadas de papa y bilis con glicerol durante 13 años (Hewinson *et al.* 2006; Garnier *et al.* 2003).

2.4. Hospederos de *M. bovis*.

El mayor riesgo de la infección con *M. bovis* es la gran cantidad de hospedadores que tiene (animales domésticos, fauna silvestre y el hombre). Pero solo una parte de estos hospedadores actúan como reservorios de la enfermedad. Las características de los animales predicen el papel del reservorio de la especie; por

ejemplo, la capacidad de excreción del bacilo, agrupamiento de convivencia o de pastoreo, métodos de alimentación, densidad de población e interacción con otras especies. Uno de los principales problemas de control en el ganado es la participación de fauna silvestre, la cual puede ser foco de reintroducción de la enfermedad en diferentes épocas. Por ejemplo, el tejón (badger, *Meles meles*) en el Reino Unido e Irlanda (Clifton-Hardley *et al.* 1995) y Nueva Zelanda (Possum, *Trichosurus vulpécula*) (Weyer *et al.* 1999), el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en Michigan, en los Estados Unidos de Norteamérica (Payer *et al.* 1999). Otras especies de animales han sido reportadas en parques nacionales de Sudáfrica: búfalo, kudu, león, babbon y antílope (Weyer *et al.* 1999); así como siervo silvestre en Francia (*Cervus elaphus*) (Biet *et al.* 2005). De los animales domésticos, los bovinos, el búfalo, y las cabras son considerados reservorios de *M. bovis*, mientras que los cerdos, gatos, perros, caballos, y borregos huéspedes finales (Cousins, 2001).

2.5. Patogenia de la tuberculosis

2.5.1. La calidad y cantidad de aerosoles infecciosos; y el surfactante

Los aerosoles infectados deben depositarse en el alveolo pulmonar para poder generar la infección. En realidad, esta es una de las claves del éxito de *Mycobacterium tuberculosis*; su capacidad de infectar al macrófago alveolar (MA). Existen ciertos factores "protectores" que pueden prevenir su capacidad infecciosa. Principalmente la calidad del aerosol, no todos los pacientes pueden generar una cantidad suficiente de partículas de aerosol susceptibles para poder penetrar en el alveolo (Escombe *et al.* 2007). Seguido la calidad del surfactante que evita el colapso de los alvéolos. El surfactante es un tensoactivo y, como tal, tiene la capacidad de destruir la pared lipofílica del *Mycobacterium*, como también puede ser destruida por el MA cuando la fagocita (Arcos *et al.* 2011). En cualquier caso, no se sabe en qué medida este factor es importante para evaluar la dosis infecciosa. Lo que se sabe es que existe un contacto cercano entre pacientes que no han sido infectados y que están constantemente expuestos a aerosoles infecciosos y que tienen tuberculosis pulmonar activa (TBPA) (Ma *et al.* 2014). Debe tenerse en

cuenta que las personas con mayor probabilidad de sufrir tuberculosis activa (TBA) son aquellas que han estado en contacto continuo con un caso de TBA, es decir, más de seis horas al día durante un período que depende del retraso del diagnóstico, y éste es algún punto intermedio entre 60 y 90 días en países con un buen sistema de salud (Storla *et al.*, 2008). Esto significa que para desarrollar TBPA, una sola exposición a la infección no es suficiente. Se requiere un proceso de reinfección continua (Cardona, 2016a).

2.5.2. El espacio alveolar y el macrófago alveolar.

La función fisiológica del alvéolo pulmonar debe tenerse en cuenta siempre para comprender la esencia de la infección por *M. tuberculosis*. El alvéolo es una estructura muy delicada, compuesta de células epiteliales, neumocitos tipo I o células alveolares planas, que constituyen el 95% de la superficie. Tienen un grosor muy bajo para permitir la difusión de gases, que a su vez tienen que atravesar las células endoteliales de los capilares que cubren los alvéolos. Asimismo, estas células están firmemente unidas entre sí para evitar la entrada de plasma. Este hecho es significativo, ya que permite mantener una tensión superficial baja, gracias al surfactante generado por los neumocitos tipo II. Aunque, hay una contraparte negativa; que evita la entrada de anticuerpos. Del mismo modo, cada alvéolo tiene su MA que se dedica a limpiar constantemente este espacio (Cardona, 2016b). Se debe tener en cuenta que el alvéolo se expande aproximadamente cada seis segundos para permitir la entrada de aire externo, y con él todo tipo de partículas y patógenos. La función de la MA es mantener limpio el alvéolo para permitir el intercambio de gases y evitar a toda costa cualquier desarrollo inflamatorio que pueda romper su delicada estructura. El MA es una especie de "Mr Clean", o "policía", dedicado a identificar agentes patógenos para generar inmediatamente una respuesta inflamatoria, como sería el caso de las células de Langerhans en la piel. Esta limpieza también incluye el surfactante, convertido en líquido alveolar, que no solo sirve para mantener la tensión superficial, sino que también limpia el espacio alveolar, ya que se drena constantemente con el movimiento respiratorio hacia los bronquiolos, el árbol bronquial y la faringe para ser tragado y dirigido hacia el

estómago. Drenamos aproximadamente 500 mL de líquido alveolar hacia el estómago todos los días (Cardona, 2018).

2.5.3. Necrosis del macrófago alveolar como mecanismo esencial de virulencia.

Cuando un bacilo viable es fagocitado por la MA, se propaga su capacidad patogénica al secretar 6 kDa, antígeno final (ESAT-6). Este péptido es esencial para prevenir la unión entre el fagosoma y el lisosoma, y finalmente, permite la entrada al bacilo en el citoplasma (Mitchell *et al.* 2016). De esta manera, el bacilo aprovecha al máximo su capacidad de multiplicación en un solo MA, aproximadamente realizan entre 5-6 ciclos de división, para lograr una concentración de entre 32 y 64 bacilos (Lee *et al.* 2006). Este proceso se desarrolla entre 5 y 6 días, considerando que cada ciclo de división en *M. tuberculosis* requiere alrededor de 24 horas, causando necrosis del MA (Behar *et al.* 2010). Luego, los bacilos se vuelven extracelulares y una vez más son fagocitados por los MA desde el espacio intersticial, y reemplazando la zona de necrosis; los macrófagos alveolares de los alveolos vecinos, son alcanzados debido al drenaje constante generado por el movimiento de inspiración / espiración. El proceso se repite al menos unas veces más, generando hasta 1000 bacilos, lo que provoca una generación suficiente de quimiocinas por los MA infectados para producir una respuesta inflamatoria (Cardona, 2017).

Con la inflamación, el equilibrio se rompe cuando se genera exudado en los capilares que destruye la tensión del alvéolo y permite la entrada de células polimorfonucleares (PMN), normalmente neutrófilos y monocitos, en proporciones que dependerán del tipo de quimiocinas y citosinas secretadas por los macrófagos alveolares. Al mismo tiempo, permite una limpieza más vigorosa de los alvéolos afectados, drenando hacia los ganglios linfáticos a través de los capilares linfáticos aferentes; así es como *M. tuberculosis* primero infecta los macrófagos de los linfonodos y células dendríticas, generando linfadenitis (Cardona, 2018).

2.5.4. La etapa ganglionar. Inducción de la respuesta inmune.

Las células dendríticas procesan al *M. tuberculosis* y presentan epítetos que corresponden principalmente a los antígenos secretados más abundantes: ESAT-6 y el complejo de antígeno 85 (Ag85 A, B o C). Este último es responsable de la construcción de la pared celular, ya que permite unir dos moléculas esenciales:

arabinogalactano micolato y trehalosa dimicolato (Kremer *et al.* 2002). La presentación del antígeno esencialmente estimula las células T CD4, cuyo subtipo depende del tipo de quimiocinas y citocinas que transportan del líquido linfático drenado y que son esencialmente células T1, Th2, Th17 o Treg. Las células T CD8 también se pueden generar a menor escala. En general, el subtipo dominante es Th1, responsable de generar gamma interferón, que permite que los macrófagos infectados se activen (Cordana, 2018).

2.5.5. El viaje del bacilo hacia la diseminación extra-pulmonar

Normalmente, el viaje del bacilo termina en el ganglio linfático, pero no necesariamente. Cuando se produce linfadenitis, esto puede progresar y liberar los bacilos hacia los capilares eferentes, que alcanzan la vena cava y pasan a la aurícula y al ventrículo derecho para ser transportados una vez más hacia los pulmones. De esta manera, nuevos focos infecciosos pueden generarse, especialmente si los bacilos se liberan en masa en forma de grupos, que obstruyen los capilares, bloquean la circulación, destruyen la tensión del espacio alveolar y entran en él. También pueden recolonizar lesiones previamente generadas que como están en un proceso de inflamación, tienen mayor vascularización y permeabilidad. Finalmente, estos bacilos pueden simplemente pasar a los capilares venosos, alcanzar la aurícula y el ventrículo izquierdos y diseminarse sistemáticamente. El bacilo puede colonizar potencialmente cualquier órgano. Esto está relacionado con las características de la vascularización. En algunos órganos, las células endoteliales permiten una mayor permeabilidad, como el tejido óseo, especialmente en los niños cuando está en la fase de desarrollo, o los riñones, por lo que estos órganos son objetivos comunes. En contraste, las meninges se ven mucho menos afectadas; se requiere la entrada masiva de bacilos en el torrente sanguíneo, algo que se asocia con TB miliar diseminada o activa, que se manifiesta en las primeras semanas después de la infección (Wallgren, 1948). Un punto importante es que las lesiones generadas por *M. tuberculosis* desarrollan nuevos vasos que son más permeables y frágiles que los estructurales, permitiendo tanto la reinfección de la lesión como la propagación del bacilo hacia los capilares venosos pulmonares (Osherov y Ronen 2016). Otra ruta de difusión común es la

que se genera al drenar el bacilo a través del líquido alveolar, lo que le permite ingresar a la cavidad faríngea y penetrar en la membrana mucosa, a través de pequeñas heridas, afectando los ganglios linfáticos cervicales; o causando TBA intestinal, en el caso de acidificación gástrica, no es suficiente para destruir el bacilo. Además, el TBA pleural sigue siendo una variante de la tuberculosis pulmonar. Las células mesenquimatosas de la pleural serosa (parietal) se encargan de monitorear cualquier pequeña alteración en el parénquima pulmonar más superficial y si detectan una lesión pequeña, generan una afluencia masiva de células PMN y monocitos para aislarla y generar tejido fibroso a su alrededor (Mutsaer, 2004). La TBA extra-pulmonar representa aproximadamente el 30% de los casos de TBA y a menudo indica un retraso en la respuesta inmune, que afecta principalmente a niños menores de 5 años o personas con inmunodepresión. Sin embargo, existe una gran variabilidad geográfica, algo que puede interpretarse como una posibilidad de que haya un factor genético que lo facilite (Kulchavenya, 2014).

2.6. Métodos de diagnóstico para la tuberculosis.

2.6.1. Pruebas de ante mortem

La prueba de la tuberculina es la prueba primaria de escrutinio *ante mortem* para realizar el diagnóstico de la tuberculosis bovina, esta prescrita por la Organización Internacional de Epizootias para llevar a cabo el comercio internacional. La respuesta a la aplicación cutánea de la tuberculina en un animal tuberculoso es una hipersensibilidad retardada tipo IV. La inflamación primaria después de 72 horas de aplicación es debido a una respuesta celular de un derivado proteico puro (PPD) (Shiller *et al.* 2011).

Las pruebas de tuberculina autorizados por la SAGARPA (SADER) son:

- a) Prueba en el pliegue anocaudal.
- b) Prueba doble comparativa.
- c) Prueba cervical simple.

2.6.2. Pruebas de escrutinio posmortem

La detección de lesiones durante el sacrificio representa un procedimiento pasivo de vigilancia de la tuberculosis bovina. Generalmente el método tiene baja

sensibilidad y es usado tanto en áreas de baja como alta prevalencia. En muchos países en vías de desarrollo es la única actividad de vigilancia epidemiológica que se tiene en los programas. A la necropsia las lesiones pueden variar en cuanto a tamaño, localización y facilidad de detección. La sensibilidad de la prueba varía desde 28 a 47 % y depende de la habilidad de los inspectores de rastro, del método empleado a la examinación (Shiller *et al.* 2010).

2.6.3. Métodos Directos de Diagnóstico

2.6.3.1. Baciloescopia: es la prueba con la cual se inicia la investigación de la muestra, la presencia del bacilo puede evidenciarse microscópicamente a partir de frotis de muestra clínicas o de preparados de tejidos. Esta es simple, económica y eficiente. Por ser un bacilo ácido-alcohol resistente puede demostrarse con la tinción de Ziehl-Neelsen, también se puede emplear inmunofluorescencia (Barrera, 2008).

2.6.3.2. Cultivo: cuando la presencia del bacilo no se logra a través de la tinción de frotis de la muestra sospechosa, se procede al cultivo de la bacteria. De manera resumida, el cultivo de la micobacteria involucra la homogenización de la muestra, descontaminación con detergentes ácido o álcalis, neutralización del homogenizado, centrifugación de éste y el sembrado del sedimento en Lowstein, Jensen, Stonebrinks (con piruvato y glicerol), Middlebrook o en agar sangre. El cultivo se incuba por lo menos 8 semanas a 37°C (Parra *et al.* 2008). Se revisa periódicamente y cuando se aprecia crecimiento se realiza un frotis y se tiñe para confirmar que sea un bacilo ácido-alcohol resistente. El cultivo de *M. bovis* es la prueba “estándar de oro”. Tiene la capacidad de detectar de 10-100 bacilos, no obstante, la sensibilidad del cultivo no llega a ser del 100% (Sequeira, 2008).

2.6.3.3. Histopatología: los métodos histológicos se han comparado con el cultivo en estadios tempranos de la enfermedad. La histopatología demostró alta sensibilidad y alta especificidad 93.4% y 92.3% respectivamente: la tinción con Ziehl-Neelsen mostró 33.9% y 100% respectivamente (Varello *et al.* 2008). Por otra parte, en un estudio realizado con las muestras sospechosas de la inspección de rastro mostraron en histopatología sensibilidad del 43.5% y una especificidad del 97% al compararla con el cultivo (Proano *et al.* 2011).

2.6.3.4. Reacción en cadena de polimerasa (PCR): Una de las técnicas de diagnóstico más importantes en tuberculosis bovina es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta es especialmente útil por la rápida detección de la infección en el animal sospechoso. La PCR ha mejorado a través del tiempo, pero su sensibilidad sigue siendo deficiente comparada con el cultivo y en ocasiones proporciona resultados falsos, sin embargo, es útil para evaluaciones preliminares. La técnica se basa en la amplificación *in vitro* del ADN del agente infeccioso (*M. bovis*). A la fecha los costos de prueba se han hecho muy accesible. Diferentes métodos de PCR se han propuesto para una rápida detección de cantidades mínimas de ADN. Este método se ha empleado especialmente para confirmar la etiología del cultivo y lesiones macroscópicas obtenidas en rastro, secreciones nasales, y leche. La sensibilidad y la especificidad de este método son muy altas (Collins, 2011).

2.7. Epidemiología molecular de la tuberculosis bovina

La epidemiología molecular se define como una herramienta de las ciencias básicas que usa técnicas moleculares para definir una enfermedad y sus estados pre-clínicos, para cuantificar exposición y sus efectos tempranos e identificar la presencia de genes de susceptibilidad (Shpilberg *et al.* 1997).

La epidemiología de *M. bovis* es compleja debido que es un microorganismo que afecta a diferentes animales y puede permanecer de forma latente tanto en el hospedador como en el medio ambiente; por lo cual es importante genotificar las cepas de *M. bovis* de manera precisa, para rastrear el origen de las infecciones que se presenten. Actualmente existen métodos muy eficaces de genotipificación basados en marcadores genéticos polimórficos con diferente estabilidad genética, como análisis de RFLP, la espiligotificación y VNTRs.

Animales infectados con cepas de patrón molecular idéntico son el resultado de transmisión reciente, mientras que aquellos infectados por cepas de patrón molecular único se consideran cepas nuevas resultantes de mutaciones no letales en el genoma la micobacteria (Durr *et al.* 2000).

M. bovis posee un genoma de 4,345,992 pb, con 4,003 genes que codifican para 3,952 proteínas y 50 ARNs estructurales, incluye un profágo y 42 secuencias de

inserción (IS). Estructuralmente el genoma de *M. bovis*, además, contiene aproximadamente 65% de guaninas y citosinas. Asimismo, tiene el 99.95% de identidad con *M. tuberculosis* (Sreevatsan *et al.* 1997; Frothingham *et al.* 1994).

2.8. Impacto de la tuberculosis bovina en la producción pecuaria.

Debido a la firma del Tratado de Libre comercio (TLC) de nuestro país con los Estados Unidos de América y Canadá, que entro en vigor el 1 de enero de 1994, quedaron exentos de arancel los animales vivos de la especie bovina: reproductores de raza pura; vacas lecheras, con pedigrí o certificado de alto registro; bovinos para abasto, cuando sean importados por industrias de abasto. Con este acuerdo comercial se eliminaron todos los impuestos anteriores en el comercio de bovinos. Sin embargo, el departamento de Agronomía de los Estados Unidos (USDA), con el firme propósito de erradicar la tuberculosis bovina en su territorio, decidió incrementar las medidas de control en las exportaciones de bovinos provenientes de México, al considerar que eran una de las principales fuentes de infección para su ganado, construyeron medidas tomadas como la principal barrera no arancelaria para la exportación de ganado bovino de México (Millán *et al.* 2013).

A inicios del siglo XX la tuberculosis bovina era una de las enfermedades infecciosas más prevalentes del ganado, causando grandes pérdidas agrícolas, en la medida en que, en 1901, durante su conferencia Nobel, Von Behring declaró que "como saben, la tuberculosis en el ganado es una de las enfermedades infecciosas más dañinas que afectan la agricultura. Causa muerte prematura en animales afectados, daña la nutrición y la producción de leche y es la causa de inferior de la carne".

En la actualidad, el impacto económico global de la tuberculosis bovina en la producción ganadera es extremadamente difícil de determinar con precisión, ya que la información disponible es escasa y se refiere solo a algunos países específicos. Sin embargo, los datos sugieren que los costos económicos asociados a TBb son significativos, causando pérdidas agrícolas anuales mundiales de varios miles de millones de dólares, con consecuencias devastadoras para la industria ganadera (; Zinsstag *et al.* 2006; Garnier *et al.* 2003; Perry *et al.* 2002). Investigaciones publicadas entre 1969 y 1997 en diversos países, como Alemania, Canadá, España

y Estados Unidos, estimaron disminuciones en la productividad de la leche de aproximadamente 10% y reducción en la producción de carne de aproximadamente 5%, y el aumento del 10% en terneros nacidos de vacas infectadas (Gilsdorf *et al.* 2006; Zinsstag *et al.* 2006; Berga, 1987;). La fertilidad y la composición demográfica del hato, también se vieron afectados por TBb, los animales positivos mostraron una disminución del 5% en el parto anual tasas y pérdidas de reemplazo de alrededor del 15% (Zinsstag *et al.* 2006); asimismo, se informó una reducción en el peso de alrededor del 20% (Gilsdorf *et al.* 2006). Una investigación realizada por Boland *et al.* (2010) en rebaños lecheros irlandeses entre 2004 y 2005 (con alta prevalencia de TBb a pesar de la implementación de una erradicación nacional programa) confirmó una disminución en los rendimientos de leche para vacas TBb positivas. Esto evidenció que los reactores TBb producían significativamente menos leche que las vacas no rectoras, con diferencias que van desde 120 kg hasta 573 kg que corresponden aproximadamente al 10% de la producción media anual (Boland *et al.* 2010). Se esperan pérdidas adicionales para los ganaderos por el decomiso de canales u órganos en el rastro, cuando los animales muestran una gran visibilidad lesiones sugestivas de TBb (Michel *et al.* 2010). Se estimó que, la pérdida de sacrificio debido a la enfermedad (la diferencia entre el valor económico estimado de la carne o ganado lechero y el valor comprado en el sacrificio) puede alcanzar 30-50% (Zinsstag *et al.* 2006).

En nuestro país la tuberculosis bovina causa grandes pérdidas económicas al sector agropecuario; tan solo la campaña para su control y erradicación es de 450 millones de pesos al año (Rodríguez *et al.* 2014).

2.9. Distribución geográfica

La tuberculosis bovina es una enfermedad de declaración obligatoria incluida en la lista de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (casilla 1), por lo que su ocurrencia debe ser notificada a la OIE y designada instituciones nacionales (Awada *et al.* 2018; Panel EFSA AHAW, 2017).

En el periodo comprendido de 1986 a 2016, los datos comunicados a la OIE evidencian una significativa y mejora regular en el control global de TBb en todo el

mundo. En todas las regiones geográficas, la proporción de países informantes que notificaron TBb disminuyó significativamente, con una reducción general de más del 30%, sin embargo, la tasa de disminución no ha sido homogéneo en todo el mundo (Awada *et al.* 2018).

La mayor disminución en las tendencias regionales de TBb se observó en Oceanía y Europa (en más del 45%), seguida de Asia (una disminución del 38%); en cambio, la disminución en TBb fue más lenta en África y América, con una reducción del 25% y 18%, respectivamente, durante el período de 1986 a 2016 (Awada *et al.* 2018).

En 2017, la TBb estuvo presente en el 43% de los países informantes de la OIE y estuvo presente en todas las regiones del mundo, estando la TBb generalizada en África, Centro y Sur América, partes de Asia y algunos países de Oriente Medio. En los Estados Unidos (EE. UU.), La enfermedad se ha eliminado en su mayoría, pero no en todos los territorios, donde la TBb sigue siendo prevalente es en reservorios domésticos y de vida silvestre (es decir, bajo nivel de prevalencia en ganado, pero alta prevalencia en la vida silvestre); por ejemplo, en los últimos años, brotes se han reportado rebaños de ganado en Michigan, Texas, Nuevo México y California. (Kaneene y Pfeiffer, 2006).

Entre 2015-2016, TBb también se notificó en un total de 19 especies silvestres, con el mayor número de casos a nivel mundial reportados en jabalíes (*Sus scrofa*), Tejón europeo (*Meles meles*) y búfalo africano (*Syncerus caffer*), que parecen ser la principal especie reservorio (Fitzgerald y Kaneene, 2013).

Es importante mencionar que para muchos países miembros de la OIE no hay suficientes datos disponible para evaluar la presencia real y la carga de TBb, en particular en la vida silvestre, con importantes lagunas de información en algunos países en desarrollo, principalmente en África, Asia y América del Sur **Figura 1**(Awada *et al.* 2018).

Para el 12 de noviembre de 2020 se ha reconocido el 86.12% del territorio nacional en fase de erradicación (Prevalencia menor al 0.5%) (SENASICA, 2020). Sin

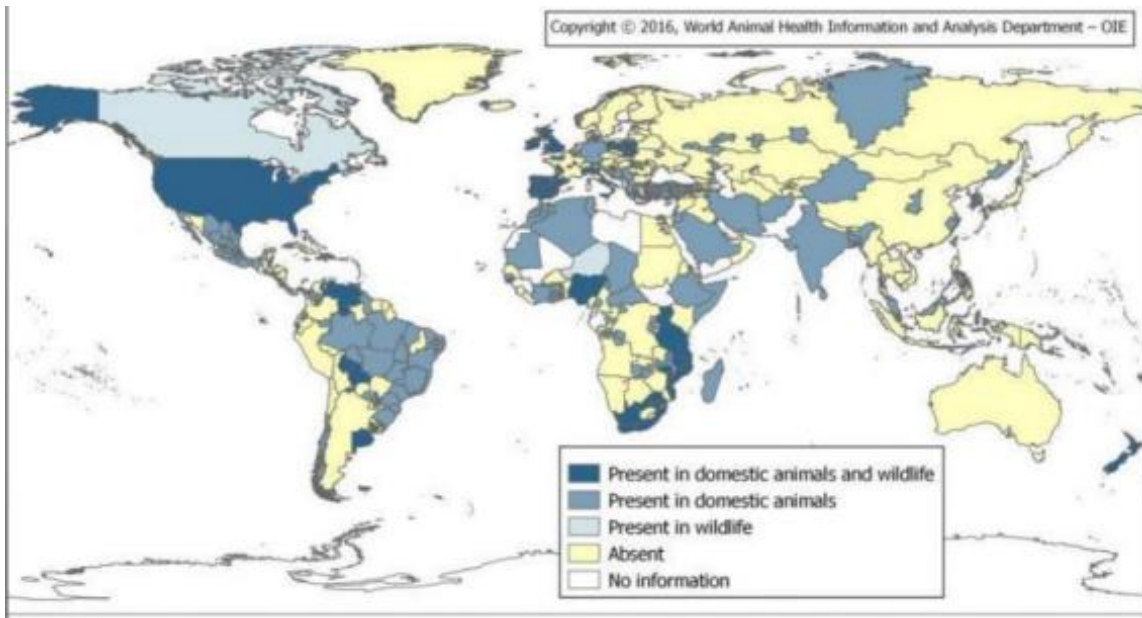


Figura 1. Informes WAHIS de *M. bovis* en animales salvajes y domésticos, 2015 - 2016.

embargo, el estado de Sinaloa se encuentra con el estatus zoosanitario de no aprobado con una prevalencia de 0.55% **Figura 2** (USDA, 2019).

Sinaloa cuenta 7,019 hatos de producción bovina, de los cuales 6, 228 son de producción de carne, 791 son de 791 hatos de producción de leche, con un total de 964,712 cabezas de ganado bovino. Nuestro estado cuenta con 78 hatos libres (15,299 cabezas), 103 hatos bajo cuarentena precautoria (12,333 cabezas) y 16 hatos en cuarentena definitiva (2,104 cabezas), considerados infectados con *Mycobacterium bovis* con evidencia epidemiológica o de laboratorio **Figura 3** (CEFPPSIN, 2019).

CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA TUBERCULOSIS BOVINA (*Mycobacterium bovis*)
NOM-031-ZOO-1995



Figura 2. Mapa actual del estatus de la campaña de la tuberculosis bovina en México.



Figura 3. Clasificación de Estados o regiones reconocidos por Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en Tuberculosis Bovina.

III. HIPÓTESIS.

La prevalencia *Mycobacterium spp.* en las lesiones granulomatosas detectadas en canales de bovinos sacrificados mediante matanza regular en los rastros del estado de Sinaloa es mayor al 10 por ciento.

IV. OBJETIVOS.

4.1. Objetivo general.

Analizar la frecuencia y distribución de *Mycobacterium spp.* en el estado de Sinaloa, evaluando lesiones granulomatosas en bovinos sacrificados de manera regular en rastros municipales del estado de Sinaloa, utilizando pruebas de histopatología

4.2. Objetivos específicos.

- Identificar lesiones granulomatosas en cortes histológicos con la tinción de rutina (hematoxilina y eosina).
- Identificar bacilos acido-alcohol resistentes en cortes histológicos teñidos con Zielh-Neelsen.

V. MATERIALES y MÉTODOS.

5.1. Diseño del estudio

La investigación que se realizó fue de tipo observacional, descriptivo, estudio de corte transversal (Manterola *et al.* 2019). Se trabajaron todas las muestras de bovinos obtenidas en matanza regular, sospechosas a tuberculosis, enviadas de los rastros municipales y TIF del estado de Sinaloa entre el periodo de noviembre 2020 y abril 2021. Estas muestras fueron todos aquellos bovinos que presentaron lesiones granulomatosas sugestivas a tuberculosis. Y fueron obtenidas con la ayuda del Comité del Fomento y Protección Pecuaria del estado de Sinaloa.

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico Especializado de Culiacán de la Unión Ganadera Regional de Sinaloa (UGRS), localizado en el Boulevard de las Torres Poniente 5270-a ejido las Flores, Tels. 750-18-37 y 750-13-33, Culiacán, Sinaloa. C.P. 80104. Donde se realizó el proceso histológico.

5.1.2. Alcance.

Este procedimiento aplica a todas las muestras de tejidos sospechosos fijados en formol al 10% recibidas en el Área de Histopatológica del Centro de Diagnóstico Especializado de Culiacán de la Unión Ganadera Regional de Sinaloa (CDEC-UGRS).

5.2. Procedimiento.

Se realizaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana **NOM-031-ZOO-1995**, Especificaciones técnicas para las pruebas diagnósticas que realicen los laboratorios de pruebas aprobados en materia zoonosanitaria.

5.2.1. Muestra.

Matanza regular. Muestra obtenidas en rastros, a la hora de la inspección (linfonodos, pulmón e hígado principalmente).

5.2.2. Manejo de muestras.

Sé enviaron las muestras dentro de las dos semanas posteriores al sacrificio del animal. Las muestras de tejido se fijaron en formol al 10% en una proporción 1:10, sin exceso de tejido adiposo en la periferia de esta misma, que el órgano se encontrara diseccionado o laminado, que el frasco de contención se encontrara correctamente rotulado con los datos de identificación de la muestra y el número de caso del rastro.

5.3. Examen macroscópico

Las muestras se sometieron a una inspección visual y palpación de los órganos (Linfonodos, pulmón e hígado) en las campanas de extracción, donde se describieron en un formato tamaño carta, se fotografiaron y se realizó la disección de la muestra sospechosa con la finalidad de seleccionar un fragmento representativo de la lesión en una cápsula plástica de inclusión.

5.4. Inclusión en parafina.

La inclusión en parafina se realizó de forma manual durante 22 horas. Para ello se procedió al lavado en agua y deshidratación en gradientes crecientes de alcohol y xileno, seguido la inmersión en parafina de 56°C de punto de fusión (HistoCore Arcadia H, Leica, China).

A continuación, se describe dicho proceso:

Para la preservación de la muestra se depositaron los tejidos en formol al 10%. Posteriormente se desarrolló una deshidratación gradual con alcohol (70, 80, 96 y 100%). La deshidratación inicial del tejido con alcohol al 70% para gradualmente sustituir el agua por alcohol por medio de grado de concentración. Después se trabajó con alcohol etílico al 80%. Seguida de la aplicación una solución de alcohol al 96%. A continuación, se usó una solución de etanol al 100%, en este punto se buscaba eliminar al máximo el agua restante en los tejidos. En la última etapa del proceso de deshidratación, se trabajó con etanol al 100% para estar seguro de que

los tejidos estaban realmente deshidratados. Las muestras se sometieron a un proceso de aclaramiento de los tejidos. Inicialmente se utilizó xileno y etanol al 100% en proporciones de 50-50; aquí se inició el proceso de aclaración. Se utilizó una solución de xileno puro para ir homogenizando los tejidos (se repitió la solución de xileno puro para preparar los tejidos para la parte final del proceso). En la última etapa de impregnación del proceso los tejidos se trabajaron a temperatura de 60 °C, manteniendo a la parafina líquida, aquí se buscaba que la parafina se distribuyera o infiltrara en todo el tejido.

Después del proceso de deshidratación, clarificación e impregnación en el histoquinette (TP1020, Leica, China), los tejidos se extrajeron de las cápsulas plásticas de inclusión, siendo orientadas adecuadamente para el corte en un molde de acero inoxidable, una vez que se acomodaron los tejidos en el molde se cubrieron con parafina líquida a 56 °C y se empalmaron con la capsula plástica de inclusión y se dejaron sobre la barra fría de centro de inclusión (HistoCore Arcadia C, Leica, China) para solidificar la parafina y obtener el cubo de parafina.

5.4.1. Corte y recolección de la muestra.

El cubo de parafina que contenía tejido, fue colocado en el micrótopo (RM 2125, Leica, Alemania) para orientarlo y se cortó a un grosor aproximadamente de 4 µm, el corte se tomó con un pincel y se depositó en la laminilla, posteriormente el tejido fue colocado en un baño maría (2827, Thermo Fisher Scientific, USA) con gelatina bacteriana a una temperatura de 40-45 °C para tener una mayor extensión, el tejido en flotación seleccionado fue tomado con un portaobjetos dejando escurrir el exceso de agua, posteriormente se dejó secar al aire libre y se rotuló adecuadamente.

5.5. Tinción de hematoxilina y eosina

La tinción de hematoxilina y eosina se realizó de la siguiente manera:

Una vez que se obtuvieron los cortes histológicos con un grosor de 4 µm se colocaron en el horno durante 10 min a 70 °C y se colocó el tren de tinción. Se le incorporó una solución de xileno por 5 min para desparafinar y se repite el mismo

proceso. Después en una solución de alcohol/xileno 50% por 3 min para deshidratar. Seguida de una solución de alcohol absoluto por 3 min para deshidratar. Posteriormente se realizaron baños de las muestras en alcoholes con diferentes concentraciones (96, 80 y 70%) para rehidratar las muestras, siguiendo el protocolo se realizaron baños con agua destilada (para hidratarlas). Se adicionó el colorante Hematoxilina de Harris durante un lapso de tiempo de 2 a 5 min para teñir los núcleos. Posteriormente, se lavaron con agua corriente para quitar el exceso de colorante. A las muestras se les realizó baños rápidos con alcohol ácido para quitar el colorante del citoplasma y dejar teñidos los núcleos. Después se lavaron con agua destilada. Se les agregó agua amoniaca por 3 min para virar la coloración del núcleo de morado a azul. Nuevamente se lavaron con agua destilada (baños), se enjuagaron bien para quitar los residuos de hidróxido de amonio. Se integraron en una solución de alcohol del 96% (algunos baños) para modificar el pH para teñir el citoplasma. Se les añadió el colorante Eosina amarillenta por 2 min para teñir el citoplasma y observe contraste con los núcleos.

Se les anexó una solución de alcohol al 96% para quitar el exceso del colorante eosina y empezar a deshidratar. Luego a las muestras se les dio baños de alcohol absoluto para deshidratar completamente los tejidos. Y para la homogenización de los tejidos se le incorporó dos veces una solución de xileno puro. Finalmente, las muestras se trabajaron para ser montadas en resina (entellan).

5.6. Tinción de Zielh Neelsen

La tinción de Zielh Neelsen se utilizó para evidenciar los bacilos ácido-alcohol resistentes. Las muestras se desparafinaron e hidrataron con agua destilada. Posteriormente, se sumergieron en una solución de carbol de fuchina básica por 30 min. Luego fueron lavadas con agua destilada. Se decoloraron en alcohol ácido (las secciones tomaron un color rosa pálido). Nuevamente se lavaron con agua destilada. Se añadió el colorante azul de metileno por 1 min para realizar el contraste. Seguido de un tercer lavado con agua destilada. Para degradar el exceso del azul de metileno se sumergieron en alcohol al 96%. Posteriormente, se

deshidrataron y montaron las muestras para ser observadas mediante un microscopio de campo claro (Carl Zeiss Primo Star, Alemania).

5.7. Interpretación de resultados.

La interpretación de los resultados se realizó de la siguiente manera:

NEGATIVO: Se consideró negativo a todas aquellas muestras donde no se presentaron cambios patológicos, asimismo que histológicamente el proceso inflamatorio no sea crónico, y no se encuentren bacilos acido-alcohol resistente.

PRESUNTIVO: Todas aquellas muestras donde se observó un proceso inflamatorio crónico sin presencia de bacilos acido-alcohol resistentes.

POSITIVO: Se consideró positivo o compatible a todas aquellas muestras donde se apreció la morfología histológica de un granuloma con presencia de bacilos acido-alcohol resistente. Las tinciones de las muestras se realizaron por triplicado.

5.8. Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó estadística descriptiva utilizando la distribución de frecuencias y frecuencias relativas para las variables cualitativas raza, sexo, diagnóstico morfológico, tipo de inflamación y municipio. Para la comparación de la variable sexo, se llevó a cabo una prueba z de dos proporciones con un nivel de significancia del 95%. El análisis estadístico se utilizó el programa Minitab versión 17 (Pennsylvania, USA).

VI. RESULTADOS y DISCUSIÓN.

En el año 2020, se inició la recepción de muestras granulomatosas al Centro de Diagnóstico Especializado de Culiacán, área de histopatología para el diagnóstico de la tuberculosis bovina, de la Unión Ganadera Regional Sinaloa. Dando un total de 242 muestras que se consideraron para analizar resultados.

6.1. Caracterización macroscópica de las muestras sugestivas a TB

En la evaluación histopatológica macroscópica de las muestras de matanza regular de las muestras proveniente de los diferentes municipios del estado, se evaluaron principalmente linfonodos, pulmón e hígado (**Figura 4**), donde se puede apreciar las lesiones de *Mycobacterium spp.* en el tejido examinado. **4(A)**: Cavidad torácica bovina donde se observó pleuritis caseosa grave multifocal coalescente. **4(B)**: Órgano linfonodo presenta linfadenitis caseosa grave focal. **4(C)**: Corte transversal de un linfonodo donde se aprecia linfadenitis caseosa grave focal y **4(D)**: Corte longitudinal de un pulmón donde se observa bronconeumonía caseosa grave multifocal coalescente.

La presencia de grandes lesiones necróticas, mineralizadas, fibróticas normalmente proliferativa en un órgano, provocan tuberculosis crónica. En el ganado bovino este tipo de lesiones normalmente se presentan en el pulmón y linfonodo mediastínico, en pulmón se caracteriza por su extensión en el árbol bronquial y bronquiolar con necrosis caseosa proliferativa multifocal (Domingo, Vidal & Marco 2014). Estos resultados son similares a los encontrados por Ozturk-Gurgen *et al.* 2020 al evaluar 241 bovinos de diferentes rebaños en Allgäu, Alemania, de los cuales 84 presentaron lesiones macroscópicas sugestivas a tuberculosis, entre las lesiones macroscópicas encontradas en los diferentes órganos principalmente linfonodos y pulmón examinados, se clasificaron en diferentes patrones dependiendo el grado de la lesión, entre identificadas fueron lesiones caseosas y granulomatosas graves

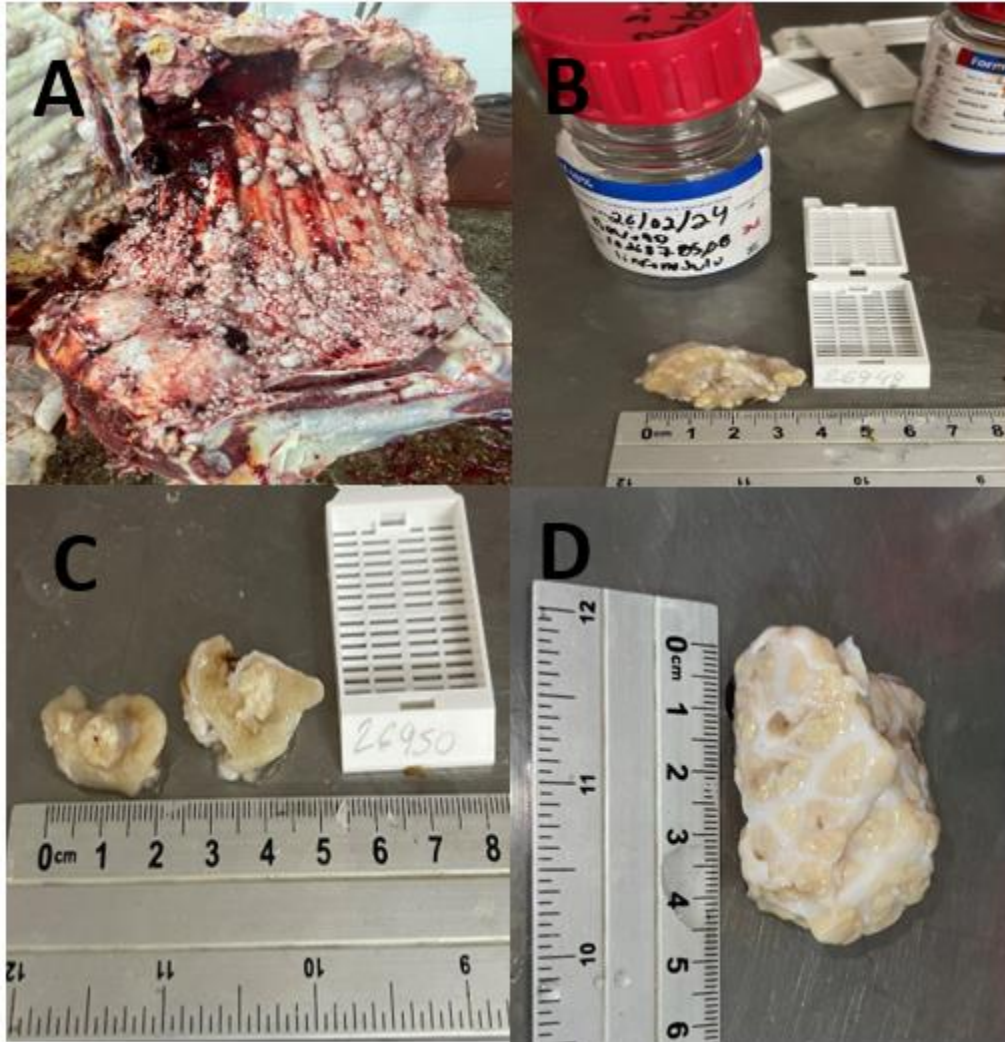


Figura 4. Evaluación macroscópica de lesiones por TBb. **(A):** Cavidad torácica bovina en la cual se aprecian múltiples lesiones caseosas y granulomatosas graves multifocales a nivel de pleura parietal, **(B):** Linfonodo con múltiples focos de exudado caseoso, **(C):** Linfonodo el cual presenta una lesión central caseosa grave y **(D):** sección longitudinal de pulmón la cual presenta múltiples focos de exudado caseoso.

multifocales. Proaño-Pérez *et al.* 2011 realizaron un estudio con 1390 bovinos de 112 granjas productoras de leche en Ecuador, donde examinaron los órganos como pulmón, hígado, bazo, riñones, glándulas mamarias y linfonodos, encontrando 33 animales con lesiones granulomatosas en el mediastino, tráquea y bronquios (traqueobronquial), hígado y linfonodos retrofaríngeos. En otra investigación realizada por Rhyan *et al.* 1992 observaron lesiones macroscópicas provocadas por *Mycobacterium bovis* en *Cervus elaphus nelsoni* en cautiverio en Colorado, EUA. De los 43 wapitíes evaluados, 26 presentaban lesiones macroscópicas consideradas sugestivas para tuberculosis en los linfonodos retrofaríngeos y pulmones.

6.2. Caracterización microscópica de las muestras sugestivas a TB

La caracterización microscópica de los órganos de hígado, pulmón y principalmente linfonodos de bovinos donde 223/242 (92.1 %) muestra presentaron lesiones microscópicas relacionadas con TBb (**Figura 5**), se observaron diferentes tipos de diagnósticos e inflamaciones en cortes transversales de linfonodos, **5A**: Se observa en la periferia abundante infiltrado neutrofílico e histiocítico compatible con *Actinobacillus lignieresii*, **5B**: Se aprecia una esferula micótica compatible con *Coccidioides immitis*, **5C**: Se observa un granuloma con abundantes células gigantes, **5D**: Se percibe sección de linfonodo con abundantes macrófagos epitelioides y células gigantes tipo Langhans y **5E**: Se identifica la presencia de abundantes focos de necrosis caseosa. La caracterización microscópica concuerda con lo observado por Proaño-Pérez *et al.* 2011 al realizar el análisis de muestras de bovinos de diferentes granjas productoras de leche de Ecuador, entre las lesiones microscópicas encontradas son necrosis focal, calcificación distrófica, células gigantes de Langhans y células gigantes contra cuerpo extraño. Ozturk-Gurgen *et al.* 2020 al examinar microscópicamente las muestras de bovinos encontraron que todos los órganos presentaban inflamación granulomatosa tuberculosa, la cual era causada por macrófagos principalmente, con la presencia de células gigantes

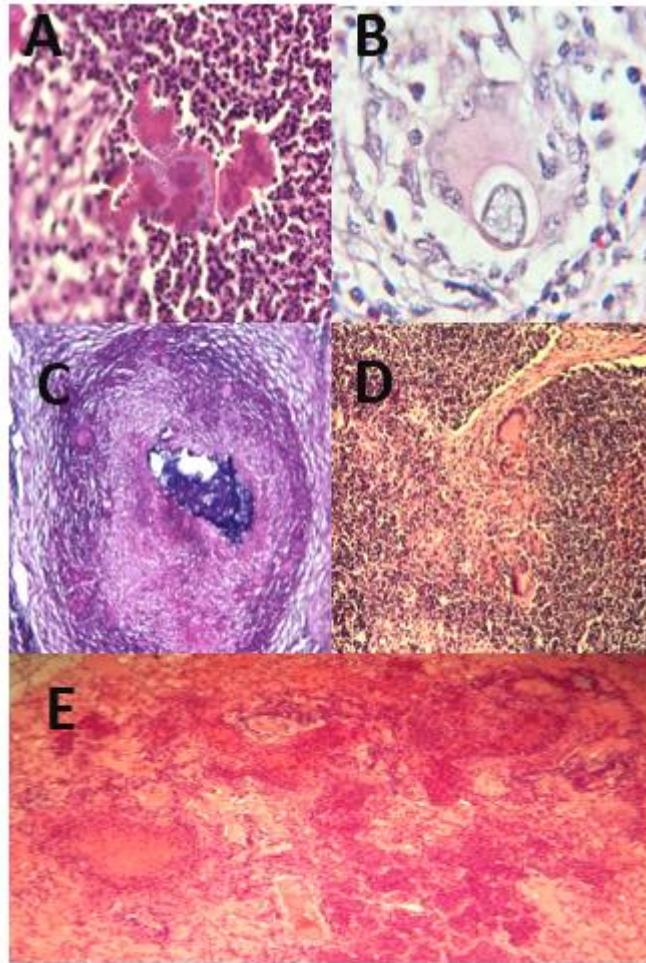


Figura 5. Evaluación microscópica de lesiones por TB en linfonodo y pulmón de bovinos teñidos con H&E. **(A):** Corte transversal de linfonodo donde se aprecia una reacción Splendore-Hopplie, compatible con *Actinobacillus lignieresii.*, **(B):** Corte transversal de linfonodo compatible con *Coccidioides immitis*, **(C):** Corte transversal de linfonodo en donde se aprecia un granuloma, con abundantes células gigantes y un centro necrótico, **(D):** Corte transversal de linfonodo donde se aprecia un granuloma insipiente con presencia de macrófagos epitelioides y células gigantes tipo Langhans y **(E):** Corte transversal de pulmón donde se aprecia abundantes focos de necrosis caseosa e infiltrado granulomatoso supurativo.

multinucleadas tipo Langhans. Además, de necrosis caseosa con o sin múltiples focos calcificados, infiltración de neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas y proliferación de tejido fibroso. Rhyan *et al.* 1992 encontraron lesiones microscópicas en muestras de bovinos (ganglios linfáticos), entre las cuales destacan necrosis caseosa, mineralización, capa densa de tejido colágeno denso, infiltración de neutrófilos y leucocitos.

6.3. Identificación de bacilos ácido resistentes (BAAR) por tinción Zielh-Neelsen

La caracterización microscópica de los órganos de hígado, pulmón y principalmente linfonodos de bovinos donde 18/242 (7.4 %) muestra presentaron bacilos ácidos resistentes (BAAR) (**Figura 6**), se observaron diferentes tipos de diagnósticos e inflamaciones en cortes transversales de linfonodos, **6A**: Presenta una estructura filamentosa ácido-alcohol resistente compatible con *Nocardia spp.*, **6B**: Se distingue una célula gigante multinucleada tipo Langhans, **6C y 6D**: Se perciben bacilos ácido-alcohol resistentes compatibles con *Mycobacterium spp.* Los resultados son similares a los reportado por Mittal *et al.* 2014 encontraron la presencia de bacilos ácidos resistentes (BAAR) en 6 muestras de tejidos bovinos del norte de India provenientes de tres razas, al evaluar 10 muestras que presentaban lesiones sugerentes a TBb. Silva *et al.* 2018 reportan la presencia de bacilos ácidos-alcohol resistentes en 15 muestras de pulmón de bovinos proveniente de un rastro público Garanhuns, Agreste de Pernambuco, Brasil, al evaluar 32 muestras que presentaban lesiones sugerentes a TBb. Así como Proñoa-Pérez *et al.* al realizar la evaluación de muestras de tejido de bovinos observaron la presencia de bacilos ácidos alcohol resistente en 11 de 33 muestras con lesiones sugerentes a TBb. Napala *et al.* 2017 reportan la presencia de BAAR en 13 muestras de 134 con lesiones sugerentes a TBb.

6.4. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos del estado de Sinaloa

En resultados generales del número total de muestras un 7.4 % (IC 95 % 4.5; 11.5 %) fueron positivas a TB y un 92.6 % negativos a dicha enfermedad (**Cuadro 1**). La

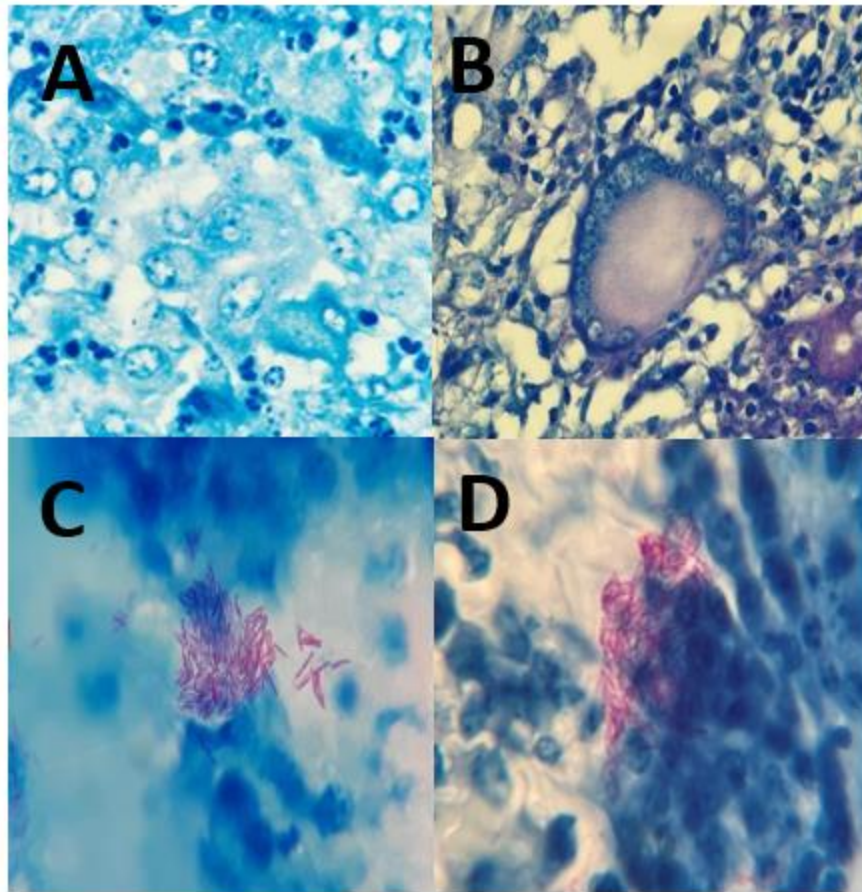


Figura 6. Evaluación microscópica de lesiones por TB en linfonodo y pulmón de bovinos teñidos con Zielh-Neelsen. **(A):** Corte transversal de linfonodo en donde se aprecia una estructura filamentosas ácido-alcohol resistente compatible con *Nocardia spp.*, **(B):** Corte transversal de linfonodo en donde se aprecia una célula gigante multinucleada tipo Langhans. **(C)** y **(D):** Corte transversal de pulmón, en donde se aprecian abundantes bacilos ácido-alcohol resistentes compatibles con *Mycobacterium spp.*

Cuadro 1. Número de muestras positivas y negativas a *Mycobacterium spp.* remitidas al Centro Especializado Culiacán en 2020-2021.

Periodo	Número de muestras		% de muestras	
	Positivas	Negativas	Positivas	Negativas
2020-2021	18	224	7.4	92.6
Total	242		100	

tuberculosis bovina está presente en el mundo entero, pero en algunos países nunca se ha detectado y numerosos países desarrollados han reducido o eliminado la tuberculosis bovina en su población ganadera. Cabe destacar que en la fauna silvestre persisten importantes focos de infección. La prevalencia más alta de la tuberculosis bovina se sitúa en África y en ciertas partes de Asia, aunque la enfermedad también se encuentra en países de Europa y de las Américas (WOAH 2023). En México la prevalencia de la TBb se estima en 16 % para el ganado productor de leche, y menos del 1 % para ganado de carne (Pérez-Guerrero *et al.* 2008). De acuerdo con SENASICA en 2018 se tenía una prevalencia promedio de 2.5 % y en 2023 en nuestro país se contaba con el reconocimiento del 86.32 % del territorio nacional en fase erradicación con una prevalencia < 0.5 %. Con respecto con el ganado lechero, el problema se agrava por la baja participación de los productores en actividades de campaña, la cual es menor al 30 %, y la falta de esquemas de compensación por los animales sacrificados (Milián *et al.* 2010).

6.5. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos por municipio

Los municipios del estado de Sinaloa donde provienen las muestras evaluadas en el presente estudio (**Cuadro 2**), muestran que dicha enfermedad está presente 5 de los 10 municipios evaluados, siendo los municipios de Culiacán (4.7 %), Guasave (23.8 %), Mazatlán (20 %), Navolato (11.1 %) y El Fuerte (100 %). Estos resultados son similares a lo reportado por Inangolet *et al.* 2008 evaluaron el ganado bovino de las zonas fronterizas de los distritos de Katakwi y Moroto en Uganda, su estudio se basó en el estudio de 8 subdistritos de Katalwi (Ongogonja, Usuk, Ngariam, Magoro, Katakwi, Omodoi, Tomora y Kapuja) y Moroto sólo el subdistrito Irriri. Encontrando las siguientes incidencias por subdistrito Ongogonja (0 %), Usuk (0.7 %), Ngariam (0.3 %), Magoro (0 %), Katakwi (0 %), Omodoi (4 %), Tomora (3 %), Kapuja (6 %) y Irriri (1.5 %). Napala *et al.* 2017 reportan indecencias de lesiones tuberculosas en el distrito de Mubende, Uganda. Donde se registra las siguientes incidencias a TB en 4 subcondados: Kasanda (14 %), Madudu (7.1 %), Mubende (8.1 %) y Kasambya (6.3 %). Destacando que el ganado proveniente de Kasanda presentaba la mayor probabilidad de presentar una lesión sugerente a TBb. Kapalamula *et al.* 2023

Cuadro 2. Número de muestras positivas y negativas a *Mycobacterium spp.* de los municipios del estado de Sinaloa en 2020-2021.

Municipio	Número de muestras		Total de muestras
	Positivas	Negativas	
Ahome	0	5	5
Culiacán	9 (4.7%)	183 (95.3 %)	192
Choix	0	1	1
Concordia	0	1	1
El Fuerte	2 (100 %)	0	2
Elota	0	2	2
Guasave	5 (23.8 %)	16 (76.2 %)	21
Mazatlán	1 (20 %)	4 (80 %)	5
Navolato	1 (11.1 %)	8 (88.9 %)	9
Salvador Alvarado	0	4	4
Totales	18 (7.4 %)	224 (92.6 %)	242

registraron frecuencias de lesiones sugerentes a tuberculosis en tres importantes rastros regionales (zona sur, centro y norte) de Malawi. Donde reportan para cada zona: sur (4.47%), centro (6.56%) y norte (3.79%). El ganado de la región norte fue la que presentó menos probabilidad de presentar lesiones sugerentes a TBb. Belakehal *et al.* 2021 registraron frecuencias de lesiones sugerentes a tuberculosis en rastros municipales al norte de Argelia. Donde reportaron para Hussein Dey (4.44%), El Harrach (5.31%), Hadjout (4.94%) y Dellys (5.38%). La enfermedad es contagiosa y se transmite directamente por contacto con animales domésticos o silvestres infectados o, de forma indirecta, por ingestión de alimento contaminado. La vía de infección más común en los hatos bovinos es la inhalación de gotículas infectadas que un animal enfermo expulsa al toser. Los terneros pueden infectarse al ingerir calostro o leche de vacas infectadas (SENASICA 2020; WOAHA 2023).

6.6. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos por sexo

En el presente trabajo con respecto al sexo de los animales infectados, se observa la presencia de *Mycobacterium spp.* en ambos, pero se observó diferencia significativa entre la incidencia entre machos (11.7%) y hembras (4.3%) ($p < 0.05$) (**Cuadro 3**). Las diferencias entre la incidencia de TBb en función del factor sexo se debe a las diferencias del sistema de producción y cría, y al tipo de ganado (Alvarez *et al.* 2009; Bell *et al.* 2010; Broughan *et al.* 2016). La mayoría de los reportes indican una mayor incidencia de TBb en hembras en comparación con los machos (Bonsu, Laing & Akanmori 2000; Brooks-Pollock *et al.* 2013; Kapalamula *et al.* 2023). Sin embargo, en el presente estudio no se observa esto, sino una mayor incidencia en los machos en comparación con las hembras, lo cual concuerda con estudios similares como lo reportado por Kazwala *et al.* 2001 al realizar un estudio para determinar la prevalencia de TBb y los factores de riesgos asociados a la aparición de la enfermedad en bovinos de Tanzania, encontraron una incidencia de 14.8 % para machos y 12.6 % en hembras. Así como el trabajo publicado por Belakehal *et al.* 2021 al realizar un estudio para estimar la prevalencia y los factores de riesgo

Cuadro 3. Número de muestras positivas y negativas a *Mycobacterium spp.* por sexo remitidas al Centro Especializado Culiacán en 2020-2021.

Sexo	Número de muestras		Total de muestras
	Positivas*	Negativas	
Hembra	6 (4.3 %)ª	133 (95.7 %)	139
Macho	12 (11.7 %)ᵇ	91(88.3 %)	103
Total	18 (7.4%)	224 (92.6 %)	242

*Superíndices en la misma columna indican diferencia significativa (P < 0.05)

asociados a TBb en mataderos argelinos, reportando valores de 78.8 % para machos y 21.2 % en hembras.

6.7. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos por raza

De acuerdo a los resultados de la presente investigación las razas con mayor tasa de infección fueron la criolla y la crusa, al presentar 13 (6.6%) y 5 (13.5%), respectivamente (**Cuadro 4**). La resistencia genética a enfermedades se ha explorado en varios países (Acevedo *et al.* 2005; Naranjo *et al.* 2008; Driscoll *et al.* 2011). Las primeras evidencias de la resistencia TBb en las razas datan desde 1920. Se tiene evidencia principalmente del continente africano sus razas nativas como el Cebú son más resistentes a TBb, que las razas introducidas (Ameni, Amenu & Tibbo 2003; Allen *et al.* 2010; Cadmus *et al.* 2010; Dinka & Dureza 2011; Vordermier *et al.* 2012). En el caso de la enfermedad de tuberculosis, algunos estudios han reportado razas de ganado con diferente nivel de susceptibilidad; por ejemplo, la raza cebú (prevalencia = 11.6%) demostró ser más resistente que la Holstein (prevalencia = 22%) y a las cruzas de Holstein con cebú (prevalencia = 11.9%), a diferencia de la raza Holstein las cuales mostraron lesiones patológicas más severas en los ganglios linfáticos y pulmones (Ameni *et al.* 2007; Biffa *et al.* 2012).

Estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos de estudios similares, donde se observa una mayor incidencia entre razas cruza, como lo reportado por Kapalamula *et al.* 2023 realizaron un estudio de la prevalencia y factores de riesgo de tuberculosis bovina en rastros de ganado en Malawi, reportan que el riesgo de tener lesiones similares a tuberculosis bovina fue mayor para razas cruza (9.4 2%) que la raza pura Cebú (4.6%). Napala *et al.* 2017 al llevar un estudio sobre de prevalencia de lesiones tuberculosas en ganado en las razas crusa, cebú y ankole, donde la raza crusa (34%) tenía mayor probabilidad de presentar lesiones tuberculosas comparada con la raza cebú (13.4%) y ankole (5.8%).

Cuadro 4. Número de muestras positivas y negativas a *Mycobacterium spp.* por raza remitidas al Centro Especializado Culiacán en 2020-2021.

Raza	Número de muestras		Total de muestras
	Positivas	Negativas	
Cebu	0	2	2
Criollo	13 (6.6 %)	183 (93.4 %)	196
Cruza	5 (13.5 %)	32 (84.5 %)	37
Hosltein	0	1	1
Suizo	0	3	3
Simental	0	3	3
Total	18 (7.4 %)	224 (92.6 %)	242

6.8. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos por diagnóstico

De acuerdo a los resultados de diagnóstico morfológico de las muestras analizadas en la presente investigación (**Cuadro 5**), sólo 18 muestran positivas para tuberculosis: se presentaron 3 con diagnóstico de bronconeumonia y 224 con linfadenitis, siendo las primeras 2 muestras positivas para tuberculosis pulmonar (66.67 %) y en la segunda 16 positivas para tuberculosis extrapulmonar (7.1 %). Además, se encontraron diagnósticos de otras enfermedades relevantes como la presencia de sarcoma y carcinoma que son tipos de cáncer que los animales analizados presentaron, así como, parotitis y fibroplasia. La histología es una técnica que posee una alta especificidad porque puede caracterizar histomorfológicamente lesiones no relacionadas con agentes micobacterianos como por ejemplo parásitos y neoplasias (Pollock & Neill 2002). Los resultados del presente trabajo son similares a lo reportado por Shitaye *et al.* 2006 evaluaron muestras de bovinos en Etiopia, de las 69 muestras examinadas el 28.9 % fue con linfadenitis aguda e hiperplasia reactiva y con 33.3% para piogranulomas en los linfonodos mesentéricos y pulmón respectivamente. Silva *et al.* 2018 evaluaron 32 muestras de pulmón de bovinos con lesiones sugestivas a tuberculosis, arrojando el diagnóstico neumonía granulomatosa (75%), bronconeumonía supurativa (6.25%), neumonía intersticial (3.13%), enfisema (3.13%) y abscesos (9.37%).

6.9. Frecuencias de TBb en muestras de bovinos por tipo de inflamación

Los tipos de inflamación en las muestras analizadas en el presente estudio prevalecieron la granulomatosa exudativa con 200 casos que representan el 82.6 % y granulomatosa 22 casos el 9.1 % (**Cuadro 6**). Presentándose también otros tipos de inflamaciones como carcinoma e histiocítica con el 1.2 %, eosinofílica, fibroplasia, neutrofílica, parotitis y sarcoma con el 0.4 %. Estos resultados se esperaban ya que la literatura reporta a TB como una enfermedad crónica que induce el desarrollo de granulomas en los hospedadores, ya que se cataloga como

Cuadro 5. Número de muestras por diagnóstico morfológico positivas y negativas a *Mycobacterium spp.* remitidas al Centro Especializado Culiacán en 2020-2021.

Diagnóstico	Número de muestras		Total de muestras
	Positivas	Negativas	
Bronconeumonía	2 (66.7 %)	1 (33.3 %)	3
Carcinoma	0	3	3
Fibroplasia	0	1	1
Linfadenitis	16 (7.1%)	208 (92.9)	224
Parotitis	0	1	1
Sarcoma	0	1	1
Sin cambios patológicos	0	9	9
Totales	18 (7.4 %)	224 (92.6 %)	242

Cuadro 6. Número de muestras por diagnóstico morfológico por tipo de inflamación positivas y negativas a *Mycobacterium spp.* remitidas al Centro Especializado Culiacán en 2020-2021.

Tipo de inflamación	Número de muestras		Total de muestras
	Positivas	Negativas	
Carcinoma	0	3	3
Eosinofílica	0	1	1
Fibroplasia	0	1	1
Granulomatosa	18 (81.8 %)	4 (18.2 %)	22
Histiocítica	0	3	3
Neutrófilica	0	1	1
Parotitis	0	1	1
Piogranulomatosa	0	200	200
Sarcoma	0	1	1
Sin cambios patológicos	0	9	9
Totales	18 (7.4 %)	224 (92.6 %)	242

una lesión característica de TB (Domingo, Vidal & Marco 2014; Palmer *et al.* 2021). Estos resultados son similares a los documentados por Ozturk-Gurgen *et al.* 2020 al analizar muestras de bovinos observaron que presentaban inflamación granulomatosa tuberculosa. Así como lo reportado por Proaño-Pérez *et al.* 2011 al realizar el análisis de muestras de bovinos registrando lesiones características de inflamación granulomatosa tuberculosa.

VII. CONCLUSIONES

- La caracterización macroscópica permitió la identificación de lesiones sugerentes a TBb en 242 muestras.
- La caracterización microscópica permitió la identificación de lesiones sugerentes a TBb de 223 muestras
- La Tinción de Zielh Neelsen permitió la identificación de bacilos ácido-alcohol resistentes en sólo 18 muestras.
- Las frecuencias de TBb en el presente trabajo fue de 7.4 % para el estado de Sinaloa.
- Las razas puras presentaron menor incidencia de TBb que las razas criollas y cruza.
- Los municipios que presentaron mayor tasa de infección de TBb fueron Culiacán, El Fuerte, Guasave, Mazatlán y Navolato, siendo El Fuerte el que presento la mayor en los municipios evaluados.
- Las incidencias en muestras de bovinos machos fueron mayores comparadas con las hembras, al mostrar que presentaban diferencia estadística significativa.

VIII. PERSPECTIVAS

- Realizar aislamientos bacterianos y pruebas bioquímicas para tipificación de *Mycobacterium spp.*
- Realizar Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para identificar las *Mycobacterium spp.* presentes en el estado de Sinaloa.
- Realizar un antibiograma para evaluar la resistencia a antibióticos a los antibióticos más comunes utilizados para tratar a TB.
- Realizar un muestro completamente al azar para analizar la frecuencia y distribución de TB en el estado de Sinaloa.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, W.K., J. Vicente, C. Gortazar, U. Hofle, I.G. Fernández de Mera and W. Amos. 2010. Genetic resistance to bovine tuberculosis in the Iberian wild boar. *Mol Ecol.* 14:3209-3217.
- Acosta-Salinas, R., C.E. Chavéz and F. Milian-Suazo. 2009. Tipificación de cepas de *M. bovis*. Revisión. *Tec Pec Méx.* 47(4): 389-412.
- Álvarez, J., L. de Juan, J. Bezos, B. Romero, J. L. Sáez, S. Marqués, C. Domínguez, O. Mínguez, B. Fernández-Mardomingo, A. Mateos, L. Domínguez and A. Aranaz. 2009. Effect of paratuberculosis on the diagnosis of bovine tuberculosis in a cattle herd with a mixed infection using interferon-gamma detection assay. *J Vet. Microbiol.* 135: 389-393.
- Arcos, J., S. J. Sasindran, N. Fujiwara, J. Turner, L. S. Schlesinger and Torrelles. 2011. Humanlung hydrolases delineate *Mycobacterium tuberculosis*-macrophage interactions and the capacity to control infection. *J Immunol.*187: 372–81, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.11008233>.
- Ashford, D. A., E. Whitney, P. Raghathan, and O. Cosivi. 2001. Epidemiology of selected mycobacterial that infect humans and animals. *Rev. Sci. Tech.* 20 (1): 325-37.
- Barrera, C. 2008. Parte II Cultivo. In Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis., ed. Organización Panamericana de la Salud, México. DF, pp. 7-107.
- Behar, S. M., M. Divangahi and HG Remold. 2010. Evasion of innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis*: is death an exit strategy? *Nat Rev Microbiol.* 8: 668–74, <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2387>
- Belakehal, F., I. Moser, M. Naim, S. Zenia and T. M. Hamdi TM. 2021. Tuberculosis lesions of bovine carcasses in Algerian municipal abattoirs and associated risk factors. *JAHP.* 9: 479-486.
- Bell, M. J., E. Wall, G. Russell, D. J. Roberts and G. Simm. 2010. Risk factors for culling in Holstein-Friesian dairy cows. *Veterinary Record.* 167: 238-240.

- Biet, F., M. L. Boschioli, M. F. Thorel and L. A. Guilloteau. 2005. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium* intracellulare complex MAC. *Vet. Res.* 363: 411-436.
- Boland, F., G. E. Kelly, M. Good and S. J. More. 2010. Bovine tuberculosis and milk. *Prev Vet Med.* 93(2-3): 153-161.
- Bonsu, O. A., E. Laing B. D. Akanmori BD. 2000. Prevalence of tuberculosis in cattle in the Dangme-West district of Ghana, public health implications. *Acta Tropica.* 76: 9-14.
- Brooks-Pollock, E., A. J. K. Conlan, A. P. Mitchell, R. Blackwell, T. J. McKinley and J. L. N. Wood. 2013. Age-dependent patterns of bovine tuberculosis in cattle. *Veterinary Research.* 44: 97.
- Broughan, J. M., J. Judge, E. Ely, R. J. Delahay, G. Wilson, R. S. Clifton-Hadley, A. V. Goodchild, H. Bishop, J. E. Parry and H. Downs. 2016. A review of risk factors for bovine tuberculosis infection in cattle in the UK and Ireland. *Epidemiol. Infect.* 144: 2899-2926.
- Cardona, P. J. 2016. Reactivation or reinfection in adult tuberculosis: is that the question?. *Int J Mycobacteriol.* 5: 400–7, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.09.017>
- Cardona, P. J. 2016. The progress of therapeutic vaccination with regard to tuberculosis. *Front Microbiol.* 7:1536, <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.01536>
- Cardona, P. J. 2017. What we have learned and what we have missed in tuberculosis pathophysiology for a new vaccine design: searching for the “Pink Swan”. *Front Immunol.* 8: 556, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2017.00556>
- Clifton-Hadley, R. S., J. W. Wilesmith, M. S. Richards, P. Upton and S. Johnston. 2002. The occurrence of tuberculosis in Michigan wildlife. *Acad. Sci.* 969: 259-261.
- Collins, C. H. 2000. The bovine tubercle bacillus. *Br. J. Biomed. Sci.* 57: 234-40
- Collins, D. M. 2011. Advances in molecular diagnostics for *Mycobacterium bovis*. *Vet. Microbiol.* 151: 2-7.
- Collins, J. D. 1983. Abattoir associated zoonoses. *J. Soc. Occup. Med.* 33: 24-7.

- Cousins, D., S. Williamns, E. Liébana, A. Aranaz, A. Buschoten, J. Van Embden and T. Ellis. 1998. Evaluation of four DAN typinf techniques in epidemiological investigations of bovine tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 36(1): 168-178.
- Cousins, D. V. 2001. *Mycobacterium bovis* infection and control in domestic livestock. *Rew. Sic. Tech.* 20(1): 71-85.
- Crick, D., S. Mahaoatra and P. Brennan. 2001. Biosyntheis of the arabinogalactan-peptidoglycan complex of *Mycobacterium tuberculosis*. *Glycobiol.* 11: 107-118.
- Danker, W. M., N. J. Waecker, M. E. Essey, K. Moser, Thompson and C. E. Davis. 1993. *Mycobacterium bovis* infection in San Diego: a clinicoepidemiologic study of 73 patients and a historical review of a forgotten pathogen. *Medicine (Baltimore)*. 72 (1):11-37.
- De la Parte-Pérez, M., M. P. Hustado y M. Rivera. 2001. Tuberculosis en el nuevo milenium. *Revista de la Facultad de Medicina de Caracas-Venezuela*. 24(2): 104-119.
- Dinadayala, P., T. Sambou, M. Daffé and A. Lemassu. 2008. Comparative structural analyses of the alpha-glucan and glycogen from *Mycobacterium bovis*. *Glycobiology*. 18(7): 502-8.
- Domingo, M., E. Vidal and A. Marco. 2014. Pathology of bovine tuberculosis. *J. Vet. Sci. Res.* 97: 20-29.
- Dorronsoró I. and L. Torroba. 2007. Microbiología de la tuberculosis. *An. Sist. Sanit. Navar.* 30(2): 67-84.
- Drieux, H. 1957. Post mortem inspection and judgement of tuberculous carcasses. Meat hygiene. Geneva: Food and Agriculture Organisation of the United Nations. 195-215.
- Driscoll, E. E., J. I. Hoffman, L. E. Green, G. F. Medley and Amos. 2011. A preliminary study of genetic Factors that influence susceptibility to bovine tuberculosis in the British cattle herd. *PLOS ONE*. 6(4): e18806.
- Escombe, A. R., C. Oeser, R. H. Gilman, M. Navincopa, E. Ticona, Martínez C, L. Cavides, P. Sheen, A. González, C. Noakes, D. A. J. Moore, J. S. Friedland and C. A. Evans/.

2007. The detection of airborne transmission of tuberculosis from HIV-infected patients, using an in vivo air sampling model. *Clin Infect Dis.* 44: 1349–57. <http://dx.doi.org/10.1086/515397>.
- Esteban, J., P. Robles, J. M. Soledad and G. M. L. Fernandez. 2005. Pleuroneumony infections caused by *Mycobacterium bovis*: re-emerging disease. *Clin. Microbiol. Infect.* 11(10): 18:44a.5.
- Falkinhma, J. O. 2003. Mycobacterial aerosols and respiratory disease. *Emerg. Infect. Dis.* 9(7): 763-767.
- Francis, J. 1973. Very small public health risk from flesh of tuberculosis cattle. *Aust. Vet. J.* 49: 496-7
- Frothingham, R., H. O. Hillis and K. H. Wilson. 1994. Extensive DNA sequence conservation throughout the Mycobacterium tuberculosis Complex. *J Clin Microbiol.* 32(7): 1639-1643.
- Garnier, T., K. Eiglmeier, J. C. Camus, N. Medina, H. Mansoo, M. Pryor, S. Duthoy, C. Lacroix, C. Monsempe, S. Simon, B. Harris, R. Atkin, J. Doggett, R. Mayes, L. Keating, P. R. Wheeler, J. Parkhill, B. G. Barrell, S. T. Cole, S. V. Gordon, R. G. Hewison, S. T. Cole and R. G. Hewinson. 2003. The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100(13): 7782-7.
- Garnier, T., K. Eiglmeier, J. C. Camus, N. Medina, H. Mansoor, M. Pryor and R. G. Hewinson. 2003. The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100(13): 7877–7882. <https://doi.org/10.1073/pnas.1130426100>.
- Giltsdorf, M. J., E. D. Ebel and T. W. Disney. 2006. Benefit and Cost Assessment of the U.S. Bovine Tuberculosis Eradication Program. In "Mycobacterium bovis Infection in Animals and Humans", pp. 89–99. C. O. Thoen, J. H. Steele and M. J. Giltsdorf (Eds.), 2nd Edition. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470344538.ch11>.
- Grange, J. M. and M. D. Yates. 1994. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* infection. *Vet. Microbiol.* 40: 137-51.

- Grant, I., H. Ball and M. Rowe. 1996. Thermal inactivation of several *Mycobacterium spp.* In milk by pasteurization. *Lett. Appl. Microbiol.* 22: 253-256.
- Holsinger, V.H., K. T. Rajkowski and J. R. Stabel. 1997. Milk pasteurization and safety: a brief history and update. *Rev Sci Tech.* 16(2): 441-51.
- Inangolet, F. O., B. Demelash, J. Oloya, J. Opuda-Asido and E. Skjerve. 2008. A cross-sectional study of bovine tuberculosis in the transhumant and agro-pastoral cattle herds in the border areas of Katakwi and Moroto districts, Uganda. *Trop Anim Health Prod.* 40: 501-508.
- Kaur, D., M. Guerin, H. Skovierová, P. Brennan and M. Jackson. 2009. Biogenesis of the cell Wall and other glycoconjugates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Adv. Appl. Microbiol.* 69: 23-78.
- Kapalamula, T. F., F. Kawonga, M. Shawa, J. Chizimu, J. Thapa, M. E. Nyenje, R. S. Mkakosya, K. Hayashida, S. Gordon, C. Nakajima, M. Munyeme, B. M. Hang'ome and Y. Suzuki. 2023. Prevalence and risk factors of bovine tuberculosis in slaughtered cattle, Malawi. *Heliyon.* 9: e13647.
- Kazwala, R. R., D. M. Kambarage, C. J. Daborn, J. Nyange, S. F. H. Jiwa and J. M. Sharp. 2001. Risk factors associated with the occurrence of bovine tuberculosis in cattle in the Southern Highlands of Tanzania. *Vet. Res. Commun.* 25: 609–614.
- Kleeberg, H. H. 1984. Human tuberculosis of bovine origin in relation to public health. *Rev. Sci. Tech.* 3: 11-32.
- Kremer, L., W. N. Maughan, R. A. Wilson, L. G. Dover and G. S. Besra. 2002. The *M. tuberculosis* antigen 85 complex and mycolyltransferase activity. *Lett Appl Microbiol.* 34: 233–237. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11940150>
- Kulchavenya, E. 2014. Extrapulmonary tuberculosis: are statistical reports accurate? *Ther Adv Infect Dis.* 2: 61–70, <http://dx.doi.org/10.1177/2049936114528173>
- Lake, R., A. Hudson and P. Cressey. 2002. Risk profile: *Mycobacterium bovis* in milk. Christchurch: Institute of Environmental, Science and Research Ltd.

- Lee, J., H. G. Remold, M. H. Leong and H. Kornfeld. 2006. Macrophage apoptosis in response to high intracellular burden of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by a novel caspase-independent pathway. *J Immunol.* 176: 4267–4274. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16547264>
- López, L., F. Díaz, A. Vallecillo, H. Esquivel, H. and J. Gutiérrez. 2006. Tuberculosis humana y bovina en Latinoamérica: De estudios sobre virulencia hacia herramientas para su control. *Rev. Lat. Microbiol.* 48(2): 173-178.
- Ma, N., S. Zalwango, L. L. Malone, M. Nsereko, E. M. Wampande, B. A. Thiel, B. Okware, R. P. J. Igo, M. L. Joloba, E. Mupere, H. Mayanja-Kizza, WH Boom and C. M. Stein. 2014. Clinical and epidemiological characteristics of individuals' resistant to *M. tuberculosis* infection in a longitudinal TB household contact study in Kampala, Uganda. *BMC Infect Dis.* 14: 352, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-14-352>
- Manterola, C., G. Quiroz, P. Salazar and N. García. 2019. Metodología de los tipos y diseños de estudios más frecuentemente utilizados en investigación clínica. *REV. MED. CLIN. CONDES.* 30(1): 36-39.
- Milián, S. F., B. Harris, C. Arriaga, B. Thomsen, T. Stuber, D. González, G. Álvarez-Ojeda, M. A. Santillán-Flores, A. Morales-Loredo and C. Estrada-Chávez. 2010. Sensibilidad y especificidad de PCR anidada y Spoligotyping como pruebas rápidas de diagnóstico de tuberculosis bovina en tejido fresco. *Rev Méx Cienc Pec.* 1(4):403- 415.
- Mitchell, G., C. Chen and Portnoy. 2016. Strategies used by bacteria to grow in macrophages. *Microbiol Spectr.* 4. <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.MCHD-0012-2015>.
- Mutsaers, S. E., C. M. Prele, A. R. Brody and S. Idell. 2004. Pathogenesis of pleural fibrosis. *Respirology.* 9: 428–40, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1843.2004.00633.x>
- Mittal, M., S. Chakravarti, V. Sharma, B. S. Sanjeeth, C. P. Churamani and N. K. Kanwar. 2014. Evidence of Presence of *Mycobacterium tuberculosis* in Bovine Tissue Samples by Multiplex PCR: Possible Relevance to Reverse Zoonosis. *Transbound Emerg Dis.* 61(2): 97-104.

- Naranjo, V., W. K. Acevedo, J. Vicente, C. Gortazar and J. de la Fuente. 2008. Influence of methylmalonyl-CoA mutase alleles on resistance to bovine tuberculosis in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Anim Genet.* 39: 316-320.
- O'Reilly, L. M. and C. J. Daborn. 1995. *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review *Tuber. Lung Dis.* 76(1): 1.
- O'Reilly, L. M. and C. J. Daborn. 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercle Lung Dis.* 76: 1-46.
- Osherov, N. and R. Ben-Ami. 2016. Modulation of host angiogenesis as a microbial survival strategy and therapeutic target. *PLoS Pathog.* 12:e1005479, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1005479>
- Ozturk-Gurgen, H., B. Rieseberg, M. Leipzig-Rudolph, R. K. Straubinger and W. Hermanns. 2020. Morphology of Naturally-Occurring Tuberculosis in cattle caused by *Mycobacterium caprae*. *J. Comp. Path.* 174: 120-139.
- Palmer M. V., T. C. Thacker, C. Kanipe and P. M. Boggaiatto. 2021. Heterogeneity of pulmonary granulomas in cattle experimentally infected with *Mycobacterium bovis*. *Fron. Vet. Sci.* 8: 671460.
- Pérez-Guerrero, L., F. Milián-Suazo, C. Arriaga-Díaz, C. Romero-Torres and M. Escartín-Chávez. 2008. Epidemiología molecular de la tuberculosis bovina y humana en una zona endémica de Querétaro, México. *Salud Pública Méx.* 50(4):1-6.
- Perry, D., T.F. Randolph, J.J. McDermott, K.R. Sones and P.K. Thornton. 2002. Investing in Animal Health Research to Alleviate Poverty. Nairobi: International Livestock Research Institute. Available: www.ilri.cgiar.org/InfoServ/Webpub/fulldocs/investinginanimal/index.htm.
- Pollock J. M. and S. D. Neill. 2002. *Mycobacterium bovis* infection and tuberculosis in cattle. *Vet J.* 163: 115-127
- Prat, A. C., J. Domínguez and A. C. Ausina. 2003. *Mycobacterium bovis*. Control Calidad SEIMC. Servei de Microbiologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona. Facultat de Medicina, Universidad Autònoma de Barcelona.

- Pritchard, D. G. 1988. A century of bovine tuberculosis 1888-1988: conquest and controversy. *J. Comp. Pathol.* 9: 357-99.
- Proaño-Pérez, F., W. Benítez-Ortiz, D. Desmechtd, C. Marco, J. Ortiz, L. Ron, F. Portaels, L. Rigouts and A. Linden. 2011. Postmortem examination and laboratory-based analysis for the diagnosis of bovine tuberculosis among dairy cattle in Ecuador. *J. Prev. Vet. Med.* 101: 65-72.
- Rhyan, J.C., D. A. Saari, E. S. Williams, M. W. Miller, A. J. Davis and A. J. Wilson. 1992. Gross and microscopic of naturally occurring tuberculosis in a captive herd of wapiti (*Cervus elaphus nelsoni*). *J Vet Diagn Invest.* 4: 428-433.
- Schiller, I., B. Oesch, H. M. Vordermeier, M. V. Palmer, B. N. Harris, K. A. Orloski, B. M. Buddle, T. C. Thacker, K. P. Lyashchenkom and W. R. Waters. 2010. Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance of disease control and eradication. *Transboud Emerg. Dis.* 57: 205-220.
- Schiller, I., W. RayWaters, H. M. Vondermeier, T. Jemmi, M. D. Welsh, N. Keck, A. Whelan, E. Gormley, M. L. Boschioli, J. L. Moyon, C. Vela, M. Cagiola, B. M. Buddle, M. V. Palmer, T. C. Thacker, and B. Oesch. Bovine tuberculosis in Europe from the perspective of an officially tuberculosis free country: Trade, surveillance and diagnostics. *Vet. Microbiol.* 151, 153-159. 2011.
- [SENASICA]. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2018. Tuberculosis bovina en México. Acceso: <https://www.gob.mx/pronabive/articulos/tuberculosis-bovina-en-mexico>. Consultado: 20 de Junio de 2023
- [SENASICA]. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2020. Programas y acciones. Campañas zoonosanitarias. Tuberculosis Bovina. Acceso: <https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/campana-nacional-contra-la-tuberculosis-bovina-49517>. Consultado: 20 de Junio de 2023
- [SENASICA]. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2023. Situación actual de Tuberculosis bovina. Acceso:

<https://www.gob.mx/senasica/documentos/situacion-actual-de-tuberculosis-bovina?state=published>. Consultado: 20 de junio de 2023

- Sequeira, M. D. L. 2008. PARTE I Baciloscopia. In Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. M. D. L. Sequeira, ed. Organización Panamericana de la Salud, México DF, pp. 26-30.
- Shitaye, J. E., B. Getahun, T. Alemayehu, M. Skoric, F. Tremil, P. Fictum, V. Vrbas and I. Pavlik. 2006. A prevalence study of bovine tuberculosis by using abattoir meat inspection and tuberculin skin testing data, histopathological and IS6110 PCR examination of tissues with tuberculous lesions in cattle in Ethiopia. *Veterinarni Medicina*. 51: 512-522.
- Shpilberg, J., R. Dorman and E. Ferrell. The next stage: molecular epidemiology. *J Clin Epidemiol*. 1997; 50(6): 633-638.
- Silva, S. C. G., A. D. F. Alves, T. J. O. Almeida, P. C. Lins-de Sá, A. F. S. Filho, N. Céspedes-Cárdenas, J. S. Ferreira-Neto, M. B. Heinemann, S. Santos-de Azevedo and M. B. Araujo-de Medeiros Torres. 2018. Isolation and identification of *Mycobacterium bovis* in cattle slaughtered from an abattoir in Garanhuns, Pernambuco. *Veterinary Medicine*. 39: 157-166.
- Sreevatsan, S., X. Pan, K. Stockbauer, E. Connell, N. D. Kreiswirth, B. Whittam and T. S. Musser. 1997. Restricted Structural gene polymorphism in the *Mycobacterium tuberculosis* complex indicates evolutionarily recent global dissemination. *Proc Natl Acad Sci*. 94 (18): 9869-9874.
- Storla, D. G., S. Yimer and G. A. Bjune. 2008. A systematic review of delay in the diagnosis and treatment of tuberculosis. *BMC Public Health*. 8:15, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-8-15>.
- Thoen, C. O., J. H. Steele and M. J. Gilsdorf. (Eds.), 2nd Edition. Oxford, UK: Blackwell
- Vadillo, S., S. Píriz y E. Mateos. 2002. Manual de Microbiología Veterinaria. McGraw – Hill. Interamericana de España. Madrid, España.

- Varello, K., M. Pezzolato, D. Mascarino, F Ingravelle, M. Caramelli and E. Bozzetta,. 2008. Comparison of histologic techniques for the diagnosis of bovine tuberculosis in the framework of eradication programs. *J Vet Diagn Invest.* 20: 164-169.
- Wallgren, A. 1948. The time-table of tuberculosis. *Tubercle.*29:245–51. Availablefrom: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18101320>
- Wangoo A., L. Johnson, J. Gough, R. Ackbar , S. Inglut, D. Hicks, Y Spencer, G. Hewinson and M. Vordermeier. 2005. Advanced Granulomatous Lesions in *Mycobacterium bovis*-infected Cattle are Associated with Increased Expression of Type I Procollagen, gd (WC1C) T Cells and CD 68C Cells. *J Comp Pathol.* 133: 223–234. Doi:10.1016/j.jcpa.2005.05.001
- Weyer, K., P. B. Fourie, D. Durrheim, J. Lancaster, K. Haslov and H. Bryden. 1999. *Mycobacterium bovis* as a zoonosis in the Kruger National Park, South Africa. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 3(12): 1113-1119.
- [WOAH]. Organización Mundial de Sanidad Animal. 2023. Enfermedades. Tuberculosis bovina. Acceso: <https://www.woah.org/es/enfermedad/tuberculosis-bovina/>. Consultado 20 de Junio 2023.
- Wolfe, L., S. Mahaffey, N. Kruh and K. Dobos. 2010. Proteomic definition of the cell wall of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Proteome. Res.* 9(10): 5816-26.
- Zinsstag, J., E. Schelling, F. Roth and R. Kazwala. 2006. Economics of Bovine Tuberculosis. In " *Mycobacterium bovis* Infection in Animals and Humans", pp. 68–83.

X ABREVIACIONES

BAAR	Bacilos ácido alcohol resistentes
°C	Grados celcius
CDEC	Centro de Diagnóstico Especializado de Culiacán
IC	Intervalo de Confianza
H&E	Tinción de hematoxilina y eosina
<i>M. bovis</i>	<i>Mycobacterium bovis</i>
min	Minuto
µm	Micrómetro
NOM	Norma Oficial Mexicana
OIE	Oficina Internacional de Epizootias
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PPD	Derivado Proteico Puro
SAGARPA	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria
<i>spp.</i>	Especies
TB	Tuberculosis
TBA	Tuberculosis Activa
TBAP	Tuberculosis Activa Pulmonar
TBb	Tuberculosis bovis
UGRS	Unión Ganadera Regional de Sinaloa
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América
WOAH	Organización Mundial de la Salud Animal