

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**TUBERCULOSIS EN BOVINOS LECHEROS**

**POR:**

**LUIS GENARO GARCÍA DAW**

**MONOGRAFÍA**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA**

**FEBRERO DE 2005**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**MONOGRAFÍA**

**TUBERCULOSIS EN BOVINOS LECHEROS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA**

**LUIS GENARO GARCÍA DAW**

**ASESOR:**

**M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE**

**COLABORADORES:**

**IZ. JORGE H. BORUNDA RAMOS  
MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO  
IZ. HÉCTOR M. ESTRADA FLORES**

**TORREÓN, COAHUILA**

**FEBRERO DE 2005**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

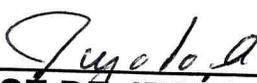


TUBERCULOSIS EN BOVINOS LECHEROS

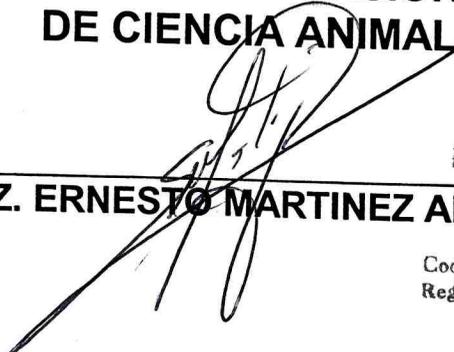
MONOGRAFÍA

APROBADO POR EL COMITÉ

PRESIDENTE DEL JURADO

  
M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL

  
M.V.Z. ERNESTO MARTINEZ ARANDA



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal  
UAAAN - UL

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO DE 2005

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA**

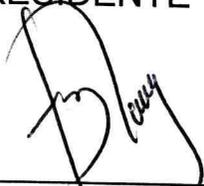
**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**MONOGRAFÍA**

**TUBERCULOSIS EN BOVINOS LECHEROS**

  
M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE  
PRESIDENTE

  
IZ. JORGE H. BORUNDA RAMOS  
VOCAL

  
MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO  
VOCAL

  
IZ. HÉCTOR M. ESTRADA FLORES  
VOCAL SUPLENTE



## Índice.

Resumen.	3
Introducción.	3
1.- Características.	5
2.- Factores promotores de la tuberculosis.	6
3.-Patogénesis.	9
4.- Resistencia.	13
5.- Inmunidad.	15
6.- Tratamiento y prevención.	18
7.- La tuberculosis y el mundo.	22
Conclusión.	23
Glosario.	23
Revisión de literatura.	27

## **Resumen.**

La Tuberculosis (TB) causada por *Mycobacterium tuberculosis* es un problema de suma importancia a nivel mundial ya que esta íntimamente ligada con las medidas de bioseguridad en países pobres y ricos.

En el ámbito animal, gracias a su capacidad de resistencia a los antibióticos, causa estragos en la comercialización y economía de los productores. Se debe mantener vigilada de cerca para poder controlarla y en el mejor de los casos erradicarla; usando como herramientas las poderosas técnicas de inmunodiagnóstico como la electroforesis y PCR.

## **Introducción.**

El *Mycobacterium tuberculosis* es un patógeno facultativo intracelular que reside y sobrevive dentro de los fagolisosomas de los macrófagos alveolares (Vercellone A, et al., 1998). Esta bacteria se encuentra diseminada actualmente por todo el mundo y va de la mano de la pobreza (Rook y Hernandez-Pando., 1996). Puede afectar a cualquier órgano del cuerpo, pero su punto clave son los pulmones (Huebner R.E, et al., 1995). El peligro que como veterinarios nos compete es por la exportación del ganado, ya que el padecimiento de la tuberculosis obstaculiza el mercado bloqueando la economía de los productores. Muchos de los casos de tuberculosis en animales salvajes son esporádicos y ocurren primariamente como un resultado del crecimiento de la infección en especies domésticas que son infectadas con *M. bovis* (Bruning-Fann C.S, et al.,1998).

La tuberculosis bovina es causada por *M. bovis*, esta es una enfermedad zoonótica y fue la causa del 6% del total de la muerte en humanos debido a la tuberculosis en 1930 y 1940, además de más del 50% de todos los casos de linfadenitis que involucra a los niños (Vordermzier H. M et al,1999).

La tuberculosis bovina causada por *M. bovis*, una bacteria estrechamente relacionada con *M. tuberculosis*, es la mayor causa de TB en humanos. El *M. bovis* puede infectar a un gran número de especies animales y es causa de aproximadamente 2000 muertes en humanos por año (Vordermeier H. M et al, 1999).

La organización mundial de la salud estima que *M. tuberculosis* afecta alrededor de 2 billones de personas en el mundo, uno de cada tres nuevos casos, con 8 millones y 2.9 millones de muertes al año. Alrededor de 1.3 millones de casos ocurren anualmente en niños, con 450 000 muertes asociadas con la tuberculosis (Milburn, Heather J., 2001).

Los tres factores que proporcionan los ímpetus para examinar la tuberculosis de carnívoros y omnívoros en el noreste de Michigan son: primero por la implicación de no rumiantes de vida salvaje que actúan como reservorio en Nueva Zelanda, Gran Bretaña, Irlanda; en segundo, el amplio rango de hospederos de *M. bovis* y tercero la presencia de tuberculosis en venados cola blanca en el noreste de Michigan (Bruning-Fann C.S et al., 1998).

Históricamente muchos de los casos de *M. bovis* en gatos ha sido asociado con la enfermedad en el ganado los cuales toman leche sin pasteurizar y el consumir carne cruda y vísceras (Kaneene J.B., et al.2002).

Realmente las vacunas existentes no son lo suficientemente eficaces contra la TB (Líebana E, et al., 1999), causando ésta la muerte de 3.1 millones de muertes mundiales por año (Wei J, et al., 2000); lo cual nos permite una mejor visualización de su trascendental importancia.

## 1.- Características.

El *Mycobacterium tuberculosis* es un patógeno facultativo intracelular que reside y sobrevive dentro de los fagolisosomas de los macrófagos alveolares (Vercellone A, et al., 1998). La superficie de *M tuberculosis* contiene una larga cantidad de complejos glicoconjugados que son específicos de las micobacterias auténticas. Esta cantidad de glicoconjugados incluyen: los lipoglicanos, lipoarabinomanosas (LAM) y lipomanosas (LM) que son vistos como antígenos prominentes que modulan las funciones macrofagas (Vercellone A, et al., 1998).

La biosíntesis y el transporte de L-arginina han mostrado ser de gran importancia en el metabolismo intracelular de muchos organismos patógenos. También se presenta en diferentes sistemas bacteriales, los genes involucrados en la síntesis, transporte e incorporación de la L-arginina dentro de las proteínas se incrementan durante el crecimiento intracelular (Seth A, et al., 2000); muchos microorganismos usan la L-arginina como fuente de energía y como ruta biosintética (Seth A, et al., 2000).

El metabolismo de L-arginina no ha sido previamente examinado en el crecimiento lento de la mycobacteria, pero un escrutinio de la secuencia genética de *M. tuberculosis* revela la presencia de dos de las enzimas: Arginina diaminasa y Arginina descarboxilasa. Se han identificado al menos cinco rutas para el catabolismo de la L-arginina en los microorganismos, listados aquí por la primera enzima que actúa sobre el sustrato: Arginasa, Arginina Deiminasa, Arginina Descarboxilasa, Succinil Arginino Transferasa y Arginina Transferasa (Seth A, et al., 2000).

En la ruta de la arginasa la L-arginasa es convertida a urea y ornitina. Subsecuentemente la urea es convertida a  $\text{NH}^3$  y  $\text{CO}^2$  por la ureasa; el transporte de la L-arginina es un aspecto importante del metabolismo de la arginina y es regulada

con enzimas catabólicas de L-arginina en muchos sistemas bacteriales (Seth A, et al., 2000). Paradójicamente, las propiedades de las lipoarabinomanonas (LAM) contribuyen a la inmunopatogénesis pero también a la inmunidad protectora. Las LAM humanas, en promoción de la toma micobacteriana por fagocitos mononucleares, modulan negativamente la producción de metabolitos oxigenados y óxido nítrico así como también las citocinas inflamatorias (Vercellone A, et al., 1998).

Igualmente, la inhabilidad de las LAM para inducir quimiotaxis, por parte de las células monocíticas, que impiden el reclutamiento de los macrófagos alveolares en el sitio de la infección, contribuyen a la patogénesis. En contraste las LAM son estimuladas por células T doble negativas que contribuyen a la inmunidad protectora contra la TB. Estos linfocitos están involucrados en la defensa del huésped matando las células infectadas (Vercellone A, et al., 1998).

Los ácidos micólicos son característicos de los ácidos grasos de las micobacterias y son responsables de la consistencia serosa de estos microorganismos. Décadas de investigación revelan que el ácido micólico contiene glicolípidos en particular trealosa -6,6- dimecolato. Estos estudios representativos ejercen un número de efectos inmunomodificantes. Los ácidos micólicos son capaces de estimular la inmunidad innata, la inmunidad adaptativa temprana y también la inmunidad humoral y celular (Ryll, R et al., 2001).

## **2.- Factores promotores de la tuberculosis.**

La situación mundial actual; la OMS declaró formalmente a la TB como una emergencia global. La acentuada pobreza, la mala nutrición y la guerra incrementan su rango de activación. Hasta en los países desarrollados, como el Reino Unido, la distribución de la enfermedad es idéntica a la distribución de la pobreza. La crisis en los sistemas de salud desemboca en no completar los casos de TB, búsqueda escasa del contagio, tratamientos incompletos e incremento de la resistencia a las drogas; en muchas partes del mundo la mayoría de las drogas distribuidas a los

pacientes son falsas o caducas. Además la TB es una de las primeras infecciones secundarias activadas en individuos HIV positivos (Rook y Hernandez-Pando, 1996).

Se reconocen cinco estados para el desarrollo de la tuberculosis:

1. **Comienzo**, después de la inhalación el bacilo viaja hacia los alvéolos. Este es ingerido y destruido por los macrófagos alveolares. La destrucción depende del poder microbicida inherente de los macrófagos alveolares y de la virulencia genética y fenotípica del bacilo ingerido.

2. **Simbiosis**, la falla en el origen de los macrófagos alveolares destruye o inhibe la unidad inhalada de uno a tres bacilos, la multiplicación del bacilo hasta que los macrófagos se revientan.

3. **Necrosis caseosa inicial**, ocurre cuando la multiplicación logarítmica de los bacilos se detiene (de dos a tres semanas después de la inhalación del bacilo).

4. **Interacción del tejido dañado y la activación de los macrófagos y las respuestas inmunes**, después de tres semanas la multiplicación del bacilo (en tuberculosis caseosa) es controlada igual en ambos resistentes y susceptibles.

5. **Licuefacción y formación de cavernas**, el material licuado es un excelente medio de crecimiento para el bacilo y (para el primer tiempo durante el curso de la enfermedad) la multiplicación extracelular del bacilo, también alcanza números tremendos (Dannenbarg, A M., 1994).

Varios estudios tienen notificado diferencia en los géneros en los casos de tuberculosis pulmonar, la prevalencia de supervivencia en muchas partes del mundo es una enfermedad que afecta más a los machos que a las hembras (Milburn, Heather J., 2001).

La tuberculosis bovina causada por *Mycobacterium bovis* es endémica en campos de tiro libre donde habita el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en cinco entidades. La infección con *Mycobacterium bovis* fue diagnosticada durante la necropsia de una gata doméstica (*Felis catus*). La gata vivió en una área del noreste de Michigan en que el *M bovis* es una enfermedad endémica en el venado Cola blanca (*Odocoileus anus*) (Bruning-Fann C.S, et al., 1998).

Los bacilos inhalados pueden multiplicarse o ser eliminados por los macrófagos alveolares antes de que se produzca una lesión. Las lesiones caseosas pequeñas (de unos pocos milímetros de diámetro) pueden progresar o cicatrizar o estabilizarse antes de que ellos sean detectados por radiografía (Dannenbarg, A M., 1994).

El ganado infectado puede propagar la bacteria por aerosol y a través de la leche. No obstante, la introducción de la pasteurización de la leche y las pruebas, así como la matanza de ganado tuberculoso, han reducido dramáticamente la transmisión de la enfermedad del ganado a los humanos, y en 1995 únicamente 32(16) de los 3, 200 pacientes aislados con TB en Gran Bretaña estuvieron identificados como *M. bovis* (Vordermzier H. M et al,1999).

El *M. tuberculosis* es transmitido usualmente por aerosoles expectorados de un adulto, cuyo esputo es en un frotis directo positivo. La infección no es particularmente alta, sin embargo, el riesgo de infección con *M. tuberculosis* depende de la duración y de la intensidad del contacto con un caso infeccioso (Milburn, Heather J., 2001).

Aunque más especies de mamíferos son susceptibles a la tuberculosis bovina, solo unas pocas especies de mamíferos no rumiantes son reservorios ideales del *M. bovis*. La zarigüeya cola de cepillo (*Trichosurus vulpecula*), los hurones (*Mustela furo*) en Nueva Zelanda y Europa y los tejones (*Meles meles*) en Inglaterra e Irlanda se cree que pudieran ser hospederos reservorios para la tuberculosis bovina. Estas especies desarrollan extensivas lesiones que contienen un tremendo número de bacilos. La excreción de *M. bovis* ha sido demostrada en estas especies. La tuberculosis bovina ha sido reportada en un Coati (*Nasua narica*) que como los mapaches son miembros de la familia *Procyonidae*. (Bruning-Fann C.S, et al.,1998).

El problema del tratamiento de 6 meses es una importante razón del fracaso en el control de la TB; aún cuando se usa la mejor quimioterapia el proceso debe durar al menos 6 meses, solo que los pacientes dejan de usarlo por que se sienten bien a los pocos días. Pero hay micobacterias persistentes no metabolizadas y que

no mueren por las drogas tan pronto. Estas entran en fases estacionarias o se replican extremadamente en viejas lesiones o en sitios de fibrosis o calcificación donde los niveles de oxígeno son escasos. Los pacientes tienen un patrón necrotizante como respuesta a la TB, análogo al fenómeno de Koch, observado en cerdos de Guinea (Rook y Hernandez-Pando, 1996).

Porque todos los gatos que salen positivos o sospechosos responden a la prueba de ELISA siendo la descendencia de los gatos infectados o las casas donde se encuentran las crías, lo que sugiere la evidencia de la transmisión horizontal de gatos afectados hacia los gatitos y la exposición de las crías con otros gatos que forman parte de la vivienda (Kaneene J.B., et al.2002).

### **3.-Patogénesis.**

La patogénesis de la tuberculosis puede ser considerada como una serie de batallas entre el hospedero y el bacilo. Además, el hospedero y el bacilo tienen sitios de vulnerabilidad donde el adversario puede poner las manos arriba (Dannenbarg, A M., 1999).

La TB puede afectar cualquier órgano de el cuerpo, pero la tuberculosis pulmonar es la forma más común en personas inmunocompetentes (HIV). La cavitación es también común en estos pacientes (Huebner R.E, et al., 1995); así mismo, los síntomas clásicos de TB son fatiga, anorexia, perdida de peso y fiebres de grado bajo que persisten por semanas o meses. En personas con enfermedades pulmonares desarrollan tos, producción de exudado mucopurulento y en algunos casos hemóptisis (Huebner R.E, et al., 1995).

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa pulmonar primaria, y que es causada por la exposición a aerosoles del bacilo *M. tuberculosis*. Aproximadamente 2 billones (una tercera) parte de la población mundial esta infectada con *M. tuberculosis*. El 10 por ciento de los hospederos infectados pueden desarrollar tuberculosis activa cuando las defensas del hospedero están disminuidas (Xing, Z., 2001).

El incremento a desarrollar clínicamente la TB y la lepra parece estar asociado a las variaciones en el MHC en el impulsor del factor necrosante tumoral, variaciones disfuncionales de la proteína que sintetiza a la manosa y a cambios en los receptores de la vitamina D. A su vez la micobacteria se distingue de otros microorganismos por su baja permeabilidad (Skamene E, et al., 1998). Algunos transportadores micobacteriales regulan la ingesta de nutrientes y se caracterizan por niveles genéticos moleculares o bioquímicos (Seth A, et al., 2000).

Las armas del bacilo son:

1. La habilidad del bacilo para multiplicarse logaritmicamente cuando no hay actividad de los macrófagos.
2. La habilidad de multiplicarse extracelularmente, también llega a alcanzar números tremendos en el material caseoso licuado (Dannenbarg, A M., 1999).

Las vulnerabilidades del hospedero son:

1. La no actividad de los macrófagos, que provee un medio ambiente intracelular favorable para el crecimiento intracelular del bacilo.
2. El material caseoso licuado.

Las vulnerabilidades del bacilo son:

1. La inhabilidad para sobrevivir a la actividad de los macrófagos totalmente activados.
2. La inhabilidad para multiplicarse en tejido caseoso sólido (Dannenbarg, A M., 1999).

Las armas del hospedero son:

1. La actividad de los macrófagos- unos poderosos fagocitos capaces de ingerir y matar (o inhibir) el bacilo.
2. La habilidad para detener el crecimiento intracelular del bacilo en macrófagos no activados por los macrófagos asesinos, de ese modo

transformándose en un medio ambiente intracelular favorable dentro del medio ambiente del tejido sólido caseificado (el crecimiento del bacilo principalmente un incremento en el número de estos; el tamaño de los que permanecen constantes) (Dannenbarg, A M., 1999).

En las necropsias realizadas a los cadáveres, por parte de los patólogos de el laboratorio de salud animal, encontraron que presentaban lesiones visibles en los linfonódulos parotídeos, mandibulares, retrofaríngeos, mediales, bronquiales y mesentéricos de todos los animales y además para ninguna de las lesiones visibles se colectaron muestras para exámen histológico y para cultivos (Bruning-Fann C.S, et al., 1998).

A la tuberculosis se le ha considerado como una enfermedad compleja y poco entendida. Los mecanismos de las células están involucrados en protección y patogénesis. La patogénesis esta influenciada por una gran cantidad de factores relacionados con la interacción huésped-patógeno con consecuencias inmunológicas y patológicas. Hughes M.S, et al., 1996 menciona que existen problemas con el examen actual de tuberculina, particularmente en relación con su sensibilidad, especificidad y potencial ofensivo. Pero existen otras razones por las que los programas de erradicación fracasan.

Sin embargo, en años recientes la proporción de contagio ha subido su rango de individuos enfermos de un 14% a un 27% y actualmente un estimado en Irlanda del Norte de 2.5% asociados con animales salvajes infectados (Hughes M.S, et al., 1996). El tejón (*Mele mele*) ha sido identificado como un reservorio de *M. bovis* con peligro latente para el ganado en Gran Bretaña e Irlanda del Norte (Hughes M.S, et al., 1996).

Los hallazgos radiográficos muestran infiltración parenquimal acompañada por agrandamiento de nódulos linfáticos ipsolaterales. Las lesiones se ven comúnmente en los segmentos apical y posterior de los lóbulos pulmonares bajos (Huebner R.E, et al., 1995). Así mismo la patología asociada con el ganado al término de éste espectro puede incluir el progreso de lesiones múltiples con un gran número de bacilos presentes. Una vez que la transición de la respuesta mediada por células T a

la mediada por células B los animales pueden ser anérgicos (Hughes M.S, et al., 1996).

Los bacilos están presentes en lesiones mucho más avanzadas, las cuales en muchos casos se extienden a través de los bronquiolos y permiten la diseminación aerógena: la necrosis es común. A su vez la ruta de transmisión del tejón a el ganado es aun una conjetura. Se sugiere que el ganado adquiere la infección indirectamente por la pastura contaminada por excretas y secreciones de tejones infectados (Hughes M.S, et al., 1996).

Un examen patológico en tejones sugiere que la ruta más importante de la transmisión es aerogénica. Aunque otras rutas pueden ser por ingestión, heridas y mordidas. Los sitios iniciales de infección se presentan en los pulmones y nódulos linfáticos asociados con el drenado; nódulos linfáticos mediastínicos bronquiales y retrofaríngeos (Hughes M.S, et al., 1996). Las lesiones histopatológicas observadas en los tejones comprenden una pequeña área central de células muertas rodeada de linfocitos y macrófagos en la periferia. Las lesiones muestran pequeñas calcificaciones y caseosificaciones con una leve actividad fibroblástica y algunas células gigantes de Langhans (Hughes M.S, et al., 1996).

En los humanos el HIV juega un papel importante en el desarrollo de la enfermedad, presentándose extrapulmonarmente, teniendo un desproporcional incremento comparado con la TB pulmonar (Huebner R.E, et al., 1995). En seguimiento a lo anterior estudios recientes muestran un alto valor de significancia en la concordancia de la TB entre los gemelos monocigóticos comparados con gemelos dicigóticos, hermanos y matrimonios (Skamene E, et al., 1998).

### **Cuadro 1. Causas de daño en el tejido y necrosis caseosa**

---

Células T citotóxicas y células asesinas naturales

Apoptosis involucrada y otros mecanismos

Anóxia

Producida por trombosis- factores de la coagulación producida por macrófagos

Productos celulares tóxicos

Reacciones intermedias del oxígeno y el nitrógeno; ciertas citocinas, tales como el factor de necrosis tumoral (TNF); enzimas hidrolíticas; y complemento

Productos bacilares tóxicos

Tubérculos bacilares intactos no son tóxicos, pero, cuando ellos son rotos en pulmón, productos tóxicos, tales como "factor cuerda" (dimecolato trialosa), mayormente relacionada.

---

(Dannenberg A. M., 2001).

#### **4.- Resistencia.**

La vacunación del ganado ha sido considerada, en algunas regiones, como un medio adicional de control y erradicación de la enfermedad. El bacilo de Calmette-Guérin (BCG) ha sido usado en muchos casos. Actualmente la eficacia de ésta vacuna en el ganado y en el hombre es variable y puede comprometer el estado del test de piel interfiriendo con el curso de los programas actuales de erradicación (Liébana E, et al., 1999). Por lo tanto la propuesta es que el BCG puede actuar directamente para regular la actividad bactericida y bacteriostática de los macrófagos con respecto a los microbios presentes (Skamene E, et al., 1998).

Una variedad de mecanismos contribuyen a la sobrevivencia de *M. tuberculosis* junto con los macrófagos incluyendo: la inhibición de la fusión fagosoma-lisosoma, inhibición de la acidificación de fagosomas, resistencia a morir por reactivos intermediarios de oxígeno y nitrógeno, modificación de la composición

lípida de la membrana celular micobacterial; la cual altera su capacidad para interactuar con células inmunes e inflamatorias (Wei J, et al., 2000).

El balance entre los organismos susceptibles a las drogas y los resistentes a las drogas pueden ser influenciados por factores que permiten el desarrollo y multiplicación, sin restricciones de mutantes resistentes a las drogas. Estos factores incluyen terapia infectiva con droga o de droga y antiadherencia con tratamiento (Huebner R.E, et al., 1995). Estas epidemias se caracterizan por la transmisión de muchas variedades de TB resistente a drogas como: Isoniazid, Ethambutol, Estreptomycin, Etionamida, Kanamicina y Ritabutin (Huebner R.E, et al., 1995).

Una cadena sofisticada en la defensa del hospedero ha sido desarrollada por selección natural en eucariotes para proveer vigilancia contra el más pequeño rastro o evidencia de infección. Este sistema esta originado en 2 partes distintas pero complementarias: series de mecanismos antimicrobiales de rápida acción que forman la respuesta inmune innata o natural y un elaborado repertorio de linfocitos que generan una respuesta inmune adaptativa por expansión clonal (Skamene E, et al., 1998)

Las investigaciones en laboratorio identifican otro determinante genético mayor para la infección micobacteriana en ratones; el Nramp 1 representa otro candidato potencial para la resistencia o susceptibilidad para la enfermedad en humanos (Skamene E, et al., 1998). Uno de los genes identificados, expresado exclusivamente en células reticuloendoteliales y en macrófagos derivados de estas, lleva el nombre de Nramp 1. Esta proteína contiene una secuencia encontrada también en muchas proteínas bacterianas transportadoras, sugiriendo que la Nramp 1 puede ser de importancia en el proceso de transporte de membrana del macrofago (Skamene E, et al., 1998).

Huebner R.E, et al., 1995 menciona que la resistencia secundaria es probablemente la causa más importante de la resistencia a las drogas de la TB en los Estados Unidos; se han encontrado rangos de resistencia 1.8 veces más altos en pacientes que previamente han recibido terapia con una sola droga a aquellos que recibieron una terapia múltiple de drogas.

Se especula que la continúa exposición del tejón a la silica, encontrada comúnmente en algunas semillas como la soya puede inmunocomprometer al tejón. Los tejones pueden aumentar la respuesta de sus anticuerpos y algunos tienen la habilidad de sanar por sí solos; sugiriendo alguna forma de inmunidad protectora (Hughes M.S, et al., 1996). Estudios recientes de zarigüeyas infectadas con *M. bovis* demuestran respuestas específicas respuestas linfocíticas para la tuberculina bovina, pero se limitan solamente a infecciones granulomatosas (Hughes M.S, et al., 1996).

### 5.- Inmunidad.

Los mecanismos inmunes innatos son funcionalmente previos al primer encuentro con un invasor y protegen al huésped en las primeras etapas de la infección (durante las primeras horas), a través de la actividad de sustancias y células no específicas. Estos mecanismos previenen exitosamente la mayoría de las infecciones concediendo tiempo para la generación de una respuesta inmune adaptativa para un patógeno específico (Skamene E, et al., 1998).

La inmunidad mediada por células provee mecanismos de protección y retrasa el tipo de hipersensibilidad. Las células T son las mediadoras de la inmunidad, mientras que los macrófagos son las células efectoras, la micobacteria se abriga en los fagosomas (Milburn, H J., 2001).

Antes de la interacción entre el *Mycobacterium tuberculosis* y los macrófagos alveolares, se da la encuadernación del primero por la superficie y después se interna. A niveles moleculares, esta interacción es mediada por moléculas expuestas en la superficie de ambos y las de la micobacteria sobre la membrana celular del hospedero (Vercellone A, et al., 1998). Varios estudios recalcan la importancia del factor de complemento (FC) en la fagocitosis de *M. tuberculosis* por monocitos humanos y macrófagos alveolares. Investigaciones in vitro sobre los monocitos derivados de macrófagos alveolares demuestran que el recubrimiento y fagocitosis del *M. tuberculosis* H37Ra son comparables con los de Erdman del H37Rv (Vercellone A, et al., 1998).

La fagocitosis por macrófagos alveolares es drásticamente inhibida por anticuerpos del factor de complemento (FC), realmente se estableció que el receptor de manosa, expresado en la membrana de los macrófagos alveolares, es el encargado de mediar selectivamente la adherencia de variedades virulentos de *M. tuberculosis* (Vercellone A, et al., 1998).

Los reportes demuestran que las células T gama/& pueden proliferar y aumentar la producción de citocinas en respuesta para proteínas antigénicas, y describe una función inmunoregulatoria de las células T gama/& que pueden suprimir las respuestas frente antígenos específicos de otras células T (alfa beta). En sangre periférica bovina las células T gama/& han sido demostradas por la proliferación en respuesta a células infectadas con *Theileria* en la presencia de IL-2 y bajo la regulación de células T en respuestas a la infección con fasciola bovina. Las líneas de células T gama/& también han sido demostradas por su efectiva función de células presentadoras de antígenos para las células T CD4, causando su proliferación. (Rhodes S. G. et al,2000 y 2001).

Las formas Gama y & de las células T son identificadas en mayores de 15 años y sin embargo el papel fisiológico de estas células y su unión no es aun totalmente entendido. Estas han sido encontradas por acumularse en los tejidos infectados de ratones y humanos infectados con *M. tuberculosis* (Rhodes S. G. et al,2001).

Se ha demostrado la presencia de IL-4 activa en ganado infectado experimentalmente, naturalmente con *M. bovis*. La respuesta de IL-4 en animales infectados experimentalmente es detectada aproximadamente dos semanas después del comienzo de la respuesta positiva del IFN-gama con apogeo notable en 8 semanas postinfección para luego declinar rápidamente y generalmente se mantiene baja. Uno de los mayores roles de IFN- gama es la de activar los macrófagos que luego producen un surtido de citocinas proinflamatorias que incluyen IL-1Beta y TNF-alfa de que ambos son ideales jugando un papel importante en el control de infección micobacterial. (Rhodes S. G. et al,2001).

Las HSP 16.3 se identificaron como un antígeno inmunodominante y al principio se fundó que pudieran ser las proteínas mayores de la membranas, es la pequeña proteína de choque calórico de *Mycobacterium tuberculosis* (Abulimiti A. et al,2003).

Evidencias de un espectro de respuesta inmune contra *M. Bovis* se han acumulado en una gran variedad de especies que incluyen ratones, ganado y tejones. El perfil de expresión de citocinas de subtipo CD4 de células T, en ratones y humanos aparentemente están relacionados con este espectro (Hughes M.S, et al., 1996). La inmunidad protectora contra las infecciones bacteriales es considerada esencialmente mediada por células, dependiente de la interacción de los macrófagos con los linfocitos T (Líebana E, et al., 1999).

De cualquier modo, otros han observado un incremento de INF-gama en el suero y también INF-gama e IL- 4 en algunas respuestas locales de células obtenidas por medio de un lavado pulmonar en pacientes con tuberculosis activa, que sugiere la presencia de ambos tipos de citocinas 1 y 2 como una respuesta durante la enfermedad (Rhodes S. G. et al.,2000).

Se describe la proliferación de células T gama/& en la sangre periférica frente antígenos específicos a proteínas antigénicas micobacteriales en ganado infectado con *M. bovis*. Además se demuestran que las células T gama/& son capaces de suprimir la proliferación de células T alfa beta y aumentar la producción de citocinas, IFN-gama y TGF-beta. Las células T gama/& constituyen una población mayor de células T en la sangre periférica del ganado; por lo tanto la actividad de estas células tienen un importante potencial sobre el resultado de la infección micobacteriana.

Muy pocas moléculas ligadoras por células T Gama/& han sido identificadas. Las moléculas ligadoras micobacteriales son bien definidas para células T, Gama y &, incluye la proteína de choque calórico (hsp)65, en ratones y humanos y antígenos no peptídicos en humanos (Rhodes S. G. et al,2001).

Se sugiere que las células T CD8+ responden fuertemente a *Mycobacterium bovis* pero también al complejo soluble de antígenos micobacteriales los cuales son procesados dentro de las células presentadoras del antígeno (APC) y presentado por

via endógena (Líebana E, et al., 1999). Los antígenos protectivos contra *M. tuberculosis* no han sido definidos con precisión pero muchas observaciones en modelos animales experimentales han indicado que residen predominantemente dentro de un charco de secreciones o proteínas de superficie expuesta que pueden ser encontradas en un cultivo de mycobacterium (Lefèvre P, et al., 2000). Es necesaria una caracterización de los antígenos puros implicados en la inmunidad protectora contra las infecciones mycobacteriales para lograr erradicarlos (Lefèvre P, et al., 2000).

Los antígenos elegidos para un estudio se relacionaron sobre las bases de su habilidad para inducir respuesta inmune celular en la tuberculosis humana y bovina. Los antígenos incluidos son el bovino (PPD-M) y el aviar (PPD-A); las preparaciones rutinarias de tuberculina usadas en el diagnóstico de la tuberculosis bovina, son un grupo de proteínas que cualquiera de los dos son secretados por micobacterias vivas o asociadas con la pared de la célula, (MPB64, MPB70, MPB83, ESAT-6, AG85 y 38kD) y tres proteínas somáticas del estrés (HSP16.1, HSP65 y HSP70) (Rhodes S. G. et al,2000).

Se ha utilizado un modelo para demostrar que tras la infección del ganado con *M. bovis*, inducido por la tuberculina produce liberación de linfocitos, interferon Gamma (INF.) e interleucina- 2 (IL-2), son respuestas producidas (Rhodes S. G. et al,2000).

Los resultados generados en los reportes demuestran como los antígenos pueden ser reconocidos y diferenciados sobre el curso y tiempo de la infección y reforzar la necesidad en cuanto a cócteles, mejor dicho solo antígenos, en las pruebas de diagnóstico. Resultados obtenidos también soportan el uso de citocina sensitiva y rápida en los sistemas de información impresa como un método potencial para el diagnóstico temprano de la tuberculosis bovina (Rhodes S. G. et al,2000).

## **6.- Tratamiento y prevención.**

Liébana E, et al., 1999 menciona que muchos países operan con programas de vigilancia de tuberculosis, enfocada a mantenerse libres de la enfermedad o

erradicarla. El control se basa en el sacrificio del ganado que de positivo de TB en los tests de piel, pero surge una complicación que ha empezado a parecer en años recientes y se refiere a los reservorios naturales de *M. bovis*. Barlow N.D, et al., 1998 un año a tras que Liébana E, et al., 1999, hace referencia sobre la vigilancia de los rastros en las lesiones causadas por TB contribuyen para su detección. Cuando un animal se encuentra infectado es inmediatamente sacrificado y la granja de donde proviene es puesta en cuarentena, a esto se le llama movimiento de control (Wei J, et al., 2000).

El control de la tuberculosis bovina en Gran Bretaña se realiza actualmente sobre una prueba y matanza, estrategia en que los animales infectados con *M. bovis* son identificados solo usando la prueba comparativa de la tuberculina intradermal en piel (Rhodes S. G. et al, 2001). El régimen usado para quimioprofilaxis en el Reino Unido es generalmente Isoniacida plus y Rifampicina por tres meses. En los Estados Unidos, la Isoniacida es usada durante seis a nueve meses y más recientemente, Isoniacida plus con Piracinamida por dos meses ha sido probado en adultos (Milburn, Heather J., 2001).

El desarrollo de diagnósticos capaces de diferenciar anticuerpos de entre una infección y una vacunación es un pre-requisito para el desarrollo de una vacuna contra TB en el ganado así que el control existente de pruebas y matanzas estrategias que pueden continuar a lo largo de la vacunación. No obstante para el ganado vacunado el desarrollo de un diagnóstico complementario y pruebas para diferenciar entre animales vacunados y de aquellos afectados con *M. bovis* es por eso que el control basado en la prueba y matanzas son estrategias que se pueden continuar a lo largo de la vacunación (Vordermzier H. M et al, 1999).

Las lesiones primarias de la tuberculosis pueden ser estudiadas histológicamente únicamente en animales experimentales (Dannenbarg, A M., 1994).

La prueba de ELISA, indicada como una prueba antemortem para detectar la tuberculosis en gatos, es de mayor confiabilidad. Es una prueba capaz de detectar gatos infectados con *M. bovis*, especialmente gatos que han sido lo suficientemente expuestos a *M. bovis* al aumentar una respuesta inmune, pudiendo ser esto la

supresión del único de estos gatos que son de alto riesgo para desarrollar tuberculosis (Kaneene J.B., et al.2002).

Numerosos genes de micobacteria virulenta han sido expresados en *M. smegmatis* incluyendo el gene superóxido dismutasa de la *M. tuberculosis*, los genes de la producción de glicopéptidos y la proteína Mg de la *M. avium*, un gene expresado del antígeno glicosilado de 19 Kda de la *M. tuberculosis*, el gene nox R1 de la *M. tuberculosis* y el gene tr-trx de la *M. leprae* (Wei J, et al., 2000). La identificación de los genes responsables de éstas propiedades representan los blancos potencialmente interesantes para novedosas drogas y vacunas, así mismo la identificación de los productos que promueven la supervivencia intracelular siguen siendo una propiedad (Wei J, et al., 2000).

Muchos grupos de investigadores recientemente han usado *E. coli* para expresar genes de *M. tuberculosis* y *M. leprae* que puedan estar involucrados en la supervivencia junto con células de mamíferos (Wei J, et al., 2000). Lefèvre P, et al., 2000, usando la poderosa técnica de la vacunación con DNA ha mostrado que al menos 4 antígenos presentes en un cultivo filtrado (CF) de *M. tuberculosis* son capaces de inducir inmunidad protectora en ratones contra la infección con *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Los componentes 30 y 32 Kda del antígeno del complejo 85 son las proteínas sintetizadas de fosfato Psts-1 (38Kda) y la Psts- (40Kda). Así como, también se puede inducir la respuesta inmune protectora con plásmidos de DNA descodificando la proteína de choque calórico de 65Kda, la cual es considerada generalmente, una proteína citosólica muy abundante en FC de cultivos de micobacterias estresadas (Rhodes S. G. et al,2000a).

El diagnóstico de anticuerpos basados sobre péptidos sintéticos tienen la ventaja de fomentar bajos costos de producción, facilitando la estandarización y por falta de riesgos de infección. Sin embargo, a causa de la diversidad genética del sistema de complejo de mayor histocompatibilidad (MHC), el uso de péptidos ha sido impracticamente, desde que son estimados es un gran estanque de epítomos que suelen ser incluidos para alcanzar a cubrir una gran población. Un reconocimiento alentador en años recientes es que una proporción significativa de péptidos

restringidos del MHC clase-II son reconocidos por las células en el contexto de múltiples halotipos del MHC (epítomos permisivos o promiscuos). Éstos han sido demostrados en el reconocimiento de antígenos micobacteriales por parte de las células T CD4 de murinos, humanos y ganado (Vordermeier H. M et al,1999).

El análisis con Fragmento de Restricción Polimorfo Largo de sus siglas en inglés (RFLP), ha sido completado para las aislaciones de *M. bovis* de cinco de seis coyotes, dos mapaches y del oso (Bruning-Fann C.S et al.,1998). Los resultados confirman que ESAT-6 es un antígeno dominante durante los estadios tempranos con *M. bovis* también confirman que la detección de antígenos específicos y la producción de citocinas pudiera ser usada como una herramienta para la identificación y el diagnóstico temprano de ganado infectado con *M. bovis* (Rhodes S. G. et al,2000b).

La medición de la respuesta de la citocina en ganado infectado naturalmente con *M. bovis* reactores de campo demostraron que el ensayo basado sobre la detección de cualquiera de los dos IFN- gama o IL-4 en las respuestas son igualmente capaces para diferenciar animales infectados de animales no infectados (Rhodes S. G. et al,2002).

La prueba de INF- gamma es un método bien estable para el diagnóstico de la tuberculosis bovina y ha sido usada en paralelismo con prueba de tuberculina en piel, con una sensibilidad del 95.2% en la exitosa campaña de la erradicación de la tuberculosis en Australia (Rhodes S. G. et al,2000a).

Para facilitar la detección en gatos infectados con *M. bovis*, se puede realizar la prueba de la tuberculina en piel pudiendo ser usada para identificar la infección con tuberculosis en gatos, así como también ELISA pudiendo ser usada para identificar gatos infectados con tuberculosis. La actual recomendación es la eutanasia de los gatos que han tenido contacto con *M. bovis* de animales infectados (Kaneene J.B., et al.2002).

Los corticosteroides son usados frecuentemente para las complicaciones de enfermedades primarias, particularmente tuberculosis meníngea, pericarditis

tuberculosa, tuberculosis miliar, tuberculosis pleural, y en obstrucciones bronquiales severas (Milburn, H. J., 2001).

La vacuna BCG es nombrada después de que los científicos franceses Calmette y Guerin aislaron en 1908 *M. bovis* de una vaca con mastitis tuberculosa (un síntoma común en el ganado con tuberculosis bovina) (Orme, M I., 2001). Resultados alentadores vacunando con BC6 han tenido reportes de Nueva Zelanda, en donde la protección significativa ha sido observada en ganado vacunado con BC6 desafiando subsecuentemente con *M. bovis*. sin embargo, la vacunación con BC6 compromete a la especificidad de la tuberculina PPD (en ambos, ganado y humanos). De esta manera, el desarrollo de vacunas para el ganado con BC6 (o cepa no virulenta de *M. bovis*) que requiere de la identificación específica de antígenos definidos que permitan la diferenciación de animales con *M. bovis* y de animales vacunados (diagnóstico diferencial). Estos antígenos son ESAT-6 y MPB64, que debido a la supresión de un gen no son expresados en BC6 Pasteur además de MPR70 y MPB83, que son expresados únicamente en niveles bajos en BC6 Pasteur y son serodominantes en ganado infectado (Vordermcier H. M et al,1999).

## **7.- La tuberculosis y el mundo.**

La TB es un importante patógeno humano responsable de 3.1 millones de muertes mundiales por año. Aunque ambas bacterias, virulenta y avirulenta, son envueltas por monocitos y macrófagos solo la micobacteria patogénica sobrevive intracelularmente (Wei J, et al., 2000). La tuberculosis (TB) es un asunto mundial de salud pública, resultando en una estimación de 8 a 10 millones de nuevos casos y 2 a 3 millones de muertes al año (Huebner R.E, et al., 1995; Skamene E, et al., 1998; Lefèvre P, et al., 2000).

La tuberculosis es uno de los mayores problemas de salud alrededor del mundo y uno de las primeras causas de mortalidad correspondiente a enfermedades infecciosas (Rhodes S. G. et al,2000b).

Antiguamente se creía que era una enfermedad de personas muy mayores de edad la TB es permanentemente más favorecedora entre individuos jóvenes. Entre

1985 y 1992 el porcentaje se incremento un 54% en personas de 25 a 44 años de edad (Huebner R.E, et al., 1995).

La tuberculosis en gatos había sido desconsiderada en la localidad durante 1993. El descubrimiento de la diseminación de la tuberculosis en gatos sugiere la posibilidad de que los gatos restantes, los dueños y el veterinario que los atendió estuvieron expuestos al *M. bovis* (Kaneene J.B., et al.2002).

En países desarrollados, la tuberculosis bovina tiene implicaciones severas para el bienestar animal y las granjas afectadas sufren de penosas pérdidas económicas. En años recientes, las estrategias para el control de la tuberculosis en el ganado en Gran Bretaña, basado en la prueba de la tuberculina y sacrificios de animales infectados, tienen una marcada factibilidad para prevenir un incremento en los casos de tuberculosis bovina (Vordermcier H. M et al, 1999).

### **Conclusión.**

La presencia de infecciones causadas por patógenos enzóoticos, como el *Mycobacterium bovis* provoca una amenaza económica para todo el mundo, estas enfermedades han contribuido ha crear barreras arancelarias al impedir la venta libre comercio de ganado y productos cárnicos implementados por acuerdos de comercio nacionales e internacionales.

La TBB causada por *Mycobacterium bovis* esta presente en los animales en la mayoría de los países en vías de desarrollo. La TBB es clínicamente indistinguible de la TB humana (Causada por *Mycobacterium tuberculosis*) la tuberculosis afecta a todas las especies de vertebrados, incluyendo al hombre, se encuentra distribuida mundialmente su importancia es triple: es un grave problema de salud pública, afecta la producción y productividad del ganado e interfiere en el comercio de sus productos.

### **Glosario.**

Adsorción.- Acción de una sustancia que atrae y retiene otros materiales o partículas en su superficie.

Aerógeno.- Bacilo que produce gas.

Anergía.- Reactividad disminuida frente a un antígeno específico.

Anorexia.- Falta o pérdida del apetito por la comida. El apetito es psicológico, dependiente de la memoria y asociaciones, a diferencia del hambre, que se produce fisiológicamente por la necesidad corporal de comida. La anorexia puede estar provocada por una comida poco atractiva, acorralamiento o por la presencia de otros animales.

Arginina.- Aminoácido básico de las proteínas esencial para muchas especies.

Bactericida.- Destructivo para bacterias; agente que destruye bacterias.

Bacteriostático.- Que detiene el crecimiento o multiplicación de las bacterias, también, un agente que actúa así.

BCG.- (Bacillus Calmette-Guérin).

Calcificación.- Deposito de sales cálcicas en un tejido.

Citocinas.- Mensajeros biológicos proteicos solubles que controlan a los macrófagos y linfocitos que toman parte de las reacciones inmunes de base celular. Incluye monocinas y linfocinas.

Endógeno.- Producido dentro del organismo o causado por factores inherentes al organismo.

Eperythozoon.- Género de microorganismos de la familia anaplasmatidae del orden rickettsiales. Son formas procarióticas diminutas que se encuentran en la superficie de los eritrocitos y también pueden encontrarse libres en el plasma.

Eutanasia.- Muerte fácil o indolora. Final deliberado de un animal que sufre una enfermedad incurable.

Electroforesis.- Movimiento de partículas cargadas, suspendidas en un líquido, en varios medios (por ejemplo, papel, gel, líquido) bajo la influencia de la aplicación de un campo eléctrico. De los posibles medios de soporte disponible, el acetato de celulosa es el que más se usa.

Foresis.- Desplazamiento.

Facultativo.- No obligatorio; relativo a o caracterizado, por la capacidad de ajustarse a circunstancias particulares o asumir un papel particular.

Fagolisosoma.- Lisosoma fagocítico.

Glutaraldehído.- Desinfectante que se utiliza en solución acuosa para la esterilización de material no resistente al calor; vía tópica como desecante y como sustancia de fijación en la microscopia electrónica y óptica.

Granular.- Compuesto o caracterizado por la presencia de gránulos o granos.

Hemóptisis.- Expectoración de sangre procedente de la hemorragia en alguna parte del tracto respiratorio.

Hepatomegalia.- Agrandamiento del hígado.

Hepatotrófico.- Que tiene o ejerce un efecto específico sobre el hígado.

HSP.- (SIGLAS) Proteínas de choque calórico.

Infiltración.- Difusión o acumulación en un tejido o células de sustancias no normales a él o en cantidades por encima.

Inmunidad Protectora.- Respuesta inmunológica que se desencadena por la entrada de un antígeno al organismo ya sea en forma natural (ej., inoculación de virus rábico por mordedura) o en forma artificial (Ej., toxoide, vacuna y bacterina).

Inmunidad Adoptiva.- Forma de transferencia inmune celular pasiva por medio de linfocitos sensibilizados o factor de transferencia de un donador inmune a uno no inmune.

Inmunidad Celular.- Respuesta inmunológica que desencadena por la entrada de un antígeno y es mediada por los linfocitos T.

Inmunidad Humoral.- Respuesta inmunológica en la que intervienen los linfocitos B dando como resultado la síntesis de anticuerpos.

Macrófagos.- Células mononucleadas fagocíticas que derivan de los monocitos y desempeñan un papel tanto en la resistencia (fagocitosis) como en la

inmunidad (célula accesoria que tiene la capacidad de fagocitar y presentar el antígeno a los linfocitos T y linfocitos B). Sintetiza la interleucina 1 y algunos componentes del complemento.

Manosa.- Aldohexosa, monosacarido obtenido por la oxidación del manitol.

Mastocito.- (Célula Cebada) célula que puede derivar de un precursor indiferenciado, que puede ser de origen monocítico, en el tejido conectivo perivascular. Produce gránulos que contienen histamina, heparina y en la rata y el ratón serotonina. Tiene un papel importante papel en las reacciones de hipersensibilidad aguda (Tipo 1) así como la anafilaxia y atopia.

Necrosis.- Cambios morfológicos indicativos de muerte celular originada por degradación enzimática.

Neoplasia.- Crecimiento nuevo y anormal en la que la multiplicación es incontrolada y progresiva. Las neoplasias pueden ser malignas o benignas.

Neurotrópico.- Cualidad de tener afinidad especial del tejido nervioso. Tendencia de regeneración de fibras nerviosas creciendo hacia porciones específicas de la periferia.

Ornitina.- Aminoácido obtenido de la arginina por la acción de la enzima arginasa, con liberación de urea. Es intermediaria.

Osis.- (Sufijo [gr]) degeneración enfermedad, daño patológico, aumento anormal.

Permeabilidad.- Nivel o grado del estado de ser permeable.

Sarcoma.- Tumor muy maligno a veces, de células derivadas del tejido conectivo, como hueso y cartílago, músculo, vasos sanguíneos o tejido linfoide. Desarrollo rápido generalmente y produce metástasis por vía linfática. Adj. Sarcomatoso. Los diferentes tipos de sarcomas se nombran por el tejido específico al que afectan.

Tuberculina.- Líquido estéril que contienen los productos de crecimiento del o sustancias específicas extraídas del bacilo de la tuberculosis; se emplea en diversas formas para diagnosticar tuberculosis.

Urea.- Diamida de ácido carbónico, que se encuentra en la orina, la sangre y la linfa; principal constituyente nitrogenado de la orina, y principal producto nitrogenado final del metabolismo de las proteínas; se forma en el hígado a partir de aminoácidos y compuesto de amonio.

### **Revisión de literatura.**

Abulimiti A, F. X. G. L., Feng X, Chang Z. (2003.). "Mycobacterium tuberculosis Hsp 16.3 Nonamers are Assembled and Re-assembled via Trimer and Hexamer Intermediates." J. Mol. Biol. **326**.: 1013-1023.

Barlow N.D, Kean J.M, Caldwell N.P, Ryan T.J.(1998) Modelling the Regional Dynamics and Magnamente of Bovine Tuberculosis in New Zealand Cattle Herds. Prevent. Vet. Med.; **36**: 25-38.

Bruning-Fann C. S, S. M. S., Scot D. Fitzgerald, Janet B. Payeur, Diana L. Whipple, Thomas M. Cooley, Thomas Carlson, Paul Friedrich. (1998). "Mycobacterium bovis in Coyotes from Michigan." Journal of Wildlife Diseases. **34**(3): 632-636.

Dannenberg A.M, G. A. W. R. (1994). Pathogenesis of Pulmonary Tuberculosis: an Interplay of Tissue-Damging and Macrophage Activating Immune Responses-Dual Mechanisms That Control Bacillary Multiplication. Tuberculosis: Pathogenesis, Protection and Control. B. R. Bloom. Washinton. DC., American Society for Microbiology.: 459-483.

Dannenberg, A. M. (1999). Pathophysiology: Basic Aspect. Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Infections. e. W. B. S. C. David Schollossberg. Philadelphia, PA: 17- 47.

Dannenberga A.M, F. M. C. (2001). "Progressive pulmonary tuberculosis is not due to increasing numbers of viable bacilli in rabbits, mice and guinea pigs, but is due to a continuous response to mycobacterial products." Tuberculosis. **81**.(3.): 229-242.

Huebner R.E, Castro K.G. (1995) The Changing Face of Tuberculosis. Annu. Rev. Med.; **46**: 47-55.

Hughes M.S, Neill S.D, Rogers M.S. (1996) Vaccination of the Badger (*Meles meles*) Against *Mycobacterium bovis*. Vet. Microbiol.; **51**: 363-379.

Kaneene J.B, C. S. B.-F., John Dunn, Thomas P. Mullaney, Dale Berry, Jeffrey P. Massey, Carles O. Thoen, Steven Halstead, Kathy Schwartz. (2002). "Epidemiologic investigation of *Mycobacterium bovis* in a population of cats." Am J Vet Res **63**: 1507-1511.

Lefèvre P, Denis O, Dewit L, Tanghe A, Vandebussche P, Content J, Huyhen K. (2000) Cloning of the Gene Encoding a 22-Kilodalton Cell Surface Antigen of *Mycobacterium bovis* BCG and Analysis of Its Potential for DNA Vaccination Against Tuberculosis. Infect. and Immun.; **68**: 1040-1047.

Liébana E, Girvin R.M, Welsh M, Neill S.D, Pollosk J.M. (1999) Generation of CD8+ T-Cell Responses to *Mycobacterium bovis* and Mycobacterial Antigen in Experimental Bovine Tuberculosis. Infect. And Immun.; **67**: 1034-1044.

Milburn, H. J. (2001). "Primary Tuberculosis." Curr. Opin. Pulm. Med. **7**: 133-141.

Orme, I. M. (2001.). "The search for new vaccines against tuberculosis." Journal of Leukocyte Biology. **70**.: 1-10.

Rhodes S.G, P. N., Graham S.P, Bianco A.E, Hewinson R.G, Vordermeier H.M. (2000a.). "Distinct Response Kinetics of Gamma Interferon and Interleukin-4 in Bovine Tuberculosis." Infection and Immunity. **68**.(9): 5393-5400

Rhodes S.G, G.-W. D., Buddle B.M, Whelan A.O, Singh M, Hewinson R.G, Vordermeier H.M. (2000b.). "Antigen Specificity in Experimental Bovine Tuberculosis." Infection and Immunity. **68**.(5): 2573-2578.

Rhodes S.G, H. R. G., Vordermeier H. M. (2001.). "Antigen Recognition and Immunomodulation by gammadelta T Cells in Bovine Tuberculosis." The Journal of Immunology. **166**.: 5604-5610.

Rook G.A.W and Hernandez-Pando R. (1996) The Pathogenesis of Tuberculosis. Annu. Rev. Microbiol.; **50**: 259-84.

Ryll R, Y. K., Ikuya Yano. (2001.). "Minireview: Immunological Properties of Trehalose Dimycolate (Cord Factor) and Other Mycolic Acid-Containing Glycolipids-A Review." Microbiol. Immunol. **45**.(12.): 801-811.

Seth A, Connell N.D. (2000) Amino Acid Transport and Metabolism in Mycobacteria: Cloning Interruption, and Characterization of an L-Arginine/ $\gamma$  - Aminobutyric Acid Permease in Mycobacterium bovis BCG. J. Bacteriol.; **182**: 919-927.

Skamene E, Schurr E, Gros P. (1998) Infection Genomics: Nramp1 as a Major Determinant of Natural Resistance to Intracellular Infections. Annu. Rev. Med.; **49**: 275-87.

Vercellone A, Nigou J, Puzo G. (1998) Relationships Between the Structure and the Roles of Lipoarabinomannans and Related Glycoconjugates in Tuberculosis Pathogenesis. Frontt. Bios.; **3**: 149-163.

Vordermeier H.M, C. P. C., Whelan A, Rhodes s, Palmer N, Bakker D, Hewinson R.G. (1999.). "Development of Diagnostic Reagents To Differentiate between Mycobacterium bovis BCG Vaccination and M.bovis Infection in Cattle." Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. **6**.(5): 675-682.

Wei J, Dahl J.L, Moulder J.W, Roberts E.A, O'gara P, Young D.B, Friedman R.L. (2000) Identification of a Mycobacterium tuberculosis Gene that Enhances Mycobacterial Survival in Macrophages. J. Bacteriol.; **182**: 377-384.

Xing, Z. (2001). "The Hunt for New Tuberculosis Vaccines: Anti- TB Immunity and Rational Design of Vaccines." Current Pharmaceutical Design **7**: 1015-1037.

Yamamoto S, T. Y., Yasuhiro Nojima, Kiyoko Umemori, Susan Phalen, David N. McMurray, Etsuro Kuramoto, Sumiko Iho, Rumiko Takauji, Yukio Sato, Takeshi Yamada, Naoya Ohara, Sohkichi Matsumoto, Yoshitaka Goto, Kazuhiro Matsuo, Tohru Tokunaga. (2002.). "Discovery of Immunostimulatory CpG-DNA and Its Application to Tuberculosis Vaccine Development." Jpn. J. Infect. Dis. **55**.: 37-44.

Xing, Z. (2001). "The Hunt for New Tuberculosis Vaccines: Anti- TB Immunity and Rational Design of Vaccines." Current Pharmaceutical Design **7**: 1015-1037.