

## Tuberculosis por *Mycobacterium bovis* en trabajadores de fincas en saneamiento para tuberculosis bovina, de Antioquia, Boyacá y Cundinamarca

**Tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in workers of bovine tuberculosis sanitation farms in Antioquia, Boyacá and Cundinamarca**

Andrés F. Leal-Bohórquez<sup>1</sup>, Claudia M. Castro-Osorio<sup>1</sup>, Luz M. Wintaco-Martínez<sup>1</sup>, Rafael Villalobos<sup>2</sup> y Gloria M. Puerto-Castro<sup>1</sup>

1 Instituto Nacional de Salud. Bogotá. Colombia. andres\_leal@yahoo.com; ccastro@ins.gov.co; mairawm@hotmail.com; gpuerto@ins.gov.co

2 Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Bogotá. Colombia. rafael.villalobos@ica.gov.co

Recibido 10 junio 2015/Enviado para modificación 16 febrero 2016/Aceptado 22 septiembre 2016

### RESUMEN

**Objetivo** Realizar la vigilancia epidemiológica clásica y molecular de la tuberculosis (TB) humana causada por *Mycobacterium bovis* en manipuladores de la cadena de producción bovina en fincas con bovinos PPD positivos de los Departamentos de Antioquia, Boyacá y Cundinamarca en un periodo de un año.

**Métodos** Se visitaron las fincas ganaderas, con bovinos o bufalinos PPD positivos de los departamentos de estudio según información del Programa Nacional de Tuberculosis bovina del ICA. Se recolectó la información socio-demográfica y a los factores de riesgo para adquirir TB asociados a la ocupación a través de una encuesta aplicada a todos los trabajadores de las fincas visitadas. Se recolectaron muestras de esputo luego de haber obtenido un consentimiento informado. Los esputos fueron sometidos a pruebas microbiológicas y moleculares para la identificación de los miembros del complejo *M. tuberculosis*.

**Resultados** Se visitaron 33 fincas ganaderas y se recolectó información para 164 trabajadores de la cadena de producción bovina. Se identificaron como posibles factores de riesgo para el desarrollo de TB la permanencia en la finca PPD positiva por más de un año, desconocimiento de la enfermedad y presencia de posibles reservorios como perros y gatos. No se encontraron casos de TB por *M. bovis* ni por *M. tuberculosis* en los trabajadores de las fincas visitadas.

**Conclusión** No se documentaron casos de la enfermedad por este agente zoonótico en los departamentos de Antioquia, Boyacá y Cundinamarca.

**Palabras Clave:** Tuberculosis, *Mycobacterium bovis*, zoonosis, epidemiología (fuente: DeCS, BIREME).

## ABSTRACT

**Objective** To perform classic and molecular epidemiological surveillance of human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in bovine supply chains at farms with PPD positive bovines in the departments of Antioquia, Boyacá and Cundinamarca during a one-year period.

**Methods** Livestock farms with PPD positive bovines or buffalos were visited in the study departments according to information obtained in the “Programa Nacional de Tuberculosis bovina” (National program on bovine Tuberculosis) released by ICA (Colombian Agriculture and Livestock Institute). Data on socio-demographic information and tuberculosis risk factors associated to the occupation were collected through a survey applied to all workers at the visited farms. Sputum samples were obtained after informed consent. The sputa underwent microbiological and molecular testing to identify members of the *M. tuberculosis* complex.

**Results** Thirty-three livestock farms were visited and information of 164 workers from the bovine supply chain was collected. Staying in a PPD positive farm for more than a year, ignorance about the disease and the presence of possible vectors, like dogs and cats, were identified as possible risk factors for developing tuberculosis. No cases of tuberculosis caused by *M. bovis* or *M. tuberculosis* in workers of the visited farms were found.

**Conclusion** No cases of the disease caused by this zoonotic agent were documented in the departments of Antioquia, Boyacá and Cundinamarca.

**Key Words:** Tuberculosis, *Mycobacterium bovis*, zoonoses, epidemiology (source: MeSH, NLM).

**M***ycobacterium bovis* es una micobacteria perteneciente al complejo *Mycobacterium tuberculosis (cMtb)*, agente causal de la tuberculosis (TB) bovina (1). Su potencial zoonótico le permite infectar al hombre a través de diferentes medios, como el consumo de productos lácteos y sus derivados no pasteurizados, así como por contacto con animales y humanos infectados (2-4). Para el 2013, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó una incidencia de 9 millones de casos de tuberculosis en el mundo producidos por *M. tuberculosis* de los cuales 1,5 millones fallecieron. De estos, el 3 % fueron notificados por la región de las Américas alcanzando tasas de mortalidad del 1,5/100 000 habitantes, con una incidencia y prevalencia del 29 y 39 x 100 000 hab respectivamente; sin embargo, en la actualidad no se conoce con claridad la magnitud de la enfermedad atribuida a *M. bovis* (5). Se ha considerado que la incidencia real de *M. bovis* que afecta a humanos para la región Latinoamericana y el Caribe es subestimada y poco estudiada (6).

La TB causada por *M. bovis* y *M. tuberculosis* es clínica y radiológicamente indistinguible, por lo que su diferenciación solamente puede llevarse a cabo mediante metodologías fenotípicas y genotípicas (7,8); estas distinciones son importantes al momento de instaurar el esquema de tratamiento farmacológico al paciente, debido a que cepas de *M. bovis* tienen resistencia natural a la pirazinamida (9,10).

Estudios realizados en el Instituto Nacional de Salud (INS) en el año 2011, lograron identificar la circulación de *M. bovis* en bovinos de cinco Departamentos de Colombia y confirmaron un caso de TB humana causada por ésta especie en el año 2012. Éste evento pone en evidencia la importancia de iniciar la vigilancia epidemiológica en todo el territorio nacional, con el fin de conocer la prevalencia de la zoonosis, identificar los principales factores de riesgo y ejecutar acciones para interrumpir los ciclos de transmisión.

En Colombia la vigilancia epidemiológica de la TB está restringida a la identificación del *cMtb*, sin diferenciar la especie causante de la enfermedad. Como consecuencia de lo anterior, el objetivo de esta investigación fue realizar una búsqueda activa de casos de TB producida por *M. bovis*, en manipuladores de la cadena de producción bovina de fincas con bovinos PPD positivos de los departamentos de Antioquia, Boyacá y Cundinamarca durante un año.

## MÉTODOS

Estudio descriptivo en el cual fueron visitadas fincas ganaderas en saneamiento para TB bovina de los departamentos de Antioquia, Boyacá y Cundinamarca, reportadas como positivas para el test de tuberculina (PPD) por el Programa Nacional de Tuberculosis bovina del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) durante el año 2014.

Para la recolección de la información socio-demográfica fue aplicada una encuesta a todos los trabajadores de las fincas del estudio, con el fin de identificar factores de riesgo asociados a la transmisión de la zoonosis. Todas las personas incluidas en el estudio, firmaron un consentimiento informado asintiendo la participación en la investigación. La información obtenida, fue tabulada en una base de datos creada en Excel 2007. De igual forma, después de recolectada la información, se realizó una capacitación a los trabajadores, sobre la zoonosis producida por *M. bovis* y se distribuyó un plegable con información relacionada.

Se recolectaron muestras de esputo para la detección del bacilo a través de metodologías convencionales (baciloscopia y cultivo) y moleculares (*Spoligotyping*). Las muestras fueron transportadas desde las fincas visitadas hasta el laboratorio de micobacterias del INS en refrigeración a 4°C y sistema de triple embalaje. Posteriormente, éstas se trataron con N-Acetil, L-Cisteina-Hidróxido de sodio al 2 % (NALC-NaOH 2 %) e hidróxido de sodio al 4 % (NaOH 4 %), según las indicaciones establecidas en el manual de tuberculosis de la Organización Panamericana de Salud (OPS) (11). Una vez descontaminadas, las muestras se cultivaron por triplicado en medio Stonebrink modificado por Giraldo (STG) específico para *M. bovis* y Lowenstein Jensen (LJ), teniendo en cuenta las recomendaciones del manual de procedimientos del INS (12) así como en medio líquido Middlebrook 7H9 suplementado con PANTA y OADC para uso en el sistema de cultivo BACTEC MGIT 960®, siguiendo las instrucciones del fabricante. En todos los casos se realizó baciloscopia.

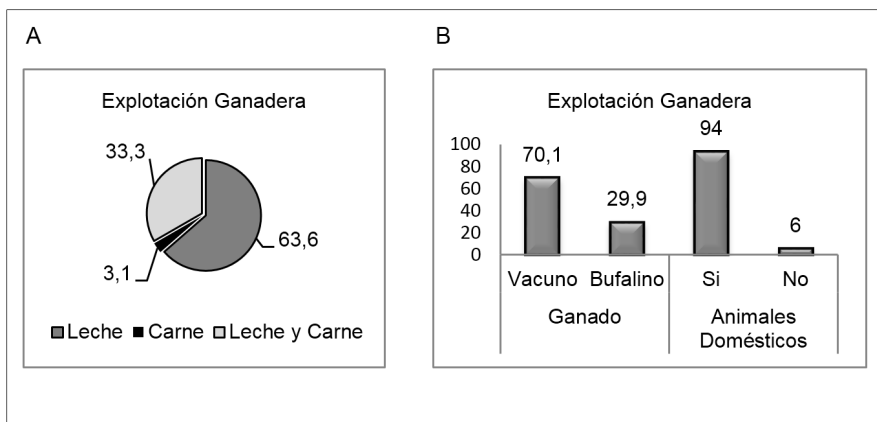
Para la identificación molecular, las muestras de esputo fueron tratadas con el método de lisis enzimática, cloroformo: alcohol isoamílico para la extracción de DNA (13). La metodología de *Spoligotyping* se realizó según lo descrito por *Kremer* en el 2002. Los iniciadores que se emplearon fueron DRa (5' GGGTTTGGGTCTGACGAC 3') y DRb (5' - CCGAGAGGGGACGGAAAC 3') (14). Las condiciones de termociclado fueron: un ciclo a 96°C por 3 minutos, 20 ciclos a 96°C por 1 minuto, un ciclo a 55°C por 1 minuto, 1 ciclo a 72°C por 30 segundos y una extensión final a 72°C por 5 minutos; el producto de la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) se hibridó en una membrana comercial (*Ocimum Biosolutions India*) de primera generación. El resultado de la hibridación fue detectado por quimioluminiscencia, mediante el uso del estuche comercial ECL Direct (Amersham, UK) y se reveló a través de la exposición de una película fotosensible.

## RESULTADOS

Caracterización de las fincas: Durante el estudio fueron visitados 33 predios ganaderos ubicados en los Departamentos de Antioquia (n=14), Boyacá (n=10) y Cundinamarca (n=9). De estos, el 63,6 % (n=21) se dedicaba exclusivamente a producción de leche, el 3,1 % (n=1) exclusivamente a producción de carne y el 33,3 % (n=11) a los dos tipos de producción. El 29,9 % de las fincas contaba con ganado bufalino ( $\bar{x}$ : 510 cabezas) y el 70,1 % con ganado vacuno ( $\bar{x}$ : 286 cabezas); el 94 % de las fincas tenía presencia de algún

tipo de animal doméstico, siendo los caninos los principales representantes con 89 %, seguido de los felinos con 69,6 % (Figura 1).

**Figura 1.** A. Actividad ganadera B. Distribución animal en los predios



En cuanto al ordeño, el 65,2 % de las fincas visitadas contaban con sistemas mecánicos, en tanto que el 34,8 % realizaban el proceso manualmente. En los predios donde se contaba con tecnificación se encontró que el 83,1 % realizaba desinfección de los equipos a diario, mientras que el 16,9 % lo hacían semanal o mensualmente. De igual forma, el uso de cloro (26,8 %) o combinaciones de cloro/yodo (39 %) fueron los compuestos más utilizados en la limpieza de estos equipos, mientras que soluciones de amoníaco (1,2 %), yodo (9,8 %) o mezclas de estos dos compuestos (23,2 %) fueron menos comunes. El uso de desinfectantes hechos a base de cloro fueron los más utilizados para la limpieza de las instalaciones de las fincas (43,7 %), que en el 62,8 % de los predios era realizada a diario, mientras que en el 37,2 % tenía una periodicidad mayor a una semana.

En relación con el destino de la leche obtenida, el 62,2 % de las fincas contaba con tanque de refrigeración, mientras que el 37,8 % mantenía el producto a temperatura ambiente hasta su destino final, que en el 53,6 % de los casos fue referido a la entrega de una empresa recolectora.

**Caracterización de los manipuladores:** Un total de 164 trabajadores de la cadena de producción bovina fueron encuestados; la caracterización demográfica estableció que el 74,3 % de la población intervenida pertenecía al género masculino, mientras que el 25,7 % eran mujeres. La edad promedio

de los participantes fue 34 años (16 a 84 años) y el 68,2 % de los individuos afirmó laborar en la finca visitada desde hacía más de 1 año.

Para el grado de escolaridad: 4,9 % (n=8) de los trabajadores manifestó ser analfabeto, 50 % (n=82) no había terminado sus estudios primarios, 31,1 % (n=51) contaba con primaria completa, 9,8 % (n=16) culminó la secundaria, 3,1 % (n=5) alcanzó educación superior en nivel técnico y tan sólo el 1,2 % (n=2) tenía título universitario. Por su parte, en el perfil ocupacional el 45,1 % cumplía funciones relacionadas con ordeño y ganadería, 36 % como operarios, 13,4 % cumplía funciones de administración, 3,1 % se desempeñaban como técnicos y 2,4 % eran veterinarios (Tabla 1).

**Tabla 1.** Características socio-demográficas de la población en estudio

Variable	n(%)
Grado de escolaridad	
Analfabetismo	8 (4,9)
Primaria Incompleta	82 (50)
Primaria Completa	51 (31,1)
Secundaria	16 (9,7)
Técnico	5 (3,1)
Universitario	2 (1,2)
Perfil Ocupacional	
Ordeño y Ganadería	74 (45,1)
Operario	59 (36)
Administración	22 (13,4)
Técnico	5 (3,1)
Veterinario	4 (2,4)

Prácticas asociadas al riesgo de adquirir tuberculosis: El 9,1 % de los encuestados consintió el consumo de leche cruda, 18,9 % aseguró utilizar leche pasteurizada y el 72 % afirmó hervirla antes de consumirla o preparar derivados lácteos. De igual forma, el 28,6 % y 25 % de los trabajadores consumían carne y vísceras respectivamente, provenientes de la finca en estudio. 79,3 % de los encuestados declararon nunca haber recibido capacitación sobre tuberculosis; coincidente con el 70,1 % que manifestaron no tener conocimiento sobre la enfermedad; sin embargo 52,4 % informo tener conocimientos en la zoonosis causada por *M. bovis* (Tabla 2).

Procesamiento y análisis de especímenes clínicos: Un total de 129 muestras de esputo fueron recolectadas y procesadas mediante metodologías microbiológicas y moleculares.

No se evidenció presencia de bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) en las baciloscopias realizadas, y no se obtuvo crecimiento de colonias

sugestivas de bacterias pertenecientes al *cMtb* en los medios de cultivo LJ, STG y en el sistema BACTEC MGIT, luego de 12 semanas de incubación a 37°C. Todas las muestras analizadas mediante la metodología de *Spoligotyping* fueron negativas a la presencia de ADN del complejo *M. tuberculosis*.

**Tabla 2.** Conocimiento sobre TB y factores de riesgo

Variable	n (%)
Hábitos alimenticios de los trabajadores	
Consumo de leche cruda	15 (9,1)
Consumo de leche pasteurizada	31 (18,9)
Consumo de leche hervida	118 (72)
Consumo de derivados lácteos no pasteurizados	63 (38,4)
Consumo de carne	47 (28,6)
Consumo de vísceras	41 (25)
Conocimiento sobre TB	
Capacitaciones recibidas sobre TB	34 (20,7)
Conocimiento previo sobre TB	49 (29,9)
Conocimiento sobre TB zoonótica	86 (52,4)

TB: Tuberculosis

## DISCUSIÓN

La TB humana continúa siendo un serio problema de salud pública en todo el mundo. El principal agente etiológico de la enfermedad es *Mycobacterium tuberculosis*; sin embargo, otras especies del *cMtb* pueden ocasionar patología en hospederos inmunocompetentes e inmunocomprometidos (4). Tal es el caso de *Mycobacterium bovis*, bacteria responsable de la TB bovina (3,4).

En Colombia, el diagnóstico de la tuberculosis se basa en la positividad de la baciloscopia y el crecimiento del bacilo en medios de cultivo, sin embargo, estas metodologías no son capaces de diferenciar la especie del *cMtb* causante de la enfermedad; por lo que el uso de metodologías moleculares con mayor capacidad de resolución, son útiles para discriminar entre las especies (7,15,16).

De manera particular, el interés de diferenciar entre *M. tuberculosis* y *M. bovis*, se fundamenta en dos premisas importantes: primero, el tratamiento para la TB causada por *M. tuberculosis* es diferente al esquema utilizado para los casos de TB cuyo agente etiológico es *M. bovis*, dada la resistencia intrínseca a la pirazinamida que tienen algunas cepas de esta micobacteria y aún más teniendo en cuenta que el tratamiento antituberculoso normado por el Ministerio de Salud en Colombia, contiene la pirazinamida. Segundo, la caracterización de la zoonosis y los factores de riesgo, es un paso im-

portante para la articulación entre los programas de salud animal y humana que permitan el diseño de políticas de salud pública como las orientadas a cortar los ciclos de transmisión (8).

En este estudio no se encontraron casos de tuberculosis humana en trabajadores de las fincas incluidas causados por *Mycobacterium bovis*; situación que posiblemente puede ser explicada debido al bajo consumo de leche y derivados lácteos crudos 9,1 % por parte de la población intervenida, mientras que el consumo de leche hervida fue de 72 % y leche pasteurizada del 18,9 %. Por otra parte deben ser consideradas las prácticas de auto cuidado aplicadas por los manipuladores de la cadena de producción, quienes aseguraron en un 52,4 % tener conocimientos sobre la zoonosis causada por *M. bovis*, aunque no conocimientos generales de tuberculosis. Cabe resaltar que aunque las fincas habían tenido bovinos confirmados positivos para tuberculosis y que los manipuladores habían permanecido en sus trabajos hacía más de un año, las prácticas de cuarentena que realiza el ICA para sanear los predios son de estricto cumplimiento y los procesos de desinfección a instalaciones y equipos se realizan en un 62,8 % y 83,1 % respectivamente y a diario.

A pesar de no encontrar casos de TB, se pudieron evidenciar factores de riesgo que han sido descritos por otros autores y que podrían contribuir, en un determinado momento, a la transmisión de la enfermedad (3,4). De estos, reviste importancia que cerca del 70 % de los trabajadores llevaba más de un año laborando en las fincas visitadas, 79,3 % nunca habían recibido capacitación sobre tuberculosis, así como la existencia de perros 89 % y gatos 69,6 % quienes han sido descritos como reservorios para *M. bovis* por Pesciaroli 2014 (17). Bajo este contexto, algunas investigaciones han mostrado casos de TB Producida por *M. tuberculosis* en perros y gatos, de igual forma estudios hechos en gran Bretaña han confirmado la presencia de *M. bovis* en gatos, perros, cabras, ovejas, cerdos, llamas, alpacas y jabalís en un 7 a 47 % del 2004 al 2010, considerando que estos animales son fuente de infección que podría transmitirse a otras especies de animales salvajes o domésticos e incluso al hombre (18-20).

Por otra parte es importante plantear que la población estudiada podría cursar con una infección latente dada la prolongada exposición al ganado infectado con la micobacteria y debido a los factores de riesgo de transmisión evidenciados. Estudios realizados en México han confirmado una alta prevalencia de TB latente en trabajadores en contacto con animales



positivos para *M. bovis*, representando un riesgo laboral (4). Como consecuencia, es imperioso direccionar investigaciones relacionadas con la prevalencia de la infección a través de metodologías como el test de tuberculina y la detección de interferón gama (*IGRA, por sus siglas en inglés*), que en otros trabajos han mostrado buena sensibilidad y especificidad para la identificación de estados de latencia (21,22).

En Colombia hasta el año 2005 no se habían reportado casos de TB causada por *M. bovis* (23), sin embargo por estudios de genotipificación de *Spoligotyping* realizados en el Instituto Nacional de salud en el año 2012 se determinó la presencia de un caso de TB causada por *M. bovis* en un hombre de 58 años de edad (24). En Argentina para el periodo 2000-2006 se determinó que entre el 0,34 % y el 1,0 % de los casos de TB fueron producidos por *M. bovis*, por su parte Bolivia, Chile, Cuba, Panamá y Perú no han reportado casos de TB producida por *M. bovis* del año 2000 al 2010 (6). En Brasil de 1996 a 2006 se han reportado tres casos y en Ecuador de 1998 a 2005 se han presentado 2 casos, datos que evidencian baja prevalencia de TB humana producida por *M. bovis* en países latinoamericanos. Se ha planteado un estimado de prevalencia de TB humana producida por *M. bovis* de <0.05 % de los casos de TB producidos por *M. tuberculosis* para la región Latinoamericana (6), que según la OMS para el año 2013 alcanzaron los 231 330 casos (5). Estos datos pueden ser debidos a que la mayoría de países en América no cuentan con las herramientas para implementar la diferenciación entre los miembros del cMtb, pues no se considera una prioridad en salud pública y la complejidad de la red de laboratorios para ofrecer estas pruebas es limitada de 1:125 (6). Los países deben fortalecer el trabajo conjunto entre los actores de salud animal y humana con el fin de conocer la situación actual y así lograr el control y la erradicación, que conlleven al fortalecimiento de la salud pública, el mejoramiento de la economía de los países y el beneficio directo a los pequeños productores agropecuarios.

En conclusión no se documentaron casos de la enfermedad por este agente zoonótico dentro del grupo de trabajadores de fincas positivas para tuberculosis bovina en los tres departamentos colombianos estudiados. Es importante extender el estudio a todo el territorio nacional, en el que se incluya la determinación de la prevalencia de la infección, iniciando con la población que presenta mayor riesgo como lo es los trabajadores de fincas positivas para tuberculosis bovina \*

**Agradecimientos:** A los integrantes del Programa Nacional de Tuberculosis y Brucelosis Bovina del ICA por su apoyo en el acompañamiento a las fincas en saneamiento, especialmente a los doctores Andrés Flechas, Jorge Suarez, Libardo Acosta, María Isabel Echavarría, William Orrego, Luis José Baena y Roberto Vanezas. A las profesionales del LNR del INS por permitirnos el uso del sistema de cultivo BACTEC MGIT 960.

**Conflicto de interés:** Ninguno.

## REFERENCIAS

1. Tortoli E. Microbiological features and clinical relevance of new species of the genus *Mycobacterium*. Clin Microbiol Rev. 2014; 27(4):727-752.
2. Biet F, Boschirolu ML, Thorel MF, Guilloteau L. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). Vet. Res. 2005; 36:411-436.
3. Müller B, Durr S, Alonso S, Hattendorf J, Laisse C, Parsons S, et al. Zoonotic *Mycobacterium bovis*-induced tuberculosis in humans. Emerging Infectious Diseases. 2013; 19(6):899-908.
4. Torres P, Soberanis O, Martinez A, Chavez B, Barrios MT, Torres M, et al. Prevalence of latente and active tuberculosis among dairy farm workers exposed to cattle infected by *Mycobacterium bovis*. PLOS Neglected Tropical Diseases. 2013; 7:1-8.
5. World Health Organization. Global tuberculosis report 2014 [Internet]. Disponible en: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/). Consultado Febrero de 2015.
6. Kantor IN, LoBue PA, Thoen CO. Human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in the United States, Latin America and the Caribbean. Int J Tuberc Lung. 2010; 14(11):1369-1373.
7. Fernandes D, Tavares L, Almeida PE, Dellagostin OA. Molecular typing of *Mycobacterium bovis* isolates: A review. Brazilian Journal of Microbiology. 2014; 45(2):365-372.
8. Silva MR, Silva A, Rodriguez R, Padilha A, Oliveira VM, Fonseca AA, et al. Tuberculosis patients co-infected with *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis* in an urban area of Brazil Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013; 108(3):321-327.
9. Gamier T, Eiglmeier K, Camus JC, Medina N, Mansoor H, Pryor M, et al. The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*. PNAS. 2003; 100(13):7877-7882.
10. Mignard S, Pichat C, Carret G. *Mycobacterium bovis* infection, Lyon, France. Emerging Infectious Disease. 2006; 12(9):1431-1433.
11. Organización Panamericana de la Salud. Manual para el diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis. Argentina; 2008.
12. Instituto Nacional de Salud. Diagnóstico bacteriológico de tuberculosis y micobacterias. Bogotá, Colombia; 2012.
13. Van Soolingen D, De Haas PE, Kremer K. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) typing of micobacteria. Bilthoven National Institute of Public Health and the environment; 2001.
14. Kremer K, Bunschoten A, Schouls L, Van Soolingen D, Van Embden J. Laboratory Spoligotyping, a PCR-based method to simultaneously detect and type *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. Protocol. National Institute of Public Health and Environmental Protection, Bilthoven 2002
15. Jiang G, Wang G, Chen S, Yu X, Wang X, Zhao L, et al. Pulmonary Tuberculosis Caused by *Mycobacterium bovis* in China. Sci Rep. 2015; 4(5):1-3.

16. Ramos DF, Silva AB, Fagundes MQ, von Groll A, da Silva PE, Dellagostin OA. Molecular typing of *Mycobacterium bovis* isolated in the south of Brazil. *Braz J Microbiol.* 2014; 45(2): 657-660.
17. Pesciaroli M, Álvarez J, Boniotti MB, Cagiola M, Di Marco V, Marianelli C, *et al.* Tuberculosis in domestic animal species. *Research in Veterinary Science.* 2014; 97(Sppl) S78-85.
18. Martinho AP, Franco MM, Ribeiro MG, Perrottin IB, Mangia SH, Megid J. Disseminated *Mycobacterium tuberculosis* infection in a dog. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2013, 88:596-600.
19. Zumarraga MJ, Martínez VM, Marticorena D, Bernardelli A, Fasán R, Iachini R, *et al.* *Mycobacterium bovis* in Argentina: isolates from cats typified by spoligotyping. *Revista Argentina de Microbiología.* 2009; 41:215–217.
20. Broughan M, Downs SH, Crawshaw TR, Upton PA, Brewer J. *Mycobacterium bovis* infections in domesticated non-bovine mammalian species. Part 1: Review of epidemiology and laboratory submissions in Great Britain 2004–2010. *J. Clifton-Hadley The Veterinary Journal.* 2013, 198:339–345.
21. Kruczak K, Duplaga M, Sanak M, Cmiel A, Mastalerz L, Sladek K. Comparison of IGRA test and TST in the diagnosis of latent tuberculosis infection and predicting tuberculosis in risk groups in Krakow, Poland. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases.* 2014; 46(9):649-655.
22. Castañeda DM, Rodríguez AJ, Sepúlveda JC. Importancia del uso de pruebas de medición de la liberación de interferón-gamma en la vigilancia epidemiológica de la tuberculosis. *Rev Med Chile.* 2012; 140:128-129.
23. Kantor IN, Ambroggi M, Poggi S, Morcillo N, Da Silva Telles MA, Osório Ribeiro M, *et al.* Human *Mycobacterium bovis* infection in ten Latin American countries. *Tuberculosis (Edinb).* 2008, 88(4):358-365.
24. Puerto G, Erazo L, Wintaco M, Castro C, Ribón W, Guerrero MI. *Mycobacterium tuberculosis* Genotypes Determined by Spoligotyping to Be Circulating in Colombia between 1999 and 2012 and Their Possible Associations with Transmission and Susceptibility to First-Line Drugs. *PLoS ONE.* 2015; 10(6). doi:10.1371/journal.pone.0124308.