



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), marzo-abril 2024,
Volumen 8, Número 2.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i2

**TUBERCULOSIS PULMONAR Y
EXTRAPULMONAR CANINA: ISTOPATOLOGÍA,
HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA**

**CANINE PULMONARY AND EXTRAPULMONARY
TUBERCULOSIS: HISTOPATHOLOGY AS
A DIAGNOSTIC TOOL**

Vanessa Alexandra Rivera Guerra

Universidad Técnica de Machala, Ecuador

Matilde Lorena Zapata Saavedra

Universidad Técnica de Machala, Ecuador

Gloria Lorena Oña Coloma

Universidad Técnica de Machala, Ecuador

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i2.10895

Tuberculosis Pulmonar y Extrapulmonar Canina: Histopatología, Herramienta Diagnóstica

Vanessa Alexandra Rivera Guerra¹
vanessavet92@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-2945-6410>
Universidad Técnica de Machala
Ecuador

Matilde Lorena Zapata Saavedra
mlzapata@utmachala.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-8046-4328>
Universidad Técnica de Machala
Ecuador

Gloria Lorena Oña Coloma
biocitecuador@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4472-0942>
Laboratorio BIOCIT
Ecuador

RESUMEN

La tuberculosis (TB) es una enfermedad zoonótica causada por bacterias del género *Mycobacterium*. En Ecuador, la prevalencia en la clínica de pequeños animales es relativamente baja a nula; es ahí donde toma importancia este trabajo y se describe el caso clínico de una paciente canina de 7 años, raza Mastín, rescatada de la calle, que inicialmente presentó decaimiento, bajo peso y distensión abdominal. Mediante examen post-mortem, se evidenciaron múltiples masas granulomatosas a nivel pulmonar y abdominal, de las cuales se tomaron muestras para histopatología debido a la sospecha inicial de neoplasia. Sin embargo, los hallazgos de la histopatología, junto con las tinciones Ziehl-Neelsen (ZN) y ácido periódico de Schiff (PAS), permitieron la identificación de bacilos pleomórficos, confirmatorios de infección por *Mycobacterium* spp. Este reporte pretende enfatizar en la importancia de un correcto protocolo diagnóstico que abarque todas las posibles causas de enfermedades granulomatosas, así como demostrar la utilidad de la histopatología como técnica diagnóstica para tuberculosis en animales, comparable en precisión a técnicas microbiológicas o moleculares.

Palabras clave: caninos, diagnóstico, histopatología, tinción, tuberculosis

¹ Autor principal
Correspondencia: vanessavet92@gmail.com

Canine Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis: Histopathology as a Diagnostic Tool

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is a zoonotic disease caused by bacteria of the genus *Mycobacterium*. Its prevalence in small animal clinics is relatively low to none in Ecuador, which is why it becomes important in this work to describe the clinical case of a 7-year-old Mastiff breed canine, rescued from the street, that initially presented lethargy, low weight, and abdominal distension. Through post-mortem examination, multiple granulomatous masses were evidenced at the pulmonary and abdominal level, from which samples were taken for histopathology due to the initial suspicion of neoplasia. However, the findings of the histopathology, along with Ziehl-Neelsen (ZN) and periodic acid-Schiff (PAS) stains, allowed the identification of pleomorphic bacilli, confirmatory of infection by *Mycobacterium* spp. This report aims to emphasize the importance of a correct diagnostic protocol that covers all possible causes of granulomatous diseases, as well as to demonstrate the utility of histopathology as a diagnostic technique for tuberculosis in animals, comparable in precision to microbiological or molecular techniques.

Keywords: canine, diagnosis, histopathology, stain, tuberculosis

Artículo recibido 20 febrero 2024

Aceptado para publicación: 28 marzo 2024



INTRODUCCIÓN

Aunque generalmente la histopatología no es una técnica utilizada con frecuencia para el diagnóstico de enfermedades infecciosas, es bastante útil, por ejemplo, en seres humanos, Panzerelli y col. en 1993, demostraron que con histopatología se obtiene un mayor porcentaje de muestras positivas a tuberculosis cutánea respecto a lo obtenido con métodos de bacteriología y la prueba de tuberculina, aunque esta última técnica de por sí es poco precisa en caninos.

La Tuberculosis (TB) es catalogada como una patología zoonótica y zooantroponótica de relevancia pública a nivel mundial, descubierta por el Doctor Robert Koch en 1882. El agente etiológico causal son bacterias del género *Mycobacterium* spp., consideradas invasores estrictos, capaces de sobre pasar la tríada epidemiológica, por lo cual especies domésticas, silvestres y el hombre son hospedadores susceptibles y reservorios. Los animales considerados reservorios mantienen la infección persistente en la especie y son la fuente de infección para otras especies animales.

En la clínica veterinaria de pequeñas especies se ha identificado que perros (*Canis lupus familiaris*) y gatos (*Felis catus*) podrían infectarse por las especies *M. bovis*, *M. avium* y *M. tuberculosis*. Se debe considerar que los perros y gatos callejeros podrían constituirse en portadores de enfermedades zoonóticas, pero también las mascotas con hogar pueden contraer y transmitir patologías como tuberculosis, rabia, salmonelosis, brucelosis, campilobacteriosis, leptospirosis, estafilococos resistentes a antimicrobiana, entre otros agentes infecciosos de importancia en salud pública. Sin embargo, en Ecuador no existen reportes de tuberculosis canina, pero si en bovinos y caprinos mismos que esta reportados por organismos de control sanitario como lo es Agrocalidad, es por esto que el registro de este caso con ayuda de histopatología toma relevancia en el campo de las pequeñas especies.

Por ende, al diagnosticar animales con historial de posible exposición a zoonosis, éstos deben ser examinados con cautela y períodos de tiempo estrictos (basados en los tiempos de incubación y diseminación de la enfermedad) por un Médico Veterinario para disminuir el riesgo potencial para la salud de los tutores. En cuanto a los felinos presentan tres síndromes diferentes: Micobacteriosis sistémica o tuberculosis (TB), lepra felina (LF) y Micobacteriosis atípica (MA, causada por varias especies de micobacterias no tuberculosas y no lepromatosas), que involucran manifestaciones clínicas



no específicas. De igual manera, la sintomatología clínica en caninos es variada, poco descrita y no actualizada, al igual que cambios hematológicos y de bioquímica clínica en una estadía temprana.

Continuando con las vías de infección, dependerán del *Mycobacterium* spp. patógeno que los infecta. Las dos vías fundamentales son aerógena y la enterógena. *M. tuberculosis* se transmite mayormente por vía aerógena de una persona contaminada o expuesta. *M. bovis* se propaga mediante la ingesta de productos lácteos y tejidos de animales infectados, tales como productos cárnicos, heces o vacunos muertos. Al igual que *M. avium*, que se transmite por el contacto estrecho y la ingestión de aves infectadas. Cabe recalcar que esta especie puede ser transmitida por lesiones cutáneas incluyendo rasguños y/o infección de conjuntivas. Además, mediante la copula por secreciones, en ocasiones por cirugías como castración, vía intrauterina y vía umbilical.

Por ende, estas mismas rutas de infección se cumplen en los caninos, estando la vía inhalatoria ligada al contagio de *M. tuberculosis* por contacto con persona enfermas y la ingestión vinculada a *M. bovis* (consumo de carne y leche sin un procesamiento adecuado y proveniente de bovinos (*Bos taurus*) infectados) y *M. avium*, por ingestión de carne contaminada u otros residuos de la avicultura, como heces, cama, agua, entre otros; siendo todos estos potenciales mecanismos para que se propague la enfermedad en perros .

En algunos casos, los perros con TB no presentan ningún signo debido a que el sistema inmunológico canino limita activamente la bacteria a través de la respuesta inflamatoria inicial, la cual impide la multiplicación y propagación del agente a través de mecanismos como la fibrosis tisular, que es una forma de “contención” de los bacilos, que posteriormente son eliminados por células como macrófagos. Sin embargo, factores como baja inmunidad y alta carga bacteriana disminuyen la eficacia de este mecanismo, pudiendo infectar al animal e incluso expresarse meses después de la contaminación; inclusive es relevante la vía de transmisión, siendo más patogénica la vía aérea respecto a la vía oral, la cual requiere mayor concentración de bacilos y no genera tanto impacto en el sistema respiratorio como tal.

En el caso de que la bacteria supere la inmunidad del hospedero, *Mycobacterium* spp. se disemina a través de los conductos linfáticos, infectando y multiplicándose en diversos órganos vitales, como pulmones, hígado, bazo, sistema digestivo y ganglios linfáticos asociados a estos órganos. Los signos

clínicos son generalizados e inespecíficos; siendo más frecuentes la pérdida de peso corporal, anorexia, letargo, vómitos, caquexia, fiebre, disnea y tos.

Para este proceso, primero los bacilos entran en contacto con las mucosas tisulares, en donde son fagocitados por macrófagos y son diseminados hacia los tejidos linfoides asociados a mucosas y luego, son transportados a través de los vasos aferentes linfáticos hacia los nódulos o ganglios regionales en sistema respiratorio o digestivo.

Se conoce que el foco primario de infección por *Mycobacterium* spp. genera una alta reacción tisular pues se establece un estado de infección persistente causado por la ineficacia del sistema inmune para eliminar al patógeno. En ese sentido, prácticamente uno de los objetivos primarios de las Micobacterias es ser fagocitadas por los macrófagos, lo que ocurre a través de interacciones entre receptores ubicados en las células inmunitarias con ligandos de superficie en los bacilos a través de receptores de manosa y la activación de la vía alterna del complemento, asegurando varias rutas para que la fagocitosis se efectúe con éxito, lo que induce la liberación de citocinas y la migración de células que también facilitan la diseminación orgánica de la enfermedad .

En aquellos macrófagos que fagocitan las Micobacterias, los bacilos tienen la capacidad de inhibir la maduración del fagosoma y de otros mecanismos inmunitarios (como acidificación del medio o producción de especies de oxígeno reactivo), lo que eventualmente causa la muerte del macrófago y una nueva liberación de las bacterias, generándose nuevamente el ciclo, con inflamación persistente y recidivante.

Para contrarrestar este mecanismo de las Micobacterias y realizar con éxito la fagocitosis, los macrófagos secretan varias citocinas como interleucina 12, interferón gamma e interleucina 2, cuyo objetivo es neutralizar al agente; en caso de que el proceso no sea del todo eficiente, el factor de necrosis tumoral alfa y el interferón gamma favorecen la formación de granulomas, cuyo objetivo es bloquear la diseminación hacia otros órganos y focalizar la respuesta inmunitaria en una sola localización.

Esta característica es bastante relevante al considerar las lesiones anatomopatológicas de las Micobacterias pues se constituye en un diagnóstico diferencial de todos los pacientes con granulomatosis pulmonar; sin embargo, no es un hallazgo patognomónico pues otras patologías de tipo



neoplásico, autoinmune o micótico podrían cursar también con estas lesiones a la necropsia, la cual toma importancia para poder detectar las lesiones y muestrearlas para un análisis más preciso.

Según los nódulos linfáticos infectados, se describen los signos clínicos como complejo primario respiratorio, complejo primario digestivo y complejo primario oronasal. Cuando existe una limitación por el sistema inmune, la bacteria es encapsulada y genera focos caseificados por la precipitación de sales cálcicas. Sin embargo, es capaz de diseminarse mediante la vía linfohematógena con una difusión intracanicular hasta los bronquios, el intestino, las vías biliares, entre otros. El cuadro clínico más común se presenta como TB miliar, con formación de tubérculos en pulmón, riñón y bazo.

Para llegar a considerar a un animal como sospechoso a TB primero debe realizarse un protocolo diagnóstico basado en la inspección física junto con la anamnesis (siendo importantes datos como convivencia con personas enfermas o que el animal provenga de la calle o un entorno con animales de granja o fauna silvestre). A partir de la presencia de signos respiratorios también son fundamentales los exámenes de imagen (radiografía, ecografía e incluso tomografía computarizada), que permiten detectar lesiones nodulares a nivel torácico o abdominal. La información disponible debe emplearse para ir descartando probables diagnósticos diferenciales como micosis profunda, nocardiosis, toxoplasmosis, neoplasias, leucemia, inmunodeficiencias, endoparasitosis, entre otras.

Ante la evidencia de masas torácicas o abdominales, un primer procedimiento en los pacientes podría ser el análisis de estas, mediante análisis citológico, histopatológico, bacteriológico y molecular de muestras conseguidas con punción y aspiración con aguja fina (PAAF), improntas de masas y biopsias, que son obtenidas mediante las herramientas auxiliares correspondientes, por ejemplo, guía por ultrasonido o incluso laparotomía exploratoria.

En cuanto a la toma de muestras y envío al laboratorio se deben realizar en base a las guías establecidas para este fin y cuando los hallazgos clínicos e imagenológicos, junto con la anamnesis del paciente respalden la probabilidad de tuberculosis, los profesionales a cargo de la necropsia deben evaluar el riesgo/beneficio del procedimiento y asegurarse protección física contra aerosoles, inoculación directa o ingestión (Bioseguridad), junto con programas de capacitación continua pues está reportado el contagio de TB en patólogos veterinarios a través de la realización de necropsias.



Si durante la necropsia se observan lesiones compatibles con *Mycobacterium* spp. (principalmente granulomas en tórax o abdomen, con estructura caseosa) deben ser registradas en fotografías e incorporadas al expediente digital y para las muestras, debe recolectarse el tejido alterado con un segmento sano adyacente y la región donde hay mayor daño, inclusive evitando seccionarlos siempre que sea posible, para evitar contaminación tanto de los operarios como de la muestra; este proceso se efectúa con asepsia en frascos estériles de cierre con rosca que eviten derrames de fluidos y ser correctamente etiquetadas.

Se debe tomar en cuenta que para el estudio histopatológico se recomienda la fijación (formol salino al 10% o formol tamponado al 4% estabilizado con metanol comercial) por 24 a 48 horas a temperatura ambiente; en tanto, para las pruebas de PCR directa y aislamientos, refrigerar la muestra a 4°C si se envía entre las 24 a 36 horas de su toma y congelar a menos 20°C si supera las 36 horas ; además, las muestras deben ser transportados en medios específicos para Micobacterias, existiendo opciones comerciales como las bolsas Whirl Pak o frascos con borato de sodio .

Por ende, ante la sospecha de la TB y por su alta contagiosidad, las muestras son obtenidas a partir de la necropsia post eutanasia humanitaria. La inspección macroscópica de las lesiones relacionadas con la infección es usada con frecuencia para el diagnóstico presuntivo y es fundamental que el procedimiento sea efectuado por profesionales calificados para este fin, pues se requiere una aproximación especializada en cada caso individual, siempre aplicando estrictamente las normas de bioseguridad tanto en campo como en laboratorio.

Una vez obtenidas las muestras se procesan con técnicas de tinción diagnóstica. La tinción de hematoxilina-eosina (HE) realizada sobre cortes histológicos seriados de 3-4mm de grosor, tiñe estructuras ácidas en tonos azul y púrpura, y la eosina (componente ácido) tiñe estructuras básicas en tonos de color rosa o fucsia. La técnica de Ziehl-Neelsen (ZN) aún más especializada, puede evidenciar por microscopía los bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) con forma de bastón de color magenta o fluorescentes bajo la luz ultravioleta, en determinadas ocasiones se puede evidenciar al microorganismo en zonas caseificadas o en el interior de células epitelioides y/o gigantes.

De esta manera, el método estándar de oro para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar es la microscopía de frotis directo de muestras clínicas (principalmente secreciones respiratorias) o muestras de tejido preparado.

No obstante, la técnica de tinción por fluorescencia proporciona una opción más eficaz para la detección de frotis positivos para *M. tuberculosis*; mediante la técnica empleada en microscopía electrónica que visibiliza los defectos en las estructuras celulares. Se discriminará la formación de granulomas encontradas en torno a los bacilos, células gigantes tipo Langhans, células epitelioides, células plasmáticas y un anillo conformado de linfocitos, exudado que al coagularse forma una red de fibrina. El granuloma o tubérculo está exento de vasos, por ende, puede necrosarse y transformarse en una masa caseosa; cuando el tubérculo es caseificado pueden depositarse sales de cal o producirse una curación a cicatrizar. Es importante mencionar que, pese a los hallazgos histopatológicos característicos de tuberculosis, descrito como granulomatosis necrotizante de células epiteliales, el diagnóstico clínico es un desafío sin pruebas que identifiquen al microorganismo.

Por ello existen diferentes exámenes diagnósticos que se realizan en paralelo para una mayor veracidad diagnóstica; como el aislamiento bacteriano en cultivos sólidos (Löwenstein-Jensen, Stonebrink y Agar Middlebrook 7H10 o 7H11, entre otros) y líquidos (Middlebrook 7H10 o 7H11 o Dubbos, entre otros). Estas técnicas microbiológicas son bastante sensibles y permiten la tipificación del agente, sin embargo, son complejas, costosas y tardan al menos de 3 a 4 semanas, por lo que son confirmatorios, pero no útiles cuando se requiere de un diagnóstico rápido.

En ese sentido, una alternativa a las técnicas microbiológicas es la histopatología, que ha demostrado tener una sensibilidad y especificidad aceptables, con una buena concordancia al compararla con técnicas moleculares, como la PCR para la detección de tuberculosis bovina, constituyéndose en una herramienta útil y aplicable en el estudio de esta enfermedad.

Inclusive en la medicina humana, la histopatología es una técnica ampliamente aplicada (en complemento a la información del paciente y la radiología) debido a que es bastante útil para detectar tuberculosis, en consideración de la complejidad y tiempo que puede tardar el cultivo y la diferencia entre la precisión de ambos métodos no siempre es significativa



Los métodos moleculares son capaces de identificar patógenos del complejo *M. tuberculosis*, al igual que las *Micobacterias* no tuberculosas (*M. kansasii*, *M. ulcerans*, *M. genavense*, *M. terrae*, entre otras). No obstante, la literatura describe que un resultado negativo en pruebas moleculares no descarta la tuberculosis, especialmente si la muestra contiene parafina y ha transcurrido mucho tiempo hasta el análisis pues disminuye la sensibilidad y especificidad al disminuir progresivamente la carga de material genético. Con las pruebas diagnósticas descritas, se considera tuberculosis cuando idealmente se aplican técnicas diagnósticas histopatológicas, microscópicas y moleculares y existe concordancia entre ellas.

En Ecuador son nulos los estudios de prevalencia de tuberculosis en clínica de pequeñas especies. Sin embargo, en América del Sur, en lugares como Buenos Aires-Argentina, Ibagué-Colombia, Rio Grande do Sul-Brasil reportan casos de *Mycobacterium* spp., en caninos y felinos que contrajeron la enfermedad de personas cercanas infectadas.

Acerca de estos casos clínicos, se describen varias afecciones en distintos órganos y sistemas como lesiones pulmonares y pleurales de tipo exudativo, ascitis en tórax, nódulos granulomatosos de 0,5 a 1 cm de diámetro, lesiones de carácter ulcerativo sobre la piel junto a regiones anatómicas de los linfonodos en laringe, tórax y flancos. Por otro lado, las lesiones en el sistema digestivo se presentan como enteritis, lesiones granulomatosas en linfonodos mesentéricos y hepáticos. Además, se identificó la diseminación del microorganismo a través de la vía hematogena, infectando bazo, riñones y linfonodos regionales. En ocasiones, es capaz de afectar el pericardio causando exudado serofibrinoso o hemático, nódulos caseosos en endocardio y miocardio; puede causar osteoartropatía, con lesiones amarillentas de zonas centrales deprimidas y bordes hemorrágicos que desemboca en adherencias, estenosis intestinal e íleo paralítico.

Las consecuencias de la TB abarcan problemas en la salud pública y sanidad animal, provocando importantes pérdidas económicas en el transcurso de la erradicación y compensación a los propietarios por el sacrificio obligatorio de los animales infectados. Se presenta como una enfermedad debilitante a largo plazo y en pocas ocasiones es repentina o rápidamente progresiva. Se debe considerar que la escasa investigación y falta de conocimiento en el uso de herramientas diagnósticas provocan una cifra irreal de casos reportados con *Mycobacterium* spp. en perros y gatos en la clínica. Estos casos pueden

ser acreditados a la presentación de la bacteria, sin embargo, se reconoce un aumento en la incidencia de tuberculosis en animales domésticos, asociado a la cercanía de poblaciones humanas con el ganado vacuno. De igual forma con especies silvestres, que en consecuencia del crecimiento poblacional se ven integradas en zonas rurales y son motivo de diseminación y transferencia de enfermedades zoonóticas. Finalmente, existen pruebas complementarias de mayor y menor precisión diagnóstica de Tuberculosis. Por lo tanto, es necesario implementar un protocolo diagnóstico en las clínicas de pequeñas especies, que contemple entre los diferenciales todas aquellas zoonosis de importancia en salud pública, pudiendo llegar a requerir la autorización y realización de necropsia con el objetivo de identificar o descartar la TB en animales de compañía; sin ello, es imposible comparar resultados reales de datos epidemiológicos y conocer el comportamiento biológico del agente en el medio local.

MATERIALES Y METODOS

En el laboratorio de patología veterinaria BIOCIT, localizado en la ciudad de Quito Ecuador, se recibe un frasco con varios fragmentos de tejidos sin órganos de referencia, fijados en formol al 10% de la especie *Canis lupus familiaris*, identificada como Lucía, raza Mastín, hembra de 7 años de edad. Fue rescatada de la calle (los tutores no aportaron mayor información relevante) y en la primera inspección física presentó decaimiento, bajo índice de peso corporal y el abdomen abultado; sin más información, se realizó una ecografía A-FAST que evidenció masas múltiples en omento, hígado y bazo; en base a ello, se intentó programar una laparotomía exploratoria por sospecha de neoplasias; sin embargo, por ausencia de recursos económicos, el tutor no autorizó este procedimiento.

En ese escenario, se realizó la eutanasia de la paciente y las muestras recibidas en el laboratorio son referidas como parte de una lesión localizada en cavidad abdominal y se obtuvieron durante la necropsia realizada por el clínico que evaluó al animal. Se observaron los fragmentos de tejidos sin órgano de referencia, presentado como redondo, irregular, blanquecino, brillante, firme, al corte crocante (arenoso) y midió 2x 1,5 x1 cm.

RESULTADOS

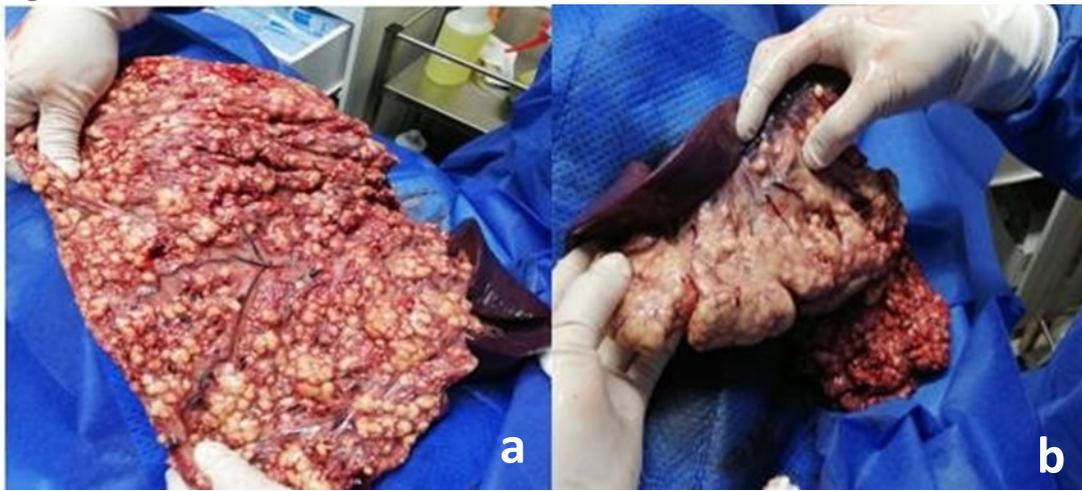
Necropsia

Pese a los hallazgos provenientes del examen físico, la aplicación de técnicas complementarias (incluyendo la necropsia) es necesaria pues desde el punto de vista clínico, el diagnóstico de TB en

caninos representa un desafío debido a que la presentación es relativamente inespecífica, por lo que no se suele considerar un diagnóstico diferencial primario y la orientación va hacia otras patologías respiratorias.

En el examen post-mortem se evidenció la presencia de lesiones granulomatosas que afectaron gran parte de los pulmones y en su mayoría órganos abdominales. Además, también se observó linfadenitis y granulomas de distribución necrótica (FIG. 1).

Figura 1.



Múltiples nódulos blanquecinos y focos de necrosis caseosa de 1-2mm de diámetro, de 3 a 6cm de largo distribuidos en todo el a) Epiplón o Mesenterio con múltiples nódulos sobre relieve blanquecinos b) bazo con nódulos múltiples y Coalescentes, blanquecinos.

Al comparar lo descrito en el paciente con lo reportado en casos de TB en literatura, los hallazgos macroscópicos durante la necropsia son principalmente granulomas multifocales o agrupados, nodulares, circunscritos, de apariencia grisácea, blanca o amarillenta, que se asientan principalmente en pulmones y nódulos linfáticos bronquiales, pudiendo también extenderse a pericardio, hígado, riñón, corazón, intestino y sistema nervioso central.

En cuanto a la distribución de lesiones en pulmones e hígados, esto es compatible con lo descrito en el paciente y con otros reportes existentes en caninos, en los cuales el principal hallazgo post mortem fue la presencia difusa de granulomas grandes de tipo caseoso a nivel pulmonar, así como presencia de fluido pleural o pericárdico. Además, en estos estudios se definió como especie causante a *M. tuberculosis*, siendo relevantes aspectos de la anamnesis como convivencia con personas infectadas o acceso a potenciales fuentes de material contaminado (por ejemplo, desechos de hospitales).

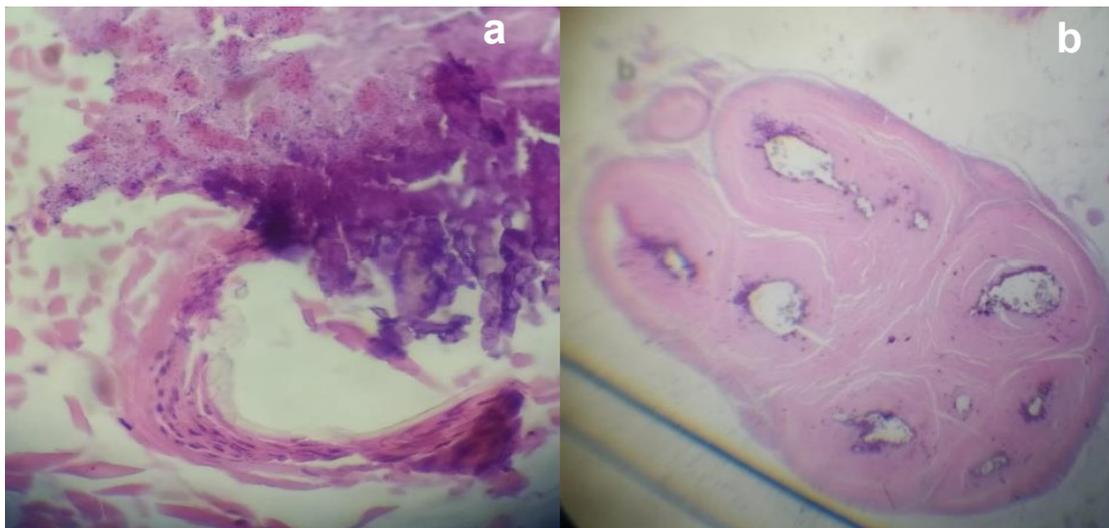
Otros hallazgos comunes son consolidación pulmonar, agrandamiento de linfonodos mesentéricos, peritonitis y es característico que los granulomas son de tipo caseoso, con presencia de moderada a abundante de material purulento en el parénquima pulmonar.

Sin embargo, aunque estos hallazgos estén reportados en casos de tuberculosis y pueden ayudar a establecer un diagnóstico diferencial, su presencia no es confirmatoria pues podrían encontrarse patrones similares en neoplasias con metástasis y otras enfermedades granulomatosas (por ejemplo, de origen fúngico o autoinmune).

Histopatología

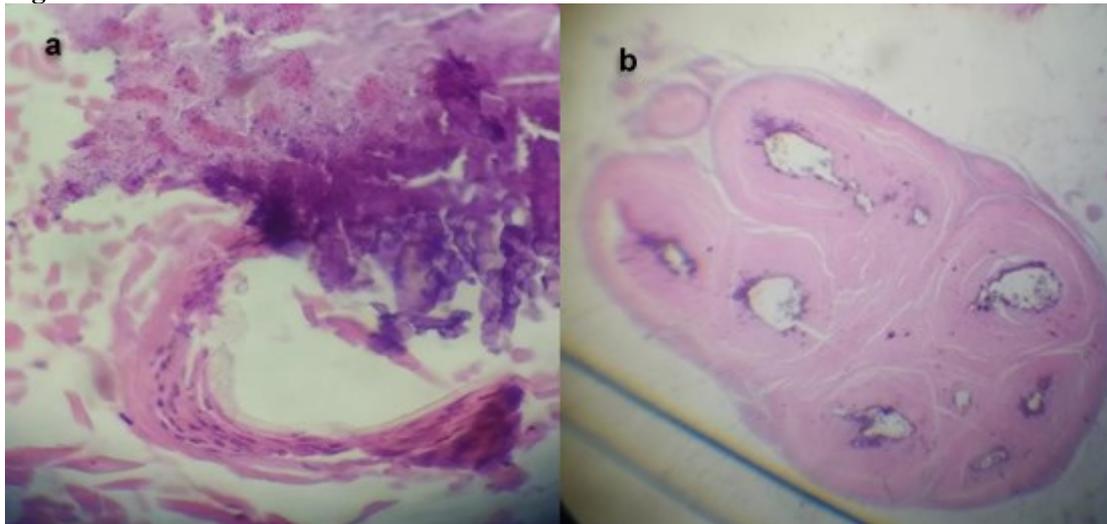
Las muestras de la paciente recibidas provinieron de tejidos con lesiones macroscópicas tales como de pulmón, omento, bazo, hígado y linfonodos, fijados en solución de formol al 10% y posteriormente procesados con procesador de tejidos (Slee SA21101463, Alemania), centro de inclusión de parafina (Slee G2120001, Alemania), criostato (Slee D2120001, Alemania) y microtomo (Slee C120014, Alemania). Luego, fueron teñidos con hematoxilina-eosina en carrusel de tinción (Slee 120001, Alemania) para la observación en microscopio óptico (Human Scope Premium 090258, Alemania). Posteriormente se realizaron tinciones especiales, correspondientes a Zielh-Neelsen (ZN) y ácido periódico de Schiff (PAS) (FIGS. 2 y 3).

Figura 2.



Tinción HE a sección de tejido no especificado a) Evidencia inflamación granulomatosa, cápsula incompleta, inicio de necrosis coagulativa con infiltrado linfocítico, rodeada de macrófagos. b) Se visibilizan granulomas multicéntricos, proceso de necrosis y mineralización, formado por células epitelioides, linfocitos, macrófagos y células gigantes multinucleadas

Figura 3



Microfotografía mostrando una sección del tejido abdominal teñido con Ziehl-Neelsen revela un número moderado de bacilos ácido-alcohol resistentes intracelulares y extracelulares de color magenta, distintivos morfológicamente de *Mycobacterium* spp.

Los hallazgos histopatológicos evidenciaron tejido conectivo fibroso que formaba una pseudo-cápsula, formado por fibroblastos reactivos, infiltrado inflamatorio con linfocitos, células plasmáticas, macrófagos espumosos o vacuolado, células epitelioides, células binucleadas y PMN neutrófilos degenerados necróticos escasos, neo-vascularización, hemorragia, congestión rodeada de material proteináceo eosinofílico, restos necróticos, polvo nuclear; además, rodea material basofílico acelular, correspondiente a mineralización y cristales de colesterol. En cuanto a la técnica PAS no identifica el microorganismo y no es suficiente para descartar o confirmar el agente [60].

Por ello, el estudio histopatológico es imprescindible para complementar los hallazgos microscópicos. Así, lo descrito en la paciente es coincidente con lo reportado en otros casos de tuberculosis canina, que en general consiste en áreas focales de necrosis rodeadas de infiltración de células plasmáticas y macrófagos, con aparente encapsulación por acumulación de capas de tejido fibroso envueltas en tejido conectivo.

Los hallazgos son similares en los granulomas presentes en otros órganos y ocasionalmente, en la periferia de ellos y en las zonas ampliamente necróticas, pueden detectarse bacilos pleomórficos pequeños ácido resistentes con la tinción ZN, que indican infección crónica activa y pueden considerarse evidencia suficiente para el diagnóstico de *Mycobacterium* spp. debido a su alta especificidad.

Uno de los aspectos más complejos de la tuberculosis, y que es frecuente en otros reportes de caso es que el diagnóstico tarda debido a la poca prevalencia de la enfermedad, por lo que se descartan primero otras causas y usualmente en un punto se opta por eutanasiar a los pacientes. Aunque aplicar la tinción ZN a muestras de secreciones respiratorias podría incluirse en los protocolos de enfermedades granulomatosas, es un método poco sensible, existiendo alta tasa de falsos negativos y dando importancia a las pruebas moleculares (principalmente PCR) como alternativa diagnóstica cuando los recursos económicos permitan un diagnóstico antemortem [61].

Sin embargo, cuando el cuadro clínico de los pacientes es muy severo y la eutanasia es una alternativa debido a la grave afectación de la salud y bienestar animal, la histopatología es un método muy útil y conveniente, pues diagnosticar la tuberculosis es relevante para la salud pública. Una muestra de esto son los casos de tuberculosis bovina, en los que la necropsia es frecuente y la histopatología se constituye como una herramienta accesible y precisa al compararla con PCR y cultivo, cuya ejecución es más compleja y costosa.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se creó una data o base de datos con un número de 630 imágenes de las cuales 476 fueron escogidas para el entrenamiento del programa y 15 imágenes para validación. Las creaciones de una base de datos basados en imágenes se utilizan en la visión por computadora, van desde cambiar el brillo hasta agregar ruido aleatorio a las imágenes. Éstos son algunos de los más comunes: rotación, recorte aleatorio, exposición, desenfoque, voltear, saturación, ruido aleatorio, aumento de mosaico.

Las imágenes que se obtuvieron ingresaron al programa *supervaesly*, en el cual se realizó el recorte o etiquetado de cada estructura de merozoito encontrados en los frontis sanguíneos positivos a babesia. El programa *supervaesly* nos da muchas opciones para recortar en diferentes tamaños y formas de acuerdo a la necesidad de cada imagen, este proceso de etiquetado no tomo de mucho tiempo y su realización es sencilla debido a que el programa puede realizar muchas operaciones tanto de recorte o etiquetado y de dar forma a las imágenes de acuerdo a la necesidad del autor.

La detección de babesia se considera una tarea de clasificación de una sola clase u objeto a detectar y para su entrenamiento se mantienen la mayor parte de parámetros con sus valores por defecto, únicamente se modifican el tamaño por ello Roles Data, nos indica que si hay imágenes a las que les

faltan anotaciones, puede profundizar más para agregar las anotaciones necesarias, es decir que si la imagen no tiene anotaciones nulas, puede considerar agregar algunas según el proyecto en el que esté trabajando.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Acosta M, Garrido L, Panzerelli A. Tuberculosis cutáneo. Análisis clínico epidemiológico, bacteriológico e histopatológico. *Dermatol. Venezol.* 1995;3(1):25–34.

Babaahmady E. La tuberculosis animal. *Vet. Arg. Rev. Vet. Argent.* 2017; 34:1-16. Disponible en:

<https://www.veterinariargentina.com/revista/2017/05/la-tuberculosis-animal/>

Bobadilla del Valle M, Ponce d León A, Kato-Maeda M, Hernández-Cruz A, Calva-Mercado JJ, Chávez-Mazari B, Caballero-Rivera BA, Nolasco-García JC, Sifuentes-Osornio J. Comparison of Sodium Carbonate, Cetyl-Pyridinium Chloride, and Sodium Borate for Preservation of Sputa for Culture of Mycobacterium tuberculosis. *JCM.* [Internet]. 2003;41(9):4487–4488. Doi: 10.1128/JCM.41.9.4487-4488.2003

Cafure N, Amadío G, Centeno F, Carpio B, Leibovich B. La microscopia de fluorescencia en la investigación de Mycobacterium tuberculosis. [Internet]. Argentina: Organización Panamericana de la Salud; 1974 [Consultado 8 May 2023]. Disponible en:

<https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/10751/v77n4p292.pdf;jsessionid=4B2291C41E42630D795E416C7CEC96AF?sequence=1>

Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET) Universidad Complutense Madrid. y Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). Manual de procedimiento para la toma y envío de muestras para cultivo microbiológico y diagnóstico de tuberculosis. 2nd. ed. España: Manuales de Procedimiento del Programa Nacional de Erradicación de Enfermedades. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente - Universidad Complutense Madrid.; 2017.

Cuatindioy Murillo, L. Tuberculosis como antropozoonosis en clínica de pequeños animales. [Tesis de pregrado en Internet]. Ibagué: Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Ciencias de la Salud, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Ibagué; 2019 [citado: 2023, octubre] 20 p. Disponible en: <https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/9887f015-3055-4715->



[a7cb-c6c3183793f6/content](https://doi.org/10.1155/2017/9535463)

De Juan L. El Complejo Tuberculoso. Interacción con la Fauna Salvaje. I Curso sobre Enfermedades Emergentes y Fauna Salvaje, Sociedade Euromediterrânea de Vigilância de Fauna Selvagem, Colegio Oficial de Veterinarios de Zamora, Universidad de León, Zamora, España; 2010. (Comunicación oral)

Duro RP, Figueiredo-Dias P, Ferreira AA, Xerinda SM, Lima-Alves C, Sarmiento AC, Campos dos Santos L. Severe Tuberculosis Requiring Intensive Care: A Descriptive Analysis. Hindawi. [Internet]. 2017;2017:1–9. Doi: 10.1155/2017/9535463

Ghasemzadeh I, Namazi SH. Review of bacterial and viral zoonotic infections transmitted by dogs. J. Med. Life. [Internet]. 2015; 8(Spec Iss 4):1–5. PMID: 28316698 PMCID: PMC5319273

Gormley E, Corner LA. Pathogenesis of Mycobacterium bovis Infection: the Badger Model As a Paradigm for Understanding Tuberculosis in Animals. Front. Vet. Sci. [Internet]. 2018 4(247): 1-8. Doi: 10.3389/fvets.2017.00247.

Grant M. Jubb, Kennedy & Palmer's. Pathology of Domestic Animals. 5th . ed. California: St. Louis: Elsevier; 2015

Greene C. Infectious diseases of the dog and cat. 4th. ed. California: St. Louis: Elsevier; 2012.

Haydock LA, Abrams-Ogg AC, Weese JS, Goldstein MR, Clifford AB, Sebastian A, Rea E, Jamieson F, Duncan C, Andrievskaia O, Savic M, Slavic D, Foster RA, Greenwood CG, MacDonald TL, Scott JE, Sanchez A. Diagnostic and public health investigation of Mycobacterium tuberculosis infection in a dog in Ontario, Canada. J Vet Diagn Invest. [Internet]. 2022;34(2):292–297.doi: 10.1177/10406387221074706

Jiménez T. Análisis de los resultados histopatológicos, como complemento diagnóstico de las necropsias Morgue Judicial de Panamá 2010 [Tesis de Maestría]. Universidad de Panamá; 2010.[Citada 10 Jun 2023].51 p. Disponible en:

http://up-rid.up.ac.pa/3375/1/tailin_jimenez.pdf

Jiménez ÁT. Tuberculosis en mamíferos: tipos de respuesta inmune, consecuencias. Diagnóstico por IDRT. [Internet]. España: SociVE SC, 12 Octubre 2015. [Consultado 06 Jul 2023]. Disponible en: <https://www.socivesc.es/43-publicaciones-de-socivesc/105-tuberculosis-en-mamiferos->



[tipos-de-respuesta-inmune-consecuencias-diagnostico-por-idrt](#)

Jorge M, Schettino D, Fresneda K, Mendivil M, Traversa M, Sanz H. Portal Veterinaria. Tuberculosis en caninos y felinos: Epidemiología y diagnóstico. [Internet]. Argentina: Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina; 2018 [Consultado 14 Jun 2023]. Disponible en: <https://www.portalveterinaria.com/sanidad/tema/16990/tuberculosis-n-caninos-y-felinos-epidemiologia-y-diagnostico.html>

Kiehl G. Fundamentos y técnicas de Anatomía Patológica. 2nd .ed. Buenos Aires: El Ateneo; 2005.

Magoni M, Monguzzi A, Carotenuto L, Traldi V, Pacciarini ML, Boniotti MB. Isolation of Mycobacterium microti in Two Free-Ranging Roe Deer (Capreolus capreolus) from Italy. J Wildl Dis. [Internet]. 2017;53(2):413–417. Doi: 10.7589/2016-07-155

Mendoza L. Tuberculosis en animales. Arch. Med. Vet. [Internet]. 2005;37(2):93–105.
doi: 10.4067/S0301-732X2005000200002

Morán-Viscaíno A, Pérez-de-Val B, Reviriego-Gordejo FJ, Barasona JA, Soriguer RC, Bezos J, Marqués S, Risalde MA, Vicente J, González-Quirós P. Surveillance of tuberculosis in wildlife: A systematic review and meta-analysis of diagnostic tests validation. Transbound Emerg Dis. [Internet]. 2021;68(5):2270–2282. Doi: 10.1111/tbed.13990

Muñoz L, Fernández A. Contribución al diagnóstico de tuberculosis en animales silvestres. Rev. Salud Anim. [Internet]. 2003;25(1):3–7. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/435/43525101/>

Nakao T, Sakamoto N, Nakamura K, Yonemitsu K, Wada R, Uchida I. Detection of Mycobacterium tuberculosis in Naturally Infected Tuberculous Horses in Japan by a Whole-Blood Interferon- γ Release Assay. [Internet]. J Vet Med Sci. 2008;70(6):611–613. Doi: 10.1292/jvms.70.611

OIE – World Organisation for Animal Health. Bovine tuberculosis. In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris: OIE; 2019. [Consultado: 2023, julio]. Disponible en: <https://www.oie.int/es/normas/manuales-y-formularios/manual-terrestre/archivo-pdf/>

OIE – World Organisation for Animal Health. Manual de diagnóstico y vacunación para los animales terrestres. Paris: OIE; 2019. Disponible en: <https://www.oie.int/es/normas/manual-terrestre/acceso-en-linea/>



- Otter A, Twomey DF, Crawshaw T, Evans RJ, Davis P, Rodgers F, Nevel A, Jones K. Detection of Mycobacterium tuberculosis complex in livestock and other animals in the UK. JMM Case Rep. [Internet]. 2017;4(10):e005122. Doi: 10.1099/jmmcr.0.005122
- Pérez-Caballero R. Necropsias animales: ¿podemos mejorarlas? [Tesis Doctoral en Internet]. Lugo: Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Veterinaria; 2015. [Citado: 12 junio 2023]. 127 p. Disponible en: <https://ruc.usc.es/xmlui/handle/10347/13883>
- Pesciaroli M, Alvarez J, Boniotti MB, Cagiola M, Di Marco V, Marianelli C, Pacciarini ML, Pasquali P, Tuberculosis in domestic animal species. Res Vet Sci. [Internet]. 2014;97 Suppl:S78-S85. Doi: 10.1016/j.rvsc.2014.08.004
- Piché GE, Mohr FC, Stimmelmayer R, Glatz M, Vordermeier M. Postmortem diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in llama (Lama glama) by PCR. J Vet Diagn Invest. [Internet]. 2020;32(1):148–153. Doi: 10.1177/1040638720980519
- Reyes FM. Tuberculosis en animales de producción, conceptos básicos para el diagnóstico y control. Revista de Medicina Veterinaria. [Internet]. 2018;15(30):9–28. Disponible en: http://www.revistamvz.unicordoba.edu.co/articulos_pdf/volumen15/numeros2/tuberculosis.pdf
- Rodríguez-Campos S, Smith NH, Boniotti MB, Aranaz A. Overview and phylogeny of Mycobacterium tuberculosis complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis. Res Vet Sci. [Internet]. 2014;97 Suppl:S5-S19. Doi: 10.1016/j.rvsc.2014.02.009
- Romero-Palacios A, Moroni M, Casal C, Hemmi J, Risco D, Álvarez J. Asociación entre hallazgos anatomopatológicos y diagnóstico antemortem de tuberculosis bovina en Uruguay. Rev. MVZ Córdoba. [Internet]. 2018;23(2):6567–6580. Doi: 10.21897/rmvz.1325
- Segura-Correa JC, Villalobos-Sánchez H, Melgoza-Torres RA, Perera-Ortiz A, Barceló-Fimbres M, Mendoza-Haro J. Tuberculosis bovina: su importancia en salud pública. Rev. Mex. Cienc. Pecu. [Internet]. 2016;7(2):135–152. Doi: 10.22319/rmcp.v7i2.4103
- Thakur A, Sharma M, Katoch RC, Dhar P, Katoch VM, Sreekumaran T, Nigam P, Varshney A, Chahota R. Mycobacterium tuberculosis Infection in Equines in India: Diagnosis and Determination of the Severity of the Disease. J Equine Vet Sci. [Internet]. 2017;57:87–91. Doi:



10.1016/j.jevs.2017.06.010

- Torres-González P, Reviriego FJ, Barasona JA, Risalde MA, Gortázar C, Aznar J, Vicente J. An Outbreak of Tuberculosis Caused by *Mycobacterium bovis* in Captive Wild Animals in Spain. *Res Vet Sci*. [Internet]. 2021;137:80–84. Doi: 10.1016/j.rvsc.2021.04.026
- Vicente J, Höfle U, Garrido JM, Fernández-De-Mera IG, Acevedo P, Juste R, Barral M, Gortázar C. Wild boar and red deer display high prevalences of tuberculosis-like lesions in Spain. *Vet Res*. [Internet]. 2006;37(1):107–119. Doi: 10.1051/vetres:2005041
- Vordermeier HM, Jones GJ, Buddle BM, Hewinson RG, Villarreal-Ramos B. Bovine tuberculosis in cattle: vaccines, DIVA tests, and host biomarker discovery. *Annu Rev Anim Biosci*. [Internet]. 2016;4(1):87–109. Doi: 10.1146/annurev-animal-021815-111320
- Waltisbuhl DJ, Moré G, Clavería FG. La tuberculosis en el ciervo colorado (*Cervus elaphus*): experiencia en Sudamérica. *Rev Argent Microbiol*. [Internet]. 2020;52(2):168–174. Doi: 10.1016/j.ram.2020.02.005
- Waters WR, Thacker TC, Nelson JT, DiCarlo DM, Maggioli MF, Greenwald R, Esfandiari J, Lyashchenko KP. Virulence of Two Strains of *Mycobacterium bovis* in Cattle Following Aerosol Infection. *J Comp Pathol*. [Internet]. 2014;151(4):410–419. Doi: 10.1016/j.jcpa.2014.08.003
- Waters WR, Palmer MV, Thacker TC, Bannantine JP, Vordermeier HM, Hewinson RG, Greenwald R, Esfandiari J, McNair J, Pollock JM, Andersen P, Lyashchenko KP. Early Antibody Responses to Experimental *Mycobacterium bovis* Infection of Cattle. *Clin Vaccine Immunol*. [Internet]. 2006;13(6):648–654. Doi: 10.1128/CVI.00053-06
- Waters WR, Vordermeier HM, Rhodes S, Khatri B, Palmer MV, Maggioli MF, Thacker TC, Nelson JT, Greenwald R, Esfandiari J, Lyashchenko KP. Potential for Rapid Antibody Detection to Identify Tuberculosis in African Wildlife. *Am J Trop Med Hyg*. [Internet]. 2010;83(5):1169–1175. Doi: 10.4269/ajtmh.2010.10-0222
- Waters WR, Stevens GE, Schoenbaum MA, Orloski KA, Robbe-Austerman S, Harris NB, Hall SM, Thomsen BV, Wilson AJ, Brannian RE, Nelson JT, Swenson SL, Brown WC, Thacker TC, Sreevatsan S, Esfandiari J, Greenwald R, Lyashchenko KP. Bovine tuberculosis in a Nebraska



- herd of farmed elk and fallow deer: a failure of the tuberculin skin test and opportunities for serodiagnosis. *Vet Med Int.* [Internet]. 2011;2011:953985. Doi: 10.4061/2011/953985
- Waters WR, Palmer MV, Buddle BM, Vordermeier HM. Bovine tuberculosis vaccine research: historical perspectives and recent advances. *Vaccine.* [Internet]. 2012;30(16):2611–2622. Doi: 10.1016/j.vaccine.2012.01.045
- Waters WR, Palmer MV, Buddle BM, Vordermeier HM. Development and evaluation of a rapid antibody test for tuberculosis in bovine serum samples. *Clin Vaccine Immunol.* [Internet]. 2013;20(6):907–913. Doi: 10.1128/CVI.00058-13
- Waters WR, Buddle BM, Vordermeier HM. Status and development of tuberculosis diagnostics for use in cattle. *Vaccine.* [Internet]. 2017;35(48 Pt B):6649–6653. Doi: 10.1016/j.vaccine.2017.04.089
- Waters WR, Buddle BM, Palmer MV, Thacker TC, Davis WC, Sreevatsan S, Coussens P, Meade KG, Hope JC, Vordermeier HM. Bovine tuberculosis vaccine research: targeting early stages of infection in cattle. *Transbound Emerg Dis.* [Internet]. 2021;68(2):534–546. Doi: 10.1111/tbed.13643
- Whipple DL, Bolin CA, Miller JM. Distribution of lesions in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *J Vet Diagn Invest.* [Internet]. 1996;8(3):351–354. Doi: 10.1177/104063879600800313
- WHO. Global tuberculosis report 2020. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>
- Wolfe ND, Dunavan CP, Diamond J. Origins of major human infectious diseases. *Nature.* 2007;447(7142):279–283. Doi: 10.1038/nature05775
- Wood PR, Rothel JS. In vitro immunodiagnostic assays for bovine tuberculosis. *Vet Microbiol.* 1994;40(1-2):125–135. Doi: 10.1016/0378-1135(94)90067-1
- Wood PR, Corner LA, Rothel JS, Baldock C, Jones SL, Cousins DB, McCormick BS, Francis BR, Creeper JH, Tweddle NE. Field comparison of the interferon-gamma assay and the intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. *Aust Vet J.* 1991;68(8):286–290. Doi: 10.1111/j.1751-0813.1991.tb09762.x
- Wood PR, Rothel JS, Rinsky JL. Evaluation of rapid methods for the detection of *Mycobacterium bovis*



in bovine lymph nodes. Aust Vet J. 1990;67(9):323–326. Doi: 10.1111/j.1751-0813.1990.tb03011.x

World Organisation for Animal Health (OIE). Bovine tuberculosis. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2019. Disponible en: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access/>

World Organisation for Animal Health (OIE). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Chapter 3.4.6. Bovine tuberculosis. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2021. Disponible en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.06_BOVINE_TB.pdf

World Organisation for Animal Health (OIE). OIE-Listed diseases, infections and infestations in force in 2022. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE); 2022. Disponible en: <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2022/>

World Health Organization (WHO). WHO Expert Committee on Tuberculosis. Tenth Report. WHO Technical Report Series, No. 552. Geneva: World Health Organization (WHO); 1974. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41078>

World Health Organization (WHO). WHO Expert Committee on Tuberculosis. Twenty-second Report. WHO Technical Report Series, No. 759. Geneva: World Health Organization (WHO); 1987. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/39102>

World Health Organization (WHO). WHO Expert Committee on Tuberculosis. Thirtieth Report. WHO Technical Report Series, No. 777. Geneva: World Health Organization (WHO); 1988. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41543>

World Health Organization (WHO). WHO Expert Committee on Tuberculosis. Thirty-third Report. WHO Technical Report Series, No. 785. Geneva: World Health Organization (WHO); 1989. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41362>

World Health Organization (WHO). WHO Expert Committee on Tuberculosis. Thirty-fifth Report. WHO Technical Report Series, No. 787. Geneva: World Health Organization (WHO); 1990. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41426>



World Health Organization (WHO). WHO Expert Committee on Tuberculosis. Thirty-sixth Report.

WHO Technical Report Series, No. 799. Geneva: World Health Organization (WHO); 1990.

Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/40357>

