



BUAP

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

“Epidemiología de la tuberculosis bovina en el Estado de Puebla del 2014 al 2016 y el riesgo a la salud humana y animal”

Tesis presentada para obtener el título de:

MAESTRÍA EN MEDICINA VETERINARIA Y
PRODUCCIÓN ANIMAL

Presenta:

MVZ José Rosales Martínez

Directores:

MC. Felicitas Vazquez Flores
Dr. Maximo Mendez Mendoza
M en C. Gerardo Aguirre Espindola
Dr. Néstor Méndez Palacios

Tecamachalco Puebla, junio de 2018

ESTE TRABAJO LO DEDICO Y LE AGRADEZCO A:

Dios por iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, porque gracias a ti he podido cerrar un ciclo, por fortalecer mi corazón y enseñarme cada día a tener nuevas ilusiones y metas.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Benemérita Universidad Autónoma del Estado de Puebla, que abrió sus puertas del conocimiento para mí, siendo a su vez nido de muchos que como yo eligieron esta extraordinaria carrera y que con mucho orgullo, pasión y respeto representaré.

Al Comité de Fomento y Salud Animal del Estado de Puebla por brindarme el apoyo y facilidades para poder lograr esta nueva meta.

Al Laboratorio Cordobés de Diagnóstico Pecuário por apoyarme con el diagnóstico de la pruebas enviadas.

A todos mis maestros de la maestría por sus conocimientos, consejos, confianza y formación, en especial a la MC. Felicitas Vazquez Flores, pieza clave en la realización de este trabajo, al Dr. Maximo Mendez Mendoza por su sabiduría y tiempo, al M en C. Gerardo Aguirre Espindola, por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales, a mi compañero en la Licenciatura el Dr. Néstor Méndez Palacios por su tiempo compartido y asesoría.

Con todo mi amor para mis padres Laura Martínez Gómez y José Rosales Mejía, ya que ellos iniciaron parte de mi formación en la carrera de médico veterinario zootecnista, los seres más importantes en mi vida y a quienes les debo todo, les agradezco por apoyarme siempre y porque me dieron la oportunidad de desarrollarme y tener una profesión.

A mis hermanos Alberto Rosales y Jorge Rosales, que siempre estuvieron al pendiente de cómo iba con esta nueva meta propuesta, su constante apoyo, su ejemplo de superación.

A mi esposa siendo la mayor motivación en mi vida encaminada al éxito, por su sacrificio y esfuerzo, poniendome el ejemplo de obtener un posgrado, fue el ingrediente perfecto para poder lograr alcanzar esta meta en mi vida, el constante estímulo de superación y perseverancia, el abrirme los ojos a que si se tienen algunos conocimientos es necesario reforzarlos y aportarlos a quien les puedan servir, siempre con esa humildad que la caracteriza; le dedico el haber culminado esta tesis con éxito y te agradezco por tantas ayudas y tantos aportes no solo para el desarrollo de mi tesis, sino también para mi vida; eres mi inspiración y mi motivación.

Sinceramente José Rosales Martínez

INDICE GENERAL

Resumen	1
Abstract	3
Introducción	5
Bacterias	7
Micobacterias	10
Clasificación de las micobacterias	14
Infecciones clínicas	16
Diferenciación de micobacterias patógenas.....	18
Tuberculosis bovina	19
Mecanismo de transmisión.....	21
Periodo de incubación.....	23
Patogenia y patogenicidad	23
Signos clínicos	25
Inmunología	26
Modificación de las enfermedades bacterianas debido a las respuestas inmunes.....	28
Diagnóstico microbiológico.....	29
Procedimientos de diagnóstico	30
Reacciones a la tuberculina en bóvidos.....	36
Tratamiento	39
Salud Pública	39
Distribución geográfica.....	42
Antecedentes	44
Justificación	48
Objetivos	49
Objetivo general.....	49
Objetivos particulares.....	49
Material y métodos	50
Área de estudio	50

Tipo de estudio y muestreo	51
Metodología	52
Resultados	54
Riesgo a la salud pública	69
Discusión	73
Conclusión	78
Referencias	79

INDICE DE CUADROS

No.	Título	Página
1	Algunas características de micobacterias representativas	13
2	Micobacterias que son patógenas para animales y humanos	17
3	Pruebas de la tuberculina empleadas en bóvidos	38
4	Grupo etario por sexo de los animales muestreados para diagnóstico de tuberculosis en el año 2014, en el estado de Puebla	54
5	Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2014	56
6	Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región B en el estado de Puebla en el año 2014	57
7	Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2014	57
8	Grupo etario por sexo de los animales muestreados para diagnóstico de tuberculosis en el año 2015, en el estado de Puebla	58
9	Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2015	60
10	Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región B en el estado de Puebla en el año 2015	60
11	Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2015	62
12	Grupo etario por sexo de los animales muestreados para diagnóstico de tuberculosis en el año 2016, en el estado de Puebla	63

13	Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2016	65
14	Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región B en el estado de Puebla en el año 2016	66
15	Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2016	67
16	Estimación del riesgo, probabilidad de difusión y exposición de tuberculosis	70
17	Estimación del riesgo, evaluación de las consecuencias de la presencia de tuberculosis.....	70
18	Estimación del riesgo, probabilidad de difusión y exposición de tuberculosis	71
19	Estimación del riesgo, evaluación de las consecuencias de la presencia de tuberculosis.....	71

INDICE DE FIGURAS

No.	Título	Página
1	Mecanismos por los cuales las bacterias intracelulares pueden evitar la destrucción celular	9
2	Estructura del (a) ácido micólico y (b) fuchsina básica, colorante en la tinción de ácido alcohol resistentes. La fuchsina se combina con el ácido micólico a través de enlaces iónicos entre COO- y NH ₂ ⁺	11
3	Diagrama esquemático que representa el mecanismo de una reacción de hipersensibilidad retardada.....	35
4	Estatus zoonosario de la Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (<i>Mycobacterium bovis</i>) en México	43
5	Clasificación de los Estados por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) de acuerdo a la prevalencia de tuberculosis en bovinos	43
6	Ubicación geográfica del estado de Puebla, México	50
7	Regionalización de la tuberculosis bovina en el estado de Puebla, 2012... 51	
8	Muestras obtenidas para diagnóstico de tuberculosis por tipo de animal en el año 2014	54
9	Municipios que han presentado bovinos positivos a tuberculosis en el estado de Puebla durante el año 2014	55
10	Patologías encontradas en los bovinos muestreados en el estado de Puebla durante el año 2014.....	58
11	Muestras obtenidas para diagnóstico de tuberculosis por tipo de animal en el año 2015	59
12	Municipios que han presentado bovinos positivos a tuberculosis en el estado de Puebla durante el año 2015	61
13	Patologías encontradas en los bovinos muestreados en el estado de Puebla durante el año 2015.....	63
14	Muestras obtenidas para diagnóstico de tuberculosis por tipo de animal en el año 2016.....	64

15	Municipios que han presentado bovinos positivos a tuberculosis en el estado de Puebla durante el año 2016	65
16	Patologías encontradas en los bovinos muestreados en el estado de Puebla durante el año 2016	68
17	Comportamiento de la tasa de prevalencia de la tuberculosis en el estado de Puebla y por zona de los años 2014 a 2016.....	68
18	Comportamiento del número de municipios con bovinos positivos a tuberculosis en el estado de Puebla y por zona de los años 2014 a 2016	69

RESUMEN

La tuberculosis bovina es una enfermedad bacteriana crónica e infecciosa, causada por *Mycobacterium bovis*; es importante en el ganado vacuno, en otros animales domésticos y en algunas poblaciones de animales salvajes, pero sus efectos sobre la producción animal y salud pública se han hecho notorios en el desarrollo de la ganadería; por lo que el objetivo de esta investigación fue establecer el panorama epidemiológico de la tuberculosis bovina en el estado de Puebla de los años 2014 al 2016, analizar el riesgo a la salud pública y establecer las patologías más frecuentes como diagnóstico diferencial de la enfermedad. Para lo cual se realizó un estudio observacional con un muestreo no probabilístico por conglomerados y conveniencia; las muestras obtenidas fueron de tejidos con lesiones por tuberculosis a bovinos sospechosos y determinados como reactores a las pruebas diagnósticas de campo y que fueron sacrificados en rastro, se colocaron en 2 frascos, uno con formol amortiguado al 10% y el otro con borato de sodio, se trasladaron al Comité de Fomento y Salud Animal del Estado de Puebla para su agrupación y posterior envío al Laboratorio Cordobés de Diagnóstico Pecuário, para el diagnóstico histopatológico y bacteriológico; una vez obtenidos los resultados se correlacionaron para su análisis epidemiológico. Como resultados, para el año 2014 se obtuvieron 134 muestras de las cuales el 48.5% salieron positivas a tuberculosis lo que representa una tasa de prevalencia de 11.2 por cada 100,000 animales en 26 de los 47 municipios muestreados, dentro de las patologías encontradas, el 43% de los bovinos muestreados presentaron lesiones típicas de tuberculosis, el 34% no presentaron ningún daño patológico aparente. En el 2015 de los 82 bovinos muestreados se detectaron 32 positivos a tuberculosis en 19 municipios, lo que representa una frecuencia relativa del 39% y una tasa de prevalencia de 5.5 por cada 100,000 bovinos; a su vez el 34.1% presentó lesiones típicas de tuberculosis y el 32.9% no presentó ningún daño patológico aparente. De las 122 muestras obtenidas en el año 2016, el 67.2% fueron positivas a tuberculosis, lo que representa una tasa de prevalencia de 14.2, y estos animales fueron originarios de 22 de los 31 municipios muestreados;

patológicamente el 58% presentó lesiones sugestivas a tuberculosis y el 20% no presentó daño patológico aparente. El comportamiento de la tasa de prevalencia de tuberculosis en el periodo de estudio, se incrementó para el 2016 después de una disminución en el año 2015, aunque en el número de municipios con tuberculosis presentó una tendencia a la baja. Existe riesgo muy bajo a la salud pública por contacto con un animal con signología sugestiva a tuberculosis y un riesgo moderado de transmisión de tuberculosis por *M. bovis* a los humanos por el consumo de productos y subproductos sin pasteurizar.

ABSTRACT

Bovine tuberculosis is a chronic and infectious bacterial disease, caused by *Mycobacterium bovis*; it is important in cattle, in other domestic animals and in some populations of wild animals, but its effects on animal production and public health have become evident in the development of livestock; Therefore, the objective of this research was to establish the epidemiological status of bovine tuberculosis in the state of Puebla from 2014 to 2016, analyze the risk to public health and establish the most frequent pathologies such as the differential diagnosis of the disease. An observational study was carried out with a non-probabilistic sampling by conglomerates and convenience; the samples obtained were from tissues with tuberculosis lesions to suspect cattle and reactors to the field diagnostic tests and that were slaughtered, this samples were placed in 2 bottles, one with 10% buffered formalin and the other with sodium borate, they were transferred to the Comité de Fomento y Salud Animal del Estado de Puebla for their grouping and their subsequently shipment to the Laboratorio Cordobés de Diagnóstico Pecuário, for the histopathological and bacteriological diagnosis; the results were correlated for their epidemiological analysis. As results, in 2014, 134 samples were obtained, of which 48.5% were positive for tuberculosis, this represents a prevalence rate of 11.2 per 100,000 animals in 26 of the 47 municipalities sampled; the pathologies found, 43 % of the bovines sampled presented typical lesions of tuberculosis, 34% did not present any apparent pathological damage. In 2015, 32 of the 82 bovines sampled were positive to tuberculosis and were detected in 19 municipalities, representing a relative frequency of 39% and a prevalence rate of 5.5 per 100,000 cattle; In addition, 34.1% presented typical lesions of tuberculosis and 32.9% did not present any apparent pathological damage. Of the 122 samples obtained in 2016, 67.2% were positive for tuberculosis, which represents a prevalence rate of 14.2, and these animals were native of 22 of the 31 municipalities sampled; Pathologically, 58% presented lesions suggestive of tuberculosis and 20% showed no apparent pathological damage. The behavior of the tuberculosis prevalence rate in the study

period increased for 2016 after a decrease in 2015, although the number of municipalities with tuberculosis showed a downward trend. There is very low risk to public health from contact with an animal with a suggestive signology of tuberculosis; and a moderate risk of transmission of tuberculosis by *M. bovis* to humans due to the consumption of unpasteurized products and byproducts.

INTRODUCCIÓN

Las diferencias en la forma y la estructura entre los animales y las plantas, en las que hasta el siglo pasado se basaba la clasificación de los seres vivos se pueden atribuir a los tipos de nutrición. Los reinos vegetal y animal pudieron delimitarse de forma precisa mientras se conocía poco a los microorganismos. Incluso los hongos tenían tantos caracteres en común con los vegetales, que sin tener en cuenta su tipo heterotrófico de nutrición, podían incluirse entre las plantas. Más difícil resultó decidir a qué reino pertenecían las bacterias, los mixomicetos, y otros seres unicelulares (Schlegel y Zaborosch, 1997).

Para el tercer reino de los seres vivos se crea el nombre colectivo de Protistas. Así, Ernst Haeckel (1866) ordenó al mundo de los organismos en tres grupos principales o reinos: animal, vegetal y de los protistas. Basándose en las teorías de la selección y de la herencia de Charles Darwin (1859), reunió Haeckel a todos los géneros y especies vegetales y animales conocidos hasta el momento bajo el punto de vista de su posible desarrollo y distribuyó en un árbol filogenético la posible evolución a partir de una raíz común, "*Radix communis organismorum*" (Schlegel y Zaborosch, 1997).

El tercer reino de los Protistas incluye a aquellos organismos que se separan de los animales y los vegetales por una diferenciación morfológica muy escasa; la mayoría son unicelulares. En base a su estructura celular pueden dividirse los protistas en dos grupos perfectamente delimitados: eucariotas o protistas superiores que se parecen en cuanto a la constitución de sus células a los animales y a las plantas; a ellos pertenecen las algas, los hongos, y los protozoos. Entre los protistas inferiores se cuentan las bacterias y las cianobacterias (algas verde azules) también denominados procariotas, y se diferencian por su constitución celular de todos los demás organismos (Schlegel y Zaborosch, 1997).

Los procariotas carecen de un núcleo rodeado por una membrana. El DNA se presenta en forma de una hebra circular cerrada libre en el citoplasma. Este cromosoma bacteriano lleva toda la información necesaria para la reproducción de la célula. La célula procariota no presenta orgánulos; la subdivisión de la célula en compartimentos es mucho menos acusada que en la célula eucariota. Los ribosomas son pequeños (70S). La naturaleza de los ribosomas y de las enzimas implicados en la síntesis proteica, así como la composición de la pared celular procariota, son la causa de la acción específica de varios antibióticos (Schlegel y Zaborosch, 1997).

Morfológicamente los procariotas están relativamente poco diferenciados. Según su aspecto sólo pueden diferenciarse unas pocas formas, que generalmente se reducen a la esfera y al cilindro recto o curvado como formas básicas. A esta "uniformidad" se opone una versatilidad y flexibilidad fisiológicas sin par. Muchos grupos de procariotas pueden vivir en ausencia de aire (en condiciones anaeróbicas), y de extraer la energía necesaria para el crecimiento a través de fermentaciones o respiraciones anaeróbicas. Otros grupos pueden utilizar la energía luminosa y obtener el material celular a partir de compuestos orgánicos o de anhídrido carbónico (Schlegel y Zaborosch, 1997).

Además, otras bacterias son capaces de obtener energía por oxidación de compuestos o elementos inorgánicos. También está ampliamente extendida la capacidad de fijar el nitrógeno molecular (Schlegel y Zaborosch, 1997).

Los microorganismos pertenecientes al dominio Archaea (anteriormente Archaeobacteria) no están asociados con enfermedades de animales domésticos. Los organismos (bacterias) pertenecientes al dominio las bacterias (anteriormente Eubacteria) incluyen muchos patógenos de importancia veterinaria (Quinn *et al.*, 2011).

Bacterias

Al menos se conocen 17 linajes principales (*phyla*) de bacterias que derivan del estudio de cultivos de laboratorio, y otros muchos han sido identificados al secuenciar genes de rRNA de Bacteria en hábitats naturales (Madigan *et al.*, 2003).

Las bacterias poseen una estructura relativamente simple, son unicelulares y son más pequeñas y menos complejas que las células eucariotas. Usualmente tienen paredes celulares rígidas que contienen una capa de peptidoglicano, se multiplican por fisión binaria y exhiben una considerable diversidad morfológica, sin membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi ni retículo endoplásmico (Murray *et al.*, 2014).

Se presentan como barras, *cocci* y formas helicoidales y ocasionalmente como filamentos ramificados. A pesar de su diversidad morfológica, la mayoría de las bacterias tienen entre 0,5 y 5 μm de longitud (Quinn *et al.*, 2011). Para realizar una clasificación preliminar de las bacterias se utiliza su tamaño, forma (esferas, bastoncillos, espirales) y disposición espacial (células aisladas, en cadenas y formando cúmulos); mientras que su clasificación definitiva se refiere a sus propiedades fenotípicas y genotípicas (Murray *et al.*, 2014).

La pared celular que rodea a las bacterias es compleja, y existen dos formas básicas: una pared celular grampositiva con una gruesa capa de peptidoglucano y una pared celular gramnegativa con una delgada capa de peptidoglucano, así como una membrana externa. Algunas bacterias carecen de pared celular y compensan su ausencia sobreviviendo tan sólo en el interior de células del organismo anfitrión o en un ambiente hipertónico (Murray *et al.*, 2014).

Las bacterias móviles poseen flagelos por los cuales pueden moverse a través de medios líquidos; el flagelo tiene una constitución considerablemente más sencilla

que la de los eucariotas, y está formada por una sola fibrilla (Schlegel y Zaborosch, 1997).

La mayoría de las bacterias pueden crecer en medios inertes adecuados; Algunos requieren suplementos de crecimiento especiales y condiciones atmosféricas particulares para el crecimiento. Dos grupos de bacterias pequeñas, rickettsiae y chlamydiae, que son incapaces de multiplicarse en medios inertes, requieren células vivas para crecimiento in vitro. Las cianobacterias, antes conocidas como algas azules-verdes, utilizan la clorofila para algunas vías metabólicas. A diferencia de las algas, que almacenan la clorofila en organelos conocidos como cloroplastos, las cianobacterias tienen clorofila distribuida dentro de sus membranas celulares (Quinn *et al.*, 2011).

Las bacterias se multiplican generalmente por división binaria. Tras el alargamiento de la célula construyen de fuera hacia dentro paredes transversales que van progresando, y las células hijas se separan. Sin embargo, muchas bacterias, en condiciones ambientales determinadas, permanecen unidas en grupos característicos después de la división durante un cierto tiempo. Según el plano de división y el número de divisiones pueden diferenciarse, por ejemplo, en las bacterias esféricas, parejas (diplococos), cadenas (estreptococos), placas o paquetes (sarcina). También los bacilos se presentan en parejas o cadenas. La reproducción por gemación constituye la excepción dentro de los procariontes (Schlegel y Zaborosch, 1997).

Las bacterias pueden emplear muchas estrategias diferentes para asegurar su supervivencia en el interior de los macrófagos. Algunas bacterias utilizan una cubierta protectora para protegerse contra las enzimas lisosomales (por ejemplo *Corynebacterium pseudotuberculosis*); otras bacterias para evitar la destrucción es sencillamente escapar del fagosoma y persistir libremente en el interior del citoplasma, rodeadas por una capa de actina polimerizada (por ejemplo *Listeria monocytogenes*) Un tercer mecanismo es que las bacterias se aseguran de que

no van a exponerse a estas enzimas interfiriendo con la maduración de los fagosomas (Figura 1) (Tizard, 2009).

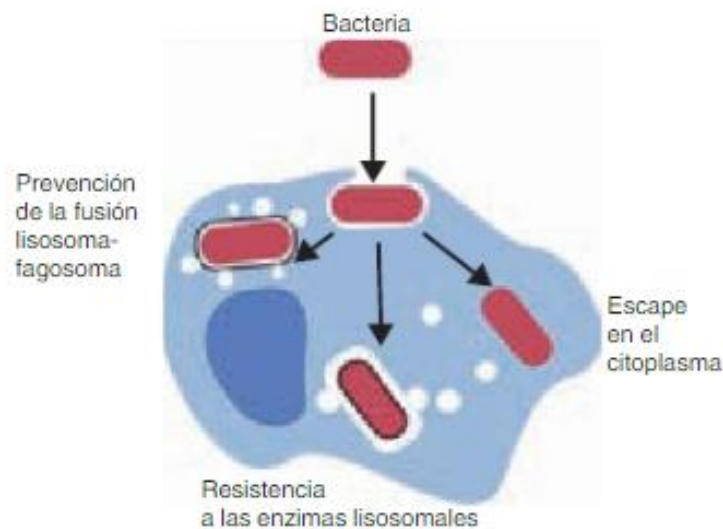


Figura 1. Mecanismos por los cuales las bacterias intracelulares pueden evitar la destrucción celular (Tizard, 2009).

La interacción entre el sistema inmunitario y los microorganismos infecciosos es una relación dinámica que se establece entre los mecanismos del huésped dirigidos a eliminar la infección y las estrategias microbianas diseñadas para permitir la supervivencia ante estos poderosos mecanismos de defensa. Distintos tipos de microbios estimulan diferentes tipos de respuestas inmunitarias y han desarrollado mecanismos peculiares para evitar la inmunidad. En algunas infecciones, la respuesta inmunitaria es la causa de una lesión de los tejidos y de enfermedad (Abbas *et al.*, 2015).

El organismo humano está habitado por miles de especies bacterianas distintas; mientras algunas mantienen una relación parasitaria temporal, otras habitan en el ser humano de manera permanente. También se encuentran bacterias en el ambiente, como el aire que se respira, el agua que se bebe y los alimentos que se comen; aunque muchas de ellas son relativamente avirulentas, otras son capaces de provocar enfermedades potencialmente mortales. La enfermedad puede deberse a los efectos tóxicos de los productos bacterianos (toxinas) o bien a la

invasión de regiones corporales que acostumbran ser estériles (Murray *et al.*, 2014).

Micobacterias

El orden de los *Actinomyceta* les incluye la familia *Mycobacteriaceae*, *Actinomycetaceae*, *Streptomycetaceae* y *Nocardiaceae*. La familia *Mycobacteriaceae* contiene un solo género, el género *Mycobacterium* (Dorronsoro y Torroba, 2007).

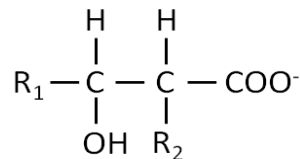
Las micobacterias son microorganismos aeróbicos, no formadoras de esporas, no móviles, en forma de varilla; las varillas de *Mycobacterium bovis* y *M. avium* subsp. *avium* son delgadas y hasta 4µm de longitud, mientras que los de *M. avium* subsp. *paratuberculosis* son anchos y usualmente son menos de 2µm de largo (Quinn *et al.*, 2011).

Por su morfología se sitúan entre las corinebacterias y los proactinomicetos (nocardias). No forman micelio, sino que crecen como células de forma irregular, ligeramente ramificadas. Son Gram positivas. Se diferencian de las corinebacterias por su "ácido resistencia" (Schlegel y Zaborosch, 1997). La acido-resistencia se debe al elevado contenido de la pared celular en ácidos micólicos, que hacen que las células de las micobacterias sean de características ceras y fuertemente hidrófobas (Schlegel y Zaborosch, 1997). El género *Mycobacterium* en algún momento de su ciclo biológico tienen la propiedad de ser ácido alcohol resistente (AAR). Esta propiedad es debida a la presencia en la superficie de la micobacteria de unos componentes lipídicos únicos denominados ácidos micólicos y se encuentran solamente en el género *Mycobacterium* (Madigan *et al.*, 2003).

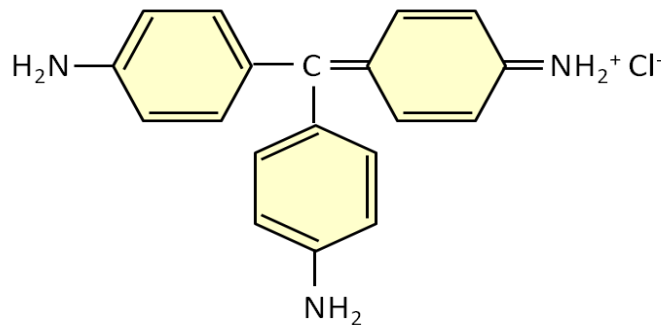
Fueron descubiertos por Robert Koch en sus trabajos pioneros sobre la tuberculosis; la propiedad de ser AAR permite un diagnóstico rápido en lesiones tuberculosas y ha significado sin duda una gran ayuda para la definición del género *Mycobacterium* (Madigan *et al.*, 2003).

Aunque las micobacterias son citoquímicamente Gram positivas, el alto contenido en lípidos y el ácido micólico de sus paredes celulares impiden el aumento de los colorantes empleados en la tinción de Gram. Los lípidos de la pared celular se unen a carbol-fucsina que no se elimina por el decolorante ácido-alcohol utilizado en el método de tinción con Ziehl-Neelsen. Los bacilos que se manchan de color rojo por este método se llaman ácido-rápido o ZN-positivo (Quinn *et al.*, 2011).

Como se ha indicado, el componente responsable de este peculiar comportamiento es el ácido micólico que es un hidroxilípido de cadena larga y ramificada (Figura 2^a). La reactividad radica en su grupo carboxilo que reacciona con el ion amonio de la fucsina (Figura 2^b). Eventualmente estos lípidos se unen al péptido glucano de la pared celular con lo que ésta adquiere una clara consistencia lipídica. Las micobacterias no se tiñen por el método de Gram precisamente debido a este material lipídico; si el lípido se extrae con etanol, las células resultantes ya no son AAR sino Gram positivas normales (Madigan *et al.*, 2003).



(a) Ácido micólico; R₁ y R₂ son hidrocarburos alifáticos de cadena larga



(b) Fucsina básica.

Figura 2. Estructura del (a) ácido micólico y (b) fucsina básica, colorante en la tinción de ácido alcohol resistentes. La fucsina se combina con el ácido micólico a través de enlaces iónicos entre COO⁻ y NH₂⁺ (Madigan *et al.*, 2003).

Una característica de muchas micobacterias es su capacidad de formar pigmentos carotenoidicos amarillos. Basado en su pigmentación, las micobacterias pueden clasificarse en tres grupos: no pigmentadas (incluyendo *M. tuberculosis*, *M. bovis*); las que forman pigmentos solamente en presencia de luz (fotocromogénicas; *M. kansasii*, *M. marinum*) y las que forman pigmentos incluso en la oscuridad (escotocromogénicas; *M. gordonae*, *M. paraffinicum*) (Madigan *et al.*, 2003).

Con respecto a la composición de la pared celular *Corynebacterium*, *Mycobacterium* y *Nocardia* presentan semejanzas y diferencias. La estructura de mureína es semejante a la de las bacterias Gram negativas; no obstante, está unida a un arabinogalactano, un polisacárido compuesto de arabinosa y galactosa. A este se unen lípidos, los ácidos micólicos. Se trata de 3-hidroxiácidos ramificados (RI-CHOH-CHR2-COOH), sustituidos en las posiciones 2 y 3 por cadenas alifáticas. Estas cadenas son de longitud variable. Los ácidos micólicos de las corinebacterias tienen de 32 a 36 átomos de carbono, los de las nocardias de 48 a 58, y los de las micobacterias de 79 a 85. Los ácidos micólicos de cadena larga son los únicos que confieren ácido resistencia (Schlegel y Zaborosch, 1997).

La mayoría de las micobacterias tienen relativamente requerimientos nutricionales simples. El crecimiento normalmente ocurre en medios de sales minerales simples con amoníaco como fuente de nitrógeno y glicerol o acetato como fuente de carbono y donador de electrones en aerobiosis. El crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* es estimulado por lípidos, ácidos grasos, yema de huevo que pueden añadirse al medio de cultivo para conseguir crecimientos más rápidos. El medio de Lowenstein-Jensen es el medio habitual para el aislamiento primario de este microorganismo en lesiones patológicas (Madigan *et al.*, 2003).

Las micobacterias son bastante pleomórficas y pueden llevar a cabo, bajo ciertas circunstancias, un crecimiento ramificado. Sin embargo y cuando hacen esto, las ramificaciones se rompen generando células bacilares normales. Se pueden

separar en dos grandes grupos, de crecimiento lento y crecimiento rápido (Cuadro 1). *Mycobacterium tuberculosis* es un típico de crecimiento lento, de modo que colonias aparentes solamente se visualizan en placa después de varios días, incluso semanas (depende de la cepa) de incubación. Cuando crecen en medio sólido, las micobacterias forman generalmente colonias apretadas y arrugadas que se elevan sobre la placa en lugar de extenderse por la superficie. Esta formación es probablemente debida al alto contenido lipídico y a la naturaleza hidrofóbica de la superficie celular (Madigan *et al.*, 2003).

Cuadro 1. Algunas características de micobacterias representativas (Madigan *et al.*, 2003).

Especie	Crecimiento en NaCl al 5%	Reducción de nitrato	Crecimiento a 45°C	Patógeno de humanos	Pigmentación
De crecimiento lento					
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-	+	-	+	Ninguna
<i>Mycobacterium avium</i>	-	-	-	+	Colonias viejas pigmentadas
<i>Mycobacterium bovis</i>	-	-	+	+	Ninguna
<i>Mycobacterium kansasii</i>	-	+	-	+	Fotocromogénico
De crecimiento rápido					
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	+	+	+	-	Ninguna
<i>Mycobacterium phlei</i>	+	+	+	-	Pigmentado
<i>Mycobacterium chelonae</i>	+	-	-	+	Ninguna
<i>Mycobacterium parafortuitum</i>	+	+	-	-	Fotocromogénico

Las paredes ricas en lípidos hacen que las micobacterias sean hidrofóbicas y resistentes a influencias ambientales adversas. Las micobacterias ambientales se encuentran en el suelo, en la vegetación y en otros lugares. Los patógenos obligatorios, vertidos por animales infectados, también pueden sobrevivir en el medio ambiente durante períodos prolongados (Quinn *et al.*, 2011).

Sin embargo, las micobacterias también están distribuidas en los suelos. Muchas pueden crecer con parafinas, hidrocarburos aromáticos e hidroaromáticos, y pueden hacerse crecer sobre medios minerales, que contengan únicamente sales,

en una atmosfera de petróleo, naftaleno u otros hidrocarburos volátiles, a partir de grumos de tierra. Mientras que las especies patógenas necesitan medios complejos y crecen lentamente, las bacterias del suelo no requieren ningún suplemento y crecen relativamente rápido (Schlegel y Zaborosch, 1997).

Clasificación de las micobacterias

En el pasado, se han realizado varios intentos para dividir las micobacterias en grupos, primero en patógenos y saprofitos, luego en anónimos, típicos o atípicos, oportunistas, no tuberculosos, ambientales y otros (Runon, 1959; Davidson, 1981; Jenkins, 1981; Wolinsky, 1979, Grange, 1991). Estas designaciones, útiles inicialmente, produjeron posteriormente confusión debido a diferentes interpretaciones. Si se acepta generalmente que el término micobacteriosis se utiliza para definir la enfermedad causada por micobacterias, entonces los términos atípicos, oportunistas o no tuberculosos no pueden considerarse apropiados para especies micobacterianas que causan tuberculosis granulomatosa. Por lo tanto, no puede ser correcto clasificar *M. avium* como una micobacteria no tuberculosa debido a su capacidad de causar tuberculosis no sólo en las aves, sino también en los seres humanos (Kazda, 2000).

Las micobacterias incluyen diversas especies que van desde saprófitos ambientales e invasores oportunistas hasta fitogenos obligatorios (Quinn *et al.*, 2011).

Dentro del género *Mycobacterium*, se han descrito más de 120 especies de micobacterias diferentes; dentro de éste, engloba a un grupo de micobacterias que presentan >95% de homología en su DNA y que se designa como “complejo *M. tuberculosis*”. Está compuesto, además de *M. tuberculosis* (principal causante de tuberculosis en humanos), por *Mycobacterium bovis* (bovinos), *M. bovis* BCG (Bacillus Calmette-Guérin; es una cepa atenuada derivada de *M. bovis* virulento por pasajes *in vitro* sobre rodajas de papa de glicerol-bilis), *Mycobacterium africanum* (tuberculosis humana en África tropical), *Mycobacterium microti*

(roedores) y *Mycobacterium canettii* (aislado recientemente en pacientes expuestos en África) (Acha y Syfres, 2001; Murray *et al.*, 2003; Biet *et al.*, 2005; Dorrnsoro y Torroba, 2007; Djelouadji *et al.*, 2008; Thoen *et al.*, 2014); Sin embargo, en su clasificación se proponen dos epítetos, que corresponden a su ecología y filogenia, con respecto a su capacidad de multiplicarse en el medio ambiente e invadir los macroorganismos; los epítetos propuestos para las micobacterias son los siguientes: 1 Micobacterias derivadas del medio ambiente; 2 Micobacterias patógenas obligatorias (Kazda, 2000).

Las micobacterias derivadas del medio ambiente (EDM) comprenden la mayoría de las especies de micobacterias. Su fuente principal es el medio ambiente donde se pueden multiplicar, pero también pueden encontrarse en huéspedes vivos, colonizando nichos adecuados en las membranas mucosas, pero no en el intestino. Con respecto a la filogenia, representan especies tempranas del género *Mycobacterium* (Kazda, 2000).

Las EDM colonizaron una variedad de entornos naturales como el agua, el suelo y la vegetación embriofita, pero no pueden colonizar con éxito los ambientes acuosos ya que son muy pesados. La competencia por los nutrientes es probablemente una de las razones principales por las que las aguas residuales no pueden considerarse como una fuente, sino simplemente como un vector para la propagación de EDM. Es principalmente superficie "limpia" y agua potable que son responsables de la multiplicación y diseminación de EDM. La temperatura favorable es uno de los factores más importantes para el crecimiento de EDM en estos ambientes. Las micobacterias, como microorganismos mesofílicos, requieren una temperatura entre 28° y 31°C para un crecimiento óptimo, aunque su multiplicación comienza entre 18° y 22°C y continúa por algunos hasta 41° a 52°C (Kazda, 2000).

Las micobacterias patógenas obligatorias (OPM) son las especies más especializadas, causando enfermedades tanto en humanos como en

determinadas especies de animales. Poseen una alta virulencia que les permite propagarse. Su supervivencia fuera de los huéspedes es muy limitada, pero pueden existir y conservar la virulencia en forma inactiva durante mucho tiempo en los macroorganismos infectados (Kazda, 2000).

Aunque algunas micobacterias patógenas exhiben preferencias particulares del huésped, pueden ocasionalmente infectar otras especies. Las enfermedades micobacterianas en animales domésticos suelen ser crónicas y progresivas. Los miembros del complejo *M. tuberculosis* están estrechamente relacionados y causaron cambios patológicos similares en un número de huéspedes mamíferos (Quinn *et al.*, 2011).

Las partículas en suspensión en el aire, que tienen menos de 5 micras de diámetro, son lo suficientemente pequeñas como para permanecer suspendidas durante mucho tiempo en el aire. Cuando se inhalan, su micro-tamaño les permite entrar en el tracto respiratorio más allá del epitelio ciliado. El desarrollo posterior depende de la relación huésped-parásito, de la susceptibilidad o de la resistencia del receptor. OPM, que poseen alta virulencia, son capaces de causar enfermedad incluso con un inóculo limitado. En contraste, las EDM potencialmente patógenas puede alcanzar concentraciones más altas multiplicando en sustratos ambientales que pueden aerosolizar (Kazda, 2000).

Infecciones clínicas

Las enfermedades causadas por micobacterias patógenas se presentan en el cuadro 2. Las principales especies de *Mycobacterium* patógenas que afectan a los animales domésticos exhiben un grado considerable de especificidad del huésped, aunque pueden producir enfermedad esporádica en un número de otro huésped (Quinn *et al.*, 2011).

Cuadro 2. Micobacterias que son patógenas para animales y humanos (Quinn *et al.*, 2011).

Especie de <i>Mycobacterium</i>	Huésped principal	Especies ocasionalmente infectadas	Enfermedad
<i>M. tuberculosis complex</i>			
<i>M. tuberculosis</i>	Humanos, primates cautivos	perros, ganado bovino, aves psitácidas, canarios	Tuberculosis (en todo el mundo)
<i>M. bovis</i>	Ganado bovino	Ciervos, tejones, zarigüeyas, humanos, gatos, otras especies de mamíferos	Tuberculosis
<i>M. africanum</i>	Humanos		Tuberculosis (principalmente África occidental)
<i>M. canettii</i>	Humanos		Tuberculosis (principalmente África oriental)
<i>M. microti</i>	ratones de campo	Ocasionalmente otras especies de mamíferos	Tuberculosis
<i>M. caprae</i>	Cabras	Ganado bovino	Tuberculosis
<i>M. pinnipedii</i>	Focas, leones marinos	Ocasionalmente otras especies de mamíferos incluyendo humanos	Tuberculosis
<i>M. avium complex</i>	La mayoría de las especies de aves excepto psitácidos	Cerdos, ganado bovino	Tuberculosis
<i>M. marinum</i>	Peces	Humanos, mamíferos acuáticos, anfibios	Tuberculosis
<i>M. ulcerans</i>	Humanos	koalas, zarigüeyas	Úlcera de Buruli
<i>M. leprae</i>	Humanos	Armadillos, chimpancés	Lepra
<i>M. lepraemurium</i>	Ratas, ratones	Gatos	Lepra de ratas, lepra felina
<i>M. avium subsp. Paratuberculosis</i>	Ganado bovino, ovejas, cabras, ciervos	Otros rumiantes	Paratuberculosis (enfermedad de Johne)
Bacterias ácido-resistentes inespecíficas	Ganado bovino		Asociado con tuberculosis cutánea
<i>M. senegalense</i> , <i>M. farcinogenes</i>	Ganado bovino		Implicados en muermo bovino

Las lesiones granulomatosas que desarrollan infecciones oportunistas sucesivas con micobacterias saprófitas ambientales se encuentran ocasionalmente en animales domésticos. Estas micobacterias saprófitas se agrupan sobre la base de la producción de pigmento y la tasa de crecimiento. Los miembros del complejo *M. avium* se agrupan con aquellos que producen infección oportunista porque ocasionalmente están implicados en infecciones de mamíferos (Quinn *et al.*, 2011).

Diferenciación de micobacterias patógenas

El método de tinción ZN se utiliza para diferenciar las micobacterias de otras bacterias. La diferenciación de micobacterias patógenas se basa en características de cultivo, pruebas bioquímicas, inoculación de animales y análisis cromatográficos. Además, las técnicas moleculares se utilizan cada vez más para la identificación de aislamientos. Las micobacterias asociadas a infecciones oportunistas pueden diferenciarse en base a la producción de pigmento, temperatura de incubación óptima y tasa de crecimiento (Quinn *et al.*, 2011).

- Las micobacterias patógenas crecen lentamente en medio sólido, y las colonias no son evidentes hasta que los cultivos se han incubado durante 3 a 6 semanas. Por el contrario, las colonias de saprófitos de rápido crecimiento son visibles en cuestión de días. El sistema de cultivo líquido disponible comercialmente, tal como BACTEC, muestra tiempos de aislamiento mejorados para micobacterias patógenas, que van desde aproximadamente 10 a 20 días.

- *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis* y *M. avium* subsp. *paratuberculosis* tienen una temperatura de incubación óptima de 37°C. Las micobacterias pertenecientes al complejo *M. avium* crecen en el intervalo de temperaturas de 37 a 43°C.

- La diferenciación bioquímica, está basada en una prueba específica, y ayuda en la identificación de *M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. avium*. Algunos aislamientos de micobacterias no pueden ser asignados a una especie dada usando diferenciación bioquímica, ya que sus perfiles bioquímicos son difíciles de interpretar (Gunn-Moore *et al.*, 1996)

La virulencia de los cultivos de *M. tuberculosis* se ha correlacionado con la formación de estructuras en forma de cuerda en agar o medio líquido, debido a la agregación lateral de bacilos encadenados. Este crecimiento es debido a la presencia en la superficie celular de un glicolípido o factor cuerda (Madigan *et al.*, 2003).

Recientes avances en biología molecular, en particular la amplificación de regiones específicas de ADN a través de la PCR y el desarrollo de técnicas de secuenciación directa, podrían permitir distinguir especies cercanas relacionadas por la comparación de su ADN (Barker, 1994; Erlich y Arnheim, 1992) y en específico el desarrollo de nuevos métodos moleculares para la caracterización molecular de la Tuberculosis ha contribuido enormemente al entendimiento de la dinámica de la transmisión y patogenicidad de la enfermedad (Rozo-Anaya y Ribón, 2010).

Tuberculosis bovina

La tuberculosis bovina es una infección crónica de animales, particularmente afecta a bovinos, y el agente causal es un bacilo ácido-rápido no fotocromogénico de crecimiento lento, *Mycobacterium bovis*. Generalmente se caracteriza por la formación de granulomas nodulares o tubérculos con contenido caseoso con tendencia a la calcificación, no vascularizados (Lüchter, 2004; Madkour, 2004), particularmente en los pulmones y en los ganglios linfáticos del tracto respiratorio, pero también pueden producirse lesiones en los ganglios linfáticos mesentéricos, el hígado, el bazo y otros órganos.

La presentación de la enfermedad es variable, con ausencia de signos clínicos en infecciones menos avanzadas, a menudo en la mayoría de los bovinos infectados en países desarrollados con estrategias de prueba regulares. También puede presentarse de forma no específica, con signos clínicos como debilidad, anorexia, emaciación y tos en casos avanzados. En la mayoría de los países, el diagnóstico de tuberculosis en el ganado suele ser mediante pruebas cutáneas de tuberculina, que miden la hipersensibilidad de tipo retardado. Sin embargo, en los países donde la prevalencia de la infección es extremadamente baja o se ha declarado la ausencia de infección, sólo se emplea la inspección de la carne para el diagnóstico y la vigilancia. También se emplea frecuentemente la confirmación de laboratorio mediante técnicas bacteriológicas de cultivo (Madkour, 2004).

El agente causal es un miembro del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, que incluye importantes patógenos animales y humanos; incluso se puede transmitir del ganado a los seres humanos; por lo tanto, la tuberculosis bovina se considera una zoonosis. (Thoen *et al.*, 2014).

La tuberculosis bovina, causada por *M. bovis*, ocurre en todo el mundo. Debido a las implicaciones zoonóticas de la enfermedad y las pérdidas de producción debido a su naturaleza crónica progresiva, en muchos países se han introducido programas de erradicación. La presencia de reservorios de *M. bovis* en la vida silvestre dificulta la erradicación de la enfermedad. La incidencia de la infección humana con *M. bovis* se ha reducido a niveles bajos en los países donde se han aplicado programas de erradicación de la tuberculosis en el ganado. Además, la pasteurización de la leche ha eliminado la exposición de los seres humanos a la infección de los productos lácteos. La infección cruzada con *M. tuberculosis* de seres humanos infectados se ha registrado en el ganado en raras ocasiones (Quinn *et al.*, 2011).

La tuberculosis bovina todavía puede tener consecuencias financieras graves, adversas en las regiones agrícolas del mundo y se considera un riesgo potencial para la salud humana en algunos países. Los agricultores incurren en pérdidas financieras debido a la disminución de la producción de carne y leche, las condenas de la canal y las restricciones a los movimientos de animales. La tuberculosis bovina presenta una seria barrera para el comercio de ganado dentro y entre países y hay un gasto considerable, generalmente por parte de los gobiernos, en pruebas y compensaciones. La mayoría de los países europeos, mediante la introducción de programas de erradicación voluntarios y, posteriormente, de erradicación obligatoria, experimentaron un gran éxito en la reducción de la incidencia de la tuberculosis bovina. Sin embargo, a pesar de los progresos iniciales, la erradicación aún no se ha logrado en todos los países. Algunos países europeos, por ejemplo. El Reino Unido, tienen una considerable

variabilidad regional con brotes esporádicos, particularmente en el suroeste de Inglaterra y el norte de Irlanda (Madkour, 2004).

Mecanismo de transmisión

Dentro de los rebaños de ganado, la forma más común de transmisión de la tuberculosis pulmonar causada por *M. bovis* está en el aire. La tuberculosis bovina en el ganado representa un peligro para los seres humanos. Los seres humanos infectados con *M. bovis* pueden ser una fuente de tuberculosis para el ganado, pero la transmisión ulterior de bacilos de la tuberculosis bovina dentro de la población humana es muy limitada. Según Kubin *et al.* (1984), este hecho puede ser contrastado con la alta propagación de la infección bovina en el ganado. Por lo tanto, los seres humanos se consideran simplemente como un huésped facultativo para la tuberculosis bovina. Esto puede apoyarse además en la desaparición de la tuberculosis causada por *M. bovis* en la población humana de países libres de tuberculosis bovina en animales (Kubis *et al.*, 1984a).

Además de la vía aerotransportada, se describió repetidamente una transmisión alimentaria de tuberculosis bovina con leche en el caso de tuberculosis avanzada de la ubre (Kazda, 2000).

De 80% a 90% de los casos la transmisión de la enfermedad ocurre por vía aerógena; con la tos o espiración de un animal infectado ya que se expelen gran cantidad de microgotas que contienen la bacteria, las cuales, al ser inhaladas por otro bovino llegan al sistema respiratorio dando comienzo a una nueva infección (FMVZ-UNAM, 2013).

Las causas de predisposición que pueden entrar en juego se enumeran a continuación: enfermedad de la civilización / domesticación: - pastorear juntos facilita la propagación; Edad: los animales jóvenes son más susceptibles que los más viejos; Nutrición: La deficiencia de vitamina A y C predispone; Vivienda: Las viviendas oscuras, mal ventiladas, húmedas son favorables para la propagación;

Herencia: El ganado Cebú es algo más resistente que los exóticos o mestizos;
Clima: El clima frío y húmedo es favorable para la propagación (Parkale y Kulkarni, 2011).

Aunque *M. bovis* puede sobrevivir durante varios meses en el medio ambiente, la transmisión es principalmente a través de aerosoles generados por ganado infectado. Estudios experimentales han establecido que la infección del ganado bovino por aerosol requiere al menos de 10 organismos, mientras que aproximadamente 107 organismos son necesarios para establecer la infección por vía oral. El ganado lechero en particular está en riesgo debido a que los métodos de manejo permiten un contacto cercano entre los animales durante el ordeño y cuando se alojan durante los meses de invierno. Los terneros pueden infectarse al ingerir leche contaminada y la ingestión es la vía probable de transmisión a cerdos y gatos. Los depósitos de fauna de *M. bovis* son las principales fuentes de infección para el ganado de pastoreo en algunos países. Incluyen el tejón en Europa, las zarigüeyas en Nueva Zelanda y el búfalo del Cabo y otros rumiantes en África. Los venados, tanto silvestres como en criadero, son particularmente susceptibles y pueden actuar como depósitos de infección para el ganado (Quinn *et al.*, 2011).

Los animales salvajes son susceptibles a la infección por muchos de los mismos patógenos que afligen a los animales domésticos, y la transmisión entre los animales domésticos y la vida silvestre puede ocurrir en ambas direcciones (Palmer, 2013). La importancia relativa de las especies silvestres como depósitos de infección depende de una serie de factores, incluyendo si la especie es un huésped de mantenimiento o de desbordamiento, los niveles de bacterias excretadas por el huésped salvaje y el grado de contacto con el ganado (Quinn *et al.*, 2011).

Periodo de incubación

Los síntomas de la tuberculosis generalmente tardan meses en desarrollarse en el ganado. Las infecciones también pueden permanecer latentes durante años y reactivarse durante períodos de estrés o en animales viejos. De la misma forma, en algunos ciervos se puede desarrollar la enfermedad grave en pocos meses de infección, mientras que en otros pueden no presentarse síntomas durante años.

Patogenia y patogenicidad

La tuberculosis en los bovinos se manifiesta como un proceso inflamatorio granulomatoso necrosante que afecta principalmente a los pulmones y sus ganglios linfáticos drenantes, pero también afecta a muchos otros órganos dependiendo de la puerta de entrada de la infección. La infección permanece subclínica durante meses o años hasta que la afectación del órgano es lo suficientemente grave como para causar deterioro funcional. Las lesiones pueden permanecer localizadas o pueden generalizarse a otros tejidos y órganos (Domingo *et al.*, 2014).

La vía de transmisión determina la localización y espectro de las lesiones observadas en la tuberculosis bovina. La inhalación es la vía de infección más común y causa lesiones de la nasofaringe y del tracto respiratorio inferior, incluidos los pulmones y ganglios linfáticos asociados (Neill *et al.*, 1994, 2001). Por el contrario, la ingestión de pastos contaminados con *M. bovis*, alimento o el agua generalmente causan lesiones de los ganglios linfáticos mesentéricos (Menzies y Neill, 2000) y pocas o ausentes lesiones visibles en la pared intestinal. Otras vías de infección, como transplacentarias, genitales o intramamarias, son ahora infrecuentes debido a las situaciones epidemiológicas de la mayoría de los países con programas activos de erradicación. La transmisión transplacentaria al feto probablemente se derive de la endometritis tuberculosa y conduce a un complejo primario en el hígado y / o en los ganglios linfáticos (Domingo *et al.*, 2014).

La virulencia de *M. bovis* se relaciona con su capacidad para sobrevivir y multiplicarse en los macrófagos del huésped. No se han identificado toxinas específicas, sino que la virulencia es una consecuencia de muchos factores patógenos que actúan conjuntamente para establecer la infección. Después de la entrada al huésped a través del tracto respiratorio, las micobacterias son engullidas por los macrófagos y por las células dendríticas. Las micobacterias engullidas por las células dendríticas viajan a los ganglios linfáticos drenantes. La respuesta inicial a la infección no específica y desencadenada por el cuerpo extraño efecto de ceras y lípidos en la pared celular micobacteriana. La supervivencia en el fagosoma de los macrófagos se promueve por la interferencia con la fusión fagosoma-lisosoma, probablemente a través de la maduración retardada del fagosoma y el fracaso de la digestión lisosomal. Los bacilos liberados de macrófagos muertos son engullidos por fagocitos viables circundantes. La migración de macrófagos que contienen micobacterias viables puede diseminar la infección (Quinn *et al.*, 2011).

La compleja composición lipídica y cerosa de la pared celular micobacteriana contribuye no sólo a la virulencia, sino también, en asociación con las proteínas de *M. bovis*, a la inmunogenicidad de la que depende el desarrollo de las respuestas del huésped y de las lesiones. Antes de la activación, los macrófagos permiten la supervivencia y replicación de las micobacterias. Los macrófagos infectados se acumulan en el alvéolo como el sitio primario de infección y secretan un rango de citocinas que reclutan linfocitos a los pulmones, ayudando así a la formación de granulomas y la contención de los organismos. Las citoquinas TNF- α e IFN- γ son esenciales en el desarrollo de resistencia a las micobacterias, y su producción se estimula a través de las respuestas inmunes innatas y adaptativas. Estas citocinas activan los macrófagos infectados y aumentan su capacidad para destruir las micobacterias contenidas. Dado que las células dendríticas activadas no pueden matar micobacterias engullidas, pero limitan su replicación, estas células pueden actuar como un reservorio para micobacterias, en particular dentro de los ganglios linfáticos (Hope y Villarreal-Ramos, 2008; Quinn *et al.*, 2011).

Con el desarrollo de inmunidad mediada por células algunas semanas después de la infección, el reclutamiento de macrófagos se acelera bajo la influencia de citoquinas producidas por linfocitos T sensibilizados a los constituyentes celulares de *M. bovis*. Las células T CD4 y CD8 son necesarias para la inmunidad a las micobacterias, aunque los estudios en bovinos han demostrado que las células T CD8 también pueden desempeñar un papel en la inmunopatología de la infección por *M. bovis* (Quinn *et al.*, 2011).

La acumulación gradual de macrófagos alrededor de la lesión en desarrollo y la formación de un núcleo necrótico central dan como resultado un tubérculo o granuloma, la respuesta típica del huésped a la infección por *M. bovis*. La arquitectura del granuloma es importante ya que facilita la interacción estrecha entre los macrófagos constituyentes, las células dendríticas y las células T y la contención o destrucción del patógeno. Además, la estructura en capas ayuda a separar físicamente el núcleo necrótico del tejido circundante. Los granulomas pueden ser histológicamente visibles tan pronto como 3 semanas después de la infección experimental del ganado con altas dosis de *M. bovis* (Cassidy *et al.*, 1998; Quinn *et al.*, 2011).

Signos clínicos

Los signos clínicos son evidentes sólo en la enfermedad avanzada, y el ganado con lesiones extensas pueden parecer estar en buena salud. La pérdida de condición puede ser evidente a medida que la enfermedad progresa. En la tuberculosis pulmonar avanzada, los animales pueden eventualmente desarrollar tos y pirexia intermitente. La participación del tejido mamario puede dar lugar a induración marcada de los cuartos afectados, acompañada a menudo de la ampliación supra mamaria del nodo de linfa. La mastitis tuberculosa facilita la propagación de la infección a terneros y gatos. El consumo de leche no pasteurizada es de gran importancia para la salud pública (Quinn *et al.*, 2011).

En países con programas de erradicación, la mayor parte del ganado bovino infectado se identifica tempranamente y son poco frecuentes las infecciones sintomáticas (CFSPH, 2010). En la fase temprana de la enfermedad, las lesiones pueden ser difíciles de detectar en el examen *post-mortem*. Estas pequeñas lesiones están compuestas de agregados de macrófagos alterados, denominados células epiteliolíticas. Las células gigantes de Langhans multinucleadas, formadas a partir de la fusión de macrófagos, también pueden presentarse (Quinn *et al.*, 2011).

En la fase tardía, los síntomas frecuentes son emaciación progresiva, fiebre baja fluctuante, debilidad y falta de apetito (CFSPH, 2010), las fibroplasias producen la formación temprana de la cápsula y hay un área de necrosis caseosa central, con la apariencia y la consistencia del queso suave (Quinn *et al.*, 2011).

En la fase terminal, los animales están sumamente emaciados y pueden presentar un compromiso respiratorio agudo. En algunos animales, los ganglios linfáticos retrofaríngeos u otros ganglios linfáticos se agrandan, se pueden abrir y supurar; al agrandarse los ganglios linfáticos, pueden obstruir los vasos sanguíneos, las vías respiratorias o el tubo digestivo. Si se ve comprometido el tracto digestivo, se puede observar diarrea intermitente y estreñimiento (CFSPH, 2010).

Inmunología

En el caso de *M. tuberculosis*, la bacteria penetra en el macrófago por medio de los microdominios de la membrana enriquecidos en colesterol, que están recubiertos en la región citoplasmática por una proteína denominada TACO (tryptophan-aspartate-containing coat protein), la cual evita la maduración del fagosoma. Así, los lisosomas no se pueden fusionar con el fagosoma, permaneciendo distribuidos en el citoplasma, y las bacterias sobreviven y continúan multiplicándose. Las micobacterias también pueden impedir la acidificación de los fagosomas evitando la fusión de la bomba de protones ATPasa

con la membrana vacuolar, de tal forma que las catepsinas lisosomales permanecen inactivas (Tizard, 2009).

Muchas bacterias manipulan la respuesta de citoquinas del hospedador para su propio provecho. Por ejemplo, el IFN- γ y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), producidos por los linfocitos T estimulados, pueden generar macrófagos M1, acidificar los fagosomas, y así destruir a las micobacterias. A su vez, las micobacterias pueden responder con la supresión de las respuestas de los linfocitos T, induciendo la síntesis de IL-6, IL-10 y factor de crecimiento transformante- β , con el objeto de prolongar su supervivencia. La IL-10 es especialmente eficaz inhibiendo la activación de los macrófagos, suprimiendo la producción de oxidantes, y regulando negativamente el procesamiento de antígenos mediante la reducción de la expresión de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) (Tizard, 2009).

La inmunidad innata contra las bacterias intracelulares está mediada en gran medida por los macrófagos. Sin embargo, las bacterias intracelulares pueden sobrevivir y replicarse en el interior de las células huésped, incluidos los fagocitos, ya que han desarrollado mecanismos que les permiten resistir la degradación intracelular (Abbas *et al.*, 2015).

La inmunidad adaptativa frente a las bacterias intracelulares es principalmente de tipo celular y consiste en la activación de los macrófagos por los linfocitos T CD4 (como sucede en la HSR) y la eliminación de las células infectadas por los LTC CD8. La respuesta anatomopatológica característica a la infección por bacterias intracelulares es la inflamación granulomatosa (Abbas *et al.*, 2015).

La protección frente a las bacterias intracelulares está mediada por las células M1. Aunque los macrófagos de los animales no inmunizados normalmente no son capaces de destruir estas bacterias, esta capacidad la adquieren aproximadamente 10 días después del inicio de la infección, cuando los

macrófagos son activados. El desarrollo de estos macrófagos activados coincide a menudo con la aparición de una respuesta de hipersensibilidad retardada (tipo IV) a un antígeno administrado por vía intradérmica (Tizard, 2009).

Los linfocitos T citotóxicos CD8* lisan las células infectadas por listerias o por micobacterias, complementando la acción de los linfocitos Th1, que activan a los macrófagos (Tizard, 2009).

Se ha observado que la inmunidad frente a las bacterias intracelulares no puede ser inducida por vacunas que están compuestas por bacterias muertas, y solo las vacunas de bacterias vivas son protectoras. Esta diferencia probablemente se deba a la estimulación diferencial de las poblaciones de linfocitos T colaboradores por las bacterias vivas y muertas. La resistencia a estas bacterias intracelulares normalmente es de corta duración, persistiendo solo durante el tiempo que las bacterias viables permanecen en el organismo, la tuberculosis es una excepción, pues se induce una memoria prolongada (Tizard, 2009).

Modificación de las enfermedades bacterianas debido a las respuestas inmunes

La respuesta inmune de un animal está claramente influenciada por el curso y gravedad de la infección. En el mejor de los casos, el resultado será la curación, pero, si esto no ocurre, la infección puede seguir distintos cursos, según el tipo de respuesta inmune desarrollada, de base humoral o celular. Así, el tipo de linfocitos T colaboradores inducidos por una infección puede afectar el curso de la enfermedad. Las respuestas mediadas por células son necesarias para controlar las infecciones por bacterias intracelulares. Solo los macrófagos activados pueden impedir el crecimiento de estas bacterias, y para que tenga lugar esta activación se requiere la producción de IFN- γ por parte de los linfocitos Th1. Cuando están activados, estos macrófagos M1 pueden detener o curar estas infecciones. Si, por el contrario, la respuesta inmune frente a estas bacterias estimula inadecuadamente las respuestas de tipo Th2, la inmunidad mediada por células no se desarrolla y se generan macrófagos M2, con el resultado de una enfermedad

crónica progresiva. Un típico ejemplo de esto se observa en las enfermedades causadas por micobacterias (Tizard, 2009).

La citoquina clave que regula el equilibrio entre las respuestas Th1 y Th2 es la IL-4. Por ejemplo, IL-4 normalmente estimula las respuestas Th2, suprimiendo las respuestas de tipo Th1. Parece que los animales pueden sintetizar variantes estructurales de IL-4. Por ejemplo, además de la IL-4 normal, los bóvidos sintetizan dos variantes, denominadas IL-4 δ 2 e IL-4 δ 3, mediante las dos posibilidades de corte y empalme del pre-ARNm. Estas variantes se pueden unir a los receptores para IL-4, regulando la actividad de esta citoquina. Como resultado, estas variantes de IL-4 pueden influir en la resistencia de los bóvidos a la tuberculosis bovina, y en el tipo de respuesta que se desarrolla frente a la infección. Los animales que muestran una resistencia significativa a la tuberculosis producen elevados niveles de IL-4 δ 3, en comparación con los bóvidos susceptibles. De manera similar, se observa un incremento transitorio en el cociente entre IL-4 δ 3 e IL-4 δ 4 tras la vacunación frente a la tuberculosis bovina (Tizard, 2009).

De las observaciones descritas anteriormente no se debe asumir que el tipo de linfocitos Th implicados en una respuesta inmune no se modifica una vez que se establece la respuesta. Diversos estudios muestran que las respuestas inmunes frente a un microorganismo pueden cambiar entre los tipos Th1 y Th2, incluso varias veces, antes de que se establezca una respuesta definitiva. Esta respuesta final puede ser bien de tipo Th1, o bien de tipo Th2, o incluso en algún punto intermedio en espectro th1-Th2. Esta variación parece ser una característica común de las infecciones crónicas, como la tuberculosis (Tizard, 2009).

Diagnóstico microbiológico

El laboratorio de microbiología clínica desempeña un importante papel en el diagnóstico y el control de las enfermedades infecciosas. Sin embargo, la capacidad del laboratorio para realizar estas funciones se encuentra limitada por factores como la calidad de la muestra recogida en el paciente, el medio de

transporte de la muestra al laboratorio y las técnicas utilizadas para demostrar la presencia del microorganismo. Puesto que la mayoría de las pruebas diagnósticas se basan en la capacidad de crecimiento del microorganismo, las condiciones del transporte han de asegurar su viabilidad (Murray *et al.*, 2014).

Procedimientos de diagnóstico

Las pruebas basadas en la sangre que se han desarrollado para su uso junto con la prueba de la tuberculina, incluyen:

□ Ensayo de interferón gamma. Esta prueba identifica a los animales en una fase de infección ligeramente anterior a la prueba de la tuberculina y se aprueba como prueba complementaria para el ganado en la UE, Estados Unidos y Nueva Zelanda. Se utiliza con frecuencia como una prueba paralela con la prueba de la tuberculina en rebaños infectados persistentemente o en aquellos que presentan extensas averías. Además, se están realizando investigaciones para investigar el uso de esta prueba para la diferenciación de bovinos vacunados con BCG y naturalmente infectados mediante la identificación de antígenos que no son expresados por el organismo BCG. Tales antígenos podrían usarse entonces en el ensayo en lugar del PPD de mamífero y aviar que se usan en las pruebas comerciales actualmente disponibles (Quinn *et al.*, 2011).

□ ELISA para la detección de anticuerpos circulantes. Los anticuerpos se producen en las últimas etapas de la infección. Estas pruebas pueden ser más útiles en países con alta prevalencia de TB bovina donde hay un gran número de animales con enfermedades crónicas y que requieren métodos de detección a bajo costo (Quinn *et al.*, 2011).

□ Transformación de linfocitos y ensayos relacionados.

- Los especímenes adecuados para el examen de laboratorio incluyen ganglios linfáticos, lesiones de tejido, aspirados y leche.

- El bajo número de micobacterias presentes en las lesiones bovinas puede dificultar la confirmación visual utilizando la tinción Ziehl-Neelsen (ZN).
- Las secciones de tejidos teñidos suelen revelar patrones típicos de formación de tuberculosis (Quinn *et al.*, 2011).

□ El aislamiento de *M. bovis* requiere: Descontaminación de los especímenes para eliminar las bacterias contaminantes de rápido crecimiento. Los especímenes de tierra se tratan hasta 30 minutos con 2 a 4% de hidróxido de sodio o 5% de ácido oxálico, seguido por la neutralización del álcali o ácido. La centrifugación se utiliza para concentrar las micobacterias, y el líquido sobrenadante se descarta. Inyecciones del medio Lowenstein-Jensen, sin glicerol y que contienen 0,4% de piruvato de sodio, se inoculan con el depósito centrifugado y se incuban aerobímicamente a 37°C durante un máximo de 8 semanas (Quinn *et al.*, 2011).

- Criterios de identificación para aislados:
- Tasa de crecimiento y apariencia colonial
- Tinción positiva de ZN de bacilos en frotis de colonias
- Perfil bioquímico

Se pueden utilizar sistemas rápidos y automatizados comercialmente disponibles para el aislamiento de micobacterias patógenas del complejo *M. tuberculosis* y proporcionar tiempos de aislamiento más cortos que el cultivo en medios sólidos convencionales (Quinn *et al.*, 2011).

□ Técnicas moleculares

* Las sondas de ADN, complementarias a las secuencias específicas de especies de rRNA, están disponibles comercialmente para el complejo *M. tuberculosis*, el complejo *M. avium* y *M. kansasii* (Quinn *et al.*, 2011).

* Los procedimientos de amplificación de ácidos nucleicos, incluyendo la reacción en cadena de la polimerasa, se están desarrollando como métodos sensibles y rápidos para la detección de micobacterias en muestras de tejido. Aunque se

dispone de una serie de métodos comerciales, la fiabilidad de muchos de los ensayos queda por confirmar y se requiere un mayor desarrollo (Quinn *et al.*, 2011).

* Los métodos de tipificación basados en ADN se utilizan en estudios epidemiológicos. Spoligotyping, que identifica los polimorfismos en las unidades espaciadoras en la región de repetición directa del cromosoma, es el método más común utilizado en los estudios de *M. bovis*. Este método, junto con la repetición en tándem de número variable (VNTR), se considera actualmente el más satisfactorio para la investigación epidemiológica de cepas de *M. bovis*. La tipificación de las cepas de *M. avium* subsp *paratuberculosis* se realiza con frecuencia mediante el análisis del polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) (Quinn *et al.*, 2011). Si hay suficiente diversidad genética en una población, al encontrar un grupo de individuos infectados con una misma cepa de *M. bovis* identificada porque tienen el mismo patrón genético sugiere que este grupo está relacionado epidemiológicamente habiendo infectado uno a otro o a partir de una fuente común. A su vez el riesgo de infección es alto con considerable diversidad clonal entre *M. bovis* de un mismo lugar y la mayoría está infectado con cepas únicas (Smith y Moss, 1994).

□ La reacción a la tuberculina

Ciertos antígenos, cuando se inoculan en la piel de un animal sensibilizado, provocan una inflamación que se desarrolla lentamente en el sitio de inoculación. Puesto que esta reacción de hipersensibilidad «retardada» solo se puede transferir de un animal sensibilizado a otro normal por los linfocitos, debe estar mediada por células. Las reacciones de hipersensibilidad retardada se clasifican como hipersensibilidades de tipo IV, y resultan de las interacciones entre el antígeno inoculado, las células presentadoras de antígeno y los linfocitos. Un ejemplo importante de una reacción de hipersensibilidad retardada es la respuesta a la tuberculina, la reacción cutánea que se desarrolla en un animal infectado con tuberculosis después de la inoculación intradérmica de la tuberculina. Las

reacciones de hipersensibilidad retardada pueden considerarse como una forma especializada de inflamación dirigida frente a microorganismos que son resistentes a la eliminación por los procesos inflamatorios convencionales (Tizard, 2009).

La prueba de la tuberculina, basada en una hipersensibilidad de tipo retardado a la tuberculina micobacteriana, es la prueba *ante mortem* estándar en bovinos. La prueba puede ser adaptada para su uso en cerdos y ciervos de cría. La reactividad en el ganado es usualmente detectable 30 a 50 días después de la infección (Monaghan *et al.*, 1994). La tuberculina, preparada a partir de micobacterias y llamada derivado proteico purificado (PPD), se inyecta intradérmicamente para detectar la sensibilización. Se emplean dos métodos principales de prueba de la tuberculina:

- En el único ensayo intradérmico (pliegue caudal), se inyectan 0,1 ml de PPD bovino por vía intradérmica en el pliegue caudal de la cola. El lugar de la inyección se examina 72 horas después y una reacción positiva se caracteriza por hinchazón dura o edematosa. La ventaja de esta prueba es su simplicidad; su principal desventaja es que, debido a las reacciones cruzadas, no se puede distinguir entre tuberculosis e infecciones por micobacterias relacionadas, como *Mycobacterium avium* o *M. avium paratuberculosis*, o por *Nocardia*. Una segunda desventaja es que algunos animales reaccionan positivamente a la prueba, pero en la necropsia no se aprecian lesiones detectables de tuberculosis. Las razones para esto se desconocen, pero podría ser debido a la exposición a micobacterias no patógenas, como *Mycobacterium phlei* (Tizard, 2009). Las pruebas con resultados falsos negativos pueden aparecer en animales con tuberculosis avanzada, con una infección muy inicial, en hembras con un parto en las 4 a 6 semanas previas, en vacas muy viejas, y en los animales que se sometieron a la prueba entre una y diez semanas antes. La ausencia de reacción (anergia) que se ve en los casos avanzados de tuberculosis se ha observado también en la enfermedad clínica de Johne (paratuberculosis) y parece ser debida a la presencia de un «factor bloqueante» en el suero de estos animales, que podría ser un

anticuerpo que evita que los linfocitos T reaccionen con el antígeno. También hay evidencias de la implicación de las células reguladoras en la anergia (Tizard, 2009).

- En la prueba intradérmica comparativa, se inyectan por vía intradérmica 0,1 ml de PPD aviar y 0,1 ml de PPD bovino en sitios separados recortados en el costado del cuello a una distancia de aproximadamente 12 cm. El espesor de la piel en los puntos de inyección se mide con calibradores antes de la inyección de tuberculinas y después de 72 horas. Un aumento en el espesor de la piel en el sitio de inyección de PPD bovino que excede en el sitio de inyección de PPD aviar en 4 mm o más se interpreta como evidencia de infección y el animal se denomina reactor. En general, si el sitio de inoculación de la tuberculina aviar muestra la reacción más intensa, el animal se considera que está infectado con *M. avium* o *M. avium paratuberculosis*. Por el contrario, si el sitio de inoculación de *M. bovis* muestra la mayor reacción, se considera que el animal está infectado con *M. bovis* o *M. tuberculosis*. Esta prueba es útil cuando se prevé una alta prevalencia de tuberculosis aviar o de la enfermedad de Johne. La PPD de *M. bovis* es más específica en bóvidos que la de *M. tuberculosis*, dando menos reacción cruzada con *M. avium*, además de ser más apropiada para su uso en bóvidos, por lo que es la de elección. En la práctica, datos recientes sugieren que la prueba de comparación tiene una sensibilidad del 90% (10% de falsos negativos) y una especificidad superior al 99% (menos de un 1% de falsos positivos); sin embargo, depende del criterio seguido para interpretar los resultados (Tizard, 2009).

La reacción a la tuberculina está mediada por los linfocitos T. Cuando un animal se infecta con *Mycobacterium tuberculosis*, los microorganismos son fagocitados rápidamente por los macrófagos, y una parte de este antígeno micobacteriano desencadena una respuesta de Th1, generando células de memoria, las cuales podrán responder a antígenos de micobacterias inoculados, como la tuberculina. Algunos de estos linfocitos T de memoria deben tener una vida muy larga, puesto

que se puede obtener una prueba de la tuberculina positiva muchos años después de la exposición al antígeno (Tizard, 2009).

Cuando se inocula por vía intradérmica, la tuberculina es captada por las células de Langerhans, que migran al nódulo linfático que drena la región (Figura 3) y presentan el antígeno a los linfocitos T de memoria, que responden generando linfocitos efectores Th1. Estos Th1 circulantes reconocen el antígeno cuando lo encuentran en la piel y se acumulan alrededor del depósito de antígeno. En los bóvidos, a las 12 horas el sitio de inoculación está infiltrado principalmente por linfocitos T γ/δ + WC1+ (en los seres humanos y en el ratón predominan los linfocitos T α/β , mientras que en óvidos y bóvidos predominan los linfocitos T γ/δ). No hay linfocitos B en la lesión (Tizard, 2009).

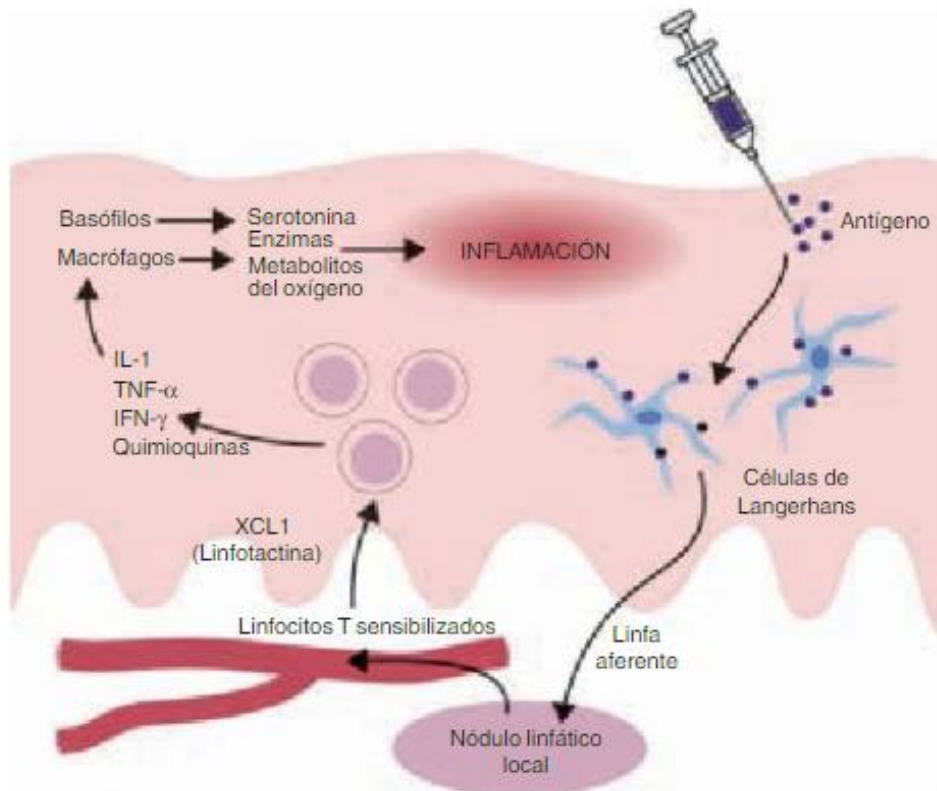


Figura 3. Diagrama esquemático que representa el mecanismo de una reacción de hipersensibilidad retardada (Tizard, 2009).

Los linfocitos T γ/δ ayudan a reclutar otros linfocitos Th1 y macrófagos a la zona. Estos linfocitos Th1 secretan interferón- γ (IFN- γ), interleuquina-2 (IL-2) e IL-6. Los dos primeros actúan sobre las células endoteliales incrementando la expresión de moléculas de adhesión. La IL-2 estimula la producción de las quimioquinas CXCL8, CCL5 y XCL1, que atraen y activan a más linfocitos T, y la IL-6 atrae más linfocitos T CD4+. Los macrófagos también liberan serotonina y quimioquinas, como CXCL1 y CCL2, que atraen a los basófilos. Las quimioquinas de los linfocitos T, CCL2 y CCL3, pueden inducir directamente la desgranulación de los mastocitos a través del antígeno unido a las moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) (Tizard, 2009).

Las quimioquinas de los linfocitos T causan inflamación y atraen todavía a más linfocitos T, la mayoría de los cuales no están sensibilizados específicamente por el antígeno inductor. Solo una pequeñísima proporción, quizá un 5% de los linfocitos que se encuentran en una reacción de hipersensibilidad retardada, son específicos del antígeno. La gran mayoría son atraídos de forma inespecífica por XCL1. Entre las 60 y 72 horas, los linfocitos predominantes son $\alpha/\beta+$, CD4+ y CD8+. Los macrófagos se acumulan en la lesión debido a la producción de CXCL8 y pueden ser activados por el IFN- γ . Parte del daño tisular de las reacciones intensas de hipersensibilidad retardadas se puede deber a la liberación de proteasas y oxidantes por los macrófagos activados, que ingieren y finalmente destruyen el antígeno inoculado. Esto, junto con la aparición de células reguladoras en la lesión, permite finalmente que el tejido regrese a la normalidad (Tizard, 2009).

Reacciones a la tuberculina en bóvidos

Con frecuencia, sólo un pequeño número de individuos dentro de un hato muestra reacciones positivas a la prueba de tuberculina y desarrollan lesiones patológicas. Es probable que estos animales representen un extremo del espectro de respuestas a la exposición a *M. bovis*. Otros animales del rebaño pueden eliminar la infección sin sensibilizarse a la prueba de la tuberculina (Cassidy, 2008). Los

animales que resultan positivos, pero en los que no se pueden detectar lesiones pueden infectarse de forma latente o pueden haber eliminado la infección, pero permanecen sensibilizados a la tuberculina (Quinn *et al.*, 2011).

Pueden registrarse resultados de prueba falsos negativos:

- Los bovinos probados antes de que se desarrolle hipersensibilidad de tipo retardado a la tuberculina (aproximadamente 30 días después de la infección) no reaccionan.
- En algunos bovinos, un estado que no responde, conocido como anergia, puede acompañar a la tuberculosis avanzada. Los mecanismos implicados están incompletamente comprendidos.
- Puede ocurrir una desensibilización transitoria después de la inyección de tuberculina. La reactividad normalmente regresa dentro de 60 días.
- La inmunosupresión debida al estrés, incluyendo la experiencia de parto temprano o debido a la administración de fármacos inmunosupresores, puede contribuir a la incapacidad para responder a la prueba de tuberculina.

Como la reacción positiva a la tuberculina solo se produce en animales que tengan, o hayan tenido, tuberculosis, la prueba cutánea puede emplearse para identificar animales afectados por la enfermedad (Tizard, 2009) y pueden atribuirse a la sensibilización a micobacterias distintas de *M. bovis* (Quinn *et al.*, 2011). En los países en los que se produce una alta proporción de reacciones falsas positivas, se utiliza la prueba comparativa con preferencia a la prueba intradérmica única (Quinn *et al.*, 2011). De hecho, la prueba de la tuberculina ha sido la base de todos los esquemas de erradicación de la tuberculosis que implican la detección y posterior eliminación de los animales infectados (Tizard, 2009).

En el ganado bovino la prueba cutánea puede realizarse de varias maneras (Tizard, 2009) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Pruebas de la tuberculina empleadas en bóvidos (Tizard, 2009)

Prueba	Uso	Ventajas	Desventajas
Intradérmica única	Análisis rutinario	Sencilla	Tendencia a falsos positivos Escasa sensibilidad
De comparación	Cuando son prevalentes la TB aviar o la enfermedad de Johne (paratuberculosis)	Más específica que la SID	Más complejas que la SID
Térmica breve	En animales tras el parto y en animales infectados	Alta eficiencia	Requiere mucho tiempo Riesgo de anafilaxis
Stormont	En animales tras el parto y en casos de infección avanzada	Muy sensible y exacta	Se requieren tres visitas Puede sensibilizar al animal

Otra prueba modificada de la tuberculina es la prueba térmica breve, en la que se administra un gran volumen de solución de tuberculina por vía subcutánea y se examina al animal en busca de un aumento de la temperatura de 4 a 8 horas más tarde (se supone que la tuberculina actúa sobre los linfocitos T, provocando la liberación de IL-1 y otras citoquinas a partir de los macrófagos) (Tizard, 2009).

La prueba de Stormont se basa en la mayor sensibilidad que se presenta en el sitio de la prueba después de una sola inoculación: se realiza inoculando dos dosis de tuberculina en el mismo sitio de inoculación, con una diferencia de 7 días. Ambas pruebas son relativamente sensibles, por lo que pueden usarse en vacas después del parto, así como para analizar a los animales muy infectados. La repetición de la prueba de la tuberculina da lugar a un período de reactividad disminuida y la formación de anticuerpos frente al antígeno HSP 70 de *M. bovis* (Tizard, 2009).

Tratamiento

En la actualidad, el tratamiento de la tuberculosis bovina no es recomendable debido a su naturaleza infecciosa (Peters, 2010) y porque resulta muy caro y prolongado, y porque el gran objetivo último se cifra en erradicar la enfermedad (OIE, 2013). Si se detecta que un animal está infectado, debe ser sacrificado del rebaño; sin embargo, existen algunas medidas preventivas disponibles (Peters, 2010).

Además, el tratamiento del ganado afectado por la tuberculosis con medicamentos no ha dado muy buenos resultados y se ha prohibido en la mayoría de los países, especialmente debido a la posibilidad de que aumente la resistencia de la micobacteria a los medicamentos (FAO, sf).

La única vacuna disponible en la actualidad contra la infección por *M. bovis* es el bacilo de Calmette-Guerin (BCG), que es una cepa viva atenuada de *M. bovis*. Además de su eficacia limitada en el ganado, la vacuna BCG también puede comprometer la prueba de tuberculina en los animales (FAO, sf).

Salud pública

El riesgo de transmitir la Tuberculosis de los bovinos al ser humano se ha reconocido desde hace mucho tiempo (Ellner *et al.*, 1993) por lo que representa un problema de salud pública (OIE, 2013; Zumarraga *et al.*, 2001) y, en consecuencia, se ha instituido la práctica sistemática de pasteurizar la leche para eliminar el agente etiológico. La infección por *M. bovis* en seres humanos puede ser el resultado de la ingestión de leche contaminada, la inhalación a través de aerosoles o el contacto con material clínico infectado (Van Soolingen *et al.*, 1994; Madkour, 2004), además de que actualmente es poco frecuente en países donde se produce leche pasteurizada y se implementan programas de erradicación de tuberculosis bovina (CFSPH, 2010).

La principal vía de transmisión es a través del consumo de productos lácteos no pasteurizados, y por lo tanto *M. bovis* se presenta generalmente como enfermedad extrapulmonar (Cosivi *et al.*, 1998). Antes de las investigaciones genéticas, era común tema de controversia la propagación humano a humano a través de partículas en aerosol (LoBue y Moser, 2004). Sin embargo, los recientes informes de hospitales y brotes de la comunidad indican que este tipo de transmisión es factible (Guerrero *et al.*, 1997; Evans *et al.*, 2007). Sin embargo, independientemente de su vía de transmisión, la enfermedad pulmonar representa una proporción considerable de todos los casos de *M. bovis* en los países desarrollados, y tal vez mucho más en las regiones endémicas (Hlavsa *et al.*, 2008).

En los países en desarrollo, la incidencia de la tuberculosis humana debida a *M. bovis* es difícil de determinar con precisión, y probablemente permanezca subnotificada debido a las limitaciones de muchos laboratorios de diagnóstico para aislar el microorganismo y distinguir el *M. bovis* del *M. tuberculosis* (FAO, sf), además de que la enfermedad pulmonar en humanos, es clínicamente, radiológicamente y patológicamente indistinguible de la tuberculosis pulmonar causada por *M. tuberculosis*. Sin embargo, la transmisión de *M. bovis* de humanos a seres humanos se considera mucho menos eficiente que la transmisión de *M. tuberculosis* (Madkour, 2004).

La tuberculosis por *Mycobacterium bovis* fue una vez común en niños, afectando los ganglios linfáticos cervicales, el tracto intestinal o las meninges, como resultado de la alimentación de leche de vaca infectada. En 1937, hasta el 25% de los casos de tuberculosis en los Estados Unidos y el Reino Unido se debían a infecciones por *M. bovis*. La introducción de la pasteurización para los productos lácteos y leche, junto con las inspecciones de la carne del rastro, redujeron significativamente esta incidencia y la tuberculosis bovina en los niños es actualmente insignificante. Fue el reconocimiento del riesgo para la salud pública lo que llevó a la introducción de programas de control y erradicación de la

tuberculosis bovina en muchos países a principios del siglo pasado. El éxito de estos sistemas ha dado como resultado una baja prevalencia o ausencia de infección por *M. bovis* en la mayoría de los rebaños de ganado nacional, particularmente en países con prácticas agrícolas avanzadas. Esto se reflejó en una dramática caída en la incidencia de la tuberculosis humana debido a *M. bovis*. (Madkour, 2004).

Sin embargo, la enfermedad continúa informándose en zonas donde los controles de la enfermedad son precarios (CFSPH, 2010) y es cada vez más importante en los países en desarrollo (Admassu *et al.*, 2015). Esta incidencia es mayor entre los agricultores, ordeñadores, mataderos, veterinarios, quienes realizan necropsias, los empleados de frigoríficos y demás personas que trabajan con ganado bovino (CFSPH, 2010; Soberanis, 2013). Además, los humanos pueden contagiarse por la exposición a otras especies; se han producido infecciones documentadas con cabras, focas, ciervos de granja y rinocerontes. La fauna silvestre puede ser fuente de infección, particularmente en países donde se consume carne proveniente de la caza (CFSPH, 2010).

La OMS estimó que la incidencia de tuberculosis en la población humana mundial durante la década 1990-1999 fue de 88 millones de casos con una mortalidad de 30 millones de personas. De estos casos la gran mayoría fueron causados por *Mycobacterium tuberculosis* y en menor cantidad por *Mycobacterium bovis*. A nivel mundial, se considera que *M. bovis* es responsable del 2 al 8 % de los casos de tuberculosis bovina (TB) en humanos y estos porcentajes aumentan en los casos clínicos de tuberculosis no pulmonar (Mateos, 2017).

En la actualidad, debido a la asociación de micobacterias con la pandemia del VIH / SIDA y ante la alta prevalencia del VIH / SIDA en el mundo en desarrollo y la susceptibilidad de los pacientes de SIDA a la tuberculosis en general, la situación cambiante es más probable (Admassu *et al.*, 2015).

En México, el riesgo se explica por la elevada prevalencia de la enfermedad en el ganado lechero ($\approx 16\%$), la falta de participación de los establos lecheros en campañas de erradicación y el hecho de que 30 a 40% de la leche que se produce se vende en la forma de leche bronca (Pérez-Guerrero *et al.*, 2008).

Distribución geográfica

La distribución geográfica de la TB bovina ha cambiado drásticamente en las últimas décadas. Antes de la introducción de medidas de control y pasteurización de la leche en los países desarrollados, la tuberculosis ha sido ampliamente distribuida en todo el mundo. Los programas de erradicación basados en las políticas de ensayo y sacrificio para eliminar las manadas de animales infectados prácticamente eliminaron la tuberculosis del ganado en muchos países desarrollados. Hoy en día, muchos países de Europa y América del Norte y Australia están libres de la enfermedad o están cerca de la erradicación completa en el ganado (Admassu *et al.*, 2015).

En México, a febrero de 2017 se ha reconocido el 85.77% del territorio nacional en fase de erradicación (prevalencia menor al 0.5%) (SAGARPA-SENASICA, 2017) (Figura 4).

Adicional a la normatividad vigente en México, se tienen Memorandos de entendimiento, en lo que refiere a tuberculosis bovina se tienen acordado entre el SENASICA y el Servicio de Inspección en Sanidad Animal y Vegetal (APHIS), del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) dos documentos que son los Servicios Veterinarios que clarifican los requisitos para reconocer zonas de baja prevalencia de TB en México. Actualmente el USDA tiene reconocidas 24 regiones de baja prevalencia de tuberculosis bovina, el territorio nacional reconocido equivale al 66.23%, Sonora es el único estado que exporta sin prueba, 10 zonas exportan con una prueba negativa del lote y 13 zonas exportan con prueba del hato y del lote (SAGARPA-SENASICA, 2017) (Figura 5).



Figura 4. Estatus zoonosario de la Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*) en México (SAGARPA-SENASICA, 2017).



Figura 5. Clasificación de los Estados por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) de acuerdo a la prevalencia de tuberculosis en bovinos (SAGARPA-SENASICA, 2017).

En México el impacto económico de la alta prevalencia de la tuberculosis bovina es enorme. Se estiman pérdidas anuales de 40 millones de dólares por el desecho de ganado enfermo y de 450 millones de dólares por las restricciones a la exportación de ganado en pie a Estados Unidos (Juárez, 2013).

Antecedentes

La razón principal para que la tuberculosis bovina sea una enfermedad de declaración obligatoria es porque puede transmitirse del bovino al humano, especialmente por el consumo de leche o queso crudo, pero también por contacto directo con el animal en el hato o en el rastro, además del impacto económico en la productividad del hato hace importante controlar esta enfermedad (De Waard, 2010).

Ya que genera pérdidas económicas directas e indirectas en la ganadería, por ejemplo, un estudio en Irlanda mostró que la producción de leche fue significativamente menor (desde 120kg a 573kg de leche por lactancia) para las vacas reactivas a la tuberculina bovina (infectados con *M. bovis*) en comparación con las vacas no reactivas (Boland *et al.*, 2010). También la disminución gradual del peso del animal, perdiendo un promedio de 15% del peso normal y las pérdidas en el momento del sacrificio en el rastro por decomiso parcial o total de los bovinos, afectan la economía del establo (De Waard, 2010).

Muchas naciones desarrolladas tienen programas de largo plazo para erradicar la tuberculosis en ganado, principalmente ganado. A medida que disminuye la prevalencia de la enfermedad en el ganado, estos esfuerzos a veces son impedidos por el paso de *M. bovis* de animales de vida silvestre al ganado ya que la enfermedad puede persistir en algunas especies de vida silvestre, creando reservorios de enfermedades, si se alcanzan los umbrales de reproducción básica (R0) y tamaño crítico de la comunidad (CCS) (Palmer, 2013).

Asimismo, se ha evaluado la prevalencia de *M. bovis* en una zona de interfase entre ganado bovino y rumiantes silvestres en la meseta de montaña de México, donde muestrearon 24400 bovinos, 142 rumiantes silvestres éstos últimos mediante caza controlada, obteniendo una prevalencia real de 0.86% en el ganado sin detectar *M. bovis* en rumiantes silvestres (Cisneros *et al.*, 2012).

Rivera (1976), determinó que en 5 años de los animales sacrificados en rastro del valle de México, el 0.1% de los bovinos mostraron presencia de tuberculosis, siendo las vacas lecheras las más frecuentes; asimismo la tasa de mortalidad en humanos de los años 1968 a 1972 osciló entre 14.9 a 19.2 por 100,000 habitantes del Distrito Federal, y a nivel nacional osciló del 17.3 al 20; concluyendo que más del 40% de los bovinos del Valle de México padecen tuberculosis y estimando que el 5% de todas las afectaciones pulmonares y 15% de las infecciones extrapulmonares en el hombre son de origen bovino.

Por otro lado, en México se han realizado investigaciones para conocer la estructura poblacional de los aislados de *Mycobacterium bovis* de bovinos mediante spoligotyping a 878 muestras recolectadas de bovinos entre 2009 y 2010 procedentes de diferentes regiones del país encontrando 194 spoligotipos en total con un alto grado de heterogeneidad, 64% de los aislados se agruparon en sólo nueve spoligotipos, y el 27% cayó en sólo dos spoligotipos: SB0673 y SB0669; 149 eran spoligotipos huérfanos. Los dos spoligotipos predominantes fueron encontrados en casi todos los estados en México, especialmente en México central, donde hay una alta concentración del ganado lechero (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Patraca (2015), evaluó 5482 muestras de nódulos linfáticos macerados remitidos al Laboratorio Central Regional de Monterrey en el periodo del 2011 al 2013; de las cuales 1454 muestras correspondieron al 2011 de éstas el 4.26% fueron positivas (10 fueron animales reactivos; 10 de matanza regular; 7 animales expuestos; 3 sospechosos y 32 clasificaron como desconocido); 1911 muestras en

el 2012 de las cuales se obtuvo un 5.9% de positividad (28 reactores; 17 de matanza regular; 10 con la clasificación de expuesto; 7 sospechosos y 51 desconocidos); y 2117 muestras pertenecientes al 2013, de las cuales el 4.86% de las muestras remitidas dieron resultados positivas (21 reactores; 21 de matanza regular; 12 sospechosos; 7 expuestos y 17 con clasificación de origen desconocido).

Milian-Suazo *et al.* (2000) evaluaron 2500 muestras de canales de bovino en rastro en 6 regiones lecheras en México, entre julio de 1996 y enero de 1997, 400 presentaron lesiones macroscópicas típicas de tuberculosis, confirmándose la infección en el 87% de ellas por examen histológico, 77% por cultivo bacteriológico en un laboratorio de EUA y 59% por cultivo bacteriológico en un laboratorio de México.

Se han realizado estudios para identificar la distribución geográfica de la tuberculosis humana y bovina, así como la especie de *Mycobacterium* predominante en el Estado de México mediante la amplificación del marcador presente en el gen rNRA 23s y comparadas con el gen rRNA 16s, encontrando que no se distribuye aleatoriamente, en los humanos se aislaron 10 cepas de las cuales 9 corresponden al complejo *M. tuberculosis*, y una con *M. conceptionense*; en los bovinos se aislaron 13 cepas y de éstas 6 tuvieron semejanza con *M. neoaurum*, 4 con *M. parafortuitum*, 2 con *M. morikaense* y el resto con *M. confluentis* (Zaragoza, 2013).

Asimismo, se han realizado investigación para conocer la diversidad y el origen genético del complejo *M. tuberculosis* presentes en 210 pacientes del estado de Baja California, de las cuales el 2% de las muestras clínicas fueron identificadas como *M. bovis* y el resto como *M. tuberculosis*; asimismo se identificaron 11 linajes siendo el Linaje de América Latina y Mediterráneo el más predominante (García, 2013).

De la misma forma, Milán *et al.* (2000) en el estado de Querétaro, realizaron un estudio retrospectivo de los años 1992 a 1996, para analizar la situación de la tuberculosis humana y durante 6 meses en bovinos; el número de casos humanos fue de 114 en 1992, 211 en 1995 y 174 en 1996, los posibles factores de riesgo fueron: hacinamiento, desnutrición, casos previos de tuberculosis en la familia, *Diabetes mellitus*, mala higiene personal, tabaquismo y abuso de alcohol. Para el caso de bovinos, de las 1201 canales revisadas en el sacrificio, el 17% presentó lesiones macroscópicas por tuberculosis, 96% fueron lesiones localizadas con frecuencia con un único órgano, en su mayoría retrofaríngeo, mediastínico, mesentérico y linfático mandibular.

Posteriormente, en el mismo estado, Pérez-Guerrero *et al.* (2008) determinaron el papel que juega *M. bovis* en la tuberculosis humana, mediante el análisis por spoligotyping y aislamiento de 255 muestras de pacientes sintomáticos, encontrando que 94 fueron positivas, de las cuales el 70% mostraron espoligotipo de *M. tuberculosis* y el 13.8% de *M. bovis*, lo que muestra el riesgo a la salud pública.

Se han realizado estudios en Tizayuca, que sugieren que la vía de infección más probable es la transmisión aerógena del bovino al humano y que la exposición ocupacional es el factor de riesgo más importante (Soberanis, 2013).

También se ha determinado la importancia de *M. bovis* en la tuberculosis activa en niños de la región fronteriza entre México y EUA, del año 1980 a 1997, donde de los 563 pacientes identificados el 10.8% el agente causal fue *M. bovis*, estos fueron más propensos a ser hispanos (90.2%), presentar una enfermedad extrapulmonar (95.1%) y tener más de un año de edad (96.8%); esto muestra el impacto subestimado de la tuberculosis zoonótica en los niños de esta región y la necesidad de la colaboración cruzada (Dankner y Davis, 2000).

JUSTIFICACIÓN

La tuberculosis bovina es una enfermedad bacteriana de curso crónico, que genera pérdidas económicas directas e indirectas en la ganadería además representa un riesgo a la salud pública y a pesar de ser una enfermedad de Campaña la cual busca su prevención, control y erradicación; uno de los principales problemas que surgen en el curso del control y erradicación de la tuberculosis bovina, es la reemergencia de la infección en hatos que fueron saneados con anterioridad, sin considerar el costo económico que genera; esto debido a que en la mayoría de los casos no es posible aclarar epidemiológicamente el origen del caso primario, pudiendo tratarse de una reinfección o bien de un rebrote de la infección, que habría quedado latente en alguno de los animales del hato, sin que las técnicas de diagnóstico disponibles lo hayan detectado; por lo que es importante realizar la asociación epidemiológica de las regiones donde se detectan los casos y los resultados de las técnicas diagnósticas de acuerdo a la normatividad vigente para determinar el origen de la infección y el riesgo a la salud animal y a la salud pública que representa, que permitan establecer de las medidas de prevención y control más eficientes y oportunas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Establecer el panorama epidemiológico de la tuberculosis bovina en el estado de Puebla del año 2014 al 2016.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Analizar retrospectivamente la distribución y frecuencia de la tuberculosis en bovinos del estado de Puebla del periodo 2014 a 2016.
- Establecer la tendencia del comportamiento de la enfermedad mediante análisis comparativos de la frecuencia de detección de *M. bovis* en un periodo de tres años.
- Estimar el riesgo a la salud pública de transmisión de la tuberculosis bovina.
- Identificar las patologías más frecuentes como diagnóstico diferencial de la tuberculosis.

MATERIAL Y METODOS

Área de estudio

La investigación se realizó en el estado de Puebla, el cual se encuentra ubicado al Sureste del Altiplano de la República, entre la Sierra Nevada y al Oeste de la Sierra Madre Oriental; se encuentra entre los paralelos 17° 52' - 20° 52' latitud norte y los 96° 43' y 99° 04' de longitud Oeste; está limitado al Norte con Veracruz, al sur con Oaxaca y Guerrero; al oeste con Morelos, Estado de México, Tlaxcala e Hidalgo y al este con Veracruz. (INAFED, 2010) (Figura 6).



Figura 6. Ubicación geográfica del Estado Puebla, México (tomado de <http://mr.travelbymexico.com/717-estado-de-puebla/>).

El estado de Puebla comprende 8 Distritos de Desarrollo Rural, para su intervención y ejecución de las acciones de la Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina, está dividido a su vez en 3 regiones; Región A zona limpia

consta actualmente de 63 municipios debido a que la prevalencia es menor al 2%, una zona de amortiguamiento que amortigua los animales que pretendan ingresar a la zona A y una zona B, zona sucia debido a que la prevalencia es mayor al 2%. (Figura 7).

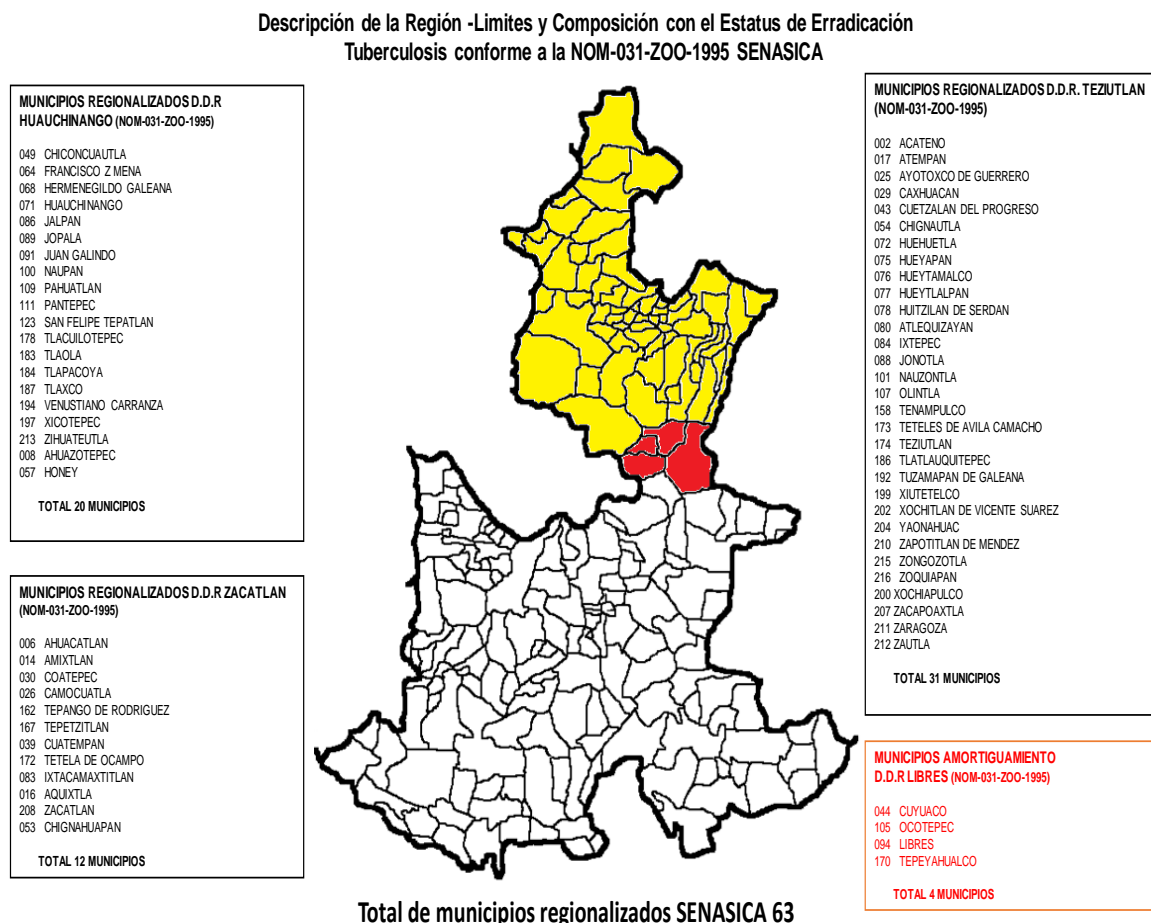


Figura 7. Regionalización de la tuberculosis bovina en el estado de Puebla, 2012 (Fuente: Comité de Fomento y Salud Animal del Estado de Puebla).

Tipo de estudio y muestreo

Se realizó un estudio observacional longitudinal con un muestreo no probabilístico por conglomerados y conveniencia.

Metodología

Se tomaron muestras de tejidos con lesiones por tuberculosis a bovinos sospechosos y determinados como reactores a las pruebas diagnósticas de campo y que fueron sacrificados en rastro de acuerdo a la NOM-031-ZOO-1995; las muestras se colocaran en un kit que consta de dos frascos, uno con Formol amortiguado al 10% y otro con Borato de Sodio y se trasladaron al Comité de Fomento y Salud Animal del Estado de Puebla para su agrupación y posterior envío al Laboratorio Cordobés de Diagnostico Pecuario, para el diagnóstico Histopatológico y Bacteriológico.

Obtenidos los resultados, se correlacionaron con el análisis de la información de los expedientes de los hatos positivos para poder establecer en un mapa patrones de difusión de la enfermedad en el Estado.

El análisis de riesgo es la evaluación de la probabilidad de entrada, establecimiento y diseminación de las enfermedades y plagas y sus consecuencias biológicas y económicas, así como su impacto a la Salud Pública. Para estimar el riesgo a la salud pública, se realizó un análisis de tipo cualitativo, siguiendo estas etapas:

- Identificación de peligros
- Evaluación del riesgo
 - Evaluación de la difusión
Esta evaluación se realiza al identificar los mecanismos de transmisión y se señala en un cuadro qué nivel de probabilidad de difusión tendría el agente y se cruza con el resultado de la evaluación de la exposición.
 - Evaluación de la exposición
Ésta evalúa la probabilidad de exposición del agente a otros huéspedes susceptibles, y su resultado se cruza con el de la probabilidad de difusión.
 - Evaluación de las consecuencias

Se analiza las posibles consecuencias de la presencia de la tuberculosis.

- Estimación del riesgo (Jaramillo y Martínez, 2010).

Es el riesgo del resultado de cruzar la evaluación de las consecuencias con el de la probabilidad de difusión y exposición.

RESULTADOS

En el año 2014, se obtuvieron un total de 134 muestras de las cuales 105 correspondieron a hembras, 26 machos y de 3 no se contó con la información; de diferentes rangos de edad (Cuadro 4), asimismo predominaron los animales reactores y aquellas muestras obtenidas de la matanza regular (Figura 8).

Cuadro 4. Grupo etario por sexo de los animales muestreados para diagnóstico de tuberculosis en el año 2014, en el estado de Puebla.

Machos			Edad Hembras				Sin sexo
Becerro 0-24 meses	Novillo 24-48 meses	Toro > 48 meses	Becerra 0-24 meses	Vacas 24 - 36 meses	Vacas de reemplazo > 36 meses	SD	Sin edad
6	15	5	7	17	78	3	3

SD: Sin datos

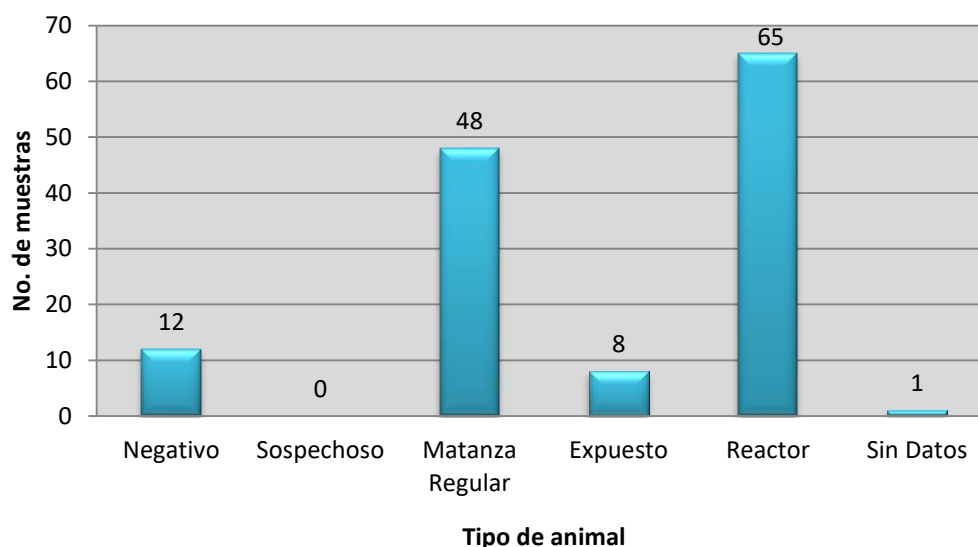


Figura 8. Muestras obtenidas para diagnóstico de tuberculosis por tipo de animal en el año 2014.

De los animales positivos a tuberculosis en histopatología y en análisis bacteriológico, se encontraron 65 animales positivos a tuberculosis en 26 municipios de 47 municipios de los que se tomaron muestras que representa el

55.3% (Figura 9); lo cual muestra una frecuencia relativa estatal del 48.5%, y una tasa de 11.2 por cada 100,000 bovinos.

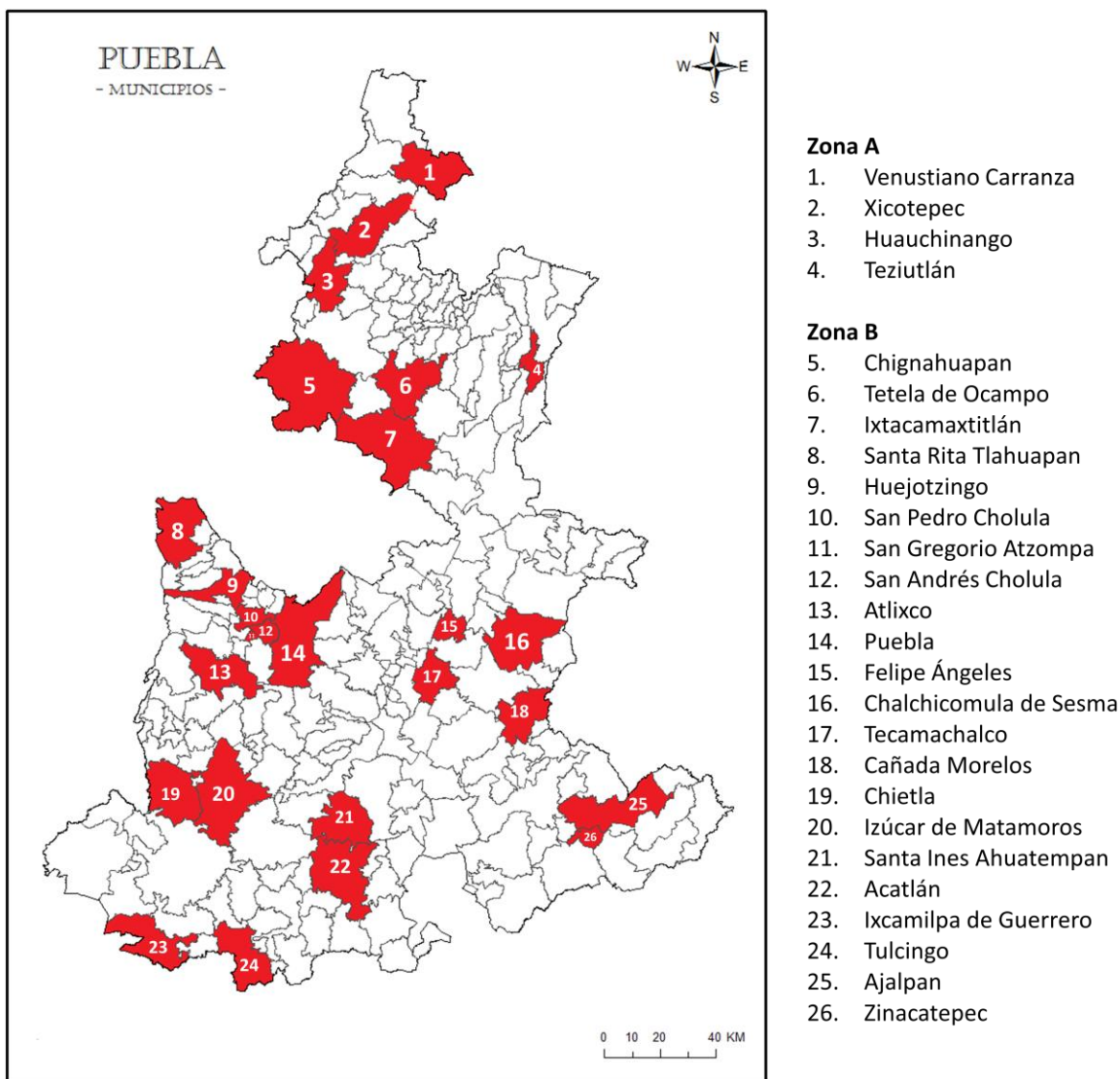


Figura 9. Municipios que han presentado bovinos positivos a tuberculosis en el estado de Puebla durante el año 2014.

Asimismo, 19 animales correspondieron a municipios pertenecientes a la región A y el resto (115) a la región B. En la región A una frecuencia relativa del 21% con una tasa de prevalencia de 1.8 y en la región B una frecuencia relativa de 62.9% y una tasa de prevalencia de 16.8 por cada 100,000 animales.

De la región A, 4 bovinos salieron positivos a tuberculosis en histopatología y 3 en bacteriología, a su vez del total de los animales positivos el 66.7% de las muestras obtenidas fueron de matanza regular y el 33.3% de animales reactivos (Cuadro 5); también se tipificaron molecularmente a una muestra de cada tipo de animal positivo a tuberculosis resultando el agente causal *M. bovis*.

Cuadro 5. Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2014.

Tipo de zona		A					
Tipo de animal	No. de muestras	Histopatología			Bacteriológico		Tipificación a <i>M. bovis</i>
		Tuberculosis	Otras patologías	SCP	Positivo	Negativo	
Negativo	10	0	10	0	0	10	0
Sospechoso	0	0	0	0	0	0	0
Matanza Regular	3	2	1	0	2	1	1
Expuesto	0	0	0	0	0	0	0
Reactor	6	2	1	3	1	5	1
Sin Datos	0	0	0	0	0	0	0
Total	19	4	12	3	3	16	2

SCP: Sin cambio patológico

En la región B, de los animales muestreados el 47% resultaron positivos a tuberculosis por histopatología y el 38% en el bacteriológico, con un total de 61 bovinos positivos, de los cuales el 64.8% fueron reactivos, 25.9% de matanza regular y el resto expuestos (Cuadro 6); por otro lado se tipificaron molecularmente 6 muestras positivas a tuberculosis procedentes de animales de matanza regular siendo agente causal *M. bovis*

En relación al sexo hubo una mayor frecuencia relativa de tuberculosis en las hembras con un 47.6% mientras que los machos un 34.6%. En los machos, tanto los becerros como novillos presentaron frecuencias relativas de tuberculosis del 50%, mientras que los toros del 22.2%; A su vez, en las hembras, las que presentaron un mayor porcentaje de positividad fueron las berreras con un

71.42%, seguido de las vacas de reemplazo con el 44.9% y las vacas con el 35.3% (Cuadro 7).

Cuadro 6. Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región B en el estado de Puebla en el año 2014.

Tipo de zona B							
Tipo de animal	No. de muestras	Histopatología			Bacteriológico		Tipificación a <i>M. bovis</i>
		Tuberculosis	Otras patologías	SCP	Positivo	Negativo	
Negativo	2	0	2	0	0	2	0
Sospechoso	0	0	0	0	0	0	0
Matanza Regular	45	14	5	26	12	33	6
Expuesto	8	5	3	0	5	3	0
Reactor	59	35	8	16	27	32	5
Sin Datos	1	0	0	1	0	1	0
Total	115	54	18	43	44	71	11

SCP: Sin cambio patológico

Cuadro 7. Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2014.

Sexo	Edad	No. de muestras	Histopatología			Bacteriológico		Tipificación a <i>M. bovis</i>
			Tuberculosis	Otras patologías	SCP	Positivo	Negativo	
Machos	Becerro 0-24 meses	6	3	1	2	2	4	0
	Novillo 24-48 meses	2	1	1	0	2	0	0
	Toro > 48 meses	18	4	5	9	5	13	0
Hembras	Becerra 0-24 meses	7	5	2	0	2	5	0
	Vacas 24 - 36 meses	17	6	4	7	6	11	2
	Vacas de reemplazo > 36 meses	78	35	17	26	27	51	10
	SD	3	2	0	1	2	1	0
SD	> 36 meses	3	2	0	1	1	2	1

SD: Sin Datos

Asimismo, dentro de las patologías encontradas en los bovinos muestreados, el 43% presentaron lesiones típicas de tuberculosis, el 34% no presentaron ningún daño patológico aparente, seguido de hemorragias, linfadenitis piogranulomatosa y pigmentación exógena, cada una con el 3.7% (Figura 10).

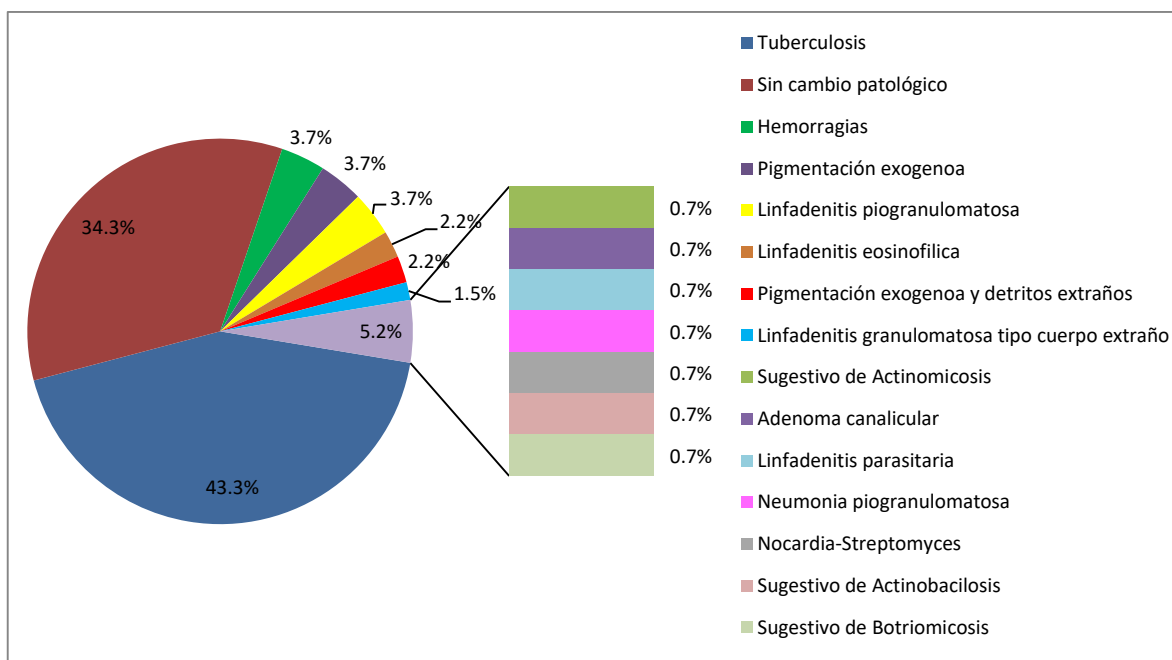


Figura 10. Patologías encontradas en los bovinos muestreados en el estado de Puebla durante el año 2014.

En el año 2015 se muestrearon a 82 animales, de los cuales fueron 54 hembras, 27 machos y una sin información, de diferentes rangos de edad (Cuadro 8); a su vez del total, el 59% correspondieron a muestras obtenidas de matanza regular y el 33% a muestras de bovinos reactivos (Figura 11).

Cuadro 8. Grupo etario por sexo de los animales muestreados para diagnóstico de tuberculosis en el año 2015, en el estado de Puebla.

Machos			Edad Hembras			Sin sexo
Becerro 0-24 meses	Novillo 24-48 meses	Toro > 48 meses	Becerra 0-24 meses	Vacas 24 - 36 meses	Vacas de reemplazo > 36 meses	Sin edad
4	22	1	1	12	41	1

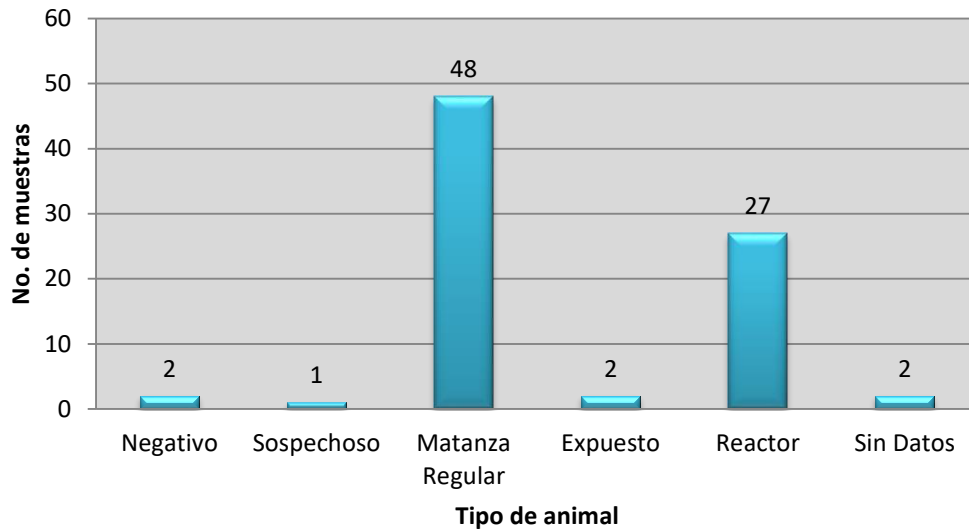


Figura 11. Muestras obtenidas para diagnóstico de tuberculosis por tipo de animal en el año 2015.

De acuerdo a los resultados de histopatología y análisis bacteriológico, se encontraron 32 animales positivos a tuberculosis en 19 de 37 municipios muestreados que representa el 51.3% (Figura 12); esto representa una frecuencia relativa estatal del 39%, y una tasa de prevalencia de 5.5 por cada 100,000 bovinos.

Asimismo, 8 bovinos muestreados son procedentes de 6 municipios pertenecientes a la región A y el resto de los animales (74) son originarios de 31 municipios de la región B. En la región A se determinó una frecuencia relativa del 25% con una tasa de prevalencia de 0.9 y en la región B una frecuencia relativa de 41% y una tasa de prevalencia de 8.3 por cada 100,000 animales.

De la región A, 2 bovinos salieron positivos a tuberculosis en histopatología y 1 en bacteriología, a su vez del total de los animales positivos el 100% de las muestras obtenidas fueron de animales reactivos y de éstas sólo se tipificó molecularmente una muestra resultando ser *M. bovis* (Cuadro 9).

Cuadro 9. Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2015.

Tipo de zona A							
Tipo de animal	No. de muestras	Histopatología			Bacteriológico		Tipificación a <i>M. bovis</i>
		Tuberculosis	Otras patologías	SCP	Positivo	Negativo	
Negativo	2	0	1	1	0	2	0
Sospechoso	0	0	0	0	0	0	0
Matanza Regular	1	0	1	0	0	1	0
Expuesto	1	0	1	0	0	1	0
Reactor	3	2	1	0	1	2	1
Sin Datos	1	0	1	0	0	1	0
Total	8	2	5	1	1	7	1

SCP: Sin cambio patológico

En la región B, de los animales muestreados el 35.1% resultaron positivos a tuberculosis por histopatología y el 10.8% en el bacteriológico, de los cuales el 53.8% fueron de matanza regular, 38.5% reactores principalmente (Cuadro 10); también se tipificaron molecularmente 8 muestras positivas a tuberculosis procedentes de animales de matanza regular siendo el agente causal *M. bovis*.

Cuadro 10. Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región B en el estado de Puebla en el año 2015.

Tipo de zona B							
Tipo de animal	No. de muestras	Histopatología			Bacteriológico		Tipificación a <i>M. bovis</i>
		Tuberculosis	Otras patologías	SCP	Positivo	Negativo	
Negativo	1	1	0	0	0	1	0
Sospechoso	0	0	0	0	0	0	0
Matanza Regular	47	14	18	15	8	39	8
Expuesto	1	0	0	1	0	1	0
Reactor	24	10	4	10	0	24	0
Sin Datos	1	1	0	0	0	1	0
Total	74	26	22	26	8	66	8

SCP: Sin cambio patológico

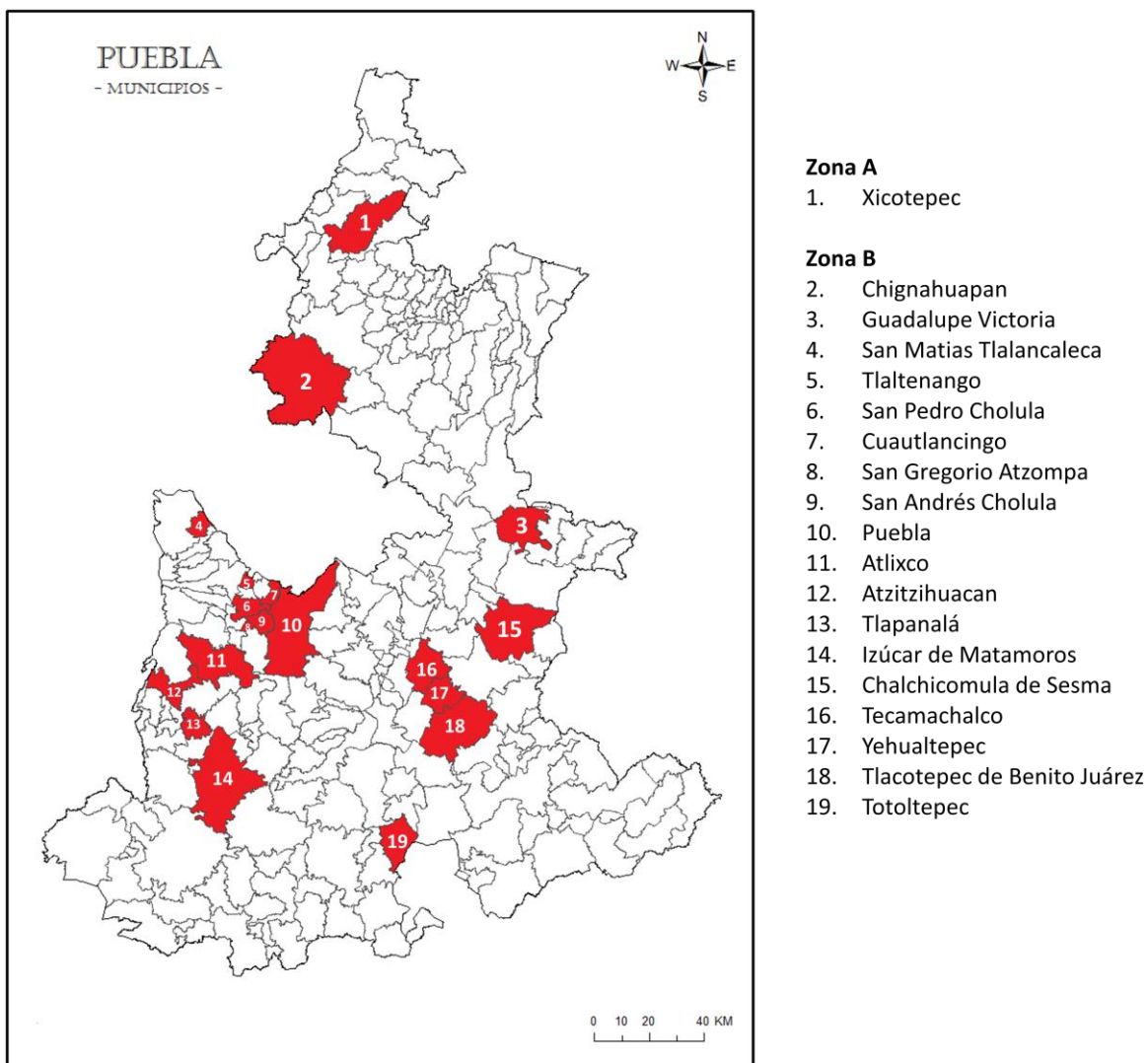


Figura 12. Municipios que han presentado bovinos positivos a tuberculosis en el estado de Puebla durante el año 2015.

En relación al sexo hubo una mayor frecuencia relativa de tuberculosis en las hembras con un 50% mientras que los machos un 37%. En los machos, solo salieron positivos a tuberculosis los becerros y novillos con frecuencias relativas de 25% y 41% respectivamente; A su vez, en las hembras, sólo salieron positivas las vacas y vacas de reemplazo con frecuencias relativas del 16.7% y 39.5% respectivamente (Cuadro 11).

Cuadro 11. Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2015.

Sexo	Edad	No. de muestras	Histopatología			Bacteriológico		Tipificación a <i>M. bovis</i>
			Tuberculosis	Otras patologías	SCP	Positivo	Negativo	
Machos	Becerro 0-24 meses	4	1	2	1	0	4	0
	Novillo 24-48 meses	22	9	7	6	8	14	8
	Toro > 48 meses	1	0	1	0	0	1	0
Hembras	Becerra 0-24 meses	1	0	1	0	0	1	0
	Vacas 24 - 36 meses	12	2	4	6	0	12	0
	Vacas de reemplazo > 36 meses	38	15	11	12	1	37	1
	SD	3	1	0	2	0	3	0
SD	> 36 meses	1	0	1	0	0	1	0

SD: Sin Datos

Asimismo, dentro de las patologías encontradas en los bovinos muestreados, el 34.1% presentaron lesiones típicas de tuberculosis, el 32.9% no presentaron ningún daño patológico aparente, seguido de hemorragias, linfadenitis supurativa y pigmentación exógena, cada una con el 6.1% (Figura 13).

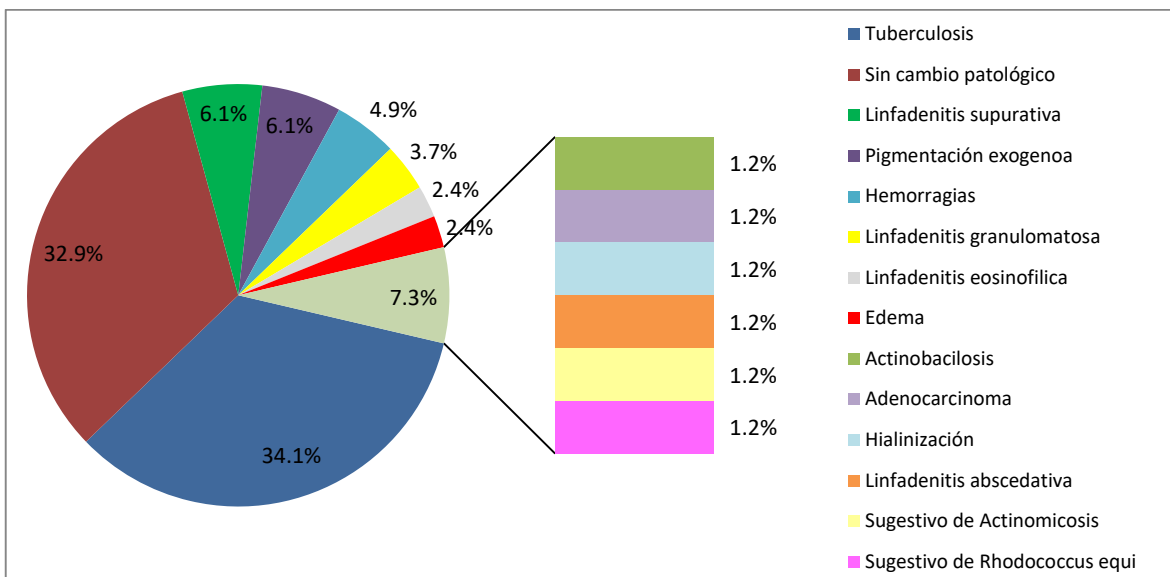


Figura 13. Patologías encontradas en los bovinos muestreados en el estado de Puebla durante el año 2015.

En el año 2016 se obtuvieron a 122 muestras, de los cuales 107 correspondieron a hembras, 13 machos y de 2 no se contó con la información, de diferentes rangos de edad (Cuadro 12); asimismo predominaron las muestras provenientes de animales reactivos con el 52.4%, seguidos del 19.7% de matanza regular, el 16.4% a muestras de bovinos expuestos (Figura 14).

Cuadro 12. Grupo etario por sexo de los animales muestreados para diagnóstico de tuberculosis en el año 2016, en el estado de Puebla.

Machos			Edad Hembras			Sin sexo
Becerro 0-24 meses	Novillo 24-48 meses	Toro > 48 meses	Becerra 0-24 meses	Vacas 24 - 36 meses	Vacas de reemplazo > 36 meses	> 36 meses
3	9	1	4	5	98	2

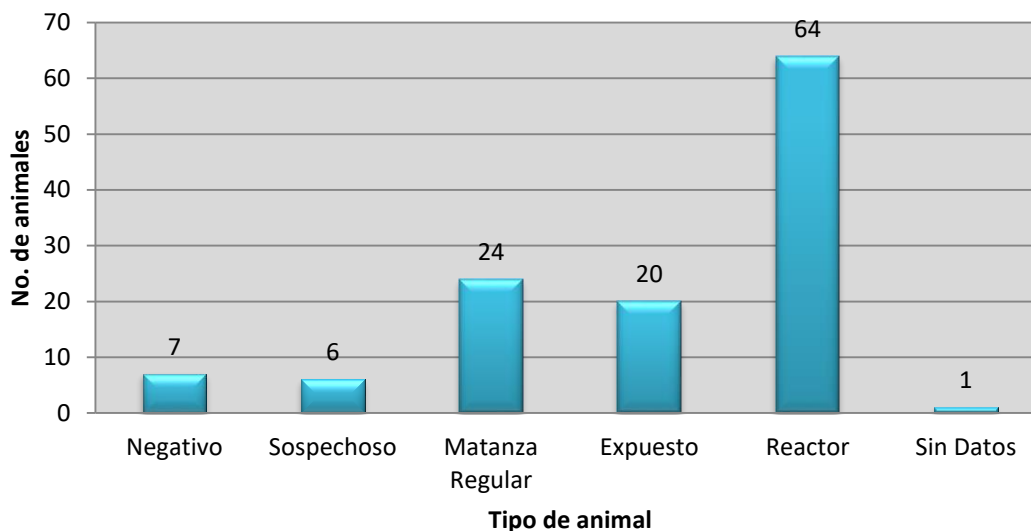


Figura 14. Muestras obtenidas para diagnóstico de tuberculosis por tipo de animal en el año 2016.

Del número total de animales positivos en histopatología y bacteriología, 82 son procedentes de 22 de los 31 municipios muestreados, esto representa el 71%, y a su vez muestra una frecuencia relativa estatal del 67.2%, y una tasa de prevalencia de 14.2 por cada 100,000 bovinos.

Asimismo, 9 animales correspondieron a municipios pertenecientes a la región A y el resto (113) a la región B. En la región A se encontró una frecuencia relativa de tuberculosis del 11% con una tasa de prevalencia de 0.5 y en la región B una frecuencia relativa de 72% y una tasa de prevalencia de 22.3 por cada 100,000 animales.

De la región A, 1 bovino resultó positivo a tuberculosis en histopatología, y en bacteriología y fue tipificado como *M. bovis*, además éste fue de matanza regular (Cuadro 13).

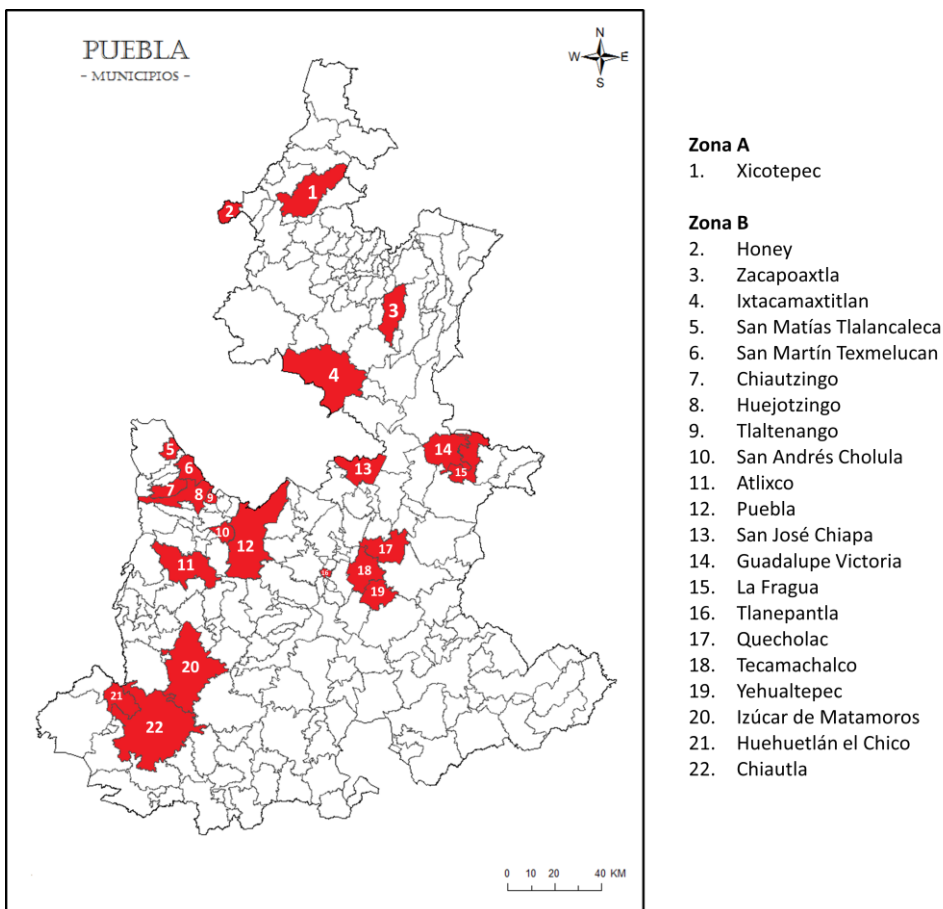


Figura 15. Municipios que han presentado bovinos positivos a tuberculosis en el estado de Puebla durante el año 2016.

Cuadro 13. Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2016.

Tipo de zona		A						
Tipo de animal	No. de muestras	Histopatología			Bacteriológico		Tipificación a <i>M. bovis</i>	
		Tuberculosis	Otras patologías	SCP	Positivo	Negativo		
Negativo	5	0	4	1	0	0	0	
Sospechoso	1	0	0	1	0	0	0	
Matanza Regular	2	1	0	1	1	1	1	
Expuesto	0	0	0	0	0	0	0	
Reactor	1	0	1	0	0	0	0	
Sin Datos	0	0	0	0	0	0	0	
Total	9	1	5	3	1	1	1	

SCP: Sin cambio patológico

En la región B, de los animales muestreados el 62% resultaron positivos a tuberculosis por histopatología y el 40.7% en el bacteriológico, de los cuales el 41.6% fueron reactivos, 10.6% expuestos, el 8% de matanza regular y el resto sospechoso y sin datos (Cuadro 14); se tipificaron molecularmente 6 y 8 muestras positivas a tuberculosis procedentes de animales de matanza regular y reactivos respectivamente, resultando ser *M. bovis* el agente causal de todas las muestras.

Cuadro 14. Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región B en el estado de Puebla en el año 2016.

Tipo de zona		B					
Tipo de animal	No. de muestras	Histopatología			Bacteriológico		Tipificación a <i>M. bovis</i>
		Tuberculosis	Otras patologías	SCP	Positivo	Negativo	
Negativo	2	0	0	2	1	0	0
Sospechoso	5	1	2	2	1	0	0
Matanza Regular	22	9	8	5	9	13	6
Expuesto	20	12	3	5	9	11	0
Reactor	63	47	9	7	25	38	8
Sin Datos	1	1	0	0	1	0	0
Total	113	70	22	21	46	62	14

SCP: Sin cambio patológico

En relación al sexo hubo una mayor frecuencia relativa de tuberculosis en las hembras con un 60.7% mientras que los machos un 27.1%. En los machos, sólo los novillos fueron positivos a tuberculosis con una frecuencia relativa del 33.3% en este estrato; A su vez, en las hembras, las que presentaron un mayor porcentaje de positividad fueron las vacas de reemplazo con una frecuencia relativa del 62.2%, seguido de las vacas con el 60% y finalmente las becerras con el 50% (Cuadro 15).

Cuadro 15. Bovinos positivos a tuberculosis en las pruebas de histopatología y bacteriología, procedentes de municipios pertenecientes a la región A en el estado de Puebla en el año 2016.

Sexo	Edad	No. de muestras	Histopatología			Bacteriológico		Tipificación a <i>M. bovis</i>
			Tuberculosis	Otras patologías	SCP	Positivo	Negativo	
Machos	Becerro 0-24 meses	3	0	2	1	0	3	0
	Novillo 24-48 meses	9	3	5	1	3	6	2
	Toro > 48 meses	1	0	0	1	0	1	0
Hembras	Becerra 0-24 meses	4	2	1	1	0	4	0
	Vacas 24 - 36 meses	5	3	1	1	3	2	3
	Vacas de reemplazo > 36 meses	98	61	18	19	40	58	9
SD	> 36 meses	2	2	0	0	1	1	0

SD: Sin Datos

Por otro lado, dentro de las patologías encontradas en los bovinos muestreados, el 58% presentaron lesiones típicas de tuberculosis, el 20% no presentaron ningún daño patológico aparente, seguido de hemorragias (5%), linfadenitis supurativa y pigmentación exógena, cada una con el 3% (Figura 16).

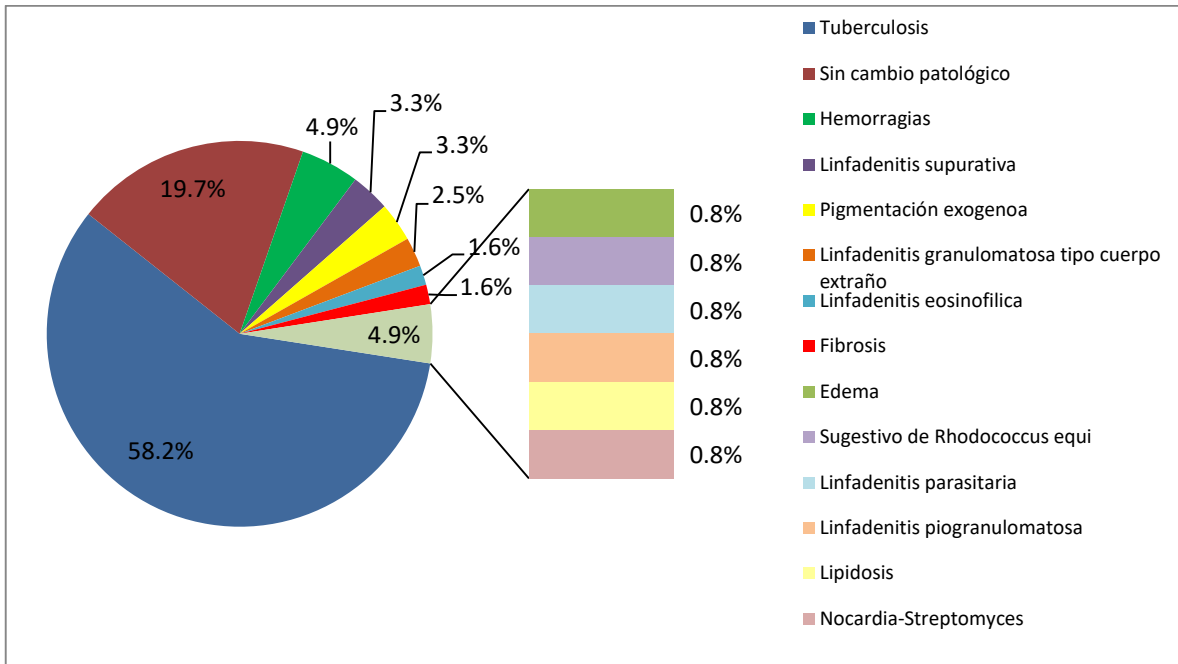


Figura 16. Patologías encontradas en los bovinos muestreados en el estado de Puebla durante el año 2016.

Por otro lado, el comportamiento de la tasa de prevalencia de tuberculosis en el Estado se ha incrementado para el año 2016 después de una disminución en el 2015, misma situación se presentó en la Zona B; por el contrario, en la Zona A tiene una tendencia a la baja mostrando un coeficiente de determinación (R^2) de 0.96 (Figura 17).

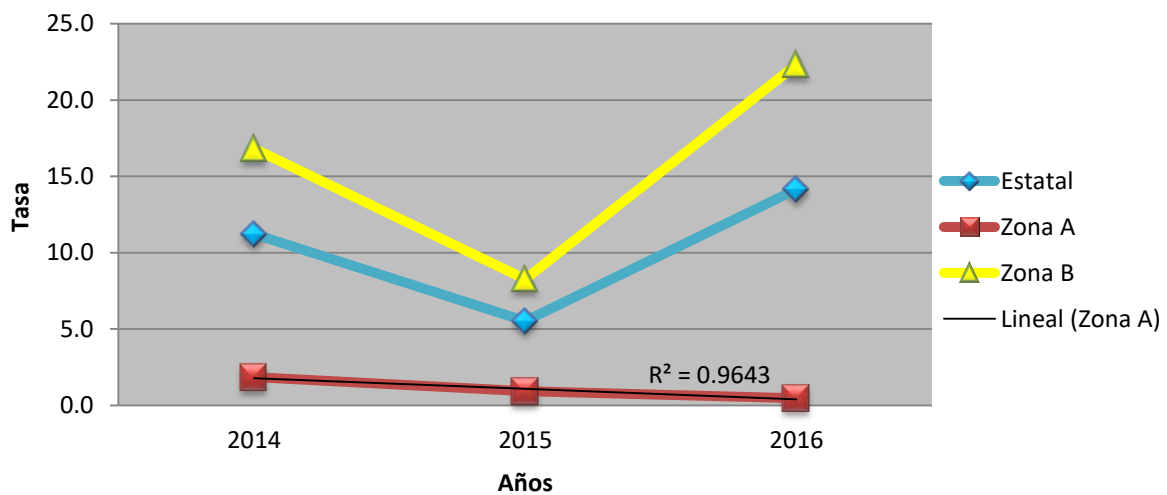


Figura 17. Comportamiento de la tasa de prevalencia de la tuberculosis en el estado de Puebla y por zona de los años 2014 a 2016.

A su vez, el número de municipios en el estado de Puebla con animales positivos a tuberculosis del 2014 al 2015 disminuyó un 27% pero para el 2016 se incrementó un 16% respecto al 2015; la zona A del 2014 al 2015 disminuyó un 75% y para el 2016 se mantuvo en el número total de municipios con casos de tuberculosis bovina mostrando un ligera tendencia a la baja aunque el valor del coeficiente de determinación es de 0.75; en la zona B se presenta la misma tendencia que a nivel estatal (Figura 18).

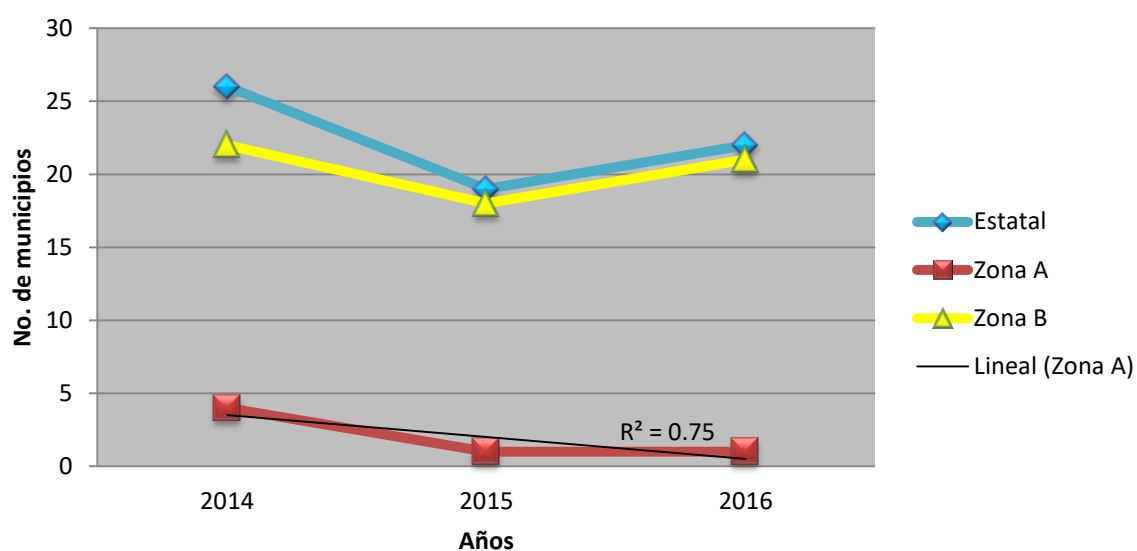


Figura 18. Comportamiento del número de municipios con bovinos positivos a tuberculosis en el estado de Puebla y por zona de los años 2014 a 2016.

Los municipios en los que se presentaron bovinos con tuberculosis en el periodo de estudio fueron Xicotepéc en la zona A; y en la zona B los municipios de Atlixco, San Andrés Cholula, Izúcar de Matamoros, Puebla y Tecamachalco.

Riesgo a la salud pública

El principal mecanismo de transmisión del *M. bovis* a los humanos es mediante el contacto directo con microgotas o esputo de los animales enfermos, por lo que principalmente está considerada como una enfermedad ocupacional.

Dado lo anterior, la probabilidad de transmisión de tuberculosis a humanos por contacto con un animal doméstico con signología sugestiva a tuberculosis es insignificante (Cuadro 16); sin embargo, en caso de que se presente las consecuencias serían extremas; por lo tanto, el riesgo a la salud pública es muy bajo (Cuadro 17).

Cuadro 16. Estimación del riesgo, probabilidad de difusión y exposición de tuberculosis.

		Probabilidad de exposición						
		Insignificante	Extremadamente baja	Muy baja	Baja	Ligera	Moderada	Alta
Probabilidad de difusión	Alta	I	EB	MB	B	L	M	A
	Moderada	I	EB	MB	B	L	M	M
	Ligera	I	I	EB	MB	B	L	L
	Baja	I	I	I	EB	MB	B	B
	Muy baja	I	I	I	I	EB	MB	MB
	Extremadamente baja	I	I	I	I	I	EB	EB
	Insignificante	I	I	I	I	I	I	I

Cuadro 17. Estimación del riesgo, evaluación de las consecuencias de la presencia de tuberculosis.

		Consecuencias					
		Insignificante	Muy baja	Baja	Moderadas	Altas	Extremas
Probabilidad de difusión + exposición	Alta	I	MB	B	M	A	E
	Moderada	I	MB	B	M	A	E
	Ligera	I	MB	B	M	A	E
	Baja	I	I	MB	B	M	A
	Muy baja	I	I	I	MB	B	M
	Extremadamente baja	I	I	I	I	MB	B
	Insignificante	I	I	I	I	I	MB

A su vez, otro factor de riesgo es el consumo de productos y subproductos sin pasteurizar de origen animal, la probabilidad de transmisión de tuberculosis a humanos por este factor de riesgo es muy baja (Cuadro 18); sin embargo, en caso de que se presente las consecuencias serían extremas; por lo tanto, el riesgo a la salud pública es moderado (Cuadro 19).

Cuadro 18. Estimación del riesgo, probabilidad de difusión y exposición de tuberculosis.

		Probabilidad de exposición						
		Insignificante	Extremadamente baja	Muy baja	Baja	Ligera	Moderada	Alta
Probabilidad de difusión	Alta	I	EB	MB	B	L	M	A
	Moderada	I	EB	MB	B	L	M	M
	Ligera	I	I	EB	MB	B	L	L
	Baja	I	I	I	EB	MB	B	B
	Muy baja	I	I	I	I	EB	MB	MB
	Extremadamente baja	I	I	I	I	I	EB	EB
	Insignificante	I	I	I	I	I	I	I

Cuadro 19. Estimación del riesgo, evaluación de las consecuencias de la presencia de tuberculosis.

		Consecuencias					
		Insignificante	Muy baja	Baja	Moderadas	Altas	Extremas
Probabilidad de difusión + exposición	Alta	I	MB	B	M	A	E
	Moderada	I	MB	B	M	A	E
	Ligera	I	MB	B	M	A	E
	Baja	I	I	MB	B	M	A
	Muy baja	I	I	I	MB	B	M
	Extremadamente baja	I	I	I	I	MB	B
	Insignificante	I	I	I	I	I	MB

Debido a que hasta el momento el número de personas con tuberculosis con *M. bovis* es muy bajo en el Estado, **no significa que no exista riesgo**, ya que todas las causas suficientes (ambiente, hospedadores y reservorios) están presentes, existe la posibilidad de que la causa necesaria (el agente etiológico) aparezca, y entonces la enfermedad (Tuberculosis por *M. bovis*) ocurra.

DISCUSIÓN

La tuberculosis bovina es considerada la enfermedad más antigua, la más estudiada y la que sigue provocando la muerte de muchos seres humanos y animales; generando severas bajas en la producción animal a pesar de las acciones que marca la NOM-031-ZOO-1995.

En este estudio se obtuvieron un mayor número de muestras de bovinos procedentes de municipios de la zona B que en la zona A, ya que esta regionalización está dada por la prevalencia existente y que determina las acciones de vigilancia epidemiológica a realizar, la zona A la cual está clasificada por el USDA como Acreditado modificado y se caracteriza por presentar prevalencia menor a 0.1%, y que permite la movilización y exportación del ganado; esto mismo se ve reflejado en el número de casos de tuberculosis en el Estado, donde hay un mayor número en la zona B, por ser una región en control y que en la clasificación de USDA es no acreditado; a su vez esto determina el sexo de los animales muestreados y de los animales positivos, ya que en el periodo de estudio predominaron las hembras, sin embargo este predominio fue en las zonas B, ya que en la zona A el principal fin zootécnico de los bovinos es de engorda, mientras que en la zona B principalmente es de producción de leche.

De igual forma el fin zootécnico de los animales determina la edad de los bovinos con tuberculosis, ya que en machos se presentaron principalmente en becerros y novillos, edad en que son vendidos para consumo; mientras que en hembras el mayor número de casos de tuberculosis fue en vacas de reemplazo y esto debido a que son animales productores de leche, donde su vida se puede postergar durante varios años, situación similar encontrada en el estudio realizado por Rivera (1976).

A su vez, el mayor número de casos de tuberculosis fue en animales reactivos al igual que el estudio realizado por Patraca en el 2015; este resultado es debido a

las acciones de la Campaña Nacional contra la Tuberculosis bovina *Mycobacterium bovis*; donde las acciones de vigilancia incluye el muestreo en los hatos y aquellos que resultan positivos a la prueba de tuberculina se les denomina reactores y por normatividad deben ser sacrificados en rastro, y posteriormente tomar muestras para confirmar el diagnóstico por histopatología y bacteriología; cabe señalar que también es importante el haber detectado a los demás tipos de animales principalmente “matanza regular” ya que esto da indicios de la presentación de la enfermedad y permite realizar la trazabilidad y con ello realizar las acciones pertinentes de control para finalmente erradicar la enfermedad y prevenir casos en personas.

El muestreo no se realizó en todos los municipios por diferentes razones:

1. Estatus zosanitario del municipio al que pertenezcan los bovinos
2. El fin zootécnico, ya que hay muchos animales de traspatio y algunos son de consumo familiar o en la comunidad.
3. Capacidad operativa, esto debido al poco personal oficial en la Campaña Nacional y a la heterogeneidad en la distribución de Médicos Veterinarios Zootecnistas responsables autorizados en el área de rumiantes.

La variación de la tasa de prevalencia de la tuberculosis en los años de estudio, puede deberse al cambio del personal Médico Veterinario y a la poca experiencia en la vigilancia de la enfermedad; a los cambios gubernamentales en los municipios ya que en cada cambio hay movilización del personal en todas las áreas administrativas, y los rastros no son la excepción; recortes presupuestales; poco interés por parte de los ganaderos en el muestreo de sus animales a excepción de participar en programas gubernamentales donde éste les brinde apoyo económico para la obtención de más animales y/o mejorar las instalaciones de su Unidad de Producción Pecuaria.

Sin embargo, la disminución de la tasa de prevalencia de la tuberculosis ha sido mayor en la zona A que en la zona B, esto debido al fin zootécnico, al estatus

zoosanitario y a la búsqueda continua de la acreditación por parte del USDA para la exportación del ganado.

En relación a la variación de la presentación de casos en los municipios principalmente de la zona B, se debe principalmente a la movilización e introducción de ganado de otras regiones, ya que en esta zona no es obligatorio el presentar certificado zoosanitario, guía de tránsito, dictámenes de prueba negativa a tuberculosis en los Puntos de Verificación e Inspección Zoosanitaria (PVI) a diferencia de la zona A; por lo que es necesario la implementación de más PVI en la zona B así como la revisión de todos los documentos que acrediten la salud de los animales.

Es necesario reforzar las actividades de vigilancia, prevención y control en los municipios que año tras año están presentando casos de tuberculosis, y/o establecer los determinantes que influyen en la presentación de la enfermedad.

Igualmente necesario es la implementación de otras técnicas diagnósticas con mayor sensibilidad y especificidad como las técnicas moleculares, que permitan minimizar los animales falsos negativos así como los tiempos en el muestreo y diagnóstico, y con ello controlar de una forma más adecuada los hatos positivos; ya que las técnicas utilizadas y aprobadas por la NOM-031-ZOO-1995 fueron establecidas hace más de 20 años, haciendo imprescindible la actualización de esta norma. Pues al igual que señala Milian-Suazo *et al.* (2000) se determinan más muestras por examen histológico seguido del examen bacteriológico, y no todas las muestras fueron confirmadas por ambas pruebas como en el presente estudio.

Asimismo, se debe fortalecer la capacitación del personal médico veterinario dedicado al muestreo, diagnóstico e inspección *postmortem* en rastros, esto debido al gran número de patologías encontradas en esta investigación.

Otro aspecto a considerar, es el riesgo de transmisión de la enfermedad por animales silvestres, área no muy estudiada en México, pero que al ser un país megadiverso que ocupa el 3er lugar a nivel mundial en relación al número de mamíferos, y el estado de Puebla ocupa el 7º lugar nacional al contar con 161 especies de este grupo de animales (Llorente-Bousquets y Ocegueda, 2008); representa un riesgo serio para el mantenimiento y transmisión de la enfermedad,

Además, es importante recalcar, que la salud de los animales es responsabilidad de sus propietarios, ya que la mayoría de los ganaderos tienen la idea errónea de que es responsabilidad del gobierno darle los apoyos para la prevención de enfermedades, así como el pago en caso de que resulten positivos a tuberculosis; y parte de esto es culpa del gobierno por todos los programas sociales de apoyos y la visión paternalista haciendo irresponsables a los beneficiarios de estos apoyos.

Sin embargo, todas las enfermedades son prevenibles, y la tuberculosis no es la excepción, por lo que es importante dar capacitación efectiva a los ganaderos sobre las buenas prácticas de manejo y producción lo cual no solo impactará en la prevención de la tuberculosis y otras enfermedades sino también en el incremento de sus ganancias directas e indirectas.

Por otro lado, se debe establecer una coordinación objetiva y eficiente entre el sector pecuario y el sector salud, ya que al ser la tuberculosis una zoonosis, en el área de la salud no es considerado como un factor de riesgo importante además de que en la mayoría de los estados no se hace la tipificación del *Mycobacterium* en las personas con la enfermedad por lo que se desconoce con exactitud cuál es la prevalencia de tuberculosis por *M. bovis* en las personas.

Asimismo, es indispensable gestionar con las autoridades municipales y/o estatales la creación de más rastros, el mejoramiento de los actuales y la clausura

definitiva de rastros clandestinos, ya que éstos representan un riesgo a la salud animal y humana por no existir inspección sanitaria por parte de un Médico Veterinario Zootecnista.

También es importante hacer conciencia en la población sobre la tuberculosis y sus mecanismos de transmisión y las medidas de prevención y control, ya que es común el consumo de productos y subproductos y la visita a ranchos en zonas con tuberculosis bovina; tal cual lo menciona Soberanis (2013) que la vía de infección más probable es la aerógena.

CONCLUSIÓN

Las prioridades médicas y veterinarias entre los países en desarrollo y los países desarrollados pueden diferir de manera significativa y, por lo tanto, sus actitudes y respuestas a la tuberculosis animal y cualquier posible zoonosis resultante; por lo que es importante realizar el análisis retrospectivo de la tuberculosis para establecer las medidas más eficientes de prevención y control en las áreas de riesgo determinadas.

La tendencia de la presencia de la tuberculosis puede incrementarse a nivel estatal, dado principalmente por el aumento en la zona B, y el mayor peso específico en el trabajo de prevención y control en la zona A.

Existe riesgo muy bajo y moderado de transmisión de tuberculosis por *M. bovis* a los humanos, dependiendo del mecanismo de infección.

Es importante la capacitación continua del personal médico veterinario dedicado al muestreo, diagnóstico e inspección *postmortem* derivado del amplio rango de patologías encontradas.

REFERENCIAS

1. Abbas A., Lichtman A., Pillai S. Inmunología Celular y Molecular. 8ª ed. USA: El Sevier. 2015; 532p.
2. Acha PN. Syfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales Vol. 1. Bacteriosis y micosis. 3ed. Washington USA: Organización Panamericana de la Salud. 2001.
3. Admassu B., Kebede E., Shite Anmaw. Review on Bovine Tuberculosis. Europ. J. Biol. Sci. 2015; 7(4):169-185.
4. Barker R. H. Use of PCR in field. Parasitol. Today. 1994; 10, 117-119.
5. Biet F, Boschioli ML, Thorel MF, Guilloteau LA. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC) Vet Res. 2005 jun; 36(3):411-36.
6. Boland F, Kelly GE, Good M, More SJ. Bovine tuberculosis and milk production in infected dairy herds in Ireland. Prev Vet Med 2010; 93(2-3):153-61.
7. Cisneros LF, Valdivia AG, Waldrup K, et al. Surveillance for *Mycobacterium bovis* transmission from domestic cattle to wild ruminants in a Mexican wildlife-livestock interface area. Am J Vet Res. 2012 oct; 73(10):1617-25.
8. CFSPH. Centre for Food Security and Public Health. Tuberculosis bovina. Iowa State University. 2010: 1-7.
9. Cosivi O, Grange JM, Daborn CJ, Raviglione MC, Fujikura T, Cousins D, Robinson RA, Huchzermeyer HF, de Kantor I, Meslin FX. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. Emerg Infect Dis. 1998;4:59-70.
10. Dankner W M, Davis C E. *Mycobacterium bovis* as a significant cause of tuberculosis in children residing along the United States-Mexico border in Baja California Region. Pediatrics. 2000 jun; 105(6): 1-5.
11. De Waard J. ¿Ordeñando micobacterias del ganado? Impacto económico y en salud de Tuberculosis bovina y Paratuberculosis en Colombia. Rev MVZ Córdoba. 2010; 15(2): 2037-2040.

12. Djelouadji Z, Raoult D, Daffé M, Drancourt M. A Single-Step Sequencing Method for the Identification of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Species. PLoS Negl Trop Dis. 2008; 2(6): e253.
13. Domingo M., Vidal E., Marco A. Pathology of bovine tuberculosis. Research in Veterinary Science. 2014.
14. Dorronsoro I., Torroba L. Microbiología de la tuberculosis. An. Sist. Sanit. Navar. 2007; 30(Supl. 2):67-84.
15. Ellner J.J., Hinman A.R., Dooley S.W. Tuberculosis symposium: emerging problems and promise. J Infect Dis. 1993; 168:537-551.
16. Erlich H.A., N Arnheim. Genetic analysis using the Polymerase Chain Reaction. Annu. Rev. Genet. 1996; 26, 479-506.
17. Evans JT, Smith EG, Banerjee A, Smith RM, Dale J, Innes JA, Hunt D, Tweddell A, Wood A, Anderson C, et al. Cluster of human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*: evidence for person-to-person transmission in the UK. Lancet. 2007;369:1270–6.
18. FAO. Tuberculosis. EMPRES Boletín de enfermedades transfronterizas de los animales. <http://www.fao.org/3/a-i2811s/i2811s01.pdf>
19. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UNAM. Tuberculosis Bovina. En: Enciclopedia Bovina. 2013.
20. García A. Epidemiología molecular de la tuberculosis en Baja California. [Tesis de maestría]. México: Universidad Autónoma de Baja California; 2013. 138p.
21. Guerrero A, Cobo J, Fortun J, Navas E, Quereda C, Asensio A, Canon J, Blazquez J, Gomez-Mampaso E. Nosocomial transmission of *Mycobacterium bovis* resistant to 11 drugs in people with advanced HIV-1 infection. Lancet. 1997;350:1738–42.
22. Gutiérrez Reyes JA, García Casanova L, Romero Torres C, et al. Population structure of *Mycobacterium bovis* isolates from cattle in Mexico. Preve. Vet. Med. 2012 Sep1;106(1):1-8.
23. Hlavsa MC, Moonan PK, Cowan LS, Navin TR, Kammerer JS, Morlock GP, Crawford JT, Lobue PA. Human tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in the United States, 1995–2005. Clin Infect Dis. 2008;47:168–75. INAFED

- Instituto para el Federalismo y el Derecho Municipal. Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. 2010. http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/EMM_Puebla.
24. Jaramillo C, Martínez J. Epidemiología veterinaria. México: Manual moderno. 2010; 198p.
 25. Juárez, J.A. Epidemiología molecular de la tuberculosis bovina en un hato en cuarentena de la cuenca lechera del estado de San Luis Potosí. Seminario interdisciplinario. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. 5 de abril de 2013
 26. Kazda Jindrich, The ecology of *Mycobacteria*. London: Kluwer Academic Publishers. 2000. 72p,
 27. Llorente-Bousquets J y S Ocegueda. Estado del conocimiento de la biota, en capital natural de México. Vol II: Conocimiento actual de la biodiversidad. México: CONABIO. 2008. 283-322p.
 28. LoBue PA, LeClair JJ, Moser KS. Contact investigation for cases of pulmonary *Mycobacterium bovis*. Int J Tuberc Lung Dis. 2004;8:868–72
 29. Lütcher FJ. Enfermedades Infecciosas de los Rumiantes. Buenos Aires:Lütcher FJ. 2004. 269p.
 30. Madigan M T, Martinko J M, Parker J. Brock Biología de los Microorganismos. 10a ed. Madrid:Pearson Educacion. 2003; 1096p.
 31. Madkour M. Monir ed. Tuberculosis. Germany: Springer. 2004. 935p.
 32. Mateos, A. La tuberculosis bovina como zoonosis. <http://www.conasamexico.org.mx/mesa9LA%20TUBERCULOSIS%20BOVINA%20COMO.pdf>. Fecha de consulta: 20 de junio de 2017.
 33. Menzies F.D., Neill S.D. Cattle-to-cattle transmission of bovine tuberculosis. The Veterinary Journal. 2000; 160: 92–106.
 34. Milan F., Sánchez L.M., Toledo P., Ramírez C., Santillán MA. Descriptive study of human and bovine tuberculosis en Querétaro, México. Rev Latinoam Microbiol. 2000; 42(1):13-9.

35. Milian-Suazo F., Salman MD, Ramírez C, Payeur JB, Rhyan JC, Santillan M. Identification of tuberculosis in cattle slaughtered in Mexico. *Am J Vet Res.* 2000; 61(1):86-9.
36. Murray PR, Baron EJ, Jorgenson JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. *Manual of clinical microbiology.* 8a ed, USA: ASM Press, 2003. 2322p.
37. Murray P., Rosenthal K., Pfaller M. *Microbiología médica.* 7a edición. España: Elsevier. 2014. 984p.
38. Neill S.D., Pollock J.M., Bryson D.B., Hanna J. Pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Veterinary Microbiology.* 1994; 40: 41–52.
39. Neill S.D., Bryson D.G., Pollock J.M., 2001. Pathogenesis of tuberculosis in cattle. *Tuberculosis.* 2001; 81: 79–86.
40. OIE. Tuberculosis bovina. 2013. <http://www.oie.int/doc/ged/D14008.PDF>
41. Palmer M V. *Mycobacterium bovis*: Characteristics of wildlife reservoir hosts. *Transboundary and Emerging Diseases.* 2013 nov; 60(suppl. 1):1-13.
42. Parkale D.D., Kulkarni A. Bovine Tuberculosis and its control. *Livestock Development Officer WRDDL, DIS, PUNE.* 2011; 7:1-9.
43. Patraca A. Tuberculosis bovina: Análisis retrospectivo (2011-2013) de muestras nacionales remitidas al Laboratorio Central Regional de Monterrey A.C. para el diagnóstico de tuberculosis. [Tesis de maestría]. México: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2015. 114p.
44. Pérez-Guerrero L.; F. Milián-Suazo; C. Arriaga-Díaz; C. Romero-Torres; M. Escartín-Chávez. Epidemiología molecular de la tuberculosis bovina y humana en una zona endémica de Querétaro, México. *Salud Pública Mex.* 2008; 50(4):286-291.
45. Peters D. *Farm Animals, Signs and Symptoms of Tuberculosis in Cattle.* UK. 2010:1-8.
46. Quinn P J, Markey B K, Leonard F C, FitzPatrick E S, Fanning S, Hartigan P J. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease.* 2a ed. U K: Wiley-Blackwell; 2011, 911p.

47. Rivera M. Bovine tuberculosis in the Valley of Mexico. *Salud Pública de México*. 1976; 18(4):743-753.
48. Rozo-Anaya J.C. y W. Ribón. Molecular tools for *Mycobacterium tuberculosis* genotyping. *Rev. Salud Pública*. 2010; 12(3):510-521.
49. SAGARPA-SENASICA. Tuberculosis bovina. 2017. <http://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/campana-nacional-contra-la-tuberculosis-bovina-49517>.
50. Schlegel H y Zaborosch C. *Microbiología General*. 7a. Edición. España: Omega. 1997. 654p.
51. Smith P.G., Moss A.R. Epidemiology of the tuberculosis In *Tuberculosis, pathogenesis, protection and control*. Ed. By Barry R. Bloom, Washington DC: ASM Press. 1994.
52. Soberanis O. Factores ocupacionales asociados a infección y tuberculosis por *Mycobacterium bovis* en trabajadores de establos del Complejo Agropecuario e Industrial de Tizayuca, Hidalgo. [Tesis de doctorado]. México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2013. 54p.
53. Tizard Ian R. *Introducción a la Inmunología Veterinaria*. 8a ed. España: Elsevier. 2009; 574p.
54. Thoen Charles O., Steele James H., Kaneene John B. *Zoonotic Tuberculosis*. 3a. ed. UK: Wiley Blackwell. 2014; 551p.
55. Van Soolingen D, de Haas PEW, Haagsma J, Eger T, Hermans PWM. Use of various genetic markers in differentiation of *Mycobacterium bovis* strains from animals and humans and for studying epidemiology of bovine tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 1994; 32:2425-2433.
56. Zaragoza A. Distribución geográfica de la tuberculosis humana y bovina e identificación de especies en el Estado de México. [Tesis de doctorado]. México: Universidad Autónoma del Estado de México; 2013. 124p.
57. Zumarraga, M.; M. E. Cicuta; C. Martin; A. Cataldi; A. Alito; F. Bigi; E. Roxo; S. Sakamoto; M. Romano. *Epidemiología Molecular de Aislamientos de Mycobacterium bovis del Nordeste Argentino y de Brasil utilizando la técnica de spoligotyping*. Ciencia y Técnica. Universidad Nacional del Nordeste. 2001.