

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS



PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA EN UN HATO
DE 150 BOVINOS EN EL MUNICIPIO DE TEPATITLAN, JAL.
UTILIZANDO LA COMBINACION DE PRUEBAS
DIAGNOSTICAS DE INTRADERMORREACION
E HISTOPATOLOGICO

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
VICTOR HUGO ALCANTARA AGUILAR
DIRECTOR DE TESIS
M.V.Z. JOSE LUIS DE LA TORRE COVARRUBIAS
LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO. FEBRERO DEL 2001

DEDICATORIA

A mi esposa:

María Magdalena Cisneros Amigón.

Por darme su amor y confianza, un apoyo a mi vida y a mi carrera.

A mis hijos :

Víctor Raymundo

Leonardo Alonso

Pedro Saul

Que han sido una buena razón para seguir adelante ante los retos de la vida

A mis Padres :

Miguel Alcántara Básicos.

María de la Luz Aguilar de Alcántara.

Quienes con cariño, admiración, esfuerzo y confianza me dieron estudio como la mas grande herencia que pudiera recibir.

A mi Abuela :

Margarita Básicos Olvera

Por haber ayudado a formarme como profesionista, ser humano y persona de bien.

A mis Hermanos:

Carlos Alonso.

Mireya.

Los cuales contribuyeron mucho a que me realizara como profesionista

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Mater :

Por abrirme sus puertas y haberme proporcionado las bases para que el día de hoy sea una persona de provecho.

Un especial agradecimiento a mi Director de Tesis:

M:V:Z. José Luis de la Torre Covarruvas.

Por sus valiosas aportaciones profesionales, amistad, confianza y apoyo para la culminación del presente trabajo

A mi honorable jurado:

M.V.Z. Leonel de Cervantes Míreles

M.V.Z. Minerva Soto Rosales

M.V.Z. Francisco Reynoso Dueñas

A la ayuda otorgada para la realización de este trabajo:

M.V.Z Gerardo Espinoza Sandoval

A mis Compañeros y Amigos:

Carlos Arevalo

Ricardo Davalos

CONTENIDO

	PAGINA
RESUMEN	V
INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
JUSTIFICACIÓN	11
HIPOTESIS	12
OBJETIVOS	13
MATERIAL Y METODOS	14
RESULTADOS	16
DISCUSION	27
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFIA	30

RESUMEN

La tuberculosis bovina continua siendo una de las zoonosis que representa un alto riesgo para las poblaciones humanas y animales así como su importancia en el impacto negativo que ocasionan a la economía ganadera siendo un factor limitante para el desarrollo pecuario sobre todo para los productores de la especie bovina.

Se determinó la prevalencia de tuberculosis bovina en un hato de 150 bovinos hembras raza Holstein friesian en el municipio de Tepatitlán Jal. donde se utilizo la combinación de pruebas diagnósticas de intradermoreacción e histopatológico así como su sensibilidad y especificidad de las pruebas combinadas para observar la veracidad de sus resultados.

Entre los resultados obtenidos y analizados en este estudio se exponen a continuación los mas relevantes.

La prevalencia de tuberculosis fue del 12% con una frecuencia del 28% en hembras Holstein friesian de 30 meses de edad.

El grado de respuesta a la tuberculina de los reactivos positivos fue de 50% respuesta severa, 27% moderada y 23% leve.

De los 18 (100%) reactivos positivos a la prueba de tuberculina, 16 (89%) fueron positivos a tuberculosis mediante la prueba histopatológica y 2 (11%) fueron negativos de los cuales 1 correspondió a una neoplasia y la otra a un proceso inflamatorio.

Obteniendo una sensibilidad y especificidad de las pruebas combinadas de 53% y del 98% respectivamente.

Por lo que se hace necesario mejorar los diagnósticos más seguros y confiables contra enfermedades zoonoticas de alto riesgo y que representan perdidas económicas para la ganadería en México.

INTRODUCCION

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa, generalmente crónica, contagiosa, caracterizada por la formación de lesiones granulomatosas. Afecta prácticamente a todas las especies de animales vertebrados, incluyendo al hombre. (22)

El *Mycobacterium tuberculosis* es un báculo fino de 0.2 a 0.6 micras de diámetro x 1.5 a 4 micras de largo. El germen tiene forma desde cocoide hasta filamentosa. Los báculos son inmóviles, su principal característica es su resistencia a los decolorantes acidificados. El germen es aerobio estricto. Existen varias técnicas de tinción, pero el más empleado, es el método de Ziehl-Neelsen.(29)

En medios sólidos, el tipo humano produce un crecimiento seco, rugoso y de aspecto migajoso. El tipo bovino da un crecimiento escaso y seco, aunque se prolonge la incubación. (29)

El *Mycobacterium bovis* tiene un amplio espectro de huéspedes tanto domésticos como silvestres; por otra parte, es un agente patógeno reconocido para la especie humana. Es por esta razón que la infección por *M. bovis*, tiene trascendencia tanto en la economía, como en la salud pública, pues mientras no se erradique la tuberculosis bovina, no se podrá erradicar la humana. (20-24)

La tuberculosis es una de las enfermedades más antiguas de las que se tiene noticia, constancia de ellos son las lesiones halladas en esqueletos prehistóricos, en el código de Hammurabi 2000 años a. de J.C., ya la describen. (13)

También los egipcios hicieron estatuillas, grabados y pinturas en piedra, así como papiros definiendo a los tísicos, corroboran estos hechos, las lesiones de la infección que muestran algunas momias. (18)

La historia de la diseminación de la tuberculosis en el mundo está estrechamente ligada a la extensión de la civilización de tal manera que los griegos primero y los romanos después, estaban familiarizados con la enfermedad y fueron causa de la difusión mediante sus conquistas. (8)

En el año de 1868, el investigador francés Villemin describió sus experimentos y demostró la infecciosidad de la tuberculosis, diferenció las variedades humana y bovina.

Fue Roberto Koch el que 14 años después, dio a conocer la causa de esta enfermedad del bacilo tuberculoso. (8-18)

Ocho años después (1890) Maffuci, diferenció la Tuberculosis aviar de la de los mamíferos. (12)

La confirmación de la transferencia de la tuberculosis del ganado bovino al hombre fue realizada por Ravenell en 1902. (8-18)

En 1921, dos científicos franceses crearon una vacuna contra la tuberculosis, llamada BCG (bácilo de calmette-guerin) en honor de ambos y en 1944, unos médicos estadounidenses descubrieron la estreptomycin, el primer antibiótico que resulto efectivo contra esta afección. No obstante, la tuberculosis sigue cobrandose un gran número de víctimas(2)

Su nombre deriva de la palabra latina tuberculum que significa abultamiento pequeño o nódulo, la enfermedad se caracteriza, por formación de pequeñas masas de tejido inflamatorio en los órganos infectados, cualquiera que sea la puerta de entrada del báculo, las células fagocitarias lo engloban y lo transportan a los ganglios linfáticos regionales. (7-32-33)

La formación de tubérculos en estos ganglios, obedece a que los báculos son detenidos por algún tiempo en ellos, en tal caso se dice que la enfermedad esta localizada o detenida, en los más susceptibles, la enfermedad progresa y pasan los gérmenes por toda la cadena linfática, desarrollándose así los focos secundarios, si el proceso continúa; el microorganismo es diseminado a todo el organismo, produciendo lo que se llama tuberculosis generalizada. (1)

El *M. tuberculosis* está distribuido por las poblaciones bovina y humana, en la medida en que los métodos de producción de carne son perfeccionados e intensificados, la severidad y extensión de la tuberculosis aumenta. (26-34)

La superpoblación parece ser un factor de persistencia de la tuberculosis. En el hombre es más común en las ciudades muy pobladas y en los bovinos es más frecuente en los animales estabulados y mantenidos en contacto. (3-20-26)

A mediados de los años ochenta, la tuberculosis empezó a hacer una espantosa y mortífera reaparición. En abril de 1993, la organización mundial de la salud (OMS) declaró el estado de emergencia mundial contra la tuberculosis y añadió que la enfermedad truncaría más de treinta millones de vidas en la próxima década a menos que se tomen medidas de inmediato para frenar su propagación. (2)

La OMS comunicó recientemente que en 1995 murieron más personas de tuberculosis que en cualquier otro año de la historia. La organización también advirtió que en los próximos cincuenta años podrían infectarse 500 millones de personas (2)

Las regiones con mayor concentración de ganado son también, las que poseen las mayores tasas de infección y, de no medir la eficaz instrumentación de campañas de control esas tasas irán aumentando con rapidez variable, paralelamente al desarrollo de la industria ganadera. (3-34)

En la actualidad se encuentra claramente establecido que la tuberculosis es una afección del sistema retículo endotelial, los tejidos afectados por la tuberculosis o contaminados por los productos de un proceso tuberculoso son impropios para la alimentación. (1)

Un órgano es inservible para el alimento cuando contiene un nódulo tuberculoso o cuando una lesión de tuberculosis, se presenta en un ganglio linfático que drena al órgano. (4-32-34)

Merece señalarse el hecho de que en ciertos países que cuentan con eficaces servicios de información y cuyo nivel sanitario es relativamente elevado, más de la mitad de todos los brotes epidémicos de las enfermedades transmitidas por los alimentos son causados por las carnes y los productos cárnicos, particularmente la carne elaborada. (10-23-34)

La carencia en la mayoría de los países, de sistemas adecuados para denunciar los brotes epidémicos de enfermedades transmitidas por los alimentos no permite, fijar con un determinado grado de precisión la relativa importancia que las infecciones transmitidas por los alimentos tienen para la salud pública. (23-34)

Los métodos de diagnóstico de la tuberculosis varían, en los mataderos y fábricas de conservas cárnicas, los veterinarios que realizan la inspección pots-mortem de bovinos, se limitan a identificar la enfermedad por el aspecto macroscópico de las lesiones y considerando que en mataderos y empacadoras debe existir laboratorio de diagnóstico como ayuda para la inspección. (21-32)

El método de diagnóstico más eficaz para erradicar la tuberculosis bovina, es por medio de la tuberculización y eliminación de los reactores positivos. (26)

Existen tres métodos principales, según la vía de inoculación, de aplicar el test de la tuberculina en los animales, estos son, el intradérmico, subcutáneo y oftálmico. Este último, se utiliza raramente hoy en día debido a lo escaso de su especificidad en relación a otras técnicas. (22)

Originalmente la tuberculina fue obtenida por el crecimiento del bacilo en un medio que contiene proteínas (tuberculina vieja de koch-ot). (19). Posteriormente se han elaborado unas tuberculinas más refinadas (purified protein derivate-PPD y Head Concentrated Synthetic

Médium-HCSM), producidos por el desarrollo de un bacilo en un medio sintético sin proteína. Esta proteína (tuberculina) es extraña al huésped y lo sensibiliza. (22)

La PPD (derivado proteico purificado) se obtiene por cultivo en medio sintético. Los bacilos tuberculosos son eliminados por filtración, una vez inactivado el cultivo por calor al resto del líquido se le agrega sulfato de amonio o acético tricloracético para precipitar la proteína. (28)

Después del lavado de la proteína precipitada, se la redisuelve, se ajusta a 2 mg/ml. PPD, se filtra y se envasa. (23) (1 UT=0.00002mg de PPD). (16)

En la prueba intradérmica se inyecta 0.1 ml. como mínimo de tuberculina y 0.2 ml. como máximo en la dermis del animal. En el ganado bovino se aplica en la vulva o en el pliegue ano-caudal. En el ave se aplica en la barbilla. En el porcino se aplica en la oreja o en la vulva. (1)

La lectura se realiza antes de 72 hrs. Ni después de 96 hrs.

La interpretación se realiza mediante la observación de la Reacción positiva: hinchazón pequeña o grande en el punto de la inoculación. En el plazo de 72 hrs. (28)

Después de administrar el PPD, el organismo reacciona ante este antígeno concentrando elementos sanguíneos (leucocitos) que se extravasan por la vasodilatación regional. Los linfocitos en caso de estar sensibilizados por ser una inmunidad mediada por células, liberan sustancias con diferente efecto que intervienen en el proceso inmunológico denominadas linfocinas dentro de las cuales se encuentran el factor quimiotáctico que atrae a los fagocitos, el de inhibición de migración de macrófagos, que los hace permanecer en el lugar del antígeno para que lo fagociten, el linfoblástico que le permite a los linfocitos replicarse rápidamente para aumentar la reacción y otros como el interferón, el blastogénico, el anafilotóxico y el citotóxico que auxilian a la eliminación de cuerpos extraños. De esta forma macroscópicamente la reacción se manifiesta como una induración, que es lo que se mide con

el vernier para obtener el resultado de la prueba, tomando como base el grosor inicial y final de la piel. (19)

En una prueba o ensayo con enzima-unida inmunoabsorbente (ELISA) para anticuerpos bovinos a antígenos en calentamiento del *M. bovis* estandarizado contra un suero de referencia de una vaca experimentalmente infectada. En dos territorios del norte de Australia en hatos con un total de 561 animales que fueron examinados. Todos los animales reaccionaron en la prueba del pliegue ano-caudal con la tuberculina. (10)

Estos dieron una gran reacción en ELISA y los que presentaron lesiones visibles de tuberculosis fueron objeto de un detallado examen bacteriológico. De 19 animales se produjo aislamiento en 4 y que fueron positivos al examen de tuberculina. Muestras de suero de 5 vacas dieron valores de (ELISA) mayores de 7 unidades. Ninguna de estas 5 reaccionaron en la prueba de tuberculina y 2 no tuvieron lesiones visibles. De las diez vacas restantes en las cuales *M. bovis* fue aislada, 3 tuvieron valores de entre 6.5 y 7 unidades y sin lesiones visibles también. Para las 7 restantes vacas infectadas el rango de los valores de ELISA fue de 4-6 unidades. 40 vacas no produjeron *M. bovis* en cultivos de sus tejidos. De las anteriores 7 reaccionaron en la prueba de tuberculina y 23 con valores ELISA de 7 unidades o más. La evidente alta especificidad y sensibilidad de la prueba de ELISA hace de estos pequeños valores una alternativa a la prueba de tuberculina, pero esto puede detectar algunas vacas alérgicas lo que incrementaría el número de reacciones falsas positivas. Esto podría ser aceptable en algunas circunstancias y debería justificar el uso de la prueba de ELISA como un complemento a la prueba de tuberculina. (10)

La reacción antígeno-anticuerpo ha sido ampliamente utilizada como método de diagnóstico, debido a su alta especificidad y sensibilidad.

Los primeros trabajos que reportan el marcaje de antígenos o anticuerpos con enzimas, fueron los de Nakane y Pierce (1966) y Avrameas y Uriel (1966), quienes lo emplearon para el revelado de las líneas de precipitación en inmunodifusión y para la localización de antígenos virales en cortes de tejidos.

Engvall y Perlman (1971;1972) y Van Weemen y Schuurs (1971;1972), independientemente, introdujeron los ensayos inmunoenzimáticos cuantitativos, empleando tubos de poliestireno como fase sólida insoluble, obteniendo una sensibilidad similar a la del radioinmunoensayo.

La técnica de ELISA en microplacas de poliestireno fue puesta a punto por Voller et. (1974), quienes demostraron la utilidad del ensayo para titular anticuerpos inducidos por enfermedades infecciosas.

Los primeros trabajos de aplicación del ELISA a la patología animal se deben a Saunders y Wilder (1974) y Voller et al. (1974), quienes lo emplearon para la detección de anticuerpos contra el cólera porcino y la malaria.

Hasta 1975, la utilización de la técnica ELISA se limitó al campo de la patología clínica y la inmunología general.

En 1976, Voller et al. Publicaron el primer trabajo de detección de virus vegetales, empleando la variante del doble anticuerpo (sándwich) cuya utilidad fue confirmada por Clark y Adams (1977), aplicando el método a la detección de varios virus vegetales. (10-25)

El diagnóstico de la tuberculosis bovina por examen histopatológico de las lesiones granulomatosas es muy eficiente y tiene una muy alta correlación con el aislamiento de *Mycobacterium bovis*, siempre y cuando se colecten y procesen las muestras de una forma adecuada en laboratorios con el equipo, reactivos y personal adecuados, la gran mayoría de los diagnósticos histopatológicos pueden tenerse a las 24 hrs, de haber recibido las muestras fijadas. En forma general las piezas con lesiones de aspecto caseoso se fijan adecuadamente, se incluyen en parafina y se realizan cortes de 4 μ m de grueso, los cuales se tiñen con hematoxilina y eosina, los cortes son observados por un patólogo competente, el cual da un diagnóstico, especificando si las lesiones son características o compatibles con tuberculosis asociada con *Mycobacterium bovis*.(30)

La eficiencia del diagnóstico histopatológico puede compararse a una cadena cuya solidez es tan buena como el más débil de sus eslabones, la motivación económica a los inspectores en los rastros para que envíen lesiones granulomatosas ha demostrado su utilidad en otros países, el procesamiento adecuado de las piezas para producir laminillas histológicas de alta calidad, en corto tiempo, y con características tintoriales uniformes se traduce en la necesidad de emplear equipos automatizados para incluir y colorear las muestras.(30)

La experiencia del patólogo que hace el diagnóstico le permitirá decidir si las lesiones observadas al microscopio son características de las producidas por *M. bovis* dando un diagnóstico definitivo si son similares (compatibles) con *M. bovis* o si están asociadas con otra causa, en algunos casos, el patólogo requiere de tinciones especiales para confirmar o descartar su sospecha sobre la presencia de microorganismos en los cortes, en México existen patólogos veterinarios competentes, experimentados, que han recibido entrenamiento específico en el diagnóstico diferencial de lesiones tuberculosas bovinas tanto en el sector educativo, como en centros de investigación y diagnóstico.(30)

Un análisis retrospectivo de las medidas tomadas en México para disminuir la difusión de la tuberculosis indica que en 1926 se decretaron las bases para la inspección sanitaria veterinaria de los animales y productos del mismo origen, de importación en el que establece como requisito obligatorio la prueba de la tuberculina a todos los bovinos que pretendan ingresar al país. (19-25)

A la fecha, la Norma Oficial Mexicana de Emergencia de la Campaña Nacional contra la tuberculosis bovina, establece con carácter general obligatorio y permanente ésta campaña. (19-25-29)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tuberculosis bovina continúa siendo una de las zoonosis que representa un alto riesgo para las poblaciones humanas y animales. La prevalencia actual de esta afección en el estado de Jalisco es variable, ya que fluctúan en rangos que van desde el 1 al 5% en los bovinos y con una pérdida del 10 al 15% de eficiencia productiva. (8-18). Esta prevalencia se a basado en los exámenes clínicos de campo (intradermorreacción). Si bien se tiene una seguridad confiable de la calidad de la prueba de intradermorreacción como método de diagnóstico, lo que ha ayudado a la determinación de la misma en las poblaciones bovinas, pero no así los mismos resultados en las inspecciones post-mortem de la canal en el rastro, e incluso cuando el animal sacrificado ha sido un reactor positivo a la prueba ya antes mencionada, poniéndola en duda.(13)

La falta de identificación post-mortem es debido muy probablemente a la falta de capacitación para el control en los rastros pequeños y municipales por los M.V.Z. a cargo de ellos, no sólo existe esta carencia en la inspección, sino también en el registro de las causas de decomiso lo que lleva a la exposición de la población consumidora de productos cárnicos a un riesgo latente de transmisión de tuberculosis por vía digestiva y además a la imposibilidad de establecer una prevalencia confiable en los diagnósticos de decomiso.

TESIS/CUCBA

JUSTIFICACION

Se han incrementado los casos de tuberculosis humana en Guadalajara año con año. Registrándose en 1990, 552 casos de tuberculosis pulmonar y 360 de otras presentaciones, en el año 1994 hasta el mes de junio, se han diagnosticado 459 casos de T. pulmonar y 180 de otras.*

De acuerdo con expertos en tuberculosis a nivel mundial, 90 millones de nuevos casos y 30 millones de muertes por tuberculosis a nivel mundial son pronosticados para 1999 a menos que los gobiernos alrededor del mundo incrementen fondos para el control de la tuberculosis. (2)

Presentaciones en las cuales la transmisión se puede realizar por vía digestiva debido al consumo de alimento contaminado (carne, leche y derivados). Por el *M. tuberculosis*, pudiéndose atribuir probablemente en un control inadecuado en la identificación y diagnóstico a nivel de campo y en el rastro durante el sacrificio de bovinos afectados por la enfermedad

Por ello se hace necesario mejorar la calidad del control sanitario (campaña de erradicación). Sobre el animal en pie y en canal, a través de la realización de un adecuado diagnóstico elaborado en campo y en los rastros, esto podría ser aceptable en algunas circunstancias y debería justificar el uso de la prueba de tuberculina (20) esta es la medida más exacta tal vez para la eliminación de esta enfermedad la cual repercute a nivel salud pública y a intereses ganaderos.

Hasta la fecha no se han realizado trabajos al respecto sobre el tema en el municipio de Tepetitlán, Jal. En cabezas de ganado bovino, cuyos productos de carne, leche y derivados son distribuidos y consumidos en gran parte en la población de Guadalajara, Jal.

*.-Comunicación personal Espinoza G (S.S.A)

HIPOTESIS

La utilización de la prueba de intradermorreacción en el diagnóstico de tuberculosis puede tener un margen de error del 5-10 % comparativamente con la de histopatología, ocasionando el aumento de falsos positivos y falsos negativos con el solo uso de la prueba diagnóstica de tuberculosis simple del pliegue ano-caudal.

OBJETIVOS

GENERALES:

Determinar la prevalencia de tuberculosis bovina en un hato de 150 bovinos hembras Holstein Friesian en el municipio de Tepatitlán, Jal. utilizando las pruebas de Intradermorreacción e Histopatológico.

PARTICULARES:

- 1) Determinar la frecuencia de reactores positivos por edad.

- 2) Determinar la sensibilidad y especificidad de las pruebas combinadas de Intradermorreacción e Histopatológico.

MATERIAL Y METODOS

Se hizo la aplicación de tuberculina a la muestra seleccionada de bovinos correspondientes al Municipio de Tepatitlán Jal. El cual esta representado por 150 bovinos de desconocida situación sanitaria en tuberculosis también se realizo la clasificación por raza, sexo, edad y actividad zootécnica para la valoración de la respuesta en las pruebas de tuberculina.

Para la prueba de tuberculina se realizo lo siguiente:

Se efectúa la selección del pliegue ano-caudal , posteriormente se desinfecta la región y se aplica 0.1 c.c. de tuberculina mamífera por inyección intradérmica en el pliegue ano-caudal.

Y se determinó mediante el metodo propuesto por la Secretaría de Agricultura y Ganadería de la siguiente manera:

Se consideró reacción positiva al verificarse un aumento del grosor por tumefacción del pliegue cutáneo. Más la presencia de uno u otro signo clínico.

Se consideró reacción dudosa, cuando se verifica un aumento del grosor de la piel, apenas visible. Sin presencia de signos clínicos. O un aumento del grosor cutáneo menor. Con presencia de signos clínicos.

Se considera reacción negativa cuando no se observe incremento de grosor en el sitio de la inyección. Sin la presencia de signos clínicos.

Se considerarán signos clínicos relacionados con la reacción tuberculina: dolor, consistencia pastosa (edema), exudación, necrosis circunscrita o inflamación de los nodulos linfáticos regionales y vasos linfáticos. (28)

Después de la tuberculinización de los reactores positivos posteriormente se procedió al sacrificio a rastro para su estudio en la necropsia y donde las lesiones no fueron patognomónicas del padecimiento, tomándose los nodulos aumentados de tamaño en los animales muestreados e inspeccionando los nodulos cefálicos (submaxilares, maxilares y

parotidos) faríngeos, retrofaríngeos, bronquiales mediastínicos y mesentéricos o de otra zona según sea necesario dependiendo de la observación patológica.

La interpretación Histopatológica se realizó con la técnica de inclusión de parafina y la tinción de Hematoxylina y Eosina además de la Ziel-Neelsen para la observación de las lesiones en los cortes Histopatológicos e identificación del bacilo.

Los resultados se analizaron formando grupos, utilizando para ellos como elemento de discriminación, la edad, sexo y aptitud zootécnica de los animales muestreados.

Para la obtención de los valores de sensibilidad y especificidad se utilizó el método propuesto por la comisión de salud animal del congreso de los Estados Unidos de América para la erradicación de la tuberculosis bovina de 1994.

Los resultados obtenidos serán presentados mediante cuadros, gráficas

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente trabajo realizado en el municipio de Tepatitlán Jalisco, donde fue muestreado el hato experimental con PPD bovino (Derivado proteico purificado) de *M. bovis* por la técnica de pliegue anocaudal tuberculinizándose 150 bovinos hembras de raza holstein friesian de los cuales 18 fueron positivos a la prueba (12%) y negativos 132 (88%) (grafica 1)

La frecuencia de los reactores positivos fue de 30 meses de edad que representa el 28% de los 18 bovinos positivos a la prueba de tuberculina, el bovino de menor edad afectado fue de 24 meses y el de mayor fue de 72 meses. Se determino la frecuencia mediante las tecnicas de Análisis Bioestadístico en epidemiología, la Media aritmética, la moda y la mediana fue de 39 meses, 30 meses y 34 respectivamente. (Cuadro 1)

De los 18 bovinos los ganglios aumentados de tamaño fueron los bronquiales y mediastínicos de los cuales se tomo las muestras de ganglios linfáticos para su posterior observación al microscopio de los cortes histopatológicos con las tecnicas de tinción de Ziehl- Nielsen y Hematoxilina y eosina.

De los 18 positivos a la prueba de tuberculina 16 (89%) mostraron clara y evidentes lesiones clásicas de *Mycobacterium tuberculosis* en los cortes histopatológicos y 2 (11%) no mostraron lesiones ni presencia de *Mycobacterium* (Gráfica 2)

De igual manera se verificó el grado de respuesta a la prueba de tuberculina de los 18 tuberculinizados 9 tuvieron respuesta severa (50%) 5 respuesta moderada (27.2%) y 4 respuesta leve (22.8%). (grafica 3)

Los 2 bovinos que no mostraron lesiones patognomónicas de tuberculosis y que resultaron negativas una correspondieron a una neoplasia y la otra a un proceso inflamatorio.

Se determinó la sensibilidad y especificidad de las pruebas combinadas de intradermoreacción e histopatológico cuyo resultado fue de 53% y de el 98% respectivamente según método de detección masiva en poblaciones animales. (Cuadro 2)

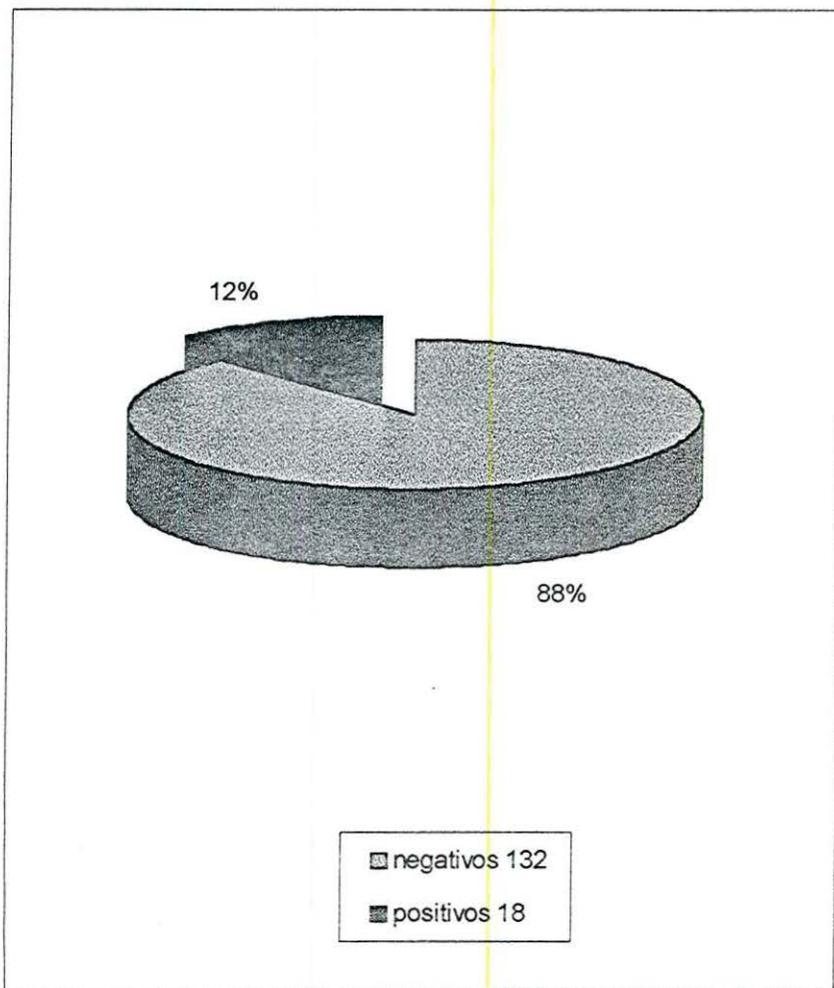
En el granuloma (tubérculo) se encuentra aislado y presente el bacilo tuberculoso el cual fue ingerido por los macrófagos.(Foto 1)

En los cortes histopatológicos se evidencia una zona delimitada formada por células epiteloideas no típicas presentes en bovinos de las cuales delimitan la zona afectada para aislar el *Mycobacterium bovis* formando el llamado tubérculo o granuloma en donde se diferencia el tejido de granulación y la zona central de necrosis. (Foto 2)

En esta zona están presentes células fagocitarias, macrófagos, linfocitos T y células epiteloideas Las células de cuerpo extraño o de langhans están presentes en la zona cercana al área necrótica La mineralización o formación de calcio se encuentra en el centro necrótico. (Foto 3)

En esta imagen se aprecian las células gigantes de cuerpo extraño o de langhans y las epiteliales las cuales pretenden aislar al mycobacterium formando el tubérculo o granuloma.(foto 4)

GRAFICA 1
HATO EXPERIMENTAL
TOTAL 150 BOVINOS TUBERCULINIZADOS
n= 150



Cuadro 1

Edades de Bovinos Tuberculinizados positivos

n = 150

Bovinos positivos = 18

EDAD	EDAD	EDAD
1.- 24	7.- 30	13.- 46
2.- 28	8.- 33	14.- 48
3.- 30	9.- 33	15.- 48
4.- 30	10.- 34	16.- 50
5.- 30	11.- 36	17.- 72
6.- 30	12.- 36	18.- 72

Moda	30
Media	39
Mediana	34

Menor edad Infectada	24
Mayor edad Infectada	72

Frecuencia de 30 meses de edad

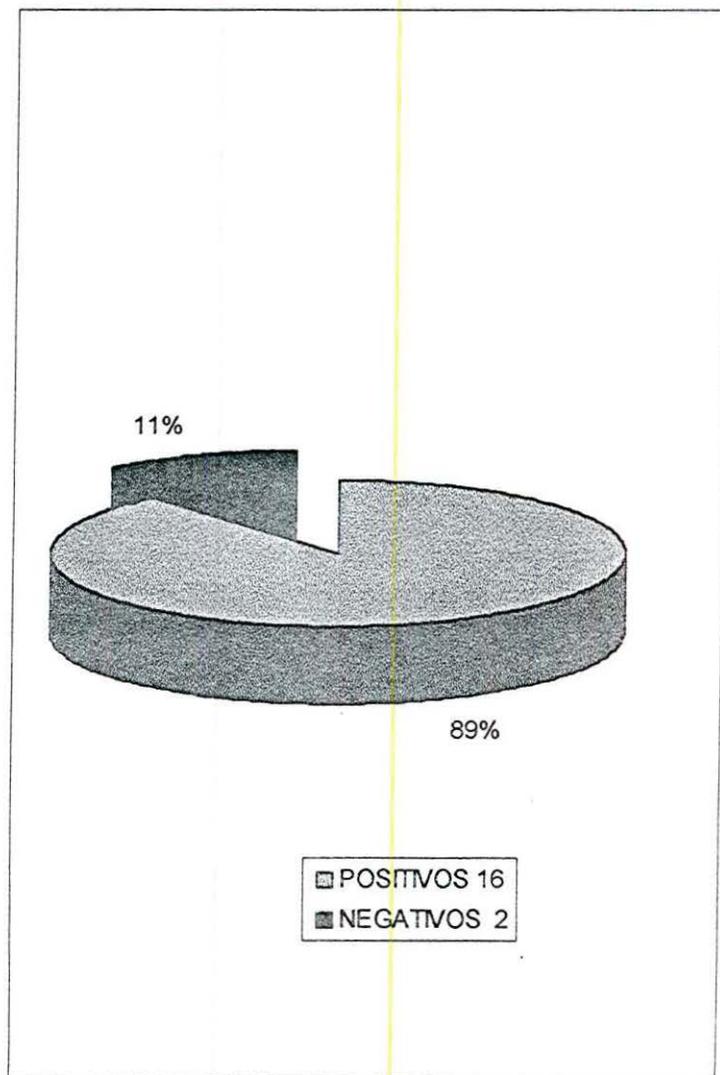
5 veces

F= 28%

30 meses de edad

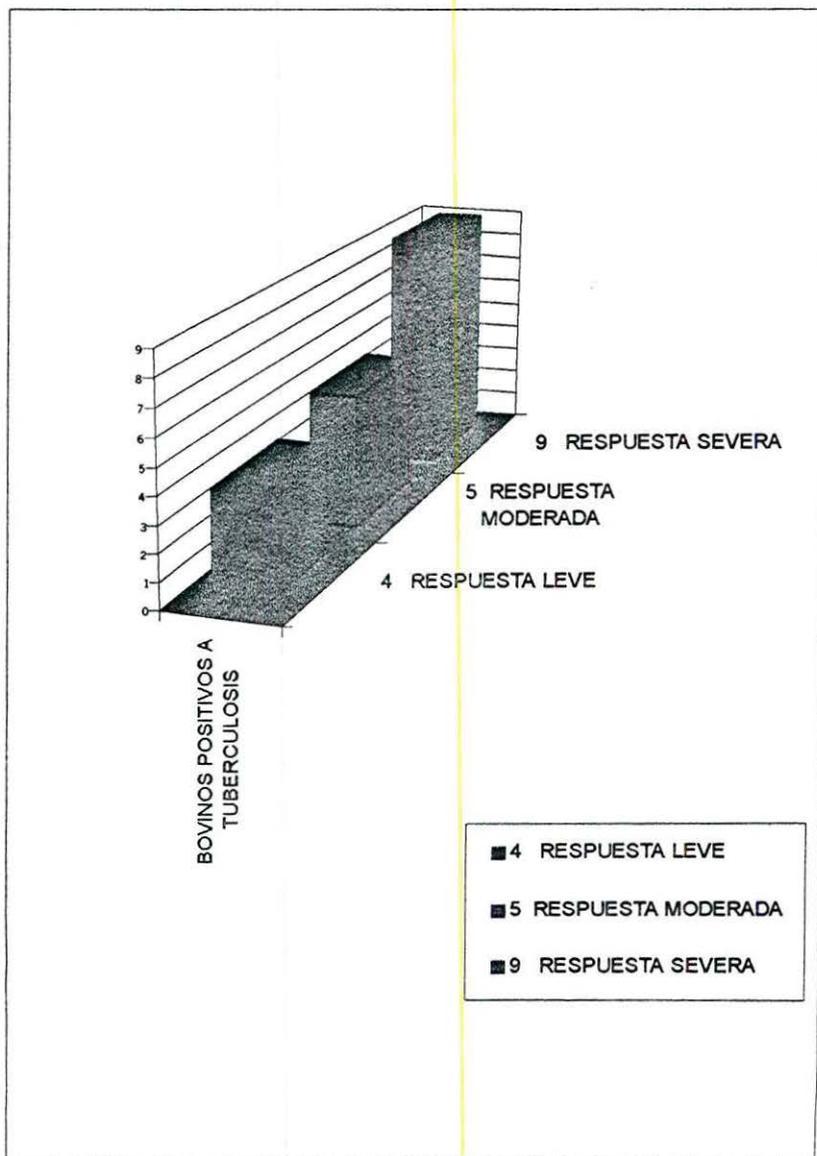
GRAFICA 2
RESULTADOS DE LA PRUEBA HISTOPATOLOGICA EN ANIMALES POSITIVOS A
TUBERCULINA

n=18



GRAFICA 3
RESPUESTA A LA PRUEBA DE TUBERCULINA

n=18



Cuadro 2

Sensibilidad y Especificidad en Pruebas de Intradermoreacción

- a) Verdaderos positivos = 18
 b) Falsos positivos = 2
 c) Falsos negativos = 16
 d) Verdaderos negativos = 132

$$Se = \frac{a}{a+c} \quad \frac{\text{verdaderos positivos}}{\text{verdaderos positivos} + \text{falsos negativos}}$$

$$Es = \frac{d}{b+d} \quad \frac{\text{verdaderos negativos}}{\text{verdaderos negativos} + \text{falsos positivos}}$$

Resultado
de la
Prueba

18	a	b	2	= 20
16	c	d	132	= 148
34	a+c	b+d	134	= 168

$$Se = \frac{18}{18 + 16} = \frac{18}{34} = 52.94\% \quad \text{Sensibilidad}$$

$$Es = \frac{132}{132 + 2} = \frac{132}{134} = 98.50\% \quad \text{Especificidad}$$

FOTO 1

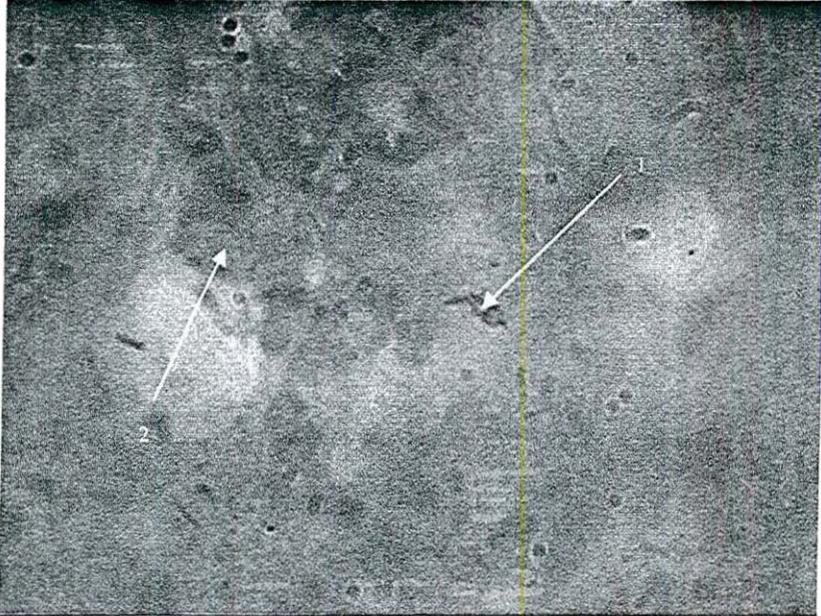


Foto 1, En ella se observan los bacilos ácido alcohol resistente (1) y a los macrofagos los cuales han fagocitado a estas bacterias (2), tincion de ziehl Neelsen, 100x inmersión.

FOTO 2

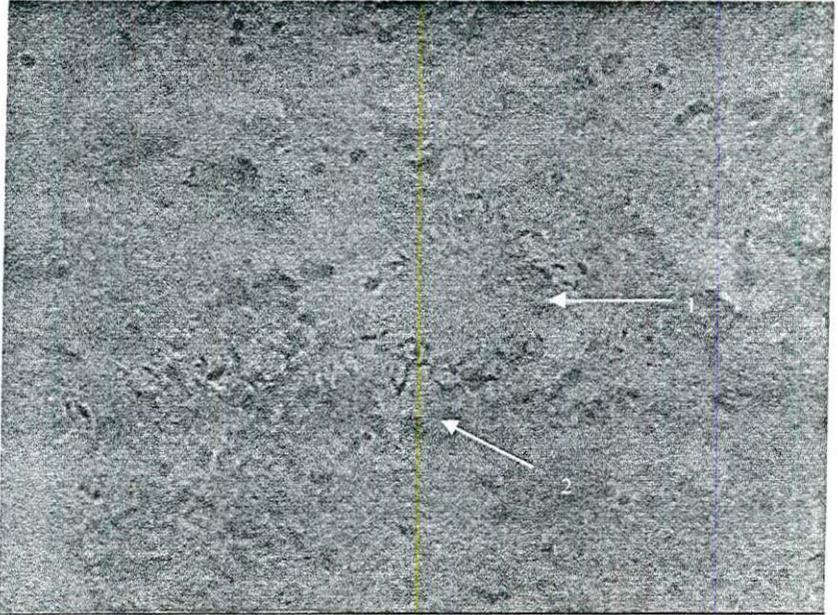


Foto 2 , En ella se observa la colonia de bacilos alcohol reistentes englobados por una celula gigante o de langhans (1) y englobados por macrofáfos (2).

FOTO 3

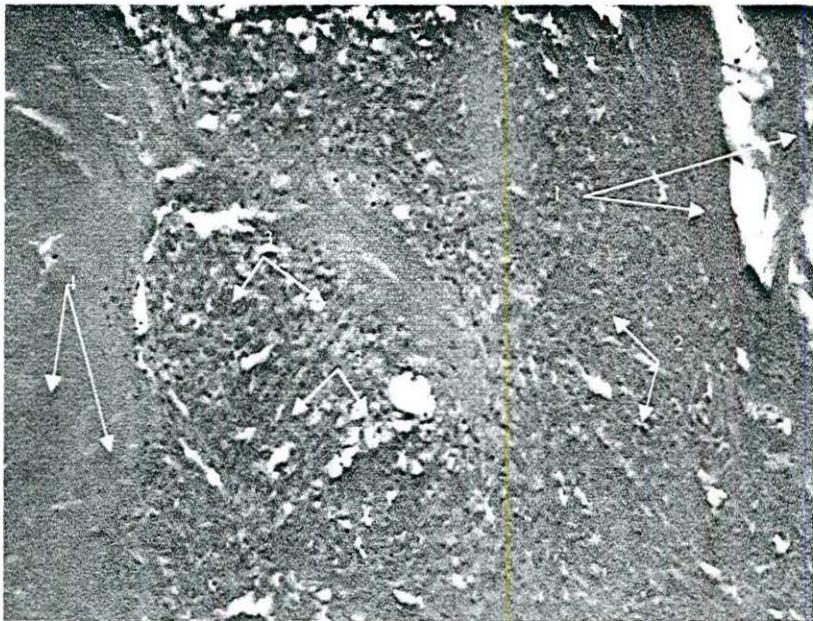


Foto 3, En esta fotografía, se puede apreciar las diversas estructuras histológicas del granuloma tuberculoso, del exterior al interior, la cápsula fibroconectiva (1), anillo de linfocitos (2), células epiteloides y de cuerpo extraño o de Langhans (3), Zona de necrosis (4), tinción de H y E, objetivo de 40x.

FOTO 4

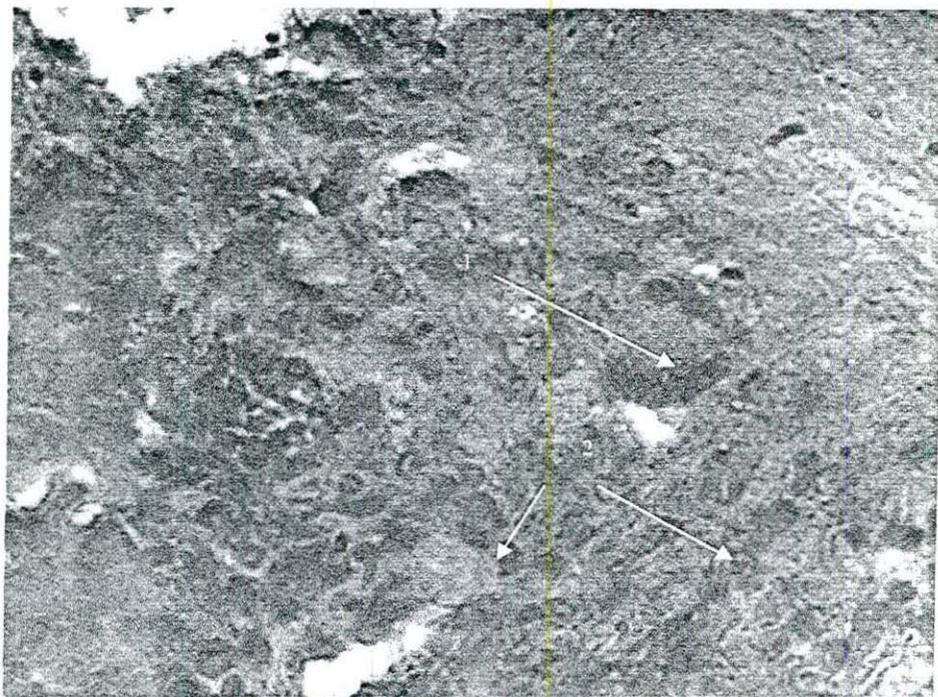


FOTO 4, En esta se aprecia las células gigantes de cuerpo extraño o langhans (1) y las epiteliales (2), tinción de H y E, objetivo de 40 aumentos

DISCUSION

La prevalencia de la enfermedad en el total de los 150 animales muestreados del hato experimental mediante la prueba de intradermoreacción fue del 12% lo que arroja resultados no favorables comparándolos con la media nacional de ganado lechero que es del 9.91%(34).

De los bovinos la edad que mas se vio afectada de los 18 positivos a la prueba de tuberculina fue de 30 meses que representa el 28% y su edad oscila entre los 24 y 72 meses de edad que la etapa más productiva y esta condicionada por la interacción del agente ,hospedero y ambiente que son bovinos de primer parto que figuran en el inicio de la parte productiva de la explotación ocasionando disminución del impulso económico.(33-34)

La respuesta a la prueba de tuberculina de los reactores positivos fue de respuesta severa, moderada y leve esto depende del grado de hipersensibilidad de cada animal este es el grado de respuesta que se obtiene a la tuberculina esto debido principalmente a la presencia de linfocitos t y a las linfoquinas. (5)

El resultado de la prueba comparativa de Intradermoreacción e histopatológica 2 fueron negativos en la prueba histopatológica ocasionada por una neoplasia y otra por una respuesta inflamatoria, en el caso de la neoplasia hay unas proteínas citolíticas o linfoquinas liberadas por los linfocitos t estimulados y la caquetina una secuencia de aminoácidos homologables producidas por los macrófagos estos causan una reactividad cruzada entre el antígeno del tumor y BCG induciendo una respuesta inmune contra antígenos comunes determinados lo cual esto es similar con el proceso inflamatorio ocasionado por cualquier otra enfermedad como por ejemplo mycobacterias atípicas. ocasionando una reacción cruzada, lo que arroja una sensibilidad del 53 % con respecto a la prueba de intradermoreacción y una alta especificidad con respecto ala prueba histopatológica del 98 % (5-10-14)

Los diagnósticos veterinarios de campo realizados por la prueba de intradermoreacción en bovinos, frecuentemente, expresan infección aguda con *Mycobacterium* y llega a fallar la respuesta a la prueba de Intradermoreacción de tuberculina, su detección varía en una

población de animales sanos que tuvieron la enfermedad o como portadores sanos o enfermedad crónica avanzada y su respuesta a la prueba de intradermoreacción puede ser alterada. No así con la prueba histopatológica en la que se observa la coordinación de la respuesta celular de leucocitos, linfocitos t, células de langerhans o células gigantes de cuerpo extraño, la presencia de células epiteloides que en conjunto se le da el nombre de tubérculo y que da como resultado una lesión necrosante que el organismo trata de aislar y eliminar por la presencia del mycobacterium.(15)

La sensibilidad de pruebas combinadas fue del 53 % y la especificidad fue del 98 % esto representa una disminución de la sensibilidad de la tuberculina con respecto a la enunciada por la OMS, en la cual se mensiona que es del 0.75-0.82 %, sin embargo la especificidad se encontro dentro de los marcos establecidos por esta organización internacional y que son del 96% al 99% .(31)

CONCLUSIONES

1. Los animales que se tuberculinizaron pertenecen a ganado lechero de la raza holstein freisian hembras cuya prevalencia de tuberculosis determinada fue del 12% y la frecuencia por edades fue de 30 meses representando el 28 %.
2. La respuesta a la prueba de tuberculina de los 18 reactores positivos fue de la siguiente manera 9 tuvieron respuesta severa, 5 moderada y 4 leve.
3. De los 18 bovinos tuberculinizados 2 fueron falsos positivos, ya que en la prueba histopatológica 1 corresponde a una neoplasia y la otra a un proceso inflamatorio.
4. La sensibilidad y la especificidad de la prueba combinada fue de 53% y de el 98% respectivamente.
5. El patrón de comportamiento celular fue el típico presentado en la enfermedad de tuberculosis en el examen histopatológico.

BIBLIOGRAFIA

1. ALVARADO, T., L., E.: Contribución al estudio de la problemática sanitario en relación a tuberculosis bovina en carne destinada al consumo humano. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. Y Zoot. Universidad de Guadalajara. págs. 2-5 (1981)
2. American Lung Association. WMHT Educational Telecommunications. The People's plague on line. Facts and Figures Tuberculosis Today. pág. 1 (1995)
3. AUER-L., A. Aseesment of an enzyme linked immunosorbent assay for the detection of cattle infected with *Mycobacterium bovis*. Australia Vet-j. Australia. págs. 6-7 (1988)
4. AUER-L., A. SCHLEEHAUF-S., M. Antibodies to Mycobacteria in cattle not infected with *Mycobacterium bovis*. Queensland department of primary industries, Animal research institute, Yeerongpilly-Australia. pág. 380 (1988)
5. BELLANTI, M., D., JOSEPH A. Inmunología III Editorial Interamericana Págs. 190,344. (1985)
6. BLOON, B., R. Tuberculosis pathogenesis, protection and control. Asm Press Washington, D.C. pág. 399-401 (1994)
7. CANELA, G., J., M. Estado actual del tratamiento de tuberculosis, Tesis de Licenciatura, Fac. de Med. Vet. Y Zoot. U. de G., Guadalajara, págs. 3-4 (1981)
8. CARRASCO, V., M. y RAYAS, F., P., J. Frecuencia de brucelosis y tuberculosis bovina en hatos de alto registro en Jalisco. Tesis de Licenciatura, Fac. de Med. Vet. y Zoot., U. de G., Guadalajara, Jalisco. págs. 1-2 Agosto (1993)

9. CHARLES, O., THOEN, DVM. PHD. Infección en bovinos por *Mycobacterium bovis* Patogenesis Departamento de microbiología y medicina preventiva. Universidad estatal de IOWA. Ames, IOWA 50011 págs. 1-3 (1994)
10. DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD ANIMAL. Publicaciones Técnicas del 1er. Seminario de Tuberculosis Bovina en México. Torreón, Coahuila. págs. 28-29 (1983)
11. DIVO, A. Microbiología Medica. Edit. Interamericana. 4ta. Edición México, D.F. pág. 189 (1990)
12. DOXEY, D., L. Patología clínica y procedimientos de diagnóstico en Veterinaria, Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. 2da. Edición, México. págs. 90-91. 102 (1987)
13. DURAN, L., A., G. Incidencia de reactores positivos a la prueba doble comparativa de tuberculina en un centro de cría de ganado Holstein-Friesian, en sus diferentes etapas de crianza. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. págs. 7-8 (1982)
14. FAJARDO, E., MADRIGAL, S., A. Y VALERRO, E., G.: Encefalitis Tuberculosa en Becerras, Reunión de investigación pecuaria de México, S.A.R.H. U.N.A.M. México pág. 350 (1983)
15. FRASER, C., M. El manual merck de veterinaria. Edit. Oceano. 4 ta Edición Barcelona España. pág 491 (1991)
16. GILOT, P. COCITO, C. Comparative analysis of tree sensitins used in cutaneous testing for Tuberculosis and Paratuberculosis in cattles. Mycobiology and Genetics Unit. University of Louvain, Medical School, Brussels, Belgium. (1987)
17. GONZALEZ, B.; M. Fundamentos de Oncología Médica. Ed. Mcgraw Hill. Págs 127 (1989)

18. HAAGSMA-J. Potency testing of bovine Tuberculin. Dec-Biol-Stand. Switzerland. págs. 18-19 (1986)
19. HAAGSMA-J. Diagnosis and control of Tuberculosis in cattle. Tijdschr- Diergeneeskd. Netherlans. págs. 190-191 (1987)
20. JAWETS,E. MELNICK, J.,L. ADELBERG, A. Microbiología medica, 14va. Ed. Manual Moderno, México. págs. 218-224 (1992)
21. NAVARRO,R.,L.,C. Correlación entre reactores positivos a la prueba de la tuberculina y tuberculosis positivos a la prueba (Mediante Inspección Post-Mortem) En el Rastro Municipal de Hermosillo, Sonora. Tesis de Licenciatura. Facultad de Med. Vet. y Zoot. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jal. págs. 1-3,7-8 (1974)
22. O'REILLY,L.,M. Field trials to determine a suitable injection dose of bovine PPD tuberculin for the diagnosis of bovine Tuberculosis in naturally infected cattle. Dev-Biol-Stand. Switzerland. págs. 480-481 (1986)
23. PLACKETT, P., RIPPER, J. CORNER, L.,A. DE WITTE, K., MELVILLE, L., HIDES, S. WODD, P., R. Elisa para la detección de tuberculosis bovina. División de la salud animal. Laboratorio de investigación animal, Parkville Victoria, Australia. Junio. págs. 9-15 (1989)
24. RITACCO, V. LÓPEZ, B. BARRERA, L. NADER, A. FLIESS, E. DE ANTOR, IN. Otra evaluación más de una prueba indirecta inmuno-absorbente enzima-unida para el diagnóstico de tuberculosis bovina. Comisión of scientific research. Province of Buenos Aires, Argentina. Germany-west. Febrero. págs. 9-15 (1990)
25. SANCHEZ, A., J. Y ESPARZA, R.,F.,J. : Aislamiento e identificación del *Mycobacterium tuberculosis* en leche bronca, procedente de animales reactores positivos, sospechosos y negativos, a la prueba de la tuberculina (intra-dermorreacción), En hatos

- localizados en la periferia de Guadalajara, Jal. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad de Guadalajara. Guadalajara. págs. 9-10 (1979)
26. **Secretaría de Agricultura y Ganadería. CONETEB Y Fed. M.V.Z. Manual de Actualización Técnica para la aprobación del Médico Veterinario en Tuberculosis Bovina y Brucelosis.** Palo Alto. D.F. págs. 12-15 (1995)
27. **Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de Investigación Pecuarias. Departamento de Virología. DR. PABLO CORREA GIRON.** págs. 90-92 (1978)
28. **Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Norma Oficial Mexicana de Emergencia. NOM-EM- 002- SARH/1994. Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina.** págs. 12-14,18 (1994)
29. **TORRES, M., F. Estudio retrospectivo de las campañas para el control y la erradicación de la Tuberculosis Bovina y Brucelosis en el Estado de Campeche, de Enero de 1992 a Diciembre de 1993.** Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. México. págs. 4-6 (1994)
30. **VALERO, G., Diagnóstico histopatológico de tuberculosis bovina. CENID-Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, SARH, México D.F., Departamento de patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México, D.F. págs. 1-2 (1994).**
31. **WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report of the who working group on zoonotic tuberculosis (Mycobacterium bovis), with the participation of FAO Veterinary Public Health Unit. Págs 17-18 (1994)**

32. ZAMORANO, D., R. Prevalencia de Tuberculosis y Brucelosis en el ganado Bovino Productor de carne en los Municipios de Acaponeta, Tecuala, Huajicori y Rosamorada, del período comprendido de Enero a Diciembre de 1993. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. México. págs. 5-6
33. ZEFERINO, G. V., Epidemiología Veterinaria y Salud Animal. Editorial Noriega Limusa S.A. de C.V. 1ra. Edición, México D.F. págs. 55,129-130 (1990).
34. ZUBIETA, M.,C. LARIOS, G.,H. Estudio retrospectivo de casos de Tuberculosis Bovina en el Municipio de Jocotepec, Estado de Jalisco, durante el período comprendido de Marzo a Diciembre de 1992. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. México. pág. 1-7 (1994)

TESIS/UCBA