



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

AREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS
NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

"PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA (TBB), EN
EL CANTÓN LOJA MEDIANTE INSPECCIÓN POST
MORTEM EN EL CAMAL FRIGORÍFICO DE LOJA"

Tesis de Grado previa a la obtención del Título
de Médico Veterinario Zootecnista

AUTOR:

Rober Luciano Suquilanda Ludeña

DIRECTOR:

Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg. Sc.

LOJA – ECUADOR
2015

CERTIFICACIÓN

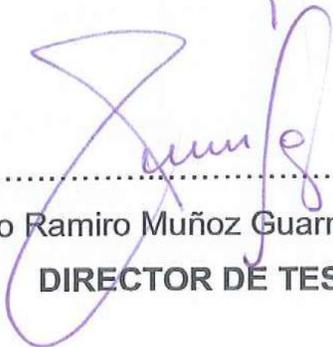
Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg. Sc.

Director de Tesis y Docente de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Loja.

CERTIFICA:

Que una vez revisado el trabajo de investigación denominado **"PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA (TBB), EN EL CANTÓN LOJA MEDIANTE INSPECCIÓN POST MORTEM EN EL CAMAL FRIGORÍFICO DE LOJA"**, realizado por el egresado ROBER LUCIANO SUQUILANDA LUDEÑA previo a la obtención del título de MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA, ha sido dirigido, revisado y ejecutado dentro del cronograma de trabajo, desde su inicio hasta su finalización, por lo tanto, se autoriza su presentación para la calificación correspondiente.

Loja, Noviembre del 2015


.....
Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg. Sc.
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

"PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA (TBB), EN EL CANTÓN LOJA MEDIANTE INSPECCIÓN POST MORTEM EN EL CAMAL FRIGORÍFICO DE LOJA"

Tesis presentada al tribunal de grado como requisito previo a la obtención del título de: **MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.**

APROBADA:

Dr. José Eugenio Gaona Mg. Sc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dra. Rocío Herrera Herrera Mg. Sc
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

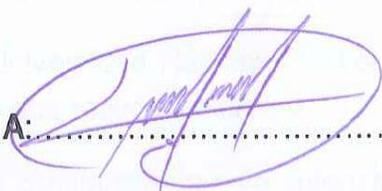
Dr. Rolando Sisalima Jara Mg. Sc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AUTORÍA

Yo, **ROBER LUCIANO SUQUILANDA LUDEÑA** declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual

FIRMA:



AUTOR: Rober Luciano Suquilanda Ludeña

CEDULA: 1103559165

FECHA: Loja, 16 de Noviembre del 2015

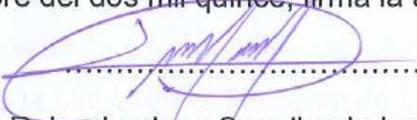
**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DE LA AUTOR,
PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y
PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.**

Yo, *ROBER LUCIANO SUQUILANDA LUDEÑA*, declaro ser autor del presente trabajo de tesis titulada: "**PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA (TBB), EN EL CANTÓN LOJA MEDIANTE INSPECCIÓN POST MORTEM EN EL CAMAL FRIGORÍFICO DE LOJA**", como requisito para optar por el Título de Médico Veterinario Zootecnista; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja, para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la posibilidad de su contenido de la siguiente manera en el repositorio digital institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización en la ciudad de Loja, a los 16 días del mes de Noviembre del dos mil quince, firma la autor.

FIRMA: 

AUTOR: Rober Luciano Suquilanda Ludeña

CÉDULA: 1103559165

DIRECCIÓN: (Calle) Pedro Victor Falconi y Carlos Román en la Cdla. Celi Román

CORREO ELECTRONICO: lucianosuquilanda@hotmail.com

TEL. CELULAR: 0967914082

DATOS COMPLEMENTARIOS

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg. Sc.

TRIBUNAL DE GRADO:

PRESIDENTE: Dr. José Eugenio Gaona Mg. Sc.

VOCAL: Dra. Rocío Herrera Herrera Mg. Sc.

VOCAL: Dr. Rolando Sisalima Jara Mg. Sc.

AGRADECIMIENTO

Al finalizar un trabajo tan arduo y lleno de dificultades como el desarrollo de una tesis, es inevitable que te aborde un muy humano egocentrismo que te lleva a concentrar la mayor parte del mérito en el aporte que has hecho. Sin embargo, el análisis objetivo te muestra inmediatamente que la magnitud de ese aporte hubiese sido imposible sin la participación de personas e institución que han facilitado las cosas para que este trabajo llegue a un feliz término. Por ello, es para mí un verdadero placer utilizar este espacio para ser justo y consecuente con ellas, expresándoles mis agradecimientos.

A Dios por darme salud e iluminarme despejando cualquier duda y regalándome sabiduría para poder terminar con éxito este proyecto.

A la Universidad Nacional de Loja, a la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia y Laboratorio de Microbiología Animal del Centro de Biotecnologías de la Universidad Nacional de Loja por abrirme sus puertas para mi formación profesional y a los directivos del Camal Frigorífico de Loja “CAFRILOSA”

A mi director de tesis, Dr. Tito Ramiro Muñoz Guarnizo Mg. SC, por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, experiencia, paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito.

A quienes participaron de la asesoría, fases de investigación y análisis: Dr. Rómulo Chávez Valdivieso Ph.D y a la Dra. Vanesa Herrera Mg. SC., quienes con sus conocimientos, esfuerzo y constancia supieron guiarme en el desarrollo de este proyecto.

DEDICATORIA

A mis adorados padres Roberto Suquilanda y María Piedad Ludeña pilares fundamentales en mi vida. Sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora he logrado. Su tenacidad y lucha insaciable han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para mis hermanos y familia en general.

A mi hijo Roberto, eres mi orgullo y mi gran motivación, libras mi mente de todas las adversidades que se presentan, y me impulsas a cada día superarme en la carrera de ofrecerte lo mejor. Gracias mi vida, por ayudarme a encontrar el lado dulce y no lo amargo de la vida. Fuiste mi motivación más grande para concluir con éxito esta tesis.

A mi esposa, Hilda Girón, quien me brinda su amor, su cariño, su estímulo y su apoyo constante. Su cariño, comprensión y paciente espera para que pudiera culminar mis estudios son evidencia de su gran amor. Gracias Amor.

Dedico de manera especial a mis hermanos, Tania , Silvio , Ximena, Yaneth, pues ellos fueron el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional sentaron en mi las bases de responsabilidad y deseos de superación, en ellos tengo el espejo en el cual me quiero reflejar, pues sus virtudes infinitas y su gran corazón me llevan a admirarlos cada día más. Gracias Dios por concederme los mejores hermanos.

A mis queridos sobrinos Cristina, Ana Paula, Cristian, Mateo, María Emilia, Paola, Santiago, Josué y Paul, para ustedes con mucho cariño.

ÍNDICE GENERAL

Contenidos	Pág.
PORTADA.....	i
CERTIFICACIÓN.....	ii
APROBACIÓN.....	iii
AUTORÍA.....	iv
CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
TÍTULO.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY.....	xv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1 ANTECEDENTES.....	6
2.2 EL COMPLEJO MYCOBACTERIUM (MTC).....	8
2.2.1 Mycobacterium Bovis.....	10
2.2.2 Morfología y Caracterización.....	11
2.3 EPIDEMIOLOGÍA.....	15
2.3.1 Tuberculosis Bovina en Seres Humanos.....	15
2.3.1.1 A nivel mundial.....	15
2.3.1.2 Para américa latina.....	16
2.3.1.3 En Ecuador.....	16
2.3.2 Tuberculosis Bovina en Ganado Bovino.....	17

2.3.2.1	A nivel mundial.....	17
2.3.2.2	Para américa latina.....	18
2.3.2.3	En Ecuador.....	19
2.4	FACTORES DE SUSCEPTIBILIDAD.....	21
2.5	PATOGENIA.....	21
2.6	MECANISMO DE INFECCIÓN DE M. BOVIS.....	23
2.7	LESIONES ANATOMOPATOLÓGICAS.....	25
2.8	ALTERACIONES QUE OCURREN EN LOS GANGLIOS LINFÁTICOS.....	25
2.9	DIAGNÓSTICO.....	26
2.9.1	Macroscópica.....	27
2.9.2	Microscópica.....	27
2.10	SINTOMATOLOGÍA.....	28
2.11	TRATAMIENTO.....	29
2.12	TRABAJOS RELACIONADOS	29
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1	MATERIALES.....	31
3.1.1	Materiales de Oficina.....	31
3.1.2	Materiales de Campo.....	31
3.1.3	Materiales de Laboratorio.....	32
3.2	MÉTODOS.....	33
3.2.1	Ubicación.....	33
3.2.2	Selección y Tamaño de la Muestra.....	33
3.2.3	Inspección Macroscópica.....	34
3.2.4	Procesamiento y Almacenamiento de los Ganglios.....	35
3.2.5	Preparación de los Reactivos para la Baciloscopia.....	36
3.2.6	Método de Baciloscopia Utilizado.....	36
3.2.7	Lectura de la Tinción.....	39
3.2.8	Variables en Estudio.....	40
3.2.9	Recopilación de Información.....	40

3.2.10	Procesamiento de la Información.....	41
4.	RESULTADOS.....	43
4.1	PREVALENCIA DE TBB EN EL CANTÓN LOJA.....	43
4.2	PREVALENCIA DE TBB, SEGÚN LAS PARROQUIAS.....	44
4.3	PREVALENCIA DE TBB, SEGÚN SEXO.....	45
4.4	PREVALENCIA DE TBB, SEGÚN RAZA.....	46
4.5	PREVALENCIA DE TBB, SEGÚN EDAD.....	47
4.6	PREVALENCIA DE TBB, SEGÚN GANGLIOS POSITIVOS	48
4.7	INSPECCIÓN MACROSCÓPICA DE LOS GANGLIOS POSITIVOS A TBB.....	49
5.	DISCUSIÓN.....	52
6.	CONCLUSIONES.....	56
7.	RECOMENDACIONES.....	57
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	58
9.	ANEXOS	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros:	Pág.
Cuadro 1. Taxonomía y principales huéspedes del complejo Mycobacterium tuberculosis.....	9
Cuadro 2. Prevalencia de la tuberculosis bovina en el ganado lechero.....	20
Cuadro 3. Prevalencia de TBB, en el cantón Loja.....	43
Cuadro 4. Positividad de TBB por parroquias.....	44
Cuadro 5. Prevalencia según el sexo de los bovinos faenados....	45
Cuadro 6. Prevalencia de acuerdo a la raza de los bovinos faenados.....	46
Cuadro 7. Prevalencia de acuerdo a la edad de los bovinos faenados.....	47
Cuadro 8. Prevalencia de acuerdo a los ganglios de los bovinos faenadas.....	48
Cuadro 9. Presencia del Mycobacterium tuberculosis, según ganglios.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura:	Pág.
Figura 1. Representación esquemática de la pared celular de M. tuberculosis.....	13
Figura 2. Tasa de incidencia estimada de tuberculosis.....	15
Figura 3. Programa Nacional de Control de la Tuberculosis.....	17
Figura 4. Mapa de distribución de enfermedades tuberculosis bovina.....	18
Figura 5. Estimaciones de prevalencia de TBB en Latinoamérica	19
Figura 6. Mapa de distribución de enfermedades, tuberculosis Bovina, Ecuador.....	20
Figura 7. Tubérculos encontrados en la región torácica después de la inspección veterinaria post-mortem.....	27
Figura 8. TB. reveló con una tinción especial específico para Mycobacterium, ácido-rápida tinción de Ziehl-Neelsen..	28
Figura 9. Prevalencia de TBB en ganaderías del cantón Loja.....	43
Figura 10. Prevalencia según parroquias.....	45
Figura 11. Prevalencia según el sexo.....	46
Figura 12. Prevalencia según raza.....	47
Figura 13. Prevalencia a TBB por edad.....	48
Figura 14. Prevalencia a TBB según ganglios.....	49
Figura 15. Presencia del Mycobacterium tuberculosis, según ganglios.....	51

**"PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA (TBB), EN EL
CANTÓN LOJA MEDIANTE INSPECCIÓN POST MORTEM EN EL
CAMAL FRIGORÍFICO DE LOJA"**

RESUMEN

La tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad crónica granulomatosa que afecta una amplia gama de hospederos entre los que se encuentra el ser humano, el agente causal es *Mycobacterium bovis*. Los estudios de TBB en nuestro país son escasos, aislados y con diferentes pruebas, por lo que se propuso generar información del sur del Ecuador para alertar sobre la enfermedad y se planteó la presente investigación denominada "***Prevalencia de tuberculosis bovina (TBB), en el cantón Loja, mediante inspección post mortem, en el camal frigorífico de Loja***", los análisis se efectuaron en el Laboratorio de Microbiología Animal, del Centro de Biotecnología, de la Universidad Nacional de Loja, en los meses de Noviembre de 2014 a junio del 2015. Las variables bajo estudio fueron: Procedencia de los bovinos según las parroquias; sexo; raza; y edad de los bovinos faenados. Se realizó la inspección macroscópica de los ganglios de diferentes secciones de la carcasa para determinar alteraciones anatomopatológicas de los mismos y en laboratorio se aplicó la técnica de Baciloscopía, mediante tinción por Ziehl-Neelsen. La muestra fue 630 ganglios (Cervicales, Pulmonares, Retro faríngeos, Bronquiales y Mediastinos) de 127 bovinos faenados. Los resultados mostraron la presencia de la enfermedad TBB en las ganaderías del cantón Loja, con el 27,56% de casos positivos en bovinos provenientes de las diferentes ganaderías; con mayor prevalencia en las ganaderías de las parroquias Sucre, El Valle, San Lucas y Jimbilla; no se detectaron diferencias importantes de prevalencia entre sexos, así mismo no evidenciamos influencia de la raza en la prevalencia y se establece una mayor susceptibilidad en los animales de más de 3 años de edad; resaltándose la presencia del *Mycobacterium* en ganglios aparentemente normales (con un 58,06%), sin alteraciones clínicas apreciables, circunstancia que vuelve altamente peligrosa a la enfermedad, que además es de tipo zoonosico.

Palabras claves: *Mycobacterium bovis*, TBB, Zoonosico, Baciloscopía, ganglios, prevalencia.

SUMMARY

Bovine tuberculosis (BTB) is a chronic granulomatous disease that affects a wide range of hosts including humans, and the causative agent is *Mycobacterium bovis*. BTB studies in our country are scarce, random and use different formats. It has therefore been proposed to generate information from southern Ecuador to alert people to the disease hence this research called "Prevalence of bovine tuberculosis (BTB), in the Canton of Loja, during post-mortem inspection in refrigerated slaughterhouses ". Analyses were performed at the Laboratory of Animal Microbiology, of the Biotechnological Center at the National University of Loja, from November 2014 to June 2015 . The variables under study were: Origin of bovine by parish; sex; race; and age of slaughtered cattle. Macro inspection of the ganglia of different sections of the carcass was carried out to establish pathological changes thereof and a smear test subjected to the Ziehl-Neelsen staining method was administered in the laboratory. The sample comprised 630 nodes (cervical, lung, retropharyngeal, bronchial and mediastinal) from 127 slaughtered cattle. The results showed the presence of the BTB disease in herds from the Canton of Loja, with 27.56% of positive cases from cattle emanating from different herds. Higher prevalence was detected in herds from the Sucre, El Valle, San Lucas and Jimbilla parishes. No significant differences in prevalence were perceived between sexes, likewise there was no evidence that race impacted on the prevalence. However, there was an increased susceptibility in animals over 3 years of age highlighting the presence of *Mycobacterium* in apparently normal glands (with 58.06%), without any significant clinical changes, a fact that becomes a highly dangerous factor in a disease which moreover is zoonotic.

Keywords: *Mycobacterium bovis*, BTB, zoonotic, smear, ganglia, prevalence

1. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina (TBB) es una importante zoonosis en todo el mundo, de gran difusión en el ganado bovino en la mayor parte de América del sur. El agente causal es *Mycobacterium bovis*, miembro del complejo *M. tuberculosis*, un grupo que incluye a *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti*, *M. caprae* y *M. pinnipedii* (Aranaz et al., 2003; Barrera, 2007; Cousins et al., 2003, NCBI, 2011); que también es responsable de la enfermedad en otros animales de producción e incluso seres humanos (Zumárraga et al., 1999; Zumárraga et al., 2005).

Los miembros modernos del complejo *M. tuberculosis* parecen haberse originado de un antepasado común, hace alrededor de 15.000 – 35.000 años atrás. Los primeros hallazgos de tuberculosis pulmonar se remontan al antiguo Egipto, mientras que algunas hipótesis sostienen que el género apareció hace cerca de 150 millones de años. En América, antes de la llegada de Cristóbal Colón, demostraron la presencia de *M. tuberculosis* en una momia de la Cultura Nazca (en Perú), también se ha identificado en África, América del Norte y Chile (Daniel T., 2000). Llegando a concluir que la TB es una enfermedad antigua, con una amplia distribución geográfica (Donoghue et al., 2004).

Durante la edad media, por estudios arqueológicos, se tiene evidencias de la existencia de tuberculosis ósea (Daniel T., 2006). La primera información sobre TBB aparece en el escrito de Lucius Junius Moderatus, entre los años 60 y 70 D.C (Baffoni, 1950). Sin embargo, la documentación más antigua de esta infección se llevó a cabo en un fósil de un bisonte extinto (*Vison antiquus*), de 17.000. En 1819 Laennec propuso que la tuberculosis humana y bovina tienen una patología idéntica. En 1882 Koch presentó hallazgos de *Mycobacterium tuberculosis*, y el nombre específico de “*Bacterium tuberculosis*” fue propuesto por Zopf en 1883. *M. bovis* fue aislado por primera

vez alrededor del año 1898 por Theobald Smith, quien diferenció el bacilo tuberculoso humano del bovino por las características de los cultivos y su diferente patogenicidad en animales de experimentación (Mantilla et al., 2008).

En 1901 Koch dio a conocer al Congreso Británico de la Tuberculosis que la TB Bovina era diferente a la TB humana, no se presentaba con mucha frecuencia y la susceptibilidad del hombre no estaba completamente demostrada. En esa época las cepas de hominis fueron reconocidas como causantes de enfermedad pulmonar en el hombre, mientras que las de *M. bovis* responsables de tuberculosis en el ganado y que podían dar lugar a infección extra pulmonar en el hombre, como consecuencia de la ingestión de leche de vacas infectadas. El primer caso bacteriológicamente confirmado de TB pulmonar bovina se describió en 1909, y las investigaciones posteriores concluyeron que entre el 1 y el 3% de los casos de TB pulmonar eran causados por *M. bovis*. (Cosivi et al., 1998).

En 1947, la Organización Mundial de la Salud (OMS) le da prioridad al control de la tuberculosis por el incremento de la distribución a nivel mundial. Con el paso de los años se logró controlar la enfermedad, y los programas de Tuberculosis fueron disueltos en 1977. Con la pandemia del VIH/SIDA en los 80s, se vio el rápido incremento de casos, generando la necesidad del reenfoque en los esfuerzos mundiales por el control, pero con dos limitaciones: a) la con-epidemia de VIH-TB y b) el incremento de la Tuberculosis Multidroga Resistente (TB-MDR) (Murray, 2004; Narain et al., 1992; Raviglione et al., 1995; Raviglione, 2002).

En la actualidad, un pequeño porcentaje de los casos reportados de TB en los seres humanos es causado por *M. bovis*, sin embargo, es un patógeno de importancia económica en los animales salvajes y domésticos a nivel mundial, especialmente en países donde hay poca información disponible sobre la

incidencia de la infección (Thoen et al., 2006). Los métodos de diagnóstico en países de bajos recursos son insuficientes para la identificación del agente causal (Ayele et al., 2004), esto presenta un obstáculo importante para determinar la incidencia de TBB en seres humanos en muchas partes del mundo, dejando un panorama global incompleto (Thoen et al., 2010) .

En América Latina la tuberculosis humana y bovina constituyen un problema de difícil erradicación (López et al., 2006), casi la mitad de los casos se realizan por confirmación bacteriológica, mediante examen microscópico, que es un método rápido y de bajo costo, permitiendo identificar casos pulmonares muy contagiosos, sin embargo no puede diferenciar las especies (de Kantor et al., 2010).

En Ecuador, las únicas publicaciones presentan una prevalencia alta de TBB en bovinos del cantón Mejía, en la provincia de Pichincha, calculada en 7.13% en fincas grandes y una incidencia de 1.70% en las fincas más pequeñas (Proaño-Pérez et al., 2006; Proaño-Pérez et al., 2009).

Por lo tanto, con los antecedentes antes señalados, la ganadería bovina se encuentra afectada por una serie de factores de diferente índole, que disminuyen la eficiencia reproductiva y por ende productiva del hato, sin embargo, el aspecto sanitario cobra importancia cuando no se conoce las causas que afectan la reproducción, en particular cuando son debidas a enfermedades infecciosas e infectocontagiosas que causan de abortos, infertilidad, muertes embrionarias, malformaciones congénitas y nacimientos de terneros poco viables (débiles o muertos).

Las enfermedades más comunes en nuestro medio son: la Tuberculosis bovina, Brucelosis, Leptospirosis, Leucosis bovina y otras infecto contagiosas zoonosicas que se trasmiten al hombre y que a afectan en las distintas etapas de la gestación de los bovinos. En nuestro país como en la provincia

de Loja, se han hecho pocos estudios que determinen la prevalencia del agente Complejo Mycobacterium tuberculoso, causante de abortos en las ganaderías y mucho menos se ha estudiado los factores de riesgo asociados a esta patología.

En el cantón de Loja se ha subestimado el rol de M. bovis en salud pública, debido a que se desconoce cuál es la proporción de casos de tuberculosis bovina producidos por este agente infeccioso. Por ello es esencial diagnosticar la presencia del agente, realizar controles y erradicación de la TBB, así como de otras enfermedades infecto contagiosas que se transmiten al hombre.

En el Ecuador es muy común el consumo y el comercio de productos lácteos y cárnicos sin ningún control, que garantice la inocuidad de los productos, poniendo en riesgo a las personas que manipulan y consumen leche y carne de animales infectados. Las pérdidas económicas generadas por TBB son altas y países libres de tuberculosis importan solamente ganado bovino de aquellos países cuya prevalencia de la enfermedad no representa riesgo sanitario.

La falta de programas permanentes de control, por la prueba de tuberculización, no nos permite conocer y valorar la importancia de su presencia en el ganado bovino, razón por la que se propuso determinar la prevalencia de TBB, a través de su estudio en los tejidos de focalización del Mycobacterium, en reses faenas, provenientes de las ganaderías del cantón Loja. Los ganglios de localización preferente del microorganismo son: Pulmonar, Bronquial, Cervicales, Mediastino, Pulmonares, Retrofaríngeo, y en ellos realizamos la prospección.

Los objetivos planteados en la investigación fueron los siguientes:

- Estudiar la prevalencia de tuberculosis bovina (TBB) en animales faenados en el camal de Loja, en el periodo Noviembre 2014-Julio / 2015.
- Determinar la presencia de (TBB) por procedencia, sexo, raza y edad, de los bovinos faenados en el camal de Loja.
- Establecer las alteraciones anatomopatológicas de los ganglios positivos a tuberculosis.

Se plantearon las siguientes Hipótesis:

- Existe una alta positividad de casos de tuberculosis bovina de los animales procedentes de las parroquias del cantón de Loja, faenados en el camal frigorífico de la ciudad de Loja “CAFRILOSA”.
- Los ganglios pulmonares son los más idóneos para el diagnóstico de tuberculosis bovina.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

La TBB constituye un grave problema mundial de salud animal y un riesgo en la salud pública, provocada por una bacteria llamada *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), que guarda estrecha relación con las bacterias causantes de las tuberculosis humana y aviar. Puede afectar a prácticamente todos los mamíferos, en los que provoca un deterioro del estado general de salud, muy a menudo tos y, a la larga, la muerte. El desarrollo progresivo de lesiones en forma de tubérculos, es decir, masa de consistencia caseosa que se forman en linfónodos y pulmón, pudiendo llegar a afectar cualquier órgano, de casi todas las especies de mamíferos terrestres (Corro 1994)

El nombre de “tuberculosis” proviene de los nódulos, llamados “tubérculos”, que se forman en los ganglios linfáticos del animal afectado (OIE 2011). Los órganos bovinos más afectados son el tracto digestivo, las ubres y los pulmones (Blowey y Weaver 2006).

La TB fue descrita en el año 2000 a.C. y en el transcurso de la historia ha causado grandes estragos entre la población humana y de grandes pérdidas económicas en la ganadería (Garbaccio y otros s.f.).

En 1890 Robert Koch presentó los efectos de la tuberculina aplicada por vía intradérmica en pacientes con tuberculosis, en 1891 Koch describe las reacciones de hipersensibilidad retardada, Escherich describió la reacción local en el sitio de aplicación, a lo que llamó “reacción a la puntura”. En 1903, Nicolás Arthus detalló un fenómeno que radicaba en el endurecimiento y necrosis local después de la aplicación intradérmica repetida de una sustancia extraña, reacción que se debe a la formación y depósito de inmuno complejos con activación del complemento. En 1908 cuando Charles Mantoux provocó

esa reacción ensayando con diferentes diluciones de tuberculina. Pero en 1934 Florence Seibert consiguió una proteína purificada a partir de la "old tuberculina" a la que la llamo PPD (derivado proteínico purificado), preparado a partir de un filtrado bacteriano concentrado y pasado al vapor en un medio sintético (Bofill y otros 1980). En 1951 fue nombrada PPD-S y adoptada por la Organización Mundial de la Salud como tuberculina estándar, la cual se comercializó en Estados Unidos.

En 1958 la OMS aprobó un nuevo derivado proteínico, el PPD RT-23, que se utiliza en el resto del mundo. La prueba cutánea Mantoux de la tuberculina se emplea para uso diagnóstico en pacientes infectados con micobacterias de tuberculosis. En algunos países se recomienda la prueba de tuberculina en relación con la vacunación con BCG, bien para asegurar que sólo las personas con respuesta negativa a la tuberculina son vacunadas o bien como prueba pos-vacunación (Barquero 2009).

En el año 1955 se realizó en el Ecuador la prueba tuberculínica en 11 258 vacunos de algunas provincias de las Sierra y se encontraron 460 (4,08%) reactores positivos y 434 (3,85%) sospechosos. En la provincia del Guayas se efectuaron 28 534 tuberculinizaciones en bovinos, de 1947 a 1958, resultando 509 (1,78%) con reacciones positivas. La tuberculización de los ganados que proveen de leche a Guayaquil es obligatoria, con sacrificio de los animales positivos. Respecto a la infección tuberculosa en otras especies animales, los datos son escasos. En el matadero de Guayaquil se decomisaron 15 (0,04%) cerdos de un total de 36 500 sacrificados en 1958 (García y otros 1963). "En la hoya de Loja se realizaron 150 tuberculinizaciones hembras bovinas mayores de dos años resultando (6%) positivos." (Paccha A. 2012).

No obstante la tuberculosis estuvo presente en el mundo entero, los programas de control prácticamente eliminaron esta enfermedad de los animales domésticos en muchos países. Los países que actualmente se

clasifican como libres de tuberculosis son: Islandia, Dinamarca, Suecia, Noruega, Finlandia, Austria, Luxemburgo, Letonia, Eslovaquia, Lituania, Estonia, República Checa, Canadá, Singapur, Jamaica, Barbados, Israel y EEUU. (Ryan TJ, 2006)

Países con una prevalencia hasta 1%: Australia, Francia, Hungría, Israel, Portugal, República Federal de Alemania, Rumania y Venezuela. Países con 1 a 5% de prevalencia: Italia, Polonia, Suiza.

Países con una prevalencia de 5 a 40%: Argentina, Angola, Chile, Irán, Irlanda, Mozambique, Perú, Rodesia, Siria. En América Central se reporta la infección con índices variables de prevalencia, según el tipo de explotación, manejo y condiciones topográficas y climáticas de la región correspondiente (OIE 2009).

2.2 EL COMPLEJO MYCOBACTERIUM (MTC)

El género *Mycobacterium* comprende más de 120 especies reconocidas, la mayoría oportunistas y patógenas (Tortoli, 2006), responsables de enfermedades como tuberculosis, lepra y úlcera de Buruli, en diferentes hospederos tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo (Durnez et al., 2008). Varias son las micobacterias que tienen fundamental importancia en la salud animal: *Mycobacterium bovis*, cuyo hospedero primario es el ganado bovino; *M. avium* (*M. avium* subsp. *avium*) causante de tuberculosis en aves y patógena de ciertos mamíferos; *M. johnei* (*M. avium* subsp. *paratuberculosis*), agente etiológico de la paratuberculosis (de Kantor, 2007) y *M. caprae* responsable de la TB en cabras (Aranaz et al., 2003).

M. caprae, *M. bovis* y *M. avium* complex (MAC) son patógenos importantes para humanos y animales debido a sus características zoonóticas, además que pueden ser transmitidas por el medio ambiente y la vida silvestre,

representando en todo el mundo un importante problema de salud pública (Biet et al., 2005; Aimé et al., 2011).

Las bacterias que componen el MTC se encuentran dentro del género *Mycobacterium*, que es el único dentro de la familia Mycobacteriaceae, orden Actinomycetales (cuadro 1.) (Barrera, 2007; NCBI, 2011a).

Cuadro 1. Taxonomía y principales huéspedes del complejo *Mycobacterium tuberculosis*.

Taxonomía			
Reino	Bacteria		
Filum	Actinobacteria		
Clase	Actinobacteria		
Subclase	Actinobacteridae		
Orden	Actinomycetales		
Suborden	Corynebacterineae		
Familia	Mycobacteriaceae		
Género	<i>Mycobacterium</i>		
		<i>M. africanum</i>	TB en humanos en África (de Jong et al., 2010).
		<i>M. tuberculosis</i>	TB en humanos
		<i>M. bovis</i>	TB en bovinos y humanos
Especie	<i>M. tuberculosis</i> <i>Complex</i>	<i>M. canettii</i>	TB en humanos menos virulencia que <i>M. tuberculosis</i> (Cataldi & Romano, 2007; Somoskovi et al., 2009)
		<i>M. microti</i>	TB en roedores pequeños (Burthe et al., 2008)
		<i>M. pinnipedii</i>	TB en focas (Cousins et al., 2003)
		<i>M. caprae</i>	TB en cabras (Aranaz et al., 2003)

Los microorganismos del complejo *M. tuberculosis* están relacionados con >99,9% de similitud genética e idénticas secuencias de genes de ARN 16S ribosomal idénticas. Los polimorfismos en genes estructurales, sugieren que el organismo se ha difundido a nivel mundial hace relativamente poco tiempo (en términos evolutivos) (Sreevatsan et al., 1997), pero difieren ampliamente en cuanto a sus tropismos de anfitrión, fenotipos y patogenicidad (Brosch et al., 2002).

Todas las bacterias del MTC puede causar TB en diferentes especies (Good & Duignan, 2011). Varios de los patógenos de este grupo predominan en los seres humanos (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. Canetti*) o infectan roedores (*M. microti*), mientras que otros tienen un amplio rango de hospederos (*M. bovis*, *M. caprae*) (Brosch et al., 2002; Prodinger et al., 2005).

2.2.1 Mycobacterium Bovis

La TBB fue reconocida por primera vez en animales domésticos. *Mycobacterium bovis* es causante de TB en animales de sangre caliente aunque su radio de acción es amplio, incluye la mayoría de las especies de mamíferos (Murray et al., 2007b),

A nivel de genoma, *M. bovis* comparte 99,95% de identidad con *M. tuberculosis* (Garnier et al., 2003), esto se puede observar en distintas características como crecimiento, composición química y potencial de virulencia (Volk et al., 1996). Las enfermedades causadas por las dos micobacterias se tratan de manera diferente ya que la pirazinamida es ineficiente, por la resistencia de la mayoría de las cepas de *M. bovis* (Scorpio & Zhang, 1996).

Debido a que es normalmente un patógeno de ganado vacuno, las infecciones en seres humanos son el resultado de la ingestión de leche o productos lácteos no pasteurizados (Harris et al., 2007), en este caso no suele infectar a los pulmones, sino que produce lesiones principalmente en la médula ósea de la cadera, rodillas, vértebras, y ganglios linfáticos cervicales (Volk et al., 1996). Existen otras rutas de infección como la vía aerógena ganado-humano y humano-humano (LoBue, 2010).

Aunque se considera que el ganado vacuno es el hospedador principal de *M. bovis*, se ha descrito la enfermedad en muchos animales domésticos y

silvestres (OIE, 2004). Este agente infeccioso tiene una de las más amplias gamas de huéspedes de todos los patógenos conocidos y ha sido diagnosticado en todo el mundo (Good & Duignan, 2011). La capacidad de infectar se puede atribuir a las diferentes vías de transmisión (Kaneene & Pfeiffer, 2006).

La susceptibilidad de diferentes especies al complejo *M. tuberculosis* varía en función de la vía de exposición, dosis y virulencia (LoBue et al., 2010). Los seres humanos, primates no humanos y conejillos de indias son muy susceptibles a *M. tuberculosis*; mientras que el ganado vacuno, conejos y gatos a *M. bovis* y resistentes a *M. tuberculosis* (Schmitt et al., 2002). Los caninos y porcinos son susceptibles a ambas especies (Thoen, 2006).

O'Reilly & Daborn (1995) ha citado varios autores que tienen reportes de la enfermedad en el ganado doméstico y silvestre, cabras, cerdos, ovejas, caballos, gatos, perros, ciervos, bisontes, búfalos, tejones, comadreas, hurones liebre, jabalíes, antílopes, camellos, llamas, alpacas, elefantes, primates no humanos. Los carnívoros y carroñeros: zorro, coyote, lobo, tigre, leopardo, guepardo, leopardo de las nieves, lince ibérico, gato montés pueden adquirir TBB en condiciones naturales a través del consumo de cadáveres infectados (Kaneene et al., 2010; Romero et al., 2008; Thoen et al., 2009), además de jabalíes, alces, coyotes, suricatos, rinocerontes negros (Michel et al., 2009) entre otros.

2.2.2 Morfología y Caracterización

M. bovis es un bacilo aerobio intracelular obligado, pero se ha mostrado que sobreviven en el medio ambiente, fuera de un huésped por largos períodos de tiempo bajo condiciones favorables (Fine et al., 2011; Williams & Hoy, 1930), generalmente se presentan rectos, pero a veces se doblan en forma de club, cuando se tiñen a menudo aparecen cuentas de aspecto granular (Volk et al.,

1996), no forman esporas y son inmóviles, su tamaño se encuentra entre 0,6 - 1,0 x 1,0 - 10 μm , su forma es un tanto pleomórfica y pueden desarrollar ramificaciones o filamentos, sin embargo en comparación con los actinomicetos, se fragmentan a la mínima alteración impidiendo la formación de un micelo auténtico (Madigan et al., 2009).

El crecimiento en medios de cultivo es lento y requiere de 2 a 8 semanas para desarrollar colonias visibles. La tuberculosis bovina tiene como protagonista al *Mycobacterium bovis*, parásito intracelular obligado, principal agente causal de la enfermedad en los mamíferos (Garbaccio y otros s.f.).

El bacilo humano y el bovino difieren en cuanto al pH óptimo que precisan para su multiplicación. Las cepas humanas crecen mejor en medios ajustados a pH de 7,4 – 8,0, mientras que las bovinas se desarrollan mejor a 5,8 – 6,9; las cepas aviares prefieren una alcalinidad media (Rodríguez 2010)."

Son muy resistentes a influjos ambientales, permanecen vivos hasta 13 días en las heces bovinas en los pastos, y en el estiércol desecado en establos oscuros hasta 100 o incluso 150 días; a la luz solar mueren en 5 horas, a luz difusa de 5 a 7 días, pero solo tras 30 a 40 días si están incluidas en mucosidad pulmonar. En la leche permanecen vivas 15 días a pesar del ácido láctico y mueren solo tras calentamiento a 65°C durante 30 minutos (Gibbons 1983); en mantequilla dulce viven 4 semanas, pero en la ácida y muy salada (4 - 6% NaCl) mueren a los 10 días. En quesos duros, cuya maduración requiera de 4 –5 meses no se hallan bacilos vivos de la tuberculosis. El enfriamiento a 1 – 8°C bajo cero no los mata ni en 120 días, y desecado al vacío pueden durar a la temperatura del congelado hasta 18 años (Rodríguez 2010); es sensible a formalina, ácido cresolsulfónico, sosa cáustica al 2% y desinfectantes clorados al 3 o 4%. La antiformina no afecta a la Bacilo tuberculoso., incluso en soluciones al 50%, mientras que otras bacterias son

disueltas ya mediante una concentración del 15% o incluso menos. La Btb. muestra una resistencia semejante frente al ácido sulfúrico (Gibbons 1983)."

"**La envoltura celular** del bacilo tuberculoso es compleja y diversa compuesta de proteínas entremezcladas en una matriz peptidoglicano ácidos micólicos, arabinogalactano, lípidos y carbohidratos (Wolfe et al., 2010). Se encuentra adaptada para proveer protección, soporte y posee mecanismos que permiten el intercambio de sustancias con el medio ambiente (Agustí, 2009; Barrera, 2007), permitiéndole no sólo la capacidad de sobrevivir dentro del hospedador, sino que puede multiplicarse en un medio hostil como el macrófago (Dinayala et al., 2008). Producen una gran diversidad de lípidos (Brennan & Nikaido, 1995) como los ácidos micólicos, que son ácidos grasos excepcionalmente largos, que representan del 30-40% de la masa de la envoltura celular (Rastogi et al., 2001), esta característica distingue a las especies del género *Mycobacterium* de otras procariontas, se compone de tres segmentos principales: la membrana plasmática, la pared celular y la membrana externa (Fig. № 1) (Kaur et al., 2009).

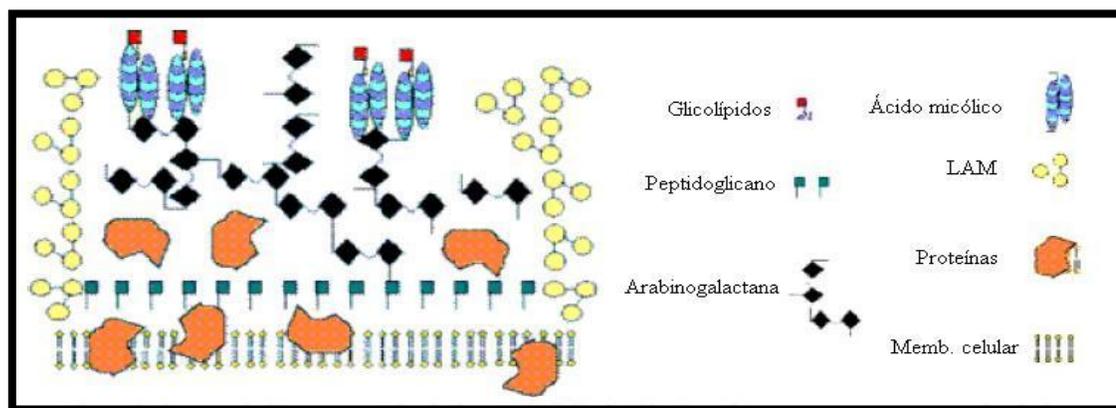


Figura 1. Representación esquemática de la pared celular de *M. tuberculosis*, la bacteria está envuelta dentro de una bicapa lipídica típica de la membrana citoplasmática que permanece debajo del peptidoglicano rígido (PG). cierto número de proteínas se encuentra en asociación con PG y algunas de ellas pueden ser inmunológicas. 9. (Draper P. 1998).

Recientemente, mediante crio-microscopía electrónica (CET), se demostró que los lípidos de la pared celular de mico bacterias forman una **membrana**

externa (MO) inusual, de aproximadamente 8 nm de espesor morfológicamente simétrica a pesar de la presencia de cantidades considerables de ácidos micólicos, con sus cadenas de hidrocarburos inherentemente asimétricas (Hoffmann et al., 2008; Niederweis et al., 2010; Zuber et al., 2008). Se encuentra formada por muchos componentes como: fosfatidil- inositol manosidasa (PIM), lipomanano (LM) y lipoarabinomanano (LAM), que en particular se presentan en grandes cantidades (Pitarque et al., 2008).

La pared celular, estructuralmente, se compone de un núcleo interno de ácidos micólicos- arabinogalactano- peptidoglicano (MAGP) (Lemassu & Daffé, 1998; Crick et al., 2001). Además de los lípidos e hidratos de carbono unidos covalentemente, es bien conocido que las moléculas libres, lipoglicanos y fosfatidil-inositol, que residen en el núcleo exterior, juegan un papel clave en la modulación de la respuesta inmunitaria (Briken et al., 2004). Numerosas proteínas se han asociado a la pared celular, incluyendo a lipoproteínas y lipoglicoproteínas (Neyrolles et al., 2001) pero muchas todavía tienen una función desconocida (Wolfe et al., 2010). La inusual estructura de la pared celular de micobacterias confiere impermeabilidad a las pequeñas moléculas que incluyen los nutrientes antibióticos (Nikaido & Jarlier, 1991).

La membrana citoplasmática (MC) tiene características biológicas y bioquímicas similares a cualquier membrana, aunque en las micobacterias los derivados de los fosfolípidos se caracterizan por estar altamente glicosilados dando lugar a moléculas como el LAM, que tienen un papel fundamental en la patogénesis de la tuberculosis (Brennan, 1989; Gorocica et al., 2005).

2.3 EPIDEMIOLOGÍA

2.3.1 Tuberculosis Bovina en Seres Humanos

2.3.1.1 A nivel mundial

El segundo agente causal de Tb, más común en personas, es *M. bovis* (Peres et al., 2008), sin embargo los datos son incompletos y dispersos respecto a su importancia en la TB humana (Abalos & Retamal, 2004), pero se sabe que la incidencia de TBB es heterogénea en todo el mundo (Etchechoury et al., 2010).

A nivel mundial en el 2009, se estimó 9,4 millones de casos incidentes de tuberculosis, con una prevalencia de 14 millones. Además, se presentó que alrededor 1,7 millones de personas murieron con Tb, de los cuales 456000 eran VIH-positivas (OMS, 2010) Se estima que aproximadamente un 3.1% de los casos mundiales de Tb en humanos, 2.1 % pulmonar y 9.4% extrapulmonar, son causados por *M. bovis* (Cosivi et al., 1998; Grange & Yates, 1994). Otros indican que dependiendo de la zona, varía su incidencia, es así que en países desarrollados representa alrededor del 1% de todos los casos (Hlavsa et al., 2008), ya sea por reactivación en personas mayores o inmigrantes de países donde la TBB no ha sido erradicada (de la Rúa-Domenech, 2006). Al contrario en países en vías de desarrollo se cree que es causante de hasta 10% de los casos (Cousins et al., 1999).

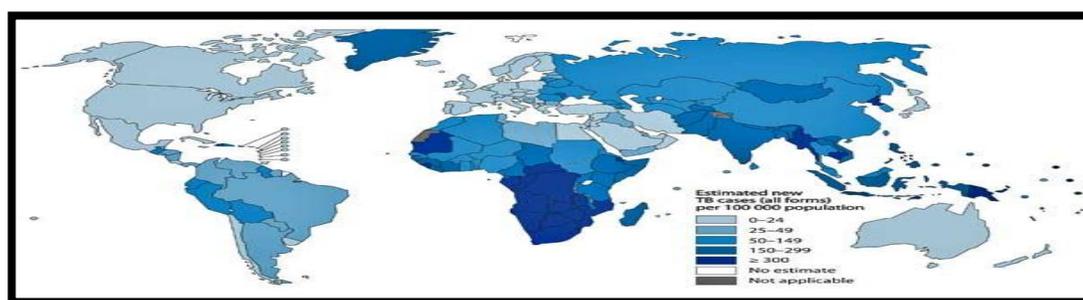


Figura 2. Tasa de incidencia estimada de tuberculosis 2011 (OMS 2010)

2.3.1.2 Para América Latina

En la mayoría de los países de América Latina y el Caribe, la leche es pasteurizada, pero el control de calidad no siempre es adecuado lo que significa que una parte de la población sigue consumiendo leche sin pasteurizar. Además la infección de TBB en el ganado sigue siendo frecuente en varios países, y las tasas de incidencia de la tuberculosis humana son relativamente altas (Ritacco et al., 2006), cabe destacar que en esta zona el diagnóstico se realiza por confirmación bacteriológica, por ser rápido de bajo costo y muy específicos, pero la diferenciación entre *M. bovis* y *M. tuberculosis* no se considera una prioridad de salud pública, ya que el tratamiento estándar es efectivo para los dos agentes (de Kantor et al., 2010). Sin embargo se estima que el 2% de los casos de tuberculosis pulmonar y 8% de extra pulmonar son causados por *M. bovis* (Rivera & Giménez, 2010). Durante los últimos 10 años no se ha emitido informes de casos positivos de TBB en Bolivia, Chile, Cuba, Panamá y Perú (de Kantor et al., 2010). En una región principalmente de Argentina, varios estudios, han demostrado una incidencia que oscila entre el 0,7 al 6,2% (Cataldi & Romano, 2007). En México, (Pérez et al., 2008) encontró que 13,8% de 74 aislamientos en pacientes con TB, el agente causal fue *M. bovis*.

2.3.1.3 En Ecuador

Para el año 2011 según el Ministerio de Salud pública se reportó los datos de TB totales, por provincia, que se pueden observar en la tabla siguiente. Sin embargo por la falta de estudios y de identificación del patógeno se estima que la incidencia se encuentra relacionada con el resto de países de la zona. Destacando que el periodo de 1998-2005, en base a su crecimiento y/o características morfológicas se aisló 2 cepas de *M. bovis*, en dos niños con TB extra pulmonar, sospechando que la ruta de transmisión fue la ingestión de los microorganismos (de Kantorey et al., 2007)

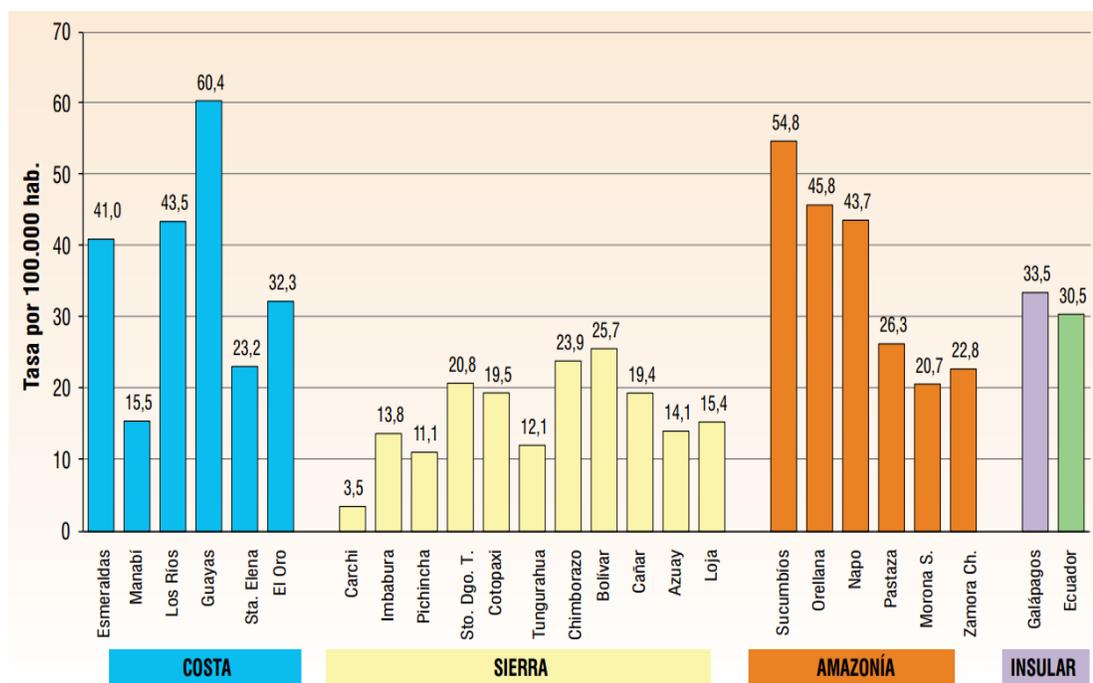


Figura 3. Programa Nacional Control de la Tuberculosis MSP; 2010 Tasa de incidencia de tuberculosis total y Pulmonar, Baciloscopia positiva por Provincias, Ecuador 2009.

2.3.2 Tuberculosis Bovina en Ganado Bovino

2.3.2.1 A nivel mundial

En los países industrializados, la TBB en animales está erradicada o se encuentra en una fase avanzada de control, mientras que en varios países en desarrollo la situación no ha mejorado o la prevalencia se encuentra en aumento (Acha & Szyfres, 2001).

Si bien la tuberculosis bovina algunas vez estuvo presente en el mundo entero, existen países declarados, en la actualidad, libres de TBB como Australia, Islandia, Dinamarca, Suecia, Noruega, Finlandia, Austria, Suiza, Luxemburgo, Letonia, Eslovaquia, Lituania, Estonia, República Checa, Canadá, Singapur, Jamaica, Barbados e Israel (CFSPH, 2009).

Para el período de enero- junio del 2010, la Organización Mundial de Sanidad Animal determinó la distribución mundial de TBB en el ganado bovino, en donde se pudo diferenciar países con infección/infestación como Ecuador, Ucrania y Mongolia (en rojo) y otros que nunca se ha señalado como las islas Filipinas.

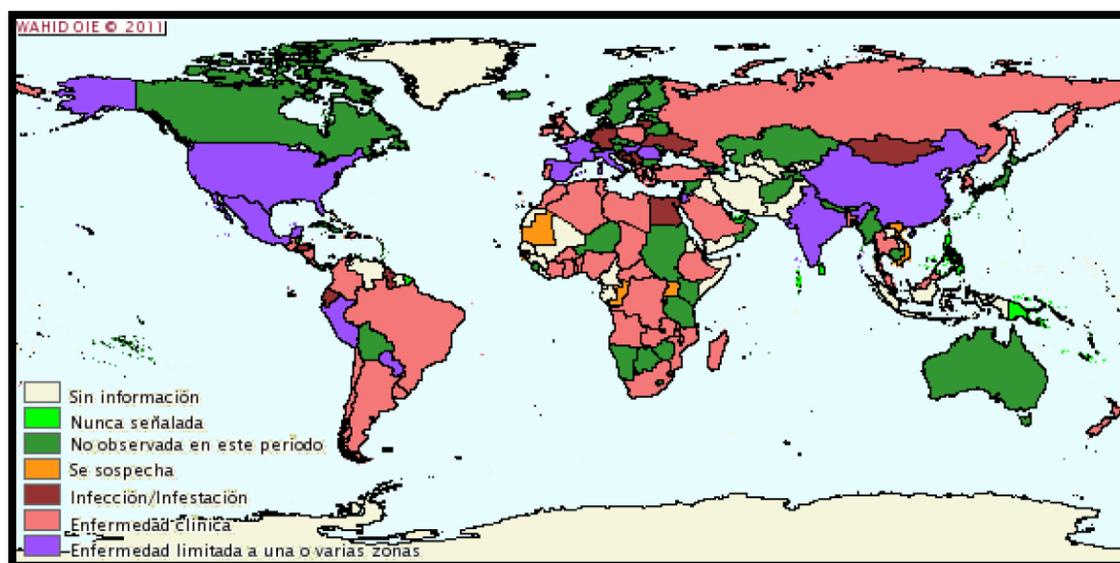


Figura 4. Mapa de distribución de enfermedades enero- junio 2010, Tuberculosis Bovina (OIE,2011)

2.3.2.2 Para américa latina

De los aproximadamente de los 374 millones de bovinos en América Latina y el Caribe, el 70% se localiza en las zonas donde las tasas infección por *M. bovis* en el ganado son superiores al 1%. El restante 30%, se encuentra en países donde la enfermedad afecta a menos del 1%, incluyendo 62 millones, en lugares donde la infección por tuberculosis bovina no está presente (de Kantor & Ritacco, 2006). De acuerdo con la prueba retardada de tuberculosis, existen regiones con muy baja o nula prevalencia, como algunas islas del Caribe; de prevalencia media, como México y con alta prevalencia como Brasil o Argentina. Estimaciones de prevalencia de TBB en Latinoamérica. En base a la positividad al PPD en bovinos (López et al 2006)

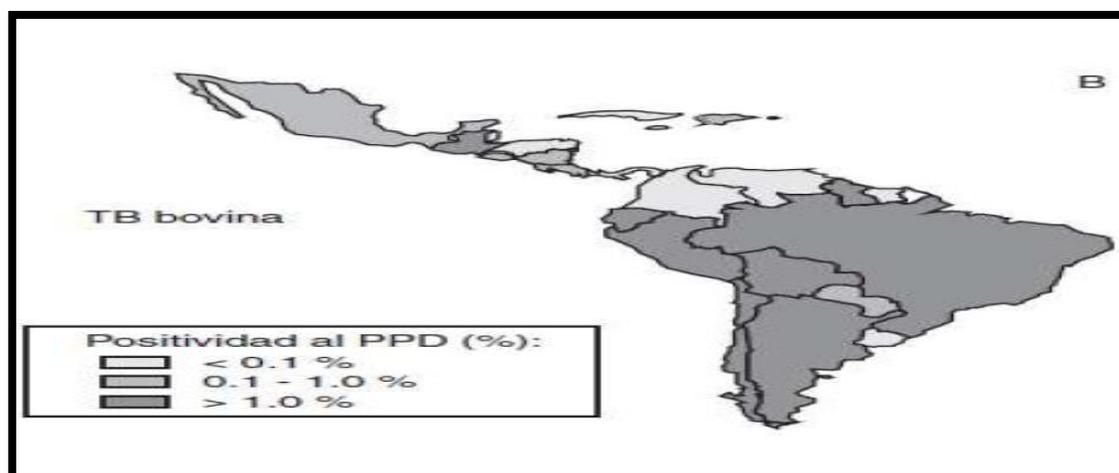


Figura 5. Estimaciones de prevalencia de TBB en Latinoamérica. En base a la positividad al PPD en bovinos (Lopez et al., 2006). (de Kantor & Ritacco, 2006; OIE, 2004), en los que se ha reportado tasas nacionales TBB de entre 0.4-0,9% (Torres2009)

2.3.2.3 En Ecuador

La prevalencia nacional de TBB es desconocida (Proaño-Pérez, 2011), pero se ha reportado al Ecuador dentro de un grupo de países de América Latina que tiene una prevalencia relativamente alta (de Kantor & Ritacco, 2006; de Kantor et al., 2007), los casos no están bien documentados ni cuantificados, por varias razones: como la falta de un adecuado registro de animales positivos, el uso limitado de pruebas diagnósticas, pero sobre todo porque no es una enfermedad de declaración obligatoria (Proaño-Pérez et al., 2011). Existen varios reportes publicados, (Proaño-Pérez et al., 2006) en un estudio realizado en el cantón Mejía encontró una prevalencia de 7,95% en hatos grandes, 4,24% en medianos y 0,3 en pequeños; posteriormente llevó a cabo una investigación más detallada en la misma región en los años 2007 y 2008, calculando una prevalencia en hatos grandes de 8,63% y 8,43%, respectivamente, además de una incidencia del 1,70% (Proaño-Pérez et al., 2009). A nivel de mataderos se identificó en la misma zona 2,3% y 2,4% de prevalencia entre 2007 y 2008, respectivamente (Proaño-Pérez et al., 2011a)

Además existen reporte, mediante pruebas de tuberculina simples y comparativa (Proaño-Pérez., 2011) En la provincia de Tungurahua, (Acosta & Parreño 1977) encontraron una prevalencia baja (0,33%), un estudio posterior en 2003 en la misma zona mostro una diferencia incrementando a 1,2% (Alemán et al., 2003). Mientras que la provincia de Pichincha, específicamente en el cantón Cayambe, se encontró una prevalencia de 2,81% (Acosta & Parreño, 1977), y posteriormente varió a 0,4%. (Salazar & Parreño, 2002).

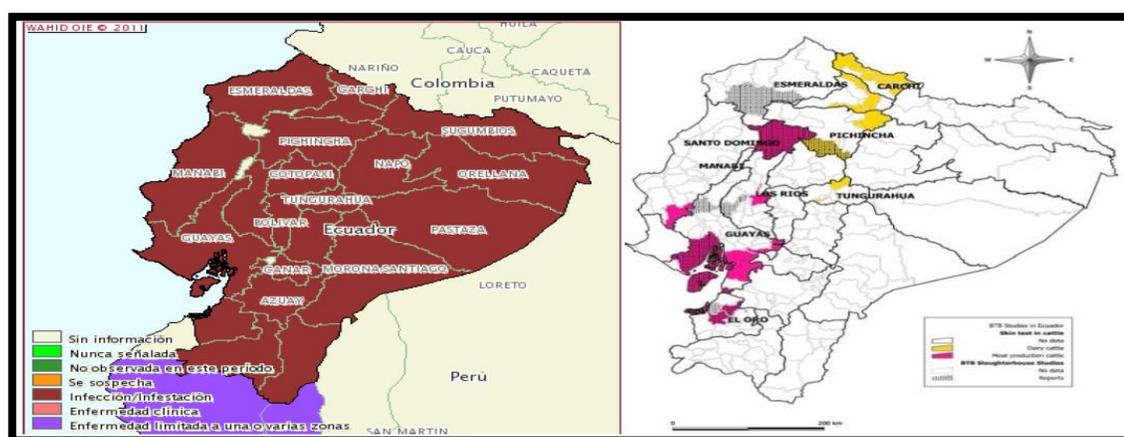


Figura 6. a) Mapa de distribución de Enfermedades, Tuberculosis Bovina, Ecuador (OIE, 2011); b) Estudio llevados a cabo mediante pruebas de tuberculina e inspecciones veterinarias para determinar la prevalencia de la tuberculosis bovina, Ecuador, 1972- 2008 (Proaño-Pérez et al., 2011)

Autor	Año	Localización		Prueba usada	Tamaño de hato ^a	No. Cabezas	Positivos / No. Animales	(%)
		Provincia	Cantón					
Acosta & Parreño	1977	Tungurahua	Píllaro	SITT ^b & CITT ^c	NA ^d	20	7 / 2 132	0.18
Salazar & Cevallos	2002	Pichincha	Cayambe	SITT & CITT	NA	26	14 / 3 006	0.47
Alemán <i>et al.</i>	2003	Tungurahua	Píllaro, Mocha	SITT & CITT	NA	24	49 / 4 012	1.22
Proaño-Pérez <i>et al.</i>	2006	Pichincha	Mejía	SITT & CITT	large	15	26 / 327	7.95
Proaño-Pérez <i>et al.</i>	2007	Pichincha	Mejía	CITT	large	13	142 / 1 644	8.63
Proaño-Pérez <i>et al.</i>	2008	Pichincha	Mejía	CITT	large	13	122 / 1 446	8.43

^a, > 70 bovinos; ^b, Prueba simple de tuberculina; ^c, Prueba comparative de tuberculina; ^d, no disponible.

Cuadro 2 . Prevalencia de la tuberculosis bovina en el ganado lechero, según estudios disponibles (Proaño Pérez et al. 2011b) "

2.4 FACTORES DE SUSCEPTIBILIDAD

La influencia de la raza, no se ha determinado con certeza; de todas maneras, el que la enfermedad se presente con especial frecuencia en determinadas razas depende del modo de explotación y vida de estos bovinos, por ejemplo los bovinos de razas grises de las estepas enferman proporcionalmente en relación a los de raza de color; cuando se estabula, es mucho más rara en becerros de razas de color que viven en prados y en montañas que en los estabulados (Ramos y et al., 2004).

En cuanto al sexo, va unido al modo de explotación del bovinos ya que es muy frecuente en vacas de las cuales rara vez no reaccionan a la tuberculina (de 70 a 80% más en granjas lecheras); en cambio en los bueyes y sobre todo en los toros que suelen alcanzar menos edad, el número de casos es menor (Ramos y et al., 2004).

Con la edad, aumenta poco a poco la frecuencia de las enfermedades tuberculosas, pero continuamente en bovinos. La mitad de los casos de tuberculosis descubiertos por la prueba tuberculina pos-mortem en el matadero, pasan de los 6 años; este hecho, a pesar de la receptibilidad del organismo juvenil, se debe a que los animales están expuestos a contagios más frecuentes y persistentes conforme van teniendo más edad (Ramos y et al., 2004).

2.5 PATOGENIA

“Las micro bacterias patógenas son parásitos intracelulares facultativos. *M. tuberculosis* y *M. bovis* se mantienen vivos en la naturaleza mediante la transmisión de un hospedador a otro (de Kantor, 2007) y son capaces de producir tanto una enfermedad progresiva como una infección latente (Parrish et al., 1998). El bacilo tuberculoso penetra en el organismo principalmente por

vía aerógena, 80-90% de los casos, aunque no se descartan la vía entérica, por ejemplo en terneros amamantados con leche infectada, debido a que del 1-2% de las vacas con TBB elimina el bacilo al desarrollar mastitis (Acha & Szyfres, NCBI, 2001b), o por el consumo de alimentos, pastos o agua contaminada con secreciones nasales, heces u orina que posea el patógeno, ya que se ha demostrado que *M. bovis* persiste por periodos largos de tiempo en el suelo, agua y maíz. (Fine et al., 2011).

La transmisión de *M. bovis* entre el ganado depende de una serie de factores, entre los que se encuentra la frecuencia de excreción, Vía de infección, dosis infecciosa, periodo de transmisibilidad del huésped (Good & Duignan, 2011). Por contaminación es posible solo si se presenta una serie de condiciones muy específicas, además algunos estudios ha demostrado que en etapas tempranas la transmisión entre animales es poco probable (Griffin & Dolan, 1995).

El pulmón es la principal puerta de entrada del bacilo, que causa una infección localizada en el sitio donde se depositan después de la inhalación (Kritski & Fluza, 2007), en la mayoría de los casos (90) debido a una respuesta inmune eficiente no se desarrolla la enfermedad durante toda la vida, sin embargo, el riesgo de desarrollo aumenta cuando existen algunas alteraciones del sistema inmunológico (Parrish et al., 1998; Hernández-Prado et al., 2007); si no puede ser contenida en el plano local, la difucion de los bacilos se produce inicialmente por la ruta hematógena, Hacia diferentes órganos (Kritski & Fluza, 2007).

Incluso después de controlar con éxito la TB primaria, algunos bacilos permanecen en un estado no-replicante o lentamente-replicante para el resto de la vida del individuo, esta etapa es asintomática y la enfermedad surge como consecuencia de la reactivación de las bacterias (Parrish et al., 1998)

2.6 MECANISMO DE INFECCIÓN DE M. BOVIS

Estudios clásicos en animales sugieren que existen varias etapas en la infección de los bacilos tuberculosos en el huésped (Lurie, 1964; Gillespie, 2006).

Primera etapa, una vez inhalados, la mayoría de los patógenos se encuentran atrapados en la mucosa de las vías superiores del tracto respiratorio, las partículas o micro-gotas menores de 5 μm llegan a las vías respiratorias inferiores, especialmente en el interior de los alvéolos, donde son fácilmente fagocitados por los macrófagos alveolares, si la respuesta inmune es completamente eficaz, causará la eliminación del agente patógeno por acción fagocítica (Kritski & Fiuza, 2007). Por el contrario, si los mecanismos no son eficientes, el agente infeccioso puede sobrevivir en el pulmón. Una vez dentro del macrófago, la micobacteria tiene la capacidad de sobrevivir y replicarse, inhibiendo la acidificación al impedir la unión fagosoma con el lisosoma gracias a lípidos de la envoltura como LAM y PIM, que impiden su maduración (Vergue et al., 2004), no obstante puede fusionarse a otras vesículas intracelulares para facilitar el acceso del patógeno a nutrientes y al proceso de replicación intravacuolar. (Murray et al., 2007a). Además el bacilo tuberculoso tiene la capacidad de impedir la activación de macrófagos por IFN- γ e IL- 12, provocando que el Huésped sea susceptible (Alcais et al., 2005).

Segunda etapa, durante los días o semanas siguientes, hay un crecimiento logarítmico de los bacilos dentro de los macrófagos, que son destruidos liberando micobacterias en el medio extracelular (Palmieri, 2001), una característica de esta etapa es la formación de células gigantes multinucleadas a partir de macrófagos fusionados (Murray et al., 2007a). Por otra parte se inicia un reclutamiento celular, ya que los monocitos sanguíneos y otras células inmunitarias son atraídos al sitio de la infección debido a que

pueden diferenciar a los macrófagos que no son capaces de destruir al bacilo (Gillespie, 2006).

El estado de crecimiento sin oposición, de los bacilos, finaliza cuando aparecen los macrófagos activados, respaldados por dos mecanismos inmunitarios: la inmunidad mediada por células (IMC) y la hipersensibilidad retardada (HR) (Palmier, 2001).

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y las quimiocinas inflamatorias, producidas por macrófagos infectados, reclutan células blancas de la sangre (Kritski & Fiuza, 2007). Dos líneas de linfocitos (los CD4+ relacionados con la IMC y los CD8 ligados a la HR) comienzan eliminando los macrófagos no activados, lo que crea áreas de necrosis caseosa donde los bacilos ya no pueden multiplicarse como lo hacían en los macrófagos, aunque pueden sobrevivir en estado latente (Prescot et al., 1999). Las células reclutadas producen su propio complemento de quimiocinas y citoquinas que amplifican el reclutamiento celular provocando, una masa celular llamada tubérculo o granuloma, el cual inicialmente se compone de un núcleo de macrófagos infectados, rodeados de macrófagos espumosos, con una capa exterior de linfocitos rodeados de colágeno y otros componentes de la matriz extracelular (Kritski & Fiuza, 2007).

Tercera etapa, en esta etapa se inactiva, o bien, las células inmunes no logran controlar la multiplicación de las micobacterias (Gillespie, 2006). La licuefacción de áreas de necrosis caseosa puede producirse después de la infección primaria o un largo período de quiescencia. Como el caseum hidrolizado es un mejor medio para el desarrollo de los bacilos, se puede producir una proliferación extracelular intensa sin oposición inmunitaria (Palmieri, 2001).

2.7 LESIONES ANATOMOPATOLÓGICAS

La TBB se caracteriza por la formación de granulomas (tubérculos) donde se sitúan las bacterias (OIE 2009). Las lesiones pueden variar y localizarse en diferentes órganos y ganglios linfáticos en forma de nódulos o tubérculos, con material purulento caseoso de color amarillento, cuyo tamaño y cantidad es variable. Los hallazgos pulmonares, generalmente son áreas de tamaño considerable con presencia de caseificación con zonas de mineralización. En las superficies serosas así como en las cápsulas de los órganos se notan nódulos informes de superficie lisa que van de los 2 a los 10 cm de diámetro. En otros suelen presentarse zonas caseificadas en áreas profundas como en la TBC perlada (Mantilla y otros 2008).

En el ganado bovino, los tubérculos se encuentran en los ganglios linfáticos, particularmente los que se encuentran en la cabeza y el tórax. También son frecuentes en los pulmones, bazo, hígado y las superficies de las cavidades corporales. En casos aislados, se pueden hallar múltiples granulomas pequeños en diversos órganos. Las lesiones a veces aparecen en los genitales de la hembra, pero son poco frecuentes en los genitales del macho (OIE 2008).

2.8 ALTERACIONES QUE OCURREN EN LOS GANGLIOS LINFÁTICOS

a) Trastornos en el crecimiento celular: aplasia, hipoplasia, atrofia, hiperplasia (de esta, la última tiene más significado sanitario ya - que sucede en cualquier proceso infeccioso de tejidos u órganos circunvecinos al ganglio o en el mismo).

b) Procesos involucrados con el depósito de diversas sustancias: grasa, eritrocitos, polvo de carbón (antracosis) pigmentación biliar, pigmentación sanguínea, melanina, gas (enfisema).

c) Inflamación de los ganglios (Linfadenitis): serosa, supurativa, caseosa, fibrosa, hemorrágica, gangrenosa.

D) Neoplasias linfoides: son comunes los tumores primarios (linfosarcomas), los ganglios linfáticos pueden llegar a ser excepcionalmente prominentes en el animal vivo, muestran generalmente cierto grado de dilatación de consistencia blanda, grisáceo, pulposo y jugoso. (Runnells., w.s Monlux 1975)

2.9 DIAGNÓSTICO

Como no se puede diferenciar la infección humana por la *M. tuberculosis* de la causada por *M. bovis* sobre la base de criterio clínico o radiológicos, la única manera de acertar el diagnóstico es por aislamiento y tipificación del agente etiológico (Acha & Szyfres, 2001).

En el ganado vacuno no hay evidencia clínica de TB hasta que se han desarrollado lesiones muy extensas. Por esta razón, no fueron posible ni su diagnóstico en animales individuales ni un programa de erradicación antes del desarrollo de la tuberculina por Koch en 1990 (OIE, 2008) .La prueba intradérmica es el principal método utilizado para detectar TB en el ganado bovino, aunque es la más utilizada para el diagnóstico de *M. bovis*, poco se sabe acerca de la calidad, cantidad relativa e identidad de las proteínas que compone el derivado proteico purificado (PPD) de tuberculina (Rennie et al.,2010) .Sin embargo es importante centrarse también en la contribución de una inspección eficiente de carcasas, junto con datos exactos y a tiempo, con el apoyo del diagnóstico bacteriológico avanzado con técnicas fundamentadas en el análisis de ADN, como tipificación de cepas ,que pueden contribuir a la erradicación de esta zoonosis (Collins, 2006)

2.9.1 Macroscópica

En cualquiera de las formas que se presente la tuberculosis se caracteriza por la formación de granulomas. Un diagnóstico tentativo se puede hacer a través de la búsqueda de lesiones macroscópicas típicas a nivel del matadero, en los países en desarrollo es un procedimiento de rutina (Corner, 1994).

Con el fin de identificar las lesiones macroscópicas compatibles con TBB, se debe realizar un examen detallado pos-mortem, pueden variar dependiendo de la localización anatómica y forma de diseminación. En estudios realizados en Ecuador durante la inspección veterinaria a nivel de matadero se encontró que las lesiones causadas por *M. bovis* se presenta principalmente en nódulos linfáticos mediastinos traqueo-broqueles, hepáticos y retro-faríngeos, demostrando que la ruta más importante de transmisión dentro del ganado bovino es por el tracto respiratorio (Proaño-Pérez et al., 2011a).



Figura 7. Tubérculos encontrados en la región torácica después de la inspección veterinaria post-mortem (Foto: Freddy Proaño-Pérez, 2011)

2.9.2 Microscópica

Una de las pruebas de mayor éxito para el diagnóstico de la enfermedad causada por micobacterias, es la exanimación microscópica directa de las bacterias ácido-alcohol resistentes. A pesar de que requiere personal con experiencia en el frotis y en la lectura tiene la ventaja de ser rápida. Para los

laboratorios en los países en desarrollo, puede ser el único examen de diagnóstico disponible (Gillespie, 2006) Existen dos métodos de tinción principales: Ziehl-Neelsen y técnicas relacionadas con fluorocromo que usan auramina (George P. Kubica (1979)).

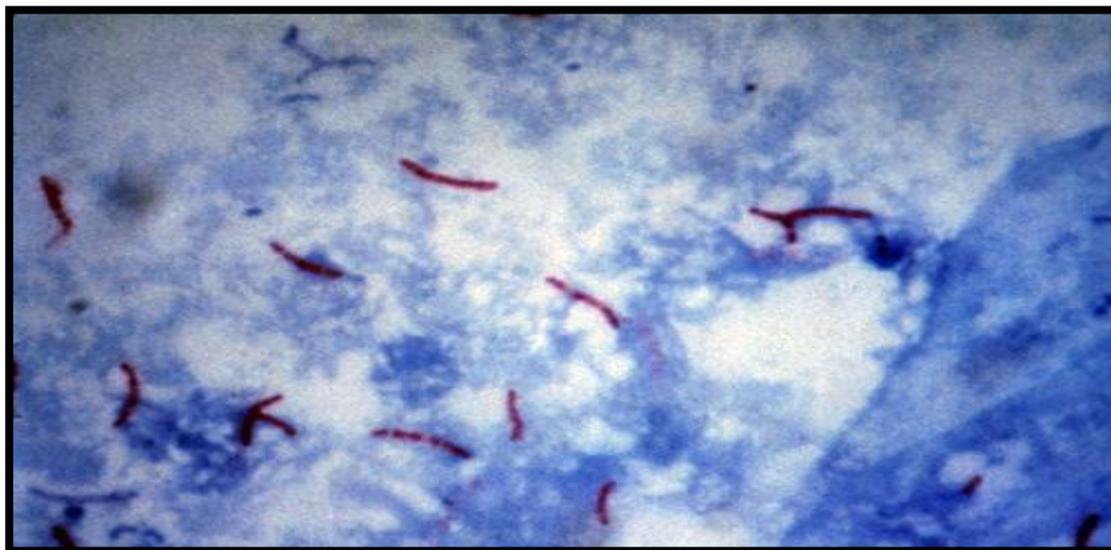


Figura 8. TB. reveló con una tinción especial específico para Mycobacterium, ácido-rápida tinción de Ziehl-Neelsen; Magnificada 1000X. Imagen cortesía de: Fuente CDC / Dr. George P. Kubica (1979).

2.10 SINTOMATOLOGÍA

La TBB presenta un proceso lento y por lo general sin signos clínicos por largo tiempo; incluso cierto número de animales pueden pasar toda su vida útil sin sintomatología evidente, pero constituyendo una amenaza potencial para el resto del rebaño (Acha & Szyfres et al., 2001).

La extensión de la enfermedad está a menudo relacionada con la virulencia del organismo, vía de infección, etapa de infección, y varios factores relacionados con el huésped. Es así, que se puede encontrar lesiones en diferentes órganos pero más en la región torácica (Whipple et al., 1996); cuando se encuentran en el parénquima de los pulmones, puede presentarse una bronconeumonía, disnea (dificultad para respirar), adelgazamiento, y una

capa de pelo, áspero son evidentes en los casos graves. En algunos casos en los que existe una TB generalizada, las lesiones han sido reportadas en el tracto genital. Es importante destacar que los signos clínicos se presentan en raras ocasiones en animales silvestres, domésticos o en cautiverio (Beran & Steele et al, 1994).

El diagnóstico diferencial, incluye pleuroneumonía contagiosa bovina, neumonía por *Pasteurella* o *Corynebacterium pyogenes*, neumonía por aspiración (que en general es secundaria a la enfermedad devastadora crónica en ciervos), pericarditis traumática, linfadenitis caseosa o melioidosis en rumiantes pequeños e infección crónica atípica por *fasciola hepática*. (U.K. DEFRA et al., 2003).

2.1. TRATAMIENTO

Si bien existen antibióticos y quimioterapéuticos activos contra el *M. bovis* (al igual que contra *M. tuberculosis*), no se recomienda efectuar el tratamiento en bovinos u otros mamíferos con diagnóstico de TB, especialmente por costos, disponibilidad de la droga, organización y dificultad de fijar criterios confiables (de Kantor et al., 2007).

2.12. TRABAJOS RELACIONADOS

- Echeverría. G. (2011). Determinación de la prevalencia de tuberculosis bovina (TBB) mediante la aplicación de nested-pcr en bovinos faenados en los camales municipales de los cantones Cayambe (Pichincha) y Pelileo (Tungurahua)
- Paccha. A. (2012). Diagnóstico de tuberculosis bovina, por medio de la prueba cervical comparativa en hembras bovinas de la hoya de Loja

- Quinatoa. I. Chicaiza. J. (2013). Análisis de factores de riesgo y determinación de la prevalencia de tuberculosis bovina utilizando técnicas estadísticas bayesianas en la provincia de Cotopaxi, Carchi e Imbabura.

- Román. F. (2014) Prospección de tuberculosis en ganaderías lecheras y en bovinos faenados del cantón Loja

- Roa, E. (20015). Estudio de la prevalencia de tuberculosis bovina del cantón Loja.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materiales de Oficina

- Escritorio
- Computadora
- Memory flash
- Impresora
- Registros
- Bolígrafos
- Marcadores indelebles

3.1.2 Materiales de Campo

- 630 ganglios extraídos de 127 Bovinos faenadas en el camal Frigorífico de Loja “CAFRILOSA”
- Overol
- Casco
- Botas
- Mascarilla
- Gafas
- Cofia
- Guantes
- Porta bisturís
- Bisturís
- Fundas (Whirl-Pak)
- Termo Culer
- Bolsas de hielo
- Pinza

- Alcohol
- Torundas
- Libreta de campo
- Registros

3.1.3 Materiales de Laboratorio

- Batas (blanca y una desechable)
- Gafas protectoras
- Mandil desechable
- Mascarillas
- Guantes de látex
- Microscopio
- Tubos Ependorf
- Cajas criogénicas
- Portaobjetos
- Frascos color ámbar
- Soporte para los portaobjetos
- Un mechero de alcohol
- Marcador de tinta indeleble
- Papel filtro
- Pañuelos desechables
- Pinza
- Tijeras
- Alcohol industrial
- Hisopos
- Basurero con una bolsa de color rojo
- Aceite de inmersión
- Etanol al 70%
- Soluciones antisépticas: fenol al 5% hipoclorito de sodio al 1%

3.2 METODOS

3.2.1 Ubicación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el cantón Loja, situado en el sur occidente de la Provincia de Loja. Posee un clima templado andino, una humedad relativa del 75%/año, temperatura media de 17°C (máxima de 23°C y mínima de 15,7°C). Tiene una precipitación pluvial de promedio de 900,9 mm/año; además cuenta con una topografía irregular. El cantón Loja tiene una superficie de 11026 Kilómetros cuadrados y está ubicado entre los 2100 m.s.n.m. Limita, al norte con el Cantón Saraguro, al sur y al este con la Provincia de Zamora Chinchipe y al oeste con parte de la Provincia de el Oro y los cantones de Catamayo, Gonzanamá y Quilanga. El área de estudio comprendió las parroquias: Chantaco, Chuquiribamba, El Cisne, El Sagrario, El Valle, Guale, Jimbilla, Malacatos, Quinara, San Lucas, San Pedro de Vilcabamba, San Sebastián y Santiago. (Inamhi., 2014)

El trabajo de campo se lo realizó en las instalaciones del camal frigorífico “Cafrilosa”, que se encuentra ubicado en la parroquia Sucre, barrio Turunuma, Av. Turunuma y Granada, al norte de la ciudad de Loja.

El diagnóstico se lo realizó en el Laboratorio de Microbiología Animal del Centro de Biotecnologías de la Universidad Nacional de Loja, que se encuentra ubicada en la parroquia San Sebastián, barrio la Argelia. Av. Pio Jaramillo Alvarado, al Sur de la ciudad de Loja.

3.2.2 Selección y Tamaño de la Muestra

La muestra de estudio constituyeron todos los bovinos, provenientes del cantón Loja, para ser faenados en el periodo febrero – marzo 2015: Las muestras se tomaron durante cinco semana seguidas y para ello se determinó

como día de muestreo los lunes, día en el que se tomaron los ganglios de todos los animales que tenían registro de provenir de ganaderías del cantón Loja, esos días fueron: Lunes 2 de Febrero/15, Lunes 8 de Febrero/15, Lunes 1 de Marzo/15, Lunes 8 de Marzo/15 y el lunes 22 de Marzo / 2015. La identificación de los animales provenientes del cantón Loja se realizó el día anterior (los domingos), en los corrales de "CAFRILOSA", en base del registro de ingreso. Se tuvo mucho cuidado en controlar que las canales y la numeración de los ganglios corresponda a los animales identificados.

En el periodo de referencia se faenaron 127 bovinos de diferente sexo, raza y edad y todos ellos constituyeron la muestra, de los cuales se obtuvo 630 ganglios de las siguientes regiones: Pulmonar, Bronquial, Retro faríngeo, Mediastino y Cervical. Por lo tanto la muestra fue de 630 ganglios pertenecientes a 127 bovinos.

3.2.3 Inspección Macroscópica

El análisis macroscópico de las muestras incluyó el siguiente procedimiento:

1. Después del sacrificio de los bovinos se procedió a la ubicación anatómica de los ganglios para su extracción, la toma de las muestras se la realizó de la siguiente manera:

a) Luego de estar equipados y preparados los materiales se tomó los ganglios con las medidas de asepsia adecuadas.

b) Para cada extracción de los ganglios se utilizó un par de guantes, un bisturí, esto fue necesario para evitar contaminación cruzada.

c) Los ganglios extraídos se los depositó en fundas (Whirl-Pak) y luego en un termo con hielo, que permitió mantener una temperatura de menos de 5°C, para su transporte.

d) El tiempo de transporte de las muestras, desde el Camal frigorífico "CAFRILOSA" hasta el Laboratorio de Microbiología Animal del Centro de Biotecnologías de la Universidad Nacional de Loja, fue de 10 a 15 minutos.

2. En el Laboratorio de Microbiología Animal del Centro de Biotecnologías de la Universidad Nacional de Loja, se inspeccionaron macroscópicamente las alteraciones anatomopatológicas de los ganglios.

3. La inspección se realizó por medio de incisiones transversales a lo largo del ganglio.

4. Los ganglios a inspeccionar en forma sistemática fueron:

a) Región de la cabeza: Retro faríngeos.

b) Región de los de Pulmones: Mediastínicos, Pulmonares, Bronquiales

c) Región cervical: Ganglios Cervicales.

5.- Se procedió a describir y a registrar el número de caso, y las alteraciones de los ganglios.

3.2.4 Procesamiento y Almacenamiento de los Ganglios

En el laboratorio el procesamiento de las muestras fue de la siguiente manera:

Una vez sacado los ganglios del termo culer y de cada Funda (Whirl Pak), procedimos a dividirlos en tres partes; cada una de las partes se almacenaron en tubos Ependorf de 2 ml capacidad y estos en cajas

criogénicas con capacidad para 81 tubos; cada parte se las destino para realizar a futuro CULTIVO, PCR y BACILOSCOPIA. Se almacenaron las muestras a -20° C en el congelador.

3.2.5 Preparación de los Reactivos para la Baciloscopía

a) Fucsina fenicada: Para preparar un litro de fucsina fenicada utilizamos 3 g. de fucsina básica y 100 ml. de alcohol de 95° , diluimos por agitación y agregamos 55 ml. de fenol acuoso. Lo agitamos y agregamos agua destilada hasta completar un litro. Dejamos reposar por 24 horas y luego se filtró (el fenol acuoso se prepara agregando a 100 g. de fenol cristalizado 10 ml. de agua destilada. Se calentó a baño maría hasta la completa disolución y se dejó enfriar.

b) Azul de metileno: Para preparar un litro de azul de metileno necesitamos 1 g. de azul de metileno y 100 ml. de alcohol de 95° , diluimos por agitación y se agrega agua destilada hasta completar un litro. Dejamos reposar por 24 horas y se filtra antes de usarlo.

c) Solución decolorante: Para preparar un litro de solución decolorante requerimos 30ml. de ácido clorhídrico para análisis y 970 ml. de alcohol de 95° . Con la pipeta escurrimos el ácido clorhídrico por las paredes del matraz, que contiene el alcohol, y se agitó suavemente.

e) Conservación: Los reactivos los conservamos en frascos de color ámbar y preparamos una cantidad para consumirlo en un tiempo no mayor de un mes.

3.2.6 Método de Baciloscopía Utilizado

En nuestro estudio utilizamos la Tinción de Ziehl Neelsen, mediante frotis directo en portaobjetos estándares de vidrio, bajo el siguiente procedimiento:

a) Coloración

1. El soporte es el adecuado para que quepan las placas y del largo del lavabo en el cual reposara durante la coloración
2. Filtramos la cantidad de fucsina necesaria para realizar las tinciones según la cantidad de muestras procesadas.
3. Se colocaron sobre el soporte las láminas fijadas conservando el orden numérico con el frotis hacia arriba y manteniendo una separación de al menos 1cm entre ellas o equis distantes.
4. Cubrimos las extensiones con papel filtro, para evitar que alguna partícula cristalizada se pose en el frotis.
5. Cubrimos totalmente la superficie de la placa con fucsina básica fenicada recién filtrada dispersando con suavidad el colorante, sin salpicar y sin tocar con el gotero o con el embudo los extendidos.
6. Con el hisopo empapado en alcohol industrial y este encendido, se calentó suavemente por debajo de las placas, con movimientos de vaivén, hasta que se desprendieron los primeros vapores blancos (3 vapores).
7. Se repuso la fucsina cada vez que se derramaba fuera de la placa.
8. Se calentó por 5 minutos tres veces hasta la emisión de vapores.
9. Se tuvo cuidado al momento de calentar las placas evitando que hierva la fucsina debido a que la pared de los bacilos pueden destruirse y colorearse mal.

10. Con una pinza, se levantó cuidadosamente la placa portaobjetos desde el extremo más cercano.

11. Se enjuago con abundante agua a baja presión.

12. El lavado se lo realizó cuidadosamente por delante y por detrás de la placa eliminando totalmente la solución de fucsina.

13. Inclínamos el portaobjetos para eliminar el exceso de agua.

b) Decoloración

1. El decolorante se aplicó por toda la superficie del frotis ya teñido con la fucsina y se lo dejo actuar por 3 minutos.

2. Seguidamente enjuagamos con abundante agua a baja presión.

3. Verificamos el frotis decolorado, se observa que generalmente las partes más gruesas del extendido conservan un leve tinte rosado.

4. Si se ha observado cúmulos rojos o coloración rosada intensa, se volvió a aplicar solución decolorante, dejando actuar entre 1 y 3 minutos y enjuagar nuevamente.

5. Eliminamos el exceso de agua inclinando el portaobjetos.

c) Coloración de fondo

1. Se cubrió el frotis con papel filtro.

2. Se aplicó sobre el papel filtro solución de azul de metileno.

3. Se dejó actuar durante 1 minuto.
4. Las láminas se enjuagaron en ambas caras con agua a baja presión y limpiamos la parte inferior con toallas desechables.
5. Se realizó la aclaración de los números que se borraron durante la tinción.
6. El secado de las placas se realizó a temperatura ambiente, apoyándolas en posición vertical sobre toallas desechables.

3.2.7 Lectura de la Tinción

1. Se depositó una gota de aceite de inmersión en un extremo del frotis, sin tocar el preparado con el gotero.
2. Seguidamente se enfocó el extendido donde se ha colocado la gota de aceite, con el lente 100x de inmersión del microscopio.
3. Se observó cada campo microscópico en superficie y profundidad, moviendo permanentemente el tornillo micrométrico, antes de desplazarse al campo contiguo.
4. El recorrido del extendido se lo realizó en forma sistemática evitando repetir la lectura de algunos campos. Ej.: de izquierda a derecha el línea recta y viceversa.
5. Se observó la calidad del extendido y de la coloración.
6. Las placas que no fueron confiables se repitió nuevamente la baciloscopía de esa muestra.

7. Contamos el número de campos que se ha leído y el número de Bacilos Acido Alcohol Resistente (BAAR) que se han identificado. Se recomienda utilizar una cuadrícula de 10 cuadrados por 10 cuadrados, que representan los 100 campos microscópicos, como ayuda para registrar la cuenta.

9. Informe de resultados de baciloscopia

3.2.8 Variables en Estudio

- Procedencia (parroquia)
- Sexo
- Raza
- Edad
- Ganglios de diferentes secciones orgánicas
- Alteraciones patológicas macroscópicas de los ganglios

3.2.9 Recopilación de Información

La información de: procedencia, edad, raza, sexo se la obtuvo de los registros que lleva el Médico Veterinario, inspector del camal frigorífico "CAFRILOSA". Se anexa el registro utilizado

Para el registro de las anomalías anatomopatológicas de los ganglios (Pulmonares, Bronquiales, Retro faríngeos, Mediastinos y Cervicales) se utilizó la ficha que se incorpora como anexo.

Para el registro de los ganglios positivos y negativos por: procedencia, edad, raza y sexo, se utilizó la ficha que se incorporó como anexo.

3.2.10 Procesamiento de la Información

- Para determinar el porcentaje prevalencia de los bovinos faenados de acuerdo a su procedencia se aplicó la siguiente fórmula.

$$BFP = \frac{\text{Nº de bovinos de acuerdo a la procedencia}}{\text{Nº total de bovinos de la muestra}} \times 100$$

BFP= *Bovinos faenados de acuerdo a su procedencia.*

- Para determinar el porcentaje de prevalencia de acuerdo al sexo se aplicó la siguiente fórmula.

$$BFS = \frac{\text{Nº de bovinos segun sexo}}{\text{Nº total de bovinos muestra}} \times 100$$

BFS= *Bovinos faenados de acuerdo al sexo.*

- Para determinar el porcentaje de prevalencia de acuerdo al raza se aplicó la siguiente fórmula

$$BFR = \frac{\text{Nº de bovinos de acuerdo a la raza}}{\text{Nº total de bovinos muestra}} \times 100$$

BFR= *Bovinos faenados de acuerdo a la raza.*

- Para determinar el porcentaje de prevalencia de acuerdo al edad se aplicó la siguiente fórmula

$$BFE = \frac{\text{Nº de bovinos de acuerdo a la edad}}{\text{Nº total de bovinos muestra}} \times 100$$

BFR= *Bovinos faenados de acuerdo a la edad.*

- Para determinar el porcentaje de anormalidades presentes en los ganglios se aplicó la siguiente fórmula.

$$AG = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de ganglios con alteraciones}}{\text{N}^{\circ} \text{ total de ganglios}} \times 100$$

AG = Alteraciones de los ganglios

- Para determinar el porcentaje de alteraciones anatomopatológicas más frecuentes presentes en los ganglios se aplicó la siguiente fórmula.

$$AAG = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de ganlios con alteraciones por Región}}{\text{N}^{\circ} \text{ total de ganglios}} \times 100$$

AAG= alteraciones anatomopatológicas de los ganglios por región

4. RESULTADOS

4.1 PREVALENCIA DE TBB EN EL CANTÓN LOJA

En el periodo de estudio se muestrearon 127 animales, provenientes de las ganaderías del cantón Loja, de los cuales el 27,56% resultaron positivos, cuadro 3 y figura. 9

Cuadro 3. Prevalencia de TBB, en el cantón Loja

Baciloscopía	Nº Animales	Porcentaje
Positivos	35	27,56
Negativos	92	72,44
Total	127	100%

Fuente: Investigación directa.

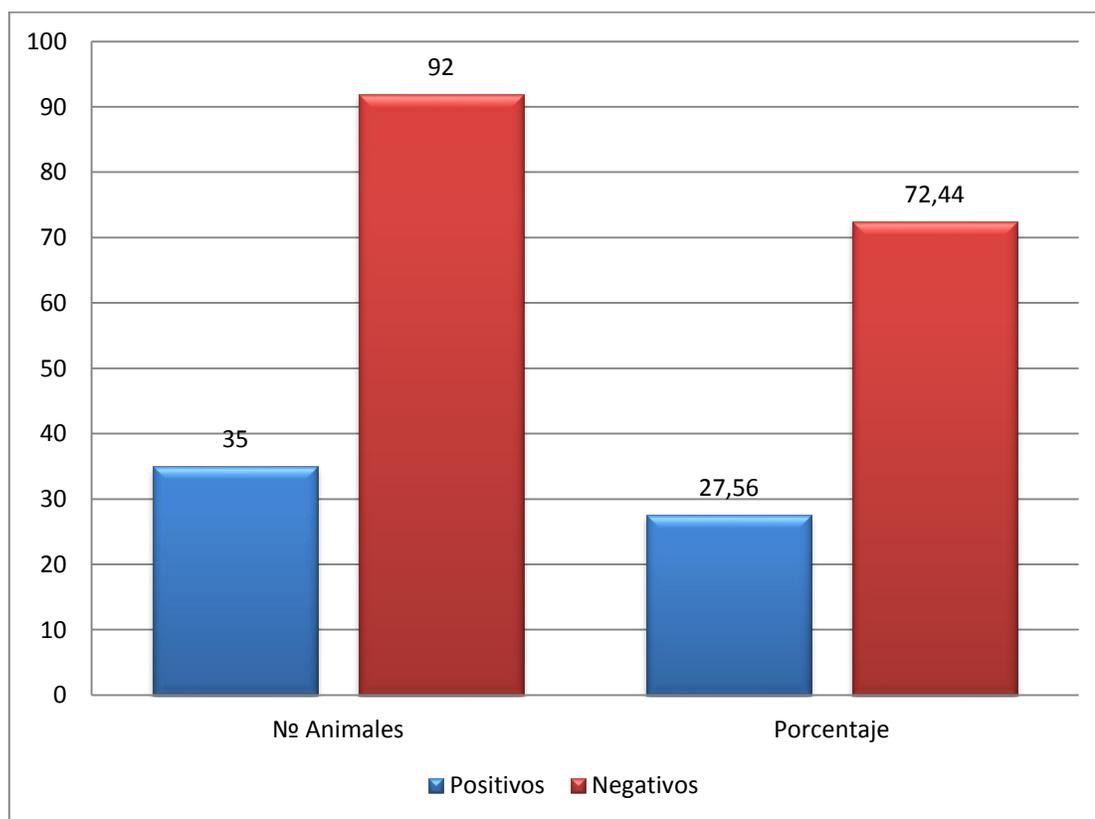


Figura 9. Prevalencia de TBB en ganaderías del cantón Loja

Fuente: Investigación directa

4.2 PREVALENCIA DE TBB, SEGÚN LAS PARROQUIAS

En el cuadro 4 se detalla, por parroquia, el tamaño de la muestra estudiada, los casos positivos y su expresión porcentual, observándose, en relación a la muestra total, mayor prevalencia en los animales provenientes de las parroquias Sucre (37,14%) y El Valle (17,14%), no obstante también la alta positividad en el ganado proveniente de las parroquias Malacatos y San Lucas.

Cuadro 4. Positividad de TBB por parroquias

Procedencia	Nº Muestra	Positivos		% positivos en relación a la muestra total
		Nº	%	
Gualel	2	2	100,00	5,71
Chantaco	1	1	100,00	2,86
Taquil	1	0	0	0
Sucre	43	13	30,23	37,14
San Sebastián	5	2	40,00	5,71
Malacatos	10	4	40,00	11,43
Quinara	1	0	0	0
Yangana	2	0	0	0
El Sagrario	4	0	0	0
El Valle	27	6	22,22	17,14
Jimbilla	11	3	27,27	8,57
Santiago	3	0	0	0
San Lucas	16	4	25,00	11,43
Totales	127	35	27,56	100%

Fuente: Investigación directa

La variabilidad de la presencia de casos positivos observados en los animales provenientes de diferentes parroquias, probablemente obedece al número de ellos faenados, así de las parroquias Gualel y Chantaco se faenaron 2 y 1 bovino, respectivamente y sus ganglios resultaron positivos a TBB en el 100%, pero por el tamaño de la submuestra no podemos expresar la gravedad de la prevalencia, cuadro 4 y figura. 10.

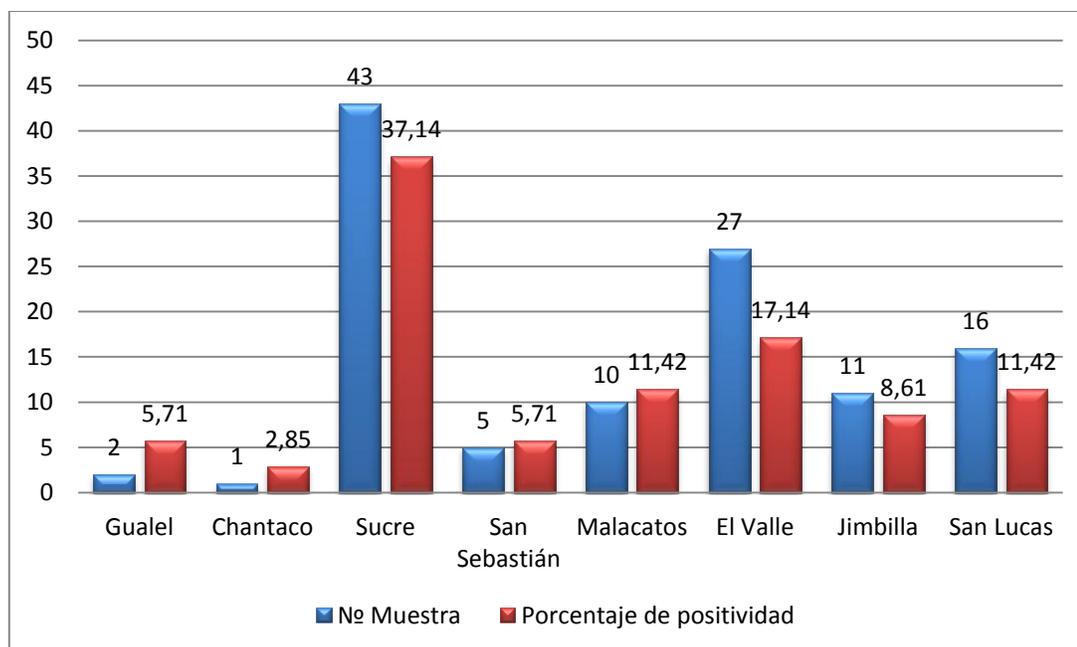


Figura 10. Prevalencia según parroquias

Fuente: Investigación directa

En el periodo de estudio no se faeno ningún bovino proveniente de las parroquias Vilcabamba, Chuquiribamba y San Pedro de Vilcabamba, y de otras parroquias (Taquil, Quinara, Santiago) el número de faenados fue muy pequeño.

4.3 PREVALENCIA DE TBB, SEGÚN SEXO

La proporción de positivos a TBB es similar en hembras (28,95%) y machos (26,97%), no obstante fueron en mayor número los machos faenados, por lo que su peso en la muestra total es mayor, cuadro 5 y figura. 11.

Cuadro 5. Prevalencia según el sexo de los bovinos faenados

Sexo	Nº de Animales	Positivos		% Positivos, en relación a la muestra
		Nº	%	
Hembras	38	11	28,95	31,43
Macho	89	24	26,97	68,57
Total	127	35	27,56	100,00

Fuente: Investigación directa

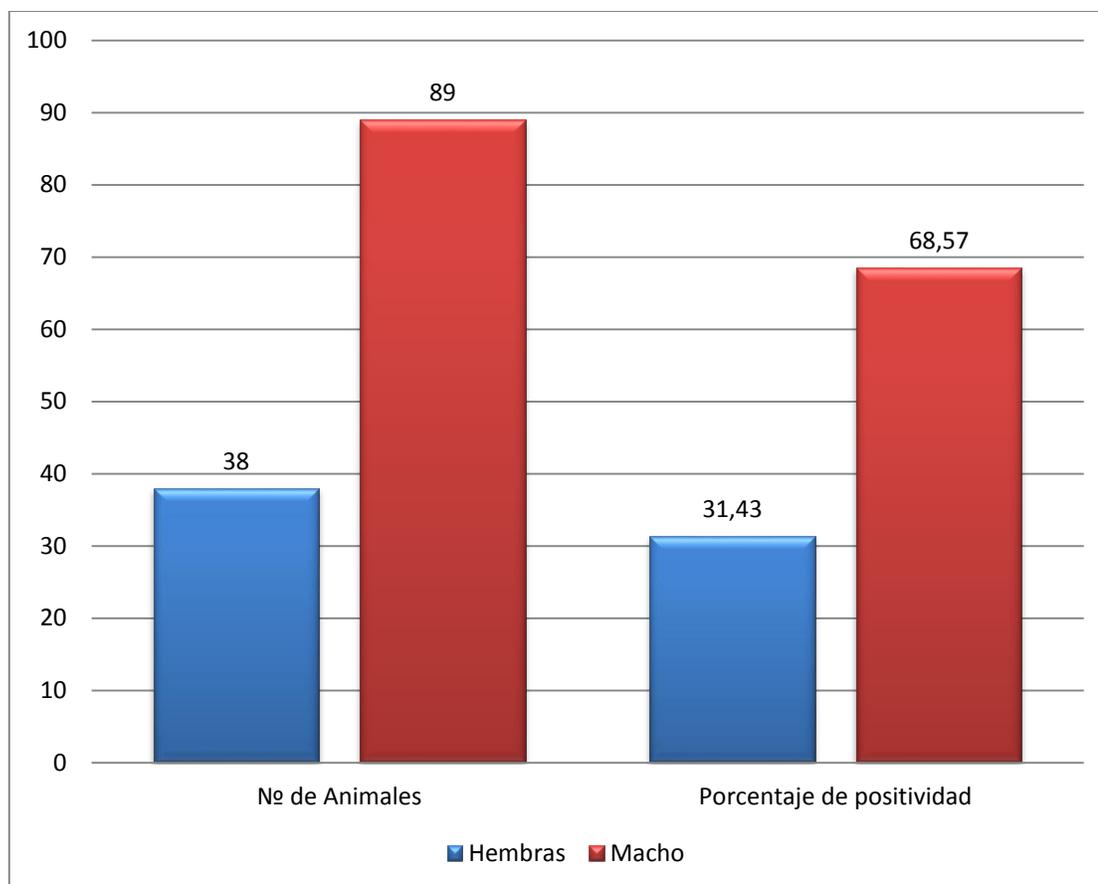


Figura 11. Prevalencia según el sexo

Fuente: Investigación directa

4.4 PREVALENCIA DE TBB, SEGÚN RAZA

No se encontró diferencia significativa de prevalencia de la enfermedad entre las razas Mestiza y Mestiza Holsteín, que predominan en las ganaderías del cantón Loja, cuadro 6 y figura 12.

Cuadro 6 . Prevalencia de acuerdo a la raza de los bovinos faenados

Raza	Nº de Animales	Positivos		% Positivos, en relación a la muestra
		Nº	%	
Holstein Friesian	5	3	60,00	8,57
Mestiza	54	12	22,22	34,29
Mestiza Holstein	68	20	29,41	57,14
Total	127	35	27,56	100%

Fuente: Investigación directa

La proporción elevada que se observa para la raza pura Holsteín Friesian (60%) por el número de animales de la sub muestra puede no ser representativa.

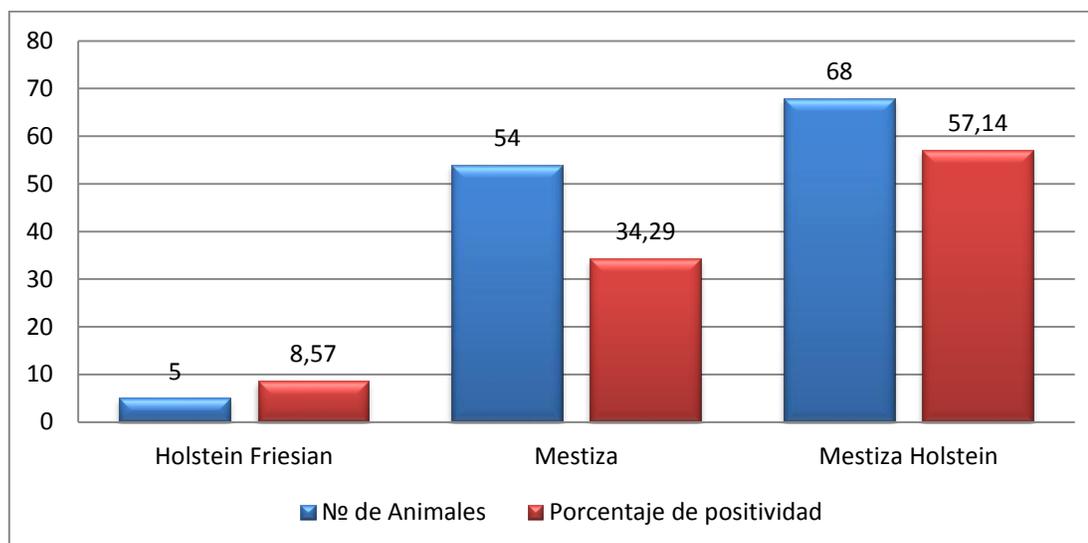


Figura 12. Prevalencia según Raza

Fuente: Investigación directa

4.5 PREVALENCIA DE TBB, SEGÚN EDAD

En el cuadro 5 se detalla la proporción de positivos a TBB según edad, del que no se aprecia diferencia significativa entre las edades, no obstante se observó mayor positividad en bovinos de 3 a 6 años (32,56%) y en relación con la muestra total, el rango de edad de 1 a 3 años muestra el mayor porcentaje de positividad a TBB, cuadro 7 y figura 13.

Cuadro 7. Prevalencia de acuerdo a la edad de los bovinos faenados

Edad	Nº de Animales	Positivos		% Positivos, en relación a la muestra
		Nº	%	
1 a 3 años	73	18	24,66	51,43
3 a 6 años	43	14	32,56	40,00
6 a 9 años	11	3	27,27	8,57
Total	127	35	27,56	100,00

Fuente: Investigación directa

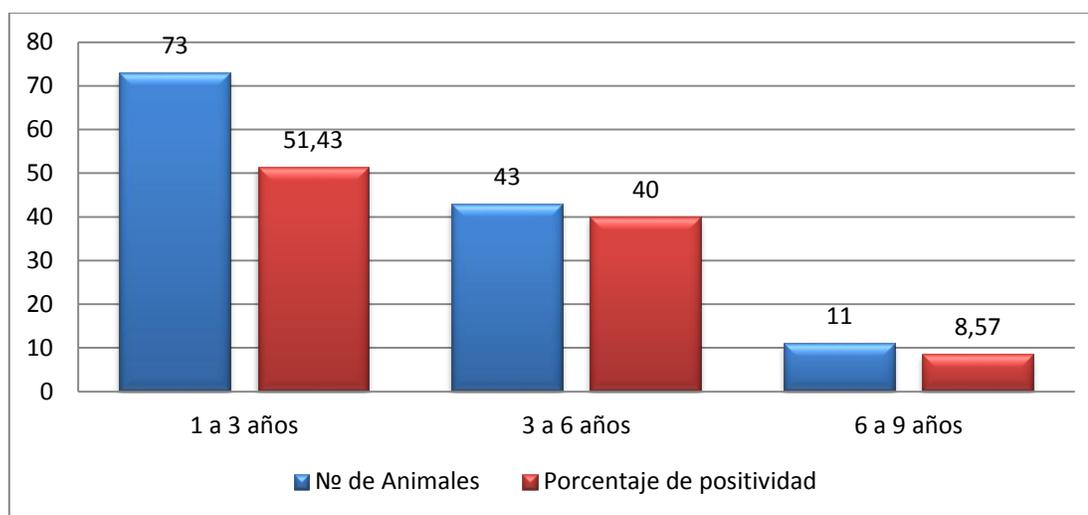


Figura 13. Prevalencia a TBB por edad

Fuente: Investigación directa

4.6 PREVALENCIA DE TBB, SEGÚN GANGLIOS POSITIVOS

Consideramos positivos a los ganglios que mostraron la presencia del bacilo en el estudio de tinción con zhiel-Nielsen, se estudiaron 630 ganglios, que resultaron en el 14,76% ser positivos.

Con más frecuencia se encontró el *Mycobacterium tuberculosis* en los ganglios pulmonares (18,90%), retro faríngeos (14,96%) y bronquiales (14,17%), cuadro 8.

Cuadro 8. Prevalencia de acuerdo a los ganglios de los bovinos faenadas

Ganglios	Nº de Muestra	Positivos		Porcentaje de positividad
		Nº	%	
Bronquial	127	18	14,17	19,35
Cervical	122	17	13,93	18,28
Mediastino	127	15	11,81	16,13
Pulmonar	127	24	18,90	25,81
Retro faríngeo	127	19	14,96	20,43
Totales	630	93	14,76	100%

Fuente: Investigación directa

En relación con la muestra total, se observó que los ganglios pulmonares son el sitio de mayor predilección para alojar el Mycobacterium (25,81%), figura 14, sin embargo la distribución en los ganglios de las otras regiones estudiadas es similar, con expresiones porcentuales muy cercanas entre sí.

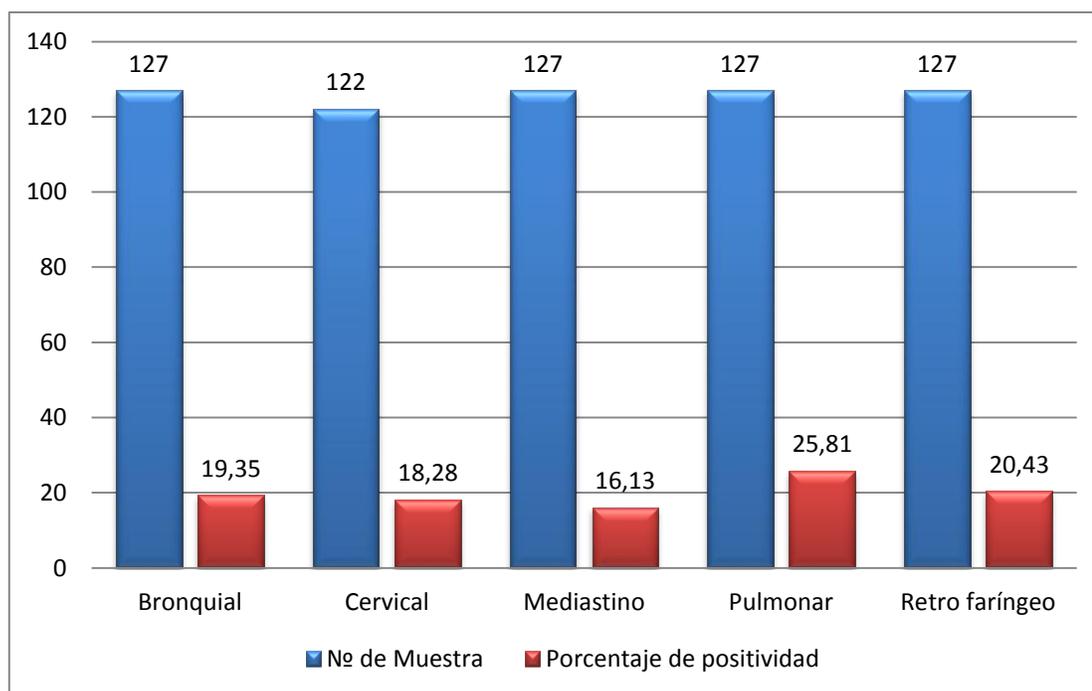


Figura 14. Prevalencia a TBB según ganglios

Fuente: Investigación directa

4.7 INSPECCIÓN MACROSCÓPICA DE LOS GANGLIOS POSITIVOS A TBB

Analizamos las alteraciones morfológicas de los ganglios que mostraron la presencia del Mycobacterium con miras a establecer alguna relación evidente que facilite el diagnóstico por su inspección, resultando que la mayoría de ganglios positivos mostraron ser aparentemente normales (58,06%), sin alteración externa cierta, seguidos de aquellos que mostraron necrosis caseosa (12,90%) y con hemorragias equimóticas (11,83%), cuadro 9, figura 15.

Cuadro 9. Presencia del *Mycobacterium tuberculosis*, según ganglios

Inspección post mortem	Bronquial	Cervical	Mediastino	Pulmonar	Retro. Faríngeo	Total	Porcentajes
Aparentemente normal	12	11	9	15	7	54	58,06
Hemorragias petequiales	1	1	4	1	2	9	9,68
Hemorragias equimóticas	0	2	1	4	4	11	11,83
Hiperplasia	1	0	0	0	0	1	1,08
Necrosis caseosa	4	1	1	2	4	12	12,90
Pigmentos exógenos	0	0	0	1	1	2	2,15
Pigmentos endógenos	0	2	0	1	1	4	4,30
Total de ganglios +	18	17	15	24	19	93	100%

Fuente: Investigación directa

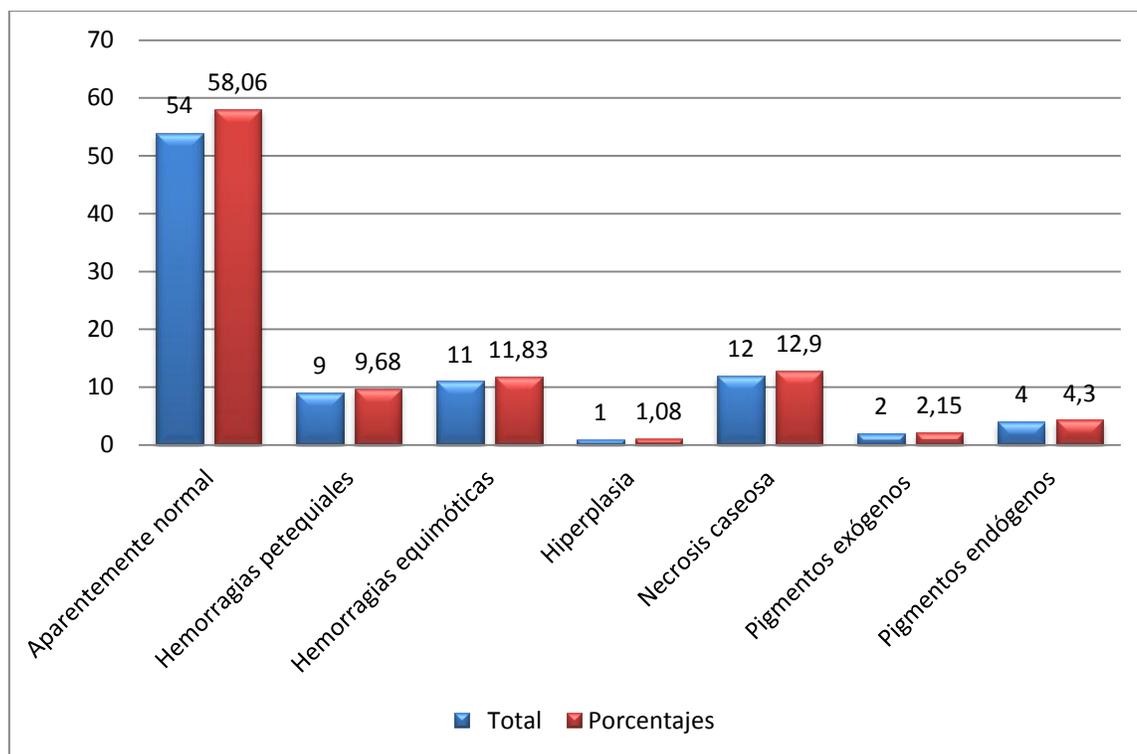


Figura 15. Presencia del *Mycobacterium tuberculosis*, según ganglios

Fuente: Investigación directa

5. DISCUSIÓN

La prevalencia de TBB en Latinoamérica se ha estimado en cifras superiores al 1%, en 67-70% de la población bovina (de Kantor & Ritacco, 1994, 2006). El Ecuador se encuentra en una categoría superior al 1% (Ritacco et al., 2006). Si bien se tiene reportes en ciertas zonas y sólo en una mediante la aplicación de diferentes métodos de laboratorio, el dato nacional es desconocido.

La presente investigación tuvo como objetivo la determinación de la prevalencia TBB en ganaderías bovinas del cantón Loja, mediante la técnica de baciloscopia con el método de tinción Ziehl-Neelsen y la inspección macroscópica de los ganglios para establecer la relación de la alteración clínica con la positividad por la presencia del mycobacterium, y se estudió las alteraciones anatomopatológicas de los ganglios de diferentes secciones. Se encontró el 27,56% de prevalencia de tuberculosis bovina TBB, lo que indica que esta enfermedad se encuentra presente en las ganaderías del cantón Loja.

La prevalencia de TBB de 27,56%, encontrado en este estudio investigativo en ganglios, es superior a los datos reportados por Paccha A.,(2012), quién mediante la aplicación de tuberculina en la tabla del cuello a bovinos encontró el 6% de positividad en las ganaderías de La hoyita de Loja, lo que nos obliga a dudar de la efectividad de la tuberculización en el diagnóstico de la TBB, mientras que Echeverría, G; (2012) encontró el 4.33% de prevalencia aparente (PA) y 2,51% de prevalencia real (PR) en tejido pulmonar de ganado faenado en los cantones de Cayambe y Pelileo, mediante la prueba de PCR, nosotros resaltamos que encontramos la presencia del mycobacterium incluso en ganglios aparentemente normales en el 58,06% de los casos de estudio.

Paralelamente a nuestro estudio, Roa,J; (2015) en muestras de leche, mediante la técnica de PCR, encontró un 43% positividad, lo que confirma la presencia de la enfermedad en las ganaderías del cantón Loja, y esto

constituye un problema de salud pública dado el carácter zoonótica de la enfermedad, toda vez que, según Blowey y Weaver (2006) en la etiopatogenia de la tuberculosis bovina que se produce por *Mycobacterium bovis* menciona que se puede transmitir al ser humano, por lo general a través de leche infectada, pero también podría ser un foco permanente de diseminación para las demás ganaderías del país.

Ramos, et. al., (2004) señalan que el sexo va unido al modo de explotar del animal y que es muy frecuente en vacas (de 70 a 80% más en granjas lecheras); en cambio en los bueyes y sobre todo en los toros que suelen alcanzar menos edad de explotación el número de casos es menor. Nuestros resultados difieren sustancialmente, toda vez que no encontramos diferencia significativa de la prevalencia de TBB por sexo, observamos en las hembras positividad del 28,95% y los machos con el 26,97%.

Nuestros resultados expresan la ausencia de influencia de la raza en la prevalencia de TBB y concuerdan con los encontrados por Ramos, et. Al., (2004), quién señala que la influencia de la raza no puede determinarse con certeza y agrega que si la enfermedad se presenta con especial frecuencia en ciertas razas en gran parte guarda relación con el modo de vivir y la explotación de esos animales.

Con la edad, la frecuencia de las enfermedades tuberculosas aumenta poco a poco, pero continuamente en bovinos. La mitad de los casos de tuberculosis descubiertos por la prueba tuberculina post-mortem en el matadero, pasan de los 6 años; este hecho, a pesar de la receptibilidad del organismo juvenil, se debe a que los animales están expuestos a contagios más frecuentes y persistentes conforme van teniendo más edad (Ramos y otros 2004). Nosotros observamos que el mayor porcentaje de susceptibilidad está comprendida entre 3 a 6 años con un 32,56%, los de 6 a 9 años el 27,27% y en menos porcentaje los de 1 a 3 años 24,66%.

Según Kritski & Fluza, (2007) el pulmón es la principal puerta de entrada del bacilo, que causa una infección localizada en el sitio donde se deposita después de la inhalación. Acha & Szyfres, (2001); NCBI, (2011), anotan que el bacilo tuberculoso penetra en el organismo principalmente por vía aerógena, 80-90% de los casos, lo que se valida con los resultados de nuestra investigación, pues los ganglios en los cuales se presentó mayor porcentaje fueron los pulmonares con el 25,81%, seguidos de los Retrofaríngeos 20,43%, Bronquial (19,35%), Cervical (18,28%); y el ganglio mediastino con un 16,13%. No se descarta la vía entérica en terneros debido a que del 1-2% de las vacas con TBB eliminan el bacilo al desarrollar mastitis,

Según Biffa et al., (2010), la Inspección veterinaria es el principal método de estudio de las carcasas, es utilizado de manera rutinaria, de bajo costo y proporciona información útil y anota que la presencia de tubérculos típicos es un indicador de la presencia de TBB, sin embargo, Corner, (1994) indica que tiene una baja sensibilidad, debido a que algunos animales presentan lesiones leves o se encuentran en una etapa inicial de la enfermedad, lo que causa una reducida identificación, sumada al limitado tiempo en que se examina los órganos, dificultando realizar finos cortes en los ganglios linfáticos. Los diferentes sitios de aparición puede hacer que la detección de lesiones visibles sea muy difícil, especialmente para el personal sin experiencia (Cousins et al., 2004).

Biffa et al. (2010b), reportó una sensibilidad de 28.2 % para la inspección veterinaria de rutina durante la faena y demostró su limitada capacidad para detectar carcasas infectadas con *M. bovis*. La inspección macroscópica de los ganglios nos permitió establecer el 27,56% de positivos a TBB, resaltando que los ganglios aparentemente normales son los de mayor porcentaje de positividad con un 58,06%, seguidos de los típicos ganglios con Necrosis Caseosa (12,90%); Hemorragias equimóticas (11,83); y ganglios con Hemorragias petequiales (9,68%).

Teklul et al.(2004) señala una deficiencia en la técnica y la necesidad de mejorar las medidas de control de las necropsias actuales. Además se ha demostrado que no todos los bovinos infectados presentan lesiones visibles, consiguiendo aislar el patógeno de muestras de pulmón sin una aparente afección (Whipple et al., 1996). La especificidad puede disminuir debido a la presencia de lesiones que podrían ser causadas por otros microorganismos como las micobacterias no-tuberculosas (NTM) (Müller et al., 2008; Müller et al., 2009; Oloya et al., 2007) u otras patologías ej. Leucosis, todo ello se corrobora con nuestros resultados que mostraron la presencia del mycobacterium en ganglios aparentemente normales.

6. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones, del presente estudio, se resumen en:

1.- En las ganaderías bovinas del cantón Loja existe una alta prevalencia de TBB, con promedio del 27,56%.

2.- De las ganaderías de las parroquias Sucre y el Valle, cercanas a la ciudad de Loja, provino el mayor número de bovinos positivos a TBB.

3.- No se observó diferencias significativas de prevalencia entre sexo, raza y edad, lo que evidencia que no son factores de riesgo, pues la TBB afecta a todos los animales susceptibles.

4.- No se evidenció alteración morfológica clínica que permita sospechar de TBB, **toda vez que en ganglios aparentemente normales se encontró el mycobacteriún tuberculoso en alta proporción (58,06%), seguidos de aquellos que mostraron necrosis caseosa y hemorragias equimóticas.**

5.- Los ganglios los pulmonares, bronquiales y retrofaringeos son los sitios de mayor preferencia de localización del mycobacteriún tuberculoso, lo que evidencia la vía de transmisión respiratoria.

7. RECOMENDACIONES

- 1.- Notificar a los entes de control sobre los resultados obtenidos en el presente estudio, a fin de que se establezcan las medidas de control y erradicación de esta afección que es de tipo zoonosica.
- 2.- Repetir el presente estudio con animales provenientes de otros cantones de la provincia de Loja y en especial de la provincia de Zamora – Chinchipe, toda vez que de esta provincia llega un número significativo de bovinos a ser faenados en CAFRILOSA, para el consumo de los habitantes de la ciudad de Loja.
- 3.- Realizar estudios con más frecuencia, con un mayor periodo de muestreo, con el fin de validar los resultados y apreciar mejor la magnitud de la prevalencia de TBB.
- 4.- Usar el protocolo realizado en este estudio como un método de diagnóstico inicial de TBB y complementarlas con técnicas más sensibles como: Cultivo, PCR y Caracterización molecular, las cuales son técnicas de mayor sensibilidad.
- 5.- Realizar estudios paralelos en bovinos y en las personas encargadas del manejo de los animales, en las mismas fincas con miras a establecer la presencia de infección cruzada.
- 6.- Realizar estudios de control al personal encargado del faenamiento de ganado para atención oportuna si han sido contaminados.
- 7.- Es urgente realizar campañas de capacitación, concienciación y control de esta enfermedad para evitar la diseminación entre los animales y más importante evitar que la población humana se vea afectada por esta enfermedad ya que es altamente zoonósica, convirtiéndose así en un problema de salud pública.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abalos P. & Retamal P (2004). Tuberculosis: ¿una zoonosis re emergente?. Rev Sci Tech, 23(2), 583-94.
- Acha P., & Szyfres B. (2001). ZOONOSIS Y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. (tercera ed.). Washington DC.: Organización panamericana de la Salud.
- Aimé B., Lequen L., Balageas A., Haddad N., Maugein J. (2011). M. bovis and M. caprae infections in Aquitaine: A clinico-epidemiologic study of 15 patients. Pathol Biol (Paris), Jun.
- Acosta C. & Parreño B. (1977). Incidencia de tuberculosis bovina en veinte haciendas del cantón Píllaro. [Tesis]. Quito: Facultad de medicina veterinaria, Universidad Central del Ecuador.
- Agustí B., (2009). Caracterització d'un nou poliéster present en les soques lises de mycobacterium vaccae, Mycobacterium aurum, Mycobacterium obuense, Mycobacterium parafortuitum, Mycobacterium chubuense i mycobacterium gilvum—Implicació en la morfología colonial, motilitat i formació de biofilms. Tesis doctoral. Bellaterra. Extraído el 8 de Enero, 2015, [dhttp://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0319110134918/gaa1de1.pdf](http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-0319110134918/gaa1de1.pdf)
- Alcais A., Fieschi C., Abel L., Casanova J. (2005). Tuberculosis in children and adults: two distinct genetic diseases. J Exp Med 202, 1617-21.
- Alemán R., Cajilema C., Jaramillo F. (2003). Diagnóstico de Tuberculosis Bovina mediante la prueba intradérmica única en hatos lecheros de la provincia de Tungurahua. [Tesis]. Quito: Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Central del Ecuador.
- Aranaz A., Cousins D., Mateos A., Domínguez L., (2003). Elevaton of Mycobacterium tuberculosis subsp. caprae Aranaz e al 1999 to species rank as Mycobacterium caprae comb. nov., sp nov. Int j Syst Evol Microbiol 53, 1785- 1789.
- Ayele W., Neill D., Zinsstag J., Weiss G., Pavlik I. (2004). Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa. Int J Tuberc Lung Dis, 8, 924–937.
- Baffoni A. (1950). First description of bovine tuberculosis in the de re rustica of Columella. Arch Tisiol Mal Appar Respir, 51, 3-4.

- Barquero F, L. 2009. Prueba de la tuberculina (PPD) aspectos técnicos y teóricos.
- Barrera L. (2007). The basic of clinical bacteriology. In: Tuberculosis: From Basic Science to patient care. Palomino J.C., Leão S., Ritacco V. (Eds). (First edition). Antwerp - Sao Paolo – Buenos Aires: Emma Raderschadt.
- Beran G., & Steele J. (1994). Handbook of Zoonoses seccion A Bacterial. (Second edition).(pp. 47-57). USA: CRC-Press.
- Biet F., Boschiroli M., Thorel M., Guilloteau L. (2005). Zoonotic aspects of Mycobacterium bovis and Mycobacterium avium-intracellulare complex (MAC). Vet Res, 36(3), 411-36.
- Blowey W, R; Weaver A, D. 2006. Enfermedades y trastornos del ganado vacuno. 2ed. México, McGraw-Hill. p 89-187.
- Bofill, P; Rivas, A; Ramírez, W. 1980. Manual de enfermedades infecciosas. La Habana, San José. Tomo 1. p 85-114.
- Brennan P. & Nikaido H. (1995). The envelope of mycobacteria. Annu Rev Biochem, 64,29–63.
- Brennan P. (1989). Structure of mycobacteria: recent developments in defining cell wall carbohydrates and proteins. Rev Infect Dis, 11(2), 420-430
- Briken V., Porcelli A., Besra G., Kremer L. (2004). Mycobacterial lipoarabinomannan and related lipoglycans: from biogenesis to modulation of the immune response. Mol. Microbiol, 53(2), 391–403.
- Brosch R., Gordon S., Marmiesse M., Brodin P., Buchrieser C., Eiglmeier K., Garnier T., Gu C. (2002). A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. Proc Natl Acad Sci USA, 99, 3684-9.
- Cataldi A. & Romano M. (2007). Tuberculosis caused by Other Members of the M.tuberculosis Complex, In: Tuberculosis: From Basic Science to patient care. Palomino J.C., Leão S., Ritacco V. (Eds). (First edition). Antwerp - Sao Paolo – Buenos Aires: Emma Raderschadt.
- Crick D., Mahapatra S., Brennan P. (2001). Biosynthesis of the arabinogalactan-peptidoglycan complex of Mycobacterium tuberculosis. Glycobiol, 11, 107-118.
- Collins J. (2006). Tuberculosis in cattle: strategic planning for the future. Vet Microbiol. 112, 2-4, 369-381.

- Corner L. (1994). Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Vet Microbiol*, 40(1-2), 53-63.
- Corro, E.S. Compendio de Bacteriología Veterinaria y su importancia en la salud pública. Tesis Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. 1994.
- Cosivi O., Grange J., Daborn C., Raviglione M., Fujikura T., Cousins D., Robinson R., Huchzermeyer H., de Kantor I., Meslin F. (1998). Zoonotic Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in Developing Countries. *Emerging Infectious Diseases* 4, 59-70.
- Cousins D., Bastida R., Cataldi A., Quse V., Redrobe S., Dow S., Duignan P., Murray A., Dupont C., Ahmed N., Collins D., Butler W., Dawson D., Rodríguez D., Loureiro J., Romano M., Alito A., Zumarraga M., Bernardelli A. (2003). Tuberculosis in seals caused by a novel member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: *Mycobacterium pinnipedi* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 53, 1305-14.
- CFSPH. (2009) Importancia la tuberculosis bovina a Nivel Mundial (p.1). Consultado el 22 de Enero de www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/tuberculosis_bovina.pdf
- Daniel T. (2000). Los orígenes y la epidemiología precolonial de la tuberculosis en la Américas: ¿podemos averiguar? *Int J Tuberc de pulmón Dis* 4, 395-400.
- Daniel T. (2006). The History of tuberculosis. *Respir Med*, 100 11, 1862-70
- de Kantor I. & Ritacco V. (2006). An update on bovine tuberculosis programmes in Latin American and Caribbean countries. *Vet. Microbiol*, 112, 111-118.
- de Kantor I. (2007). *Micobacterias*. In: *Microbiología Veterinaria*. StancN, Martino P., Gentilini E., Reinoso E., Echeverría M., Leardini N., Copes J. (eds) (pp. 300-312). Buenos Aires-Argentina: Inter. Médica.
- de Kantor I., Ambroggi M., Poggi S., Morcillo N., Da Silva Telles M., Osório Ribeiro M., Garzón Torres M., Llerena Polo C., Ribón W., García V., Kuffo D., Asencios L., Vásquez Campos L., Rivas C., de Waard J. (2007). Human *Mycobacterium bovis* infection in ten Latin American countries. *Tuberculosis*, 88, 358–365.
- de Kantor I., LoBue P., Thoen C (2010). Human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in the United States, Latin America and the Caribbean. *Int Tuberc Lung Dis*, 14(11), 1369-73.

- de la Rúa-Domenech R., (2006). Human Mycobacterium bovis infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *Tuberculosis*, 86, 77–109.
- http://www.oie.int/wahis/public.php?page=disease_status_map&disease_type=Terrestrial&disease_id=32&empty=999999&disease_serotype=0&start_method=semesterly&start_year=2009&selected_report_period=1&selected_start_month=1&page=disease_status_map&date_submit=OK
- Dinadayala P., Sambou T., Daffé M., Lemassu A. (2008). Comparative structural analyses of the alpha-glucan and glycogen from *Mycobacterium bovis*. *Glycobiology*, 18(7), 502-8.
- Donoghue H., Spigelman M., Greenblatt C., Lev-Maor G., Kahila Bar-Gal G., Matheson V., Vernon K., Nerlich A., Zink Donoghue A. (2004). Tuberculosis: from prehistory to Robert Koch, as revealed by ancient DNA. *Lancet Infect Dis* 4, 584-592
- Draper P. The outer parts of the mycobacterial envelope as permeability barriers. *Front Biosci* 1998;3:1253–1261. dx.doi.org/10.1093/fb/3.12.1253
- Durnez L, Eddyani M., Mgode G., Katakweba A., Katholi C., Machang'u R., Kazwala R., Portaels F., Leirs H. (2008). First detection of mycobacteria in African rodent and insectivores, using stratified pool screening. *Appl Environ Microbiol*, 74(3), 768-73.
- http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/tuberculosis_bovina.pdf
- Etchechoury I., Valencia G., Morcillo N., Sequeira M., Imperiale B., López M., Caimi K., Zumárraga M., Cataldi A., Romano M. (2010). Molecular typing of *Mycobacterium bovis* isolates in Argentina: first description of a person-to-person transmission case. *Zoonoses Public Health*, 57(6), 375-81.
- Fine A., Bolin C., Gardiner J., Kaneene J. (2011). A Study of the Persistence of *Mycobacterium bovis* in the Environment under Natural Weather Conditions in Michigan, USA. *Vet Med Int*, 26.
- Garbaccio, S. s.f. Tuberculosis animal. Extraído 15 ene. 2015.
- García, C; Buris, S. 1963. La tuberculosis animal en las américas y su transmisión al hombre. 62p.
- Garnier T., Eiglmeier K., Camus J., Medina N., Mansoor H., Pryor S., Grondin S., Lacroix C., Monsempe C., Simon S., Harris B., Atkin R., Doggett J., Mayer R., Keating L., Wheeler P., Parkhill J., Barrell

B., Cole S., Gordon S., Hewinson R. (2003). The complete of *Mycobacterium bovis*. PNAS, 100 (13), 7877-7882.

- Gibbons, WJ. 1983. Diagnóstico clínico de las enfermedades del ganado. 2 ed. México, McGraw-Hill. 246p.
- Gillespie S. (2006). *Mycobacterium Tuberculosis*, In: Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Gillespie S., & Hawkey P. (Eds). (Second Edition). USA: John Wiley & Sons, Ltd.
- Good M. & Duignan A. (2011). Perspectives on the History of Bovine TB and the Role of Tuberculin in Bovine TB Eradication. *Vet Med Int*, 2011, 410470.
- Gorocica P., Jiménez-Martínez M., Garfias Y., Sada I., Lascurain R. (2005). Componentes glicosilados de la envoltura de *Mycobacterium tuberculosis* que intervienen en la patogénesis de la tuberculosis. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex*, 18, 142-153
- Grange J. & Yates, M. (1994). Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* infection. *Vet. Microbiol*, 40, 137–151.
- Griffin J. & Dolan L. (1995). The role of cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis* in the epidemiology of tuberculosis in cattle in the Republic of Ireland: a review. *Irish Veterinary Journal*, 48, 228–234.
- Harris N., Payeur J., Bravo D., Osorio R., Stuber T., Farrell D., Paulson D., Treviso S., Mikolon A., Rodriguez-Lainz A., Cernek-Hoskins S., Rast R., Ginsberg M., Kinde H. (2007). Recovery of *Mycobacterium bovis* from soft fresh cheese originating in Mexico. *Appl Environ Microbiol*, 73, 1025–8.
- Hernández-Pando R., Chacón-Salinas R., Serafín-López J., Estrada I. (2007). Immunology, Pathogenesis, Virulence. In: *Tuberculosis: From Basic Science to patient care*. Palomino J.C., Leão S., Ritacco V. (Eds). (First edition). Antwerp - Sao Paulo – Buenos Aires: Emma Raderschadt.
- Hlavsa M., Moonan P., Cowan L., Navin T., Kammerer J., Morlock G., Crawford J., LoBue P. (2008). Human tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in the United States, 1995-2005. *Clin Infect Dis*, 47(2), 168-75
- Hoffmann C., Leis A., Niederweis M., Plietzko J., Engelhardt H. (2008). Disclosure of the mycobacterial outer membrane: cryo-electron tomography and vitreous sections reveal the lipid bilayer structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 3963–3967.

<http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/588/art15.pdf> Brosch R., Gordon.

- Kaneene J., Miller R., de Kantor I., Thoen C. (2010). Tuberculosis in wild animals. *Int J Tuberc Lung Dis*, 14(12), 1508-12.
- Kaur D., Guerin M., Skovierová H., Brennan P., Jackson M. (2009). Biogenesis of the cell wall and other glycoconjugates of *Mycobacterium tuberculosis*. *Adv Appl Microbio*, 69, 23-78.
- Kritski A. & Fiuza F. (2007). Tuberculosis in Adults. In: *Tuberculosis: From Basic Science to patient care*. Palomino J.C., Leão S., Ritacco V. (Eds). (First edition). Antwerp – Sao Paulo Buenos Aires: Emma Raderschadt.
- Lemassu A. & Daffé M. (1994). Structural features of the exocellular polysaccharides of *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochem. J.*, 297, 351–357.
- LoBue P., Enarson D., Thoen C. (2010). Tuberculosis in humans and animals: an overview. *Int J Tuberc Lung Dis*, 14(9), 1075–1078.
- López L., Díaz F., vallecillo A., Esquivel H., Gutiérrez J. (2006). Tuberculosis Humana y bovina en Latinoamérica: De estudios sobre virulencia hacia herramientas para su control. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 48 (2), 173-178.
- Lurie M. (1964). *Resistance to tuberculosis: experimental studies in native and acquired defence mechanisms*. Cambridge, Massachusetts; Harvard University Press
- Madigan M., Mantinko J., Dunlap P., Clark D. (2009). *Biología de los Microorganismos*. (12 ed.). (pp. 504-507, 1083-1086). Madrid-España: Person Educacion S.A.
- Mantilla G, J; Ortiz M, M; Acosta, AM; Souza Z, J.2008. Diagnóstico de tuberculosis bovina por aislamiento bacteriológico o histopatológico de vacunos reactivos a la prueba de tuberculina. Lima. 1-5 p.
- Michel A., Coetzee M., Keet D., Maré L., Warren R., Cooper D., Bengis R., Kremer K., van Helden P. (2009). Molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis* isolates from free ranging wildlife in South African game reserves. *Veterinary Microbiology*, 133(4), 335–343.
- Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP). (2010). Programa Nacional de Control de la Tuberculosis (PCT).

- Murray J. (2004). A century of Tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 169, 1181-1186
- Murray P., Jo Baron E., Jorgensen J., Langry M., Pfaller M. (2007b). *Manual of Clinical Microbiology*. (9 ed.). (Vol 1). (pp. 543-588). Washington-USA: ASM Press.
- Murray P., Rosenthal K., Pfaller M. (2007a). *Microbiología Médica*. (quinta ed.). (pp. 297-310). España: MMVI Elsevier Mosby.
- Narain J., Raviglione M., Kochi A. (1992). HIV- associated tuberculosis in developing countries: epidemiology and strategies for prevention. *Tuberc Lung Dis*, 73, 311-321
- Nikaido H., Jarlier V. (1991). Permeability of the mycobacterial cell wall. *Res Microbiol*, 142, 437-443.
- Niederweis M., Danilchanka O., Huff J., Hoffmann C., Engelhardt H. (2010). Mycobacterial outer membranes: in search of proteins. *Trends Microbiol*, 18(3), 109-16.
- O'Reilly L. & Daborn C. (1995). The epidemiology of Mycobacterium bovis infections in animals and man: a review. *Tubercle and Lung Disease*, 76(1), 1-46.
- OIE (Office International Epizooties). 2009. Tuberculosis bovina. Consultado 8 ene. 2015. Disponible.
- OIE (World Organization for Animal Health). (2004). Annual Animal Disease Status, Bovine Tuberculosis. Extraído el 14 septiembre, 2015, de <http://www.oie.int>.
- OIE (World Organization for Animal Health). (2008). Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008. Enero 10 2015,
- OIE (World Organization for Animal Health). (2011). Base de datos del Sistema mundial de información zoonosológica (WAHID) Versión: 1.4 Extraído el 15 de enero, 2015.
- OIE (World Organization for Animal Health). (2011). Base de datos del Sistema mundial de información zoonosológica (WAHID) -Versión: 1.4
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2010). Global tuberculosis control 2010. Extraído, el 6 de enero, 2015, de <http://www.who.int/tb/country/en/index.html>.
- Paccha, A. 2012. Diagnóstico de tuberculosis bovina, por medio de la prueba cervical comparativa en hembras bovinas de la hoya de

Loja. Tesis Médico Veterinario Loja. Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Consultado 10 Enero .2015. Disponible

- Palmieri O. (2001). Enfermedades Infecciosas. (pp. 296-313). Chile: McGraw-Hill-Inter América
- Parrish N., Dick J., Bishai W. (1998). Mechanism of latency in Mycobacterium tuberculosis. Trends Microbiol 6, 107-12.
- Pérez L., MiliánSuazo F., Arriaga C., Romero C., Escartín M.(2008). Molecularepidemiology of cattle and human tuberculosis in Mexico. Salud pública Méx, 50(4), 286-281
- Pitarque S., Larrouy-Maumus G., Payré B., Jackson M., Puzo G., Nigou J. (2008). The immunomodulatory lipoglycans, lipoarabinomannan and lipomannan, are exposed at the mycobacterial cell surface. Tuberculosis, 88(6), 560-5.
- Prescott L., Harley J., Klein D. (1999). Microbiología. (cuarta ed.). (pp. 803-805). España: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Proaño-Pérez F. (2011). Contribution to the epidemiology of bovine tuberculosis in northern Ecuador. Thesis submitted for obtaining the degree of Doctor of Veterinary Science Academic Year 2011 – 2012. Press de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l' Université de Liège
- Proaño-Pérez F., Benitez Ortiz W., Desmecht D., Coral M., Ortiz J., Ron L., Portaels F., Rigouts L., Linden A. (2011a). Post-mortem examination and laboratory-based analysis for the diagnosis of bovine tuberculosis among dairy cattle in Ecuador. Prev Vet Med, 101, 1-2, 65-72. Rennie B., Fillion L., Smart N. (2010). Antibody response to a sterile filtered PPD tuberculin M. bovis infected and M. bovis sensitized cattle. BMC Vet Res, 6. 50.
- Proaño-Pérez F., Benitez-Ortiz W., Françoise Portaels, Portaels F., Rigouts L., Linden A. (2011b). Situation of bovine tuberculosis in Ecuador. Rev Panam Salud Publica, 30, 3, 279-286.
- Proaño-Pérez F., Benitez W., Celi M., Ron L., Benitez R., Portaels F., Rigoust L., Linden A.(2009). Comparative Intradermal Tuberculin Test in Dairy Cattle in the North of Ecuador and Risk factors Associated with Bovine Tuberculosis. Am. J. Trop. Med Hyg., 81, 6, 1103-1109.
- Proaño-Pérez F., Rigouts L., Brandt J., Dorny P., Ron J., Chávez M., Rodríguez R., Fissette K., Van Aerede A., Portaels F., Benitez W. (2006). Preliminary Observations on Mycobacterium spp. in Dairy Cattle in Ecuador. Am. J. Trop. Med. Hyg., 75, 2, 318-323.

- Prodinger W., Brandstätter A., Naumann L., Pacciarini M., Kubica T., Boschirolì M., Aranaz A., Nagy G., Cvetnic Z., Ocepek M., Skrypnik A., Erler W., Niemann S., Pavlik I., Moser I. (2005). Characterization of *Mycobacterium caprae* isolates from Europe by mycobacterial interspersed repetitive unit genotyping. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(10), 4984–4992.
- R.A. RUNNELLS., W.S MONLUX., Principios de Patología Veterinaria C.E.c.s.A. Ira. Edición. 1975.
- Ramos, N; Parra y Sanabria, N. 2004. Prevalencia de la tuberculosis bovina, liberación y re-certificación de hatos lecheros en Portachuelo (Prov. Sara del Dpto. de Santa Cruz). Tesis Médico Veterinario. Santa Cruz, BO. UAGRAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Consultado 15 ene. 2015.
- Rastogi N., Legrand E., Sola C. (2001). The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. *Rev Sci Tech*, 20, 21-54.
- Raviglione M. & Pio A. (2002). Evolution of WHO policies for tuberculosis control, 1948-2001. *Lancet* 359, 775-780
- Ritacco V., Sequeira M., de Kantor I. (2006). Human Tuberculosis Caused by *Mycobacterium bovis* in Latin America and the Caribbean. In: *Diseases of swin*. Straw B., Zimmerman J., D'Allaire S., Taylor D. (9th ed). Ames, IA, USA: Blackwell.
- Rivera S. & Giménez J. (2010). La Tuberculosis Bovina en Venezuela: patogénesis, epidemiología, respuesta inmunitaria y nuevas alternativas para el diagnóstico. *Revista electrónica de Veterinaria* 11(091695-7504).
- Rodríguez, K. 2010. Prevalencia de tuberculosis bovina (cantones San Isidro, San Miguel, Prov. Ichilo, Dpto. Santa Cruz). Tesis Médico Veterinario. Santa Cruz, BO. UAGRAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Consultado 20 ene. 2015.
- Roa, J. (2015). Estudio de la prevalencia de tuberculosis bovina del cantón Loja. Tesis de grado previa a la obtención del título de Médico Veterinario y Zootecnista. Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Loja.
- Romero B., Aranaz A., Sandoval A., Alvarez J., de Juan L., Bezos J., Sánchez C., Galka M., Fernández P., Mateos A., Domínguez L. (2008). Persistence and molecular evolution of *Mycobacterium bovis* population from cattle and wildlife in Doñana National Park revealed by genotype variation. *Vet Microbiol*, 132, 87–95.

- Ryan TJ, Livingstone PG, Ramsey DS, de Lisle GW, Nugent G, Collins DM, Buddle BM. Avances en entender la epidemiología de la enfermedad y las implicaciones para el control y la erradicación de la tuberculosis en ganadería: la experiencia de Nueva Zelanda. *Veterinario Microbiol.* 2006; 112: 211-9.
- Salazar J. & Cevallos C. (2002). Diagnóstico de la Tuberculosis bovina mediante la Pichincha. [Tesis]. Quito: Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Central del Ecuador prueba intradérmica única en hatos lecheros del cantón Cayambe en la provincia del Pichincha.
- Schmitt S., O'Brien D., Bruning Fann C., Fitzgerald S. (2002). Bovine tuberculosis in Michigan wildlife and livestock. *Ann NY Acad Sci*, 969, 262–268.
- Sreevatsan S., Pan X., Stockbauer K., Connell N., Kreiswirth B., Whittam T., Musser J.(1997). Restricted structural gene polymorphism in the Mycobacterium tuberculosis complex indicates evolutionarily recent global dissemination. *Proc Natl Sci USA*, 94,9869–9874.
- Thoen C.& Barletta. (2006). Pathogenesis of Mycobacterium bovis. In; *Mycobacterium bovis infection in animals and humans*. Thoen c., Steele J., Gilsdorf M. (Eds). (Second edition). USA: Wiley- blackwell.
- Torres P. (2009). Situación de la tuberculosis bovina en la República
- Thoen C., LoBue P., de Kantor I. (2010). Why has zoonotic tuberculosis not received much attention?. *Int J Tuberc Lung Dis*, 14(9), 1073-1074.
- Tortoli E. (2006). The new mycobacteria: an update. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*, 48,159-178.
- U.K. Department for Environment Food and Rural Affairs [DEFRA] The Independent Scientific Group on Cattle TB (ISG). Pathogenesis and diagnosis of infections with M. bovis in cattle (Appendix C) [online].DEFRA; 2003 Aug. Available at:
- Vergne, I., Fratti R., Hill P., Chua J., Belisle J., Deretic V. (2004). Mycobacterium tuberculosis phagosome maturation arrest: mycobacterial phosphatidylinositol analog phosphatidylinositol mannoside stimulates early endosomal fusion. *Mol Biol Cell*, 15, 751-60.
- Volk W., Gerhardt B., Hammarskjöld M., Kadner R. (1996). *Essentials of Medical Microbiology*. (fifth ed.). (pp. 429-440). Philadelphia: Lippincott-Raven Publisher.

- Williams S. & Hoy W. (1930). The viability of *B. tuberculosis* (bovinus) on pasture land, in stored faeces and in liquid manure. *Journal of Hygiene*, 30, 413–419.
- Whipple D., Bolin C., Miller J. (1996). Distribution of lesions in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *J Vet Diagn Invest*, 8(3), 351-4.
- Wolfe L., Mahaffey S., Kruh N., Dobos K. (2010). Proteomic definition of the cell wall of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Proteome Res*, 9(11), 5816-26.
- www.serviciometeorologico.gob.ec/en-loja-inamhi-realiza-rendicion-de-...
- Zuber B., Chami M., Houssin C., Dubochet J., Griffiths G., Daffé M. (2008). Direct visualization of the outer membrane of mycobacteria and corynebacteria in their native state. *J. Bact*, 190, 5672– 5680.
- Zumárraga M., Meikle V., Bernardelli A., Tarabla H. Romano M., Cataldi A. (2005). Use of touch-down polymerase chain reaction to enhance the sensitivity of *Mycobacterium bovis* detection. *J Vet Diagn Invest*, 17, 232-238.

9. ANEXOS

ASPECTO MACROSCÓPICO DE ALTERACIONES GANGLIONARES

1.- Ganglios aparentemente normales



Figura 24. Aparentemente normal: A pesar de que los ganglios resultaron positivos en la baciloscopía, no presentaron alteraciones que se puedan evidenciar a simple vista.

2.- Ganglios con hemorragias petequiales y equimóticas

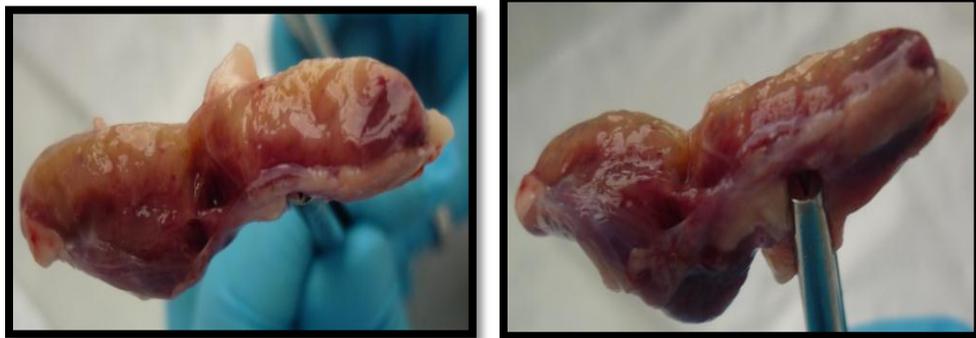


Figura 25 y 26 .Tanto las Hemorragias petequiales como equimóticas: Lesiones pequeñas de color rojo que varían de 2-10 mm.de diámetro, localizadas por la zona cortical y medular del ganglio.

Posibles Causas: Agentes infecciosos bacterianos virales o parasitarios. Traumatismos, trastornos en el metabolismo de las paredes vasculares.

Agentes_ químicos y tóxicos. Neoplasias~ Abscesos hepáticos. Distomatosis. Parasitosis intestinal. Neumonías. Inflamaciones agudas.

3.- Ganglios con hiperplasia



Figura 26. Hiperplasia: Aumento de volumen, friable, pérdida de color, en la zona cortical y medular se observan nódulos irregulares blanco parduzco distribuidos en el parénquima ganglionar.

Posibles Causas: Babesiosis bovina, distomatosis hepática, procesos inflamatorios crónicos.

4.- Ganglios Necrosis Caseosa



Figura 27. Necrosis caseosa: Al corte el centro está constituido por un material de color amarillento- grisáceo, de consistencia grumosa similar al requesón que puede estar parcialmente calcificado.

Posibles Causas: Tuberculosis.

5.- Ganglios pigmentos exógenos como los exógenos

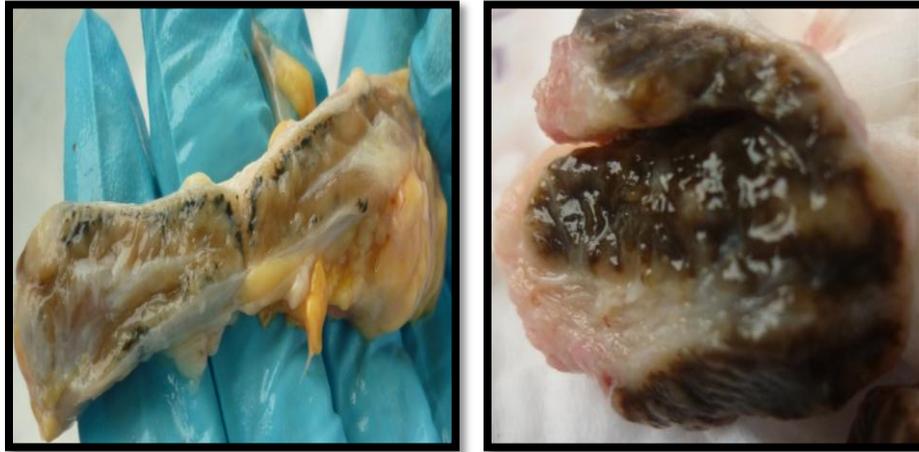


Figura 28 y 29. Tanto los Pigmentos exógenos como los exógenos: Se entiende por pigmento a aquel material granular con color propio, presente en tejidos, tanto a nivel intracelular o extracelular, otorgándoles a los órganos correspondientes una coloración o pigmentación determinada.

Posibles Causas: Procesos involucrados con el depósito de diversas sustancias: grasa, eritrocitos, polvo de carbón (antracosis) pigmentación biliar, -pigmentación sanguínea, melanina, gas (enfisema)

TINCIÓN DE ZIEHL NEELSEN

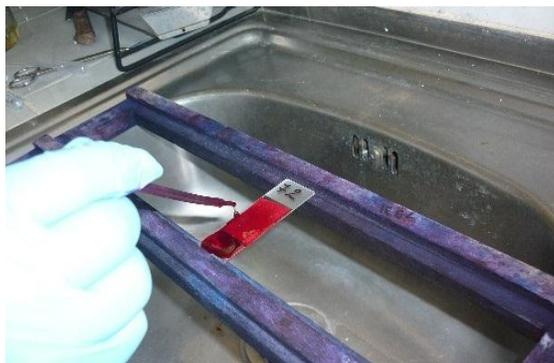


Foto 1 . Cubrimos con fucsina filtrada



Foto 2. Calentamos hasta emisión de vapores tres veces durante 5 minutos



Foto 3. Lavar con agua ha baja presión

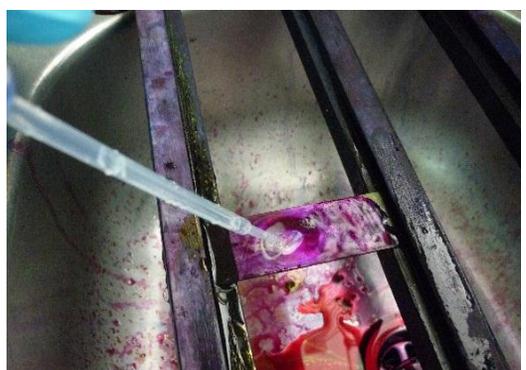


Foto 4. Cubrir con decolorante durante 3 minutos lavar con agua.

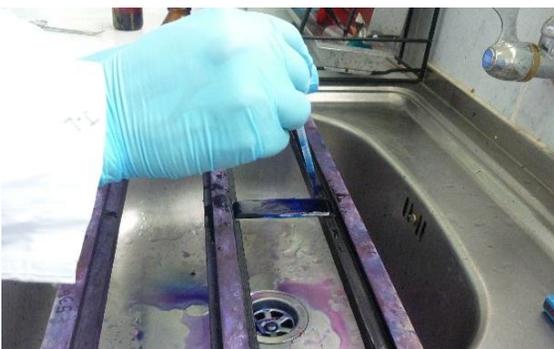


Foto 5. Cubrir con azul de metileno durante 1 minuto .

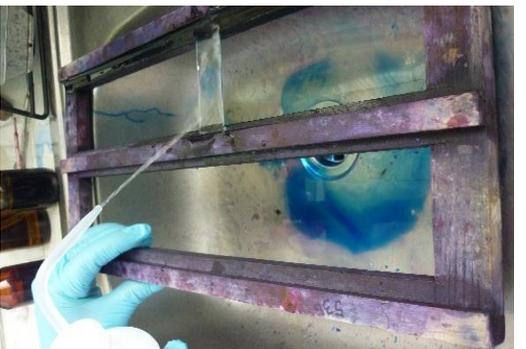


Foto 6. Lavar con agua ha baja presión



Foto7. Secado al aire



Foto 8. Aplicando calor

Registro de Laboratorio

4	Ne Muestra Lab	Ne Ingreso al camal	Propietario	PROCEDENCIA								Características de los animales				NUMERO DE PLACADE LOS GANGLIOS				
				Pcia.	Cton.	Pquia	Ldad	Feria	Predio	Exposició	Especificar	Color	Raza	Edad en A	Sexo	Pulmonar	Bronquial	R. Faring	Mediastin	Cervical
6	1	56	Amable Pineda	Loja	Loja	El Valle	Jipiro		Si		Jipiro Alto	Negra Pintada	Mestiza	2,5	Macho	60	48	43	18	44
7	2	28	Santiago Uchuari	Loja	Loja	El Valle	Jipiro		Si		jipiro	Blanca Pintada	Mestiza	3	Macho	62	13	12	45	55
8	3	21	Fredi Gonzales	Loja	Loja	San Lucas	Las Juntas	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	M. Holstein	4	Macho	15	65	27	28	23
9	4	23	Josè Pizarro	Loja	Loja	El Sagrario	Zamora Huayco		Si		Zamora Huayco	Negra	Mestiza	3	Hembra	50	53	34	36	57
10	5	30	Mario Bermeo	Loja	Loja	San Lucas	Las Juntas	Si			Plaza de Ganado	Negra	Mestiza	3,5	Macho	41	63	56	39	
11	6	25	Mario Bermeo	Loja	Loja	San Lucas	Las Juntas	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	Mestiza	1,5	Macho	35	30	6	8	64
12	7	3	Julio Guaman	Loja	Loja	El valle	Chinguilanchi		Si		Chinguilanchi	Encerado	Mestiza	3	Macho	29	1	54	24	61
13	8	7	Julio Guaman	Loja	Loja	El valle	Chinguilanchi		Si		Chinguilanchi	Negra Pintada	Mestiza	3,5	Macho	66	42	46	22	40
14	9	19	Julio Guaman	Loja	Loja	El valle	Chinguilanchi		Si		Chinguilanchi	Negra Pintada	Mestiza	3	Macho	2	26	20	37	
15	10	5	Fredi Guaman	Loja	Loja	El valle	Carigan		Si		Soilita Samaniego	Negra Pintada	Mestiza	2,5	Macho	32	9	31	3	4
16	11	4	Julio Pineda	Loja	Loja	Santiago	Cenen		Si		Barrio Cenen	Negra Pintada	Mestiza	4	Macho	25	53	49	52	
17	12	12	Mario Bermeo	Loja	Loja	San Lucas	Las Juntas	Si			Plaza de Ganado	Blanca Pintada	M. Holstein	4	Macho	58	5	47	51	
18	13	8	Carlos Aguilar	Loja	Loja	Yangana	Yangana		Si		Yangana	Negra	Mestiza	5	Hembra	16	19	17	14	10
19	14	9	Carlos Aguilar	Loja	Loja	Yangana	Yangana		Si		Yangana	Negra	Mestiza	6	Hembra	11	38	7	21	33
20	15	22	Jerman Sinchire	Loja	Loja	San Lucas	Las Juntas		Si		Plaza de Ganado	Negra Pintada	Mestiza	3	Macho	84	129	105	113	132
21	16	21	Fredi Gonzales	Loja	Loja	Sucre	Plateado	Si			Plaza de Ganado	Encerado	Mestiza	3	Macho	67	136	152	115	88
22	17	10	José Sanchez	Loja	Loja	San Sebastian	Dos Puentes		Si		Dos Puentes	Negra Pintada	M. Holstein	2,5	Macho	98	125	137	68	147
23	18	32	Mario Bermeo	Loja	Loja	El valle	El Calvario		Si		El Calvario	Negra Pintada	M. Holstein	3	Macho	102	83	89	97	76
24	19	51	Amable Pineda	Loja	Loja	Jimbilla	Jimbilla		Si		Jimbilla	Negra Pintada	M. Holstein	3	Macho	77	149	150	135	72
25	20	17	Amable Pineda	Loja	Loja	Jimbilla	Jimbilla		Si		Jimbilla	Enserada Pintada	M. Holstein	3	Macho	131	78	74	80	142
26	21	14	Amable Pineda	Loja	Loja	Jimbilla	Jimbilla		Si		Jimbilla	Colorada Pintada	M. Holstein	4	Hembra	63	87	145	85	110
27	22	24	Amable Pineda	Loja	Loja	Jimbilla	Jimbilla		Si		Jimbilla	Negra	M. Holstein	3	Macho	71	118	91	117	133
28	23	55	Mario Coronel	Loja	Loja	EL Valle	San Cayetano Bajo		Si		San Cayetano Bajo	Negra	Mestiza	2	Hembra	124	94	139	93	73
29	24	26	Luis Sanchez	Loja	Loja	Malacatos	Malacato		Si		Malacatos	Mulato	Mestiza	2,5	Macho	111	96	75	90	148
30	25	48	Luis Sanchez	Loja	Loja	Malacatos	Malacato		Si		Malacatos	Negra	Mestiza	4	Macho	138	70	81	108	120
31	26	3	Julio Guaman	Loja	Loja	San Lucas	Las juntas	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	Mestiza	3	Macho	114	122	106	82	151
32	27	4	Julio Guaman	Loja	Loja	San Lucas	Las juntas	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	M. Holstein	2	Hembra	158	92	99	154	86
33	28	7	Julio Guaman	Loja	Loja	San Lucas	Las juntas	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	Mestiza	3	Macho	119	107	144	128	104
34	29	19	Julio Guaman	Loja	Loja	San Lucas	Las juntas	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	Mestiza	3	Macho	95	130	79	112	103
35	30	31	Miguel Armijos	Loja	Loja	San Lucas	Las juntas	Si			Plaza de Ganado	Negra	M. Holstein	4	Hembra	233	134	126	109	121
36	31	1	Eduardo Gonzales	Loja	Loja	Jimbilla	Jimbilla	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	M. Holstein	3	Macho	100	140	153	127	141
37	32	18	José Pizarro	Loja	Loja	El Sagrario	Zamora Huayco		Si		Zamora Huayco	Negra Pintada	M. Holstein	2	Macho	116	143	155	146	101
38	33	45	Piter Armijos	Loja	Loja	Sucre	Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	M. Holstein	3	Macho	242	123	309	287	290
39	34	47	Angel Pineda	Loja	Loja	Sucre	Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	M. Holstein	4	Hembra	224	211	289	277	216

95	90	39	Mario Bermeo	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra	Mestiza	2,5	Macho	422	408	483	432	417
96	91	5	Fredi Guaman	Loja	Loja	El cisne	El sisne		Si		Carigan	Negra	Mestiza	3	Macho	411	463	486	363	403
97	92	46	José Esparza	Loja	Loja	Taquil	Taquil		Si		Taquil	Negra Pintada	M. Holstein	8	Hembra	363	468	393	436	396
98	93	4	Julio Guaman	Loja	Loja	El Valle	Chinguilanchi		Si		Chinguilanchi	Blanca	Mestiza	1,5	Macho	473	443	471	426	475
99	94	7	Julio Guaman	Loja	Loja	El Valle	Chinguilanchi		Si		Chinguilanchi	Negra Pintada	M. Holstein	2	Macho	365	394	376	328	380
100	95	5	Wilson Merizacos	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	M. Holstein	6	Hembra	332	456	347	325	455
101	96	19	Julio Guaman	Loja	Loja	El Valle	Chinguilanchi		Si		Chinguilanchi	Negra Pintada	M. Holstein	5	Hembra	462	385	435	421	428
102	97	4	Julio Guaman	Loja	Loja	El Valle	Chinguilanchi		Si		Chinguilanchi	Negra Pintada	M. Holstein	7	Hembra	381	410	344	387	424
103	98	1	Gabriel Conde	Loja	Loja	Quinara	Quinara		Si		Quilanga	Blanco Pintado	Mestiza	8	Hembra	461	476	395	441	413
104	99	7	Angel Jimenes	Loja	Loja	Santiago	Santiago		Si		El Tambo	Colorado	Mestiza	5	Hembra	449	477	470	406	453
105	100	9	Darwin Morocho	Loja	Loja	Santiago	Santiago		Si		Numbala	Negro Pintado	Mestiza	8	Hembra	368	431	331	437	407
106	101	28	Santiago Uchuari	Loja	Loja	El Valle	Jipiro Alto		Si		Jipiro Alto	negro	M. Holstein	4	Hembra	621	622	623	624	625
107	102	47	Angel Piedra	Loja	Loja	Sucre	Clodoveo		Si		Clodoveo	Encerado	M. Holstein	8	Hembra	541	542	543	544	545
108	103	49	Merci Uchuari	Loja	Loja	El Valle	Jipiro Alto		Si		Jipiro Alto	Blanca Pintada	M. Holstein	3,5	Macho	496	497	498	499	500
109	104	45	Piter Armijos	Loja	Loja	El Sagrario	Zamora Huayco		Si		Zamora Huayco	Negra Pintada	M. Holstein	3	Macho	591	592	593	594	595
110	105	23	José Pizarro	Loja	Loja	El Valle	Jipiro Bajo		Si		Jipiro Bajo	Colorada Pintado	M. Holstein	4	Hembra	546	547	548	549	550
111	106	51	Amable Pineda	Loja	Loja	Jimbilla	Las Palmas	Si			Plaza de Ganado	Negra	M. Holstein	5	Hembra	566	567	568	569	570
112	107	14	Amable Pineda	Loja	Loja	El Valle	Chinguilanchi		Si		Chinguilanchi	Negra	Mestiza	3	Hembra	526	527	528	529	530
113	108	17	Amable Pineda	Loja	Loja	San Lucas	Las Juntas	Si			Plaza de Ganado	Blanca Pintada	Mestiza	3	Macho	556	557	558	559	560
114	109	10	José Sanchez	Loja	Loja	San Sebastian	Punzara		Si		Punzara	Negra	Mestiza	3	Macho	606	607	608	609	610
115	110	24	Amable Pineda	Loja	Loja	Jimbilla	La chonta		Si		Plaza de Ganado	Colorada Pintada	Mestiza	3	Macho	501	502	503	504	505
116	111	52	Fredi Gonzales	Loja	Loja	El valle	Las Pitas		Si		Las Pitas	Blanca Pintada	M. Holstein	2	Macho	611	612	613	614	615
117	112	21	Fredi Gonzales	Loja	Loja	El valle	Las Pitas		Si		Las Pitas	Blanca Pintada	M. Holstein	3	Hembra	601	602	603	604	605
118	113	35	Fredi Gonzales	Loja	Loja	El valle	Las Pitas		Si		Las Pitas	Negra Pintada	M. Holstein	6	Hembra	571	572	573	574	575
119	114	12	Mario Bermeo	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	M. Holstein	3	Macho	491	492	493	494	495
120	115	30	Mario Bermeo	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	M. Holstein	3	Macho	536	537	538	539	540
121	116	32	Mario Bermeo	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra	Mestiza	3	Macho	596	597	598	599	600
122	117	25	Mario Bermeo	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Colorada	M. Holstein	2,5	Macho	616	617	618	619	620
123	118	39	Mario Bermeo	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra	Mestiza	3	Macho	516	517	518	519	520
124	119	22	Germá Sinchire	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra	Mestiza	5	Hembra	521	522	523	524	525
125	120	37	Germá Sinchire	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	Mestiza	3	Macho	551	552	553	554	555
126	121	42	Germá Sinchire	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Encerado	Mestiza	3	Macho	586	587	588	589	590
127	122	33	Miguel Armijos	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra	Mestiza	2	Macho	511	512	513	514	515
128	123	40	Miguel Armijos	Loja	Loja	Sucre	El Plateado	Si			Plaza de Ganado	Negra Pintada	M. Holstein	4	Macho	576	577	578	579	580
129	124	56	Mauricio Coronel	Loja	Loja	Sucre	San Cayetano		Si		San Cayetano	Negra Pintada	M. Holstein	5	Hembra	531	532	533	534	535

Registros de Campo

Registros de los bovinos faenados en el camal frigorífico (Cafrilosa) procedentes de del cantón Loja								
Fecha			Hora		Animal N°			
Tercenista	Vendedor	Procedencia	Color	N°Guía	Raza	Edad	Sexo	N°A
Datos de la procedencia del animal								
Desde: Feria <input type="checkbox"/> Predio <input type="checkbox"/> Exposición <input type="checkbox"/> Otros <input type="checkbox"/> Especificar _____								
Provincia _____ Canton _____ Parroquia _____								
Localidad/sitio/km. _____ Nombre del propietario _____								
Observación macroscópica								
Signos clínicos	+ o -	Tejidos de estudio	Estabilización	Calcificación	Reblandecimiento			
Debilidad progresiva		Tejido pulmonar						
Pérdida de apetito		Tejido hepático						
Pérdida de peso		Ganglios cervicales						
Fiebre fluctuante		Ganglios pulmonares						
Tos seca intermitente y dolorosa		Ganglios linfáticos						
Taquipneas		Ganglios retro faríngeos						
Disnea		Ganglios bronquiales						
Diarrea.		Ganglios mediastinos						