UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TUBERCULOSIS BOVINA EN ANIMALES FAENADOS EN EL CAMAL DEL CANTÓN SANTA ROSA PROVINCIA DE EL ORO

VITONERA ROGEL RONALD ANDREÉ
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MACHALA
2020

UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TUBERCULOSIS BOVINA EN ANIMALES FAENADOS EN EL CAMAL DEL CANTÓN SANTA ROSA PROVINCIA DE EL ORO

VITONERA ROGEL RONALD ANDREÉ
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

MACHALA
2020

UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRABAJO TITULACIÓN
PROYECTO TÉCNICO

TUBERCULOSIS BOVINA EN ANIMALES FAENADOS EN EL CAMAL DEL CANTÓN SANTA ROSA PROVINCIA DE EL ORO

VITONERA ROGEL RONALD ANDREÉ
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

AGUILAR GALVEZ FERNANDO LENIN

MACHALA, 04 DE MAYO DE 2020

MACHALA
2020

Nota de aceptación:

Quienes suscriben, en nuestra condición de evaluadores del trabajo de titulación denominado TUBERCULOSIS BOVINA EN ANIMALES FAENADOS EN EL CAMAL DEL CANTÓN SANTA ROSA PROVINCIA DE EL ORO, hacemos constar que luego de haber revisado el manuscrito del precitado trabajo, consideramos que reúne las condiciones académicas para continuar con la fase de evaluación correspondiente.

AGUILAR GALVEZ FERNANDO LENIN
0704217348
TUTOR - ESPECIALISTA 1

VARGAS GONZALEZ OLIVERIO NAPOLEON
1101446894
ESPECIALISTA 2

MAZA VALLE WUNSTER FAVIAN
0701791741
ESPECIALISTA 3

Machala, 04 de mayo de 2020

PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA EN ANIMALES FAENADOS EN EL CAMAL DEL CANTÓN SANTA ROSA, PROVINCIA DE EL ORO

INFORME DE ORIGINALIDAD

0%	0%	0%	0%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	www.cepis.ops-oms.org Fuente de Internet	<1%
2	eclipse.red.cinvestav.mx Fuente de Internet	<1%

Excluir citas	Apagado	Excluir coincidencias	< 10 words
Excluir bibliografía	Apagado		

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, VITONERA ROGEL RONALD ANDREÉ, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado TUBERCULOSIS BOVINA EN ANIMALES FAENADOS EN EL CAMAL DEL CANTÓN SANTA ROSA PROVINCIA DE EL ORO, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las dispociones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 04 de mayo de 2020

VITONERA ROGEL RONALD ANDREÉ
0704993815

DEDICATORIA

A mis padres y hermana

El pilar fundamental de mi vida, con su aliento, serenidad y consejos constantes, han dado rumbo a mi vida y el amor suficiente que necesito.

A mi abuela

Por el cariño que me ha brindado a lo largo de los años, además por ser una de las personas que están orgullosas de mí.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser quien da rumbo a mi vida y me ilumina siempre dándome sabiduría y salud.

Gracias a mis padres principalmente por todo el sacrificio que realizaron para darme educación; gracias a mi madre, por cada mañana que me propiciaba alimento para que pueda ejercer jornadas de estudio de calidad, además por preocuparse por mi cada día, y a mi padre por ser mi ejemplar en todos los ámbitos de la vida.

A mis docentes, MVZ Fernando Lenin Aguilar, Dr. Oliverio Napoleón Vargas y al Dr. Favián Wunster Maza, por ser excelentes profesionales y por la ayuda que me brindaron en cuanto a mis necesidades académicas, con su conocimiento y experiencia.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

"PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA EN ANIMALES FAENADOS EN EL CAMAL DEL CANTÓN SANTA ROSA, PROVINCIA DE EL ORO"

Autor: Ronald Andreé Vitonera Rogel

Tutor: Fernando Lenin Aguilar Galvez

RESUMEN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa cuyo agente etiológico es el *Mycobacterium bovis*, el cual afecta al ganado bovino, porcino, caprino y a otros animales domésticos y salvajes, además es fundamental mencionar que también está presente en humanos. La "Office International des Epizooties" (OIE), la considera como una enfermedad importante y de notificación obligatoria debido a los síntomas y alteraciones orgánicas negativas que ocasiona. La prevalencia de la tuberculosis bovina es un factor a analizar constantemente, especialmente en países en desarrollo, porque de acuerdo con publicaciones de hace dos décadas, se estimaba que para un 24% de población bovina en América Latina no existían medidas de prevención y control para esta patología. La tuberculosis bovina (TBB), por ser una patología crónica y además zoonótica debería tener una alta vigilancia epidemiológica en el Ecuador, dado a que, en este país, al igual que en otros países de Latinoamérica existe una importante implicación en cuanto a lo económico y además en la salud pública. En el centro de faenamiento del Cantón Santa Rosa se faenan a diario un promedio de 23 bovinos, destinados al consumo de la población. Estos animales provienen de diferentes sectores de la provincia (parte alta y baja de El Oro); estudios anteriores, como el de Lojan (1982), estima en ganado de carne

un 0,27% de prevalencia aparente de TBB en Santa Rosa – El Oro mediante la prueba de tuberculina. Por otro lado, Jaramillo (2002) indica un 0% de prevalencia con análisis macroscópico, en un estudio realizado en el camal del cantón; con el propósito de actualizar datos acerca del porcentaje de esta afección en animales bovinos, y ser más preciso en el resultado final de la investigación, se ha implementado un mayor número de métodos diagnósticos que en estudios predecesores. Utilizando técnicas como la observación macroscópica a linfonodos retrofaríngeos, bronquiales y mediastínicos con lesiones compatibles con la tuberculosis bovina se recolectaron las muestras para su posterior cultivo microbiológico y tinción Ziehl-Neelsen para la baciloscopía, además se ejecutó la técnica PCR-LAMP para corroborar los resultados obtenidos. Con esto se pudo establecer el porcentaje de prevalencia de tuberculosis bovina en animales faenados en el centro de faenamiento del cantón Santa Rosa. Se evaluaron 157 animales, de los cuales mediante la inspección macroscópica se determinó que 25 tenían indicios de compatibilidad con tuberculosis lo que representa un 15,9% es decir, sus ganglios linfáticos poseían lesiones caseosas o su coloración era amarillenta, oscura o grisácea, teniendo en cuenta siempre otras condiciones anormales que podían presentar a nivel pulmonar. A estas muestras se las trasladó hacia laboratorios del Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación (INSPI) en Guayaquil, respetando en todo momento la cadena de frío correspondiente, después se procedió a realizar el cultivo microbiológico en medios tales como Ogawa Kudoh y Stonebrink, se dejó incubar a temperatura de 37° Celsius por un lapso de seis semanas y posteriormente para hacer la baciloscopia se usó la tinción de Ziehl-Neelsen. El resultado obtenido en el análisis microbiológico fue 28% (7/25) positivo a BAAR (Bacilos Ácido Alcohol Resistentes) aislado en los dos medios de cultivo mencionados. A estas muestras positivas se las sometió a otro estudio mediante la prueba molecular PCR-LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) con lo que se pudo evidenciar una prevalencia de *M. bovis* de 0%, y un 2,5% de animales con Mycobacterium *spp*. en el ganado bovino faenado en el camal del cantón Santa Rosa.

PALABRAS CLAVE: Tuberculosis bovina, Mycobacterium bovis, cultivo microbiológico, baciloscopía, LAMP

ABSTRACT

Tuberculosis is an infectious disease whose etiological agent is Mycobacterium bovis, which affects cattle, pigs, goats and other domestic and wild animals, it is also essential to mention that this pathology is also present in humans. The “Office International des Epizooties” (OIE), considers it as an important disease and mandatory notification due to the symptoms and negative organic alterations that it causes. The prevalence of bovine tuberculosis is a factor to be analyzed constantly, especially in developing countries, because according to publications from two decades ago, it was estimated that for 24% of bovine population in Latin America there were no prevention and control measures for this disease. Bovine tuberculosis (BTB), for being a chronic and zoonotic pathology, should have a high epidemiological surveillance in Ecuador, because in this country, as in other Latin American countries, there is an important economic implication and also in public health. In the slaughter center of Santa Rosa, an average of 23 cattle are slaughtered daily, intended for the consumption of the population. These animals come from different sectors of the province (upper and lower part of El Oro); previous studies like Lojan (1982) thesis, estimate in beef cattle 0.27% apparent prevalence of BTB in Santa Rosa - El Oro through the tuberculin test. On the other hand, Jaramillo (2002) indicates a 0% prevalence with macroscopic analysis, in a study carried out in the cantonal slaughterhouse; with the purpose of updating data about the percentage of tuberculosis in bovine animals, and being more precise in the final result of the investigation, a greater number of diagnostic methods have been implemented in this investigation than in predecessor studies. Using techniques such as macroscopic observation of retropharyngeal, bronchial and mediastinal lymph nodes with compatible lesions with BTB, samples have been collected for a microbiological culture and Ziehl-Neelsen staining for bacilloscopy, In addition, the PCR-LAMP technique was performed to corroborate the obtained results. With this it was possible to establish the percentage of prevalence of bovine tuberculosis in animals slaughtered in the slaughter center of Santa Rosa. 157 animals were evaluated, of which by macroscopic inspection it was determined that 25 had evidence of compatibility with tuberculosis signs which represents 15.9%, In other words, their lymph nodes had caseous lesions or their coloration was yellowish,

dark or grayish, always considering other abnormal conditions that could occur at the pulmonary level. These samples were transferred to laboratories of the National Institute of Public Health and Research (INSPI) in Guayaquil, respecting at all times the corresponding cold chain, then the microbiological culture was carried out in media such as Ogawa Kudoh and Stonebrink, it was incubated at 37 ° Celsius for a period of six weeks and then Ziehl-Neelsen staining was used to perform the bacilloscopy. The result obtained in the microbiological analysis was 28% (7/25) positive for BAAR (Resistant Alcohol Acid Bacilli) isolated in the two culture media mentioned. These positive samples were subjected to another study using the PCR-LAMP molecular test (Loop-mediated isothermal amplification) with which it was possible to show a prevalence of M. bovis of 0%, and 2.5% of animals with Mycobacterium spp. in cattle slaughtered in Santa Rosa.

KEY WORDS: Bovine tuberculosis, Mycobacterium bovis, microbiological culture, bacilloscopy, LAMP

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN 12

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 15

1.1. Generalidades de la tuberculosis bovina 15

1.1.1. Definición 15

1.1.2. Historia 16

1.1.3. Etiología 16

1.1.4. Clasificación taxonómica del Mycobacterium bovis 17

1.1.5. Signos y síntomas 18

1.1.6. Transmisión 19

1.1.7. Periodo de incubación y excreción 20

1.1.8. Patogenia 20

1.1.9. Fases de la tuberculosis 22

1.1.10. Diagnóstico 23

1.1.11. Tratamiento 26

1.1.12. Prevención y control 26

1.1.13. Importancia en salud pública 27

1.1.14. Epidemiología 28

1.1.15. Factores asociados a la tuberculosis bovina 34

2. MATERIALES Y MÉTODOS 35

2.1. Zona de estudio 35

2.1.1. Localización del área de estudio 35

2.1.2. Características de la zona de estudio 36

2.2. Materiales 36

2.2.1. De campo 36

2.2.2. De laboratorio 37

2.2.3. Equipos 37

2.2.4. Sustancias y reactivos 38

2.3. Metodología 38

2.3.1. Técnicas e instrumentos de investigación 38

2.3.2. Tipo de investigación 39

2.3.3. Población y muestra 39

2.3.4. Variables 39

2.3.5. Análisis estadístico 40

2.3.6. Metodología del trabajo 40

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 47

3.1. Determinación de la presencia de linfonodos alterados en animales muestreados 47

3.2. Identificación de la presencia de Bacilos Ácido-Alcohol Resistentes (BAAR) como causa de lesiones ganglionares, a partir de cultivos microbiológicos 48

3.3. Determinación de la prevalencia de tuberculosis bovina mediante la técnica PCR-LAMP 49

3.4. Variables 50

4. CONCLUSIONES 55

5. RECOMENDACIONES 57

6. BIBLIOGRAFÍA 58

7. ANEXOS 71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del M. bovis 18
Tabla 2. Prevalencia aparente de Tuberculosis Bovina en ganado de carne en Ecuador, acorde a estudios entre 1977-2004 31
Tabla 3. Prevalencia aparente de Tuberculosis Bovina en ganado lechero en Ecuador, acorde a estudios entre 1977-2008 31
Tabla 4. Prevalencia de Tuberculosis Bovina a nivel de camal en Ecuador, acorde a estudios entre 1972-2008 32
Tabla 5. Porcentajes de prevalencia de Tuberculosis bovina en Ecuador, basado en estudios realizados desde 2008 hasta 2019 32
Tabla 6. Resultados de la presencia de alteraciones compatibles con tuberculosis bovina mediante la técnica de observación macroscópica 47
Tabla 7. Resultados de baciloscopía de colonias aisladas de los medios de cultivo Ogawa Kudoh y Stonebrink 48
Tabla 8. Resultados de PCR-LAMP 49
Tabla 9. Prevalencia de tuberculosis bovina de acuerdo a la raza 50
Tabla 10. Prevalencia de tuberculosis bovina de acuerdo a la edad 51
Tabla 11. Prevalencia de tuberculosis bovina con respecto al sexo 52
Tabla 12. Prevalencia de tuberculosis bovina según el lugar de procedencia 54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura básica de un granuloma tuberculoso 22
Figura 2. Distribución mundial de TBB en el año 2017 y el primer semestre del 2018 29
Figura 3. Situación de la Tuberculosis Bovina en Ecuador, 1972-2008 30
Figura 4. Ubicación del centro de faenamiento del Cantón Santa Rosa 35
Figura 5. Preparación de primers para LAMP 86
Figura 6. ADN Polimerasa 86
Figura 7. Muestras en termociclador 87
Figura 8. Electroforesis 87
Figura 9. Lectura con luz UV 88

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Datos de frecuencia del lugar de procedencia de bovinos que presentaron ganglios con lesiones compatibles a tuberculosis bovina 53

INTRODUCCIÓN

La Tuberculosis bovina (TBB), es una patología infecciosa crónica cuyo agente etiológico es el *Mycobacterium bovis*; afecta a la mayoría de animales domésticos y salvajes, y es importante mencionar que se presenta también en el ser humano, siendo una de las enfermedades zoonóticas con implicaciones considerables en la salud pública, especialmente en países donde son escasos los programas de erradicación (1). La enfermedad está presente generalmente en países en desarrollo, con resultados negativos en el aspecto económico y social (2).

Por motivo del periodo de incubación prolongado y el lento desarrollo de los signos clínicos en la infección de *M. bovis*, se torna muy difícil diagnosticar la enfermedad con exámenes de rutina en una etapa temprana (3). La principal forma de transmisión de la TBB es generalmente horizontal y se transmite comúnmente al hombre a través del contacto directo con animales infectados o por medio de la ingesta de leche proveniente de animales con tuberculosis. Es fundamental señalar que con la pasteurización de la leche a temperatura entre 55-70 °C, que comenzó a realizarse en el año 1935, ha disminuido de manera efectiva la transmisión del agente infeccioso a los humanos (4).

Los animales afectados por tuberculosis presentan pérdida progresiva de peso corporal, disminución en la producción láctea, y formación de tubérculos o granulomas principalmente en pulmones, pero también ocasionalmente se forman en otros órganos incluyendo el hígado, intestinos y testículos o útero. Sin embargo, no se ha informado que afecte al sistema nervioso, por lo tanto, se considera que la TBB afecta sobre todo a nivel del tracto respiratorio, ganglios linfáticos regionales y una segunda fase de la tuberculosis infecta intestinos, huesos, meninges, articulaciones, riñones y otros tejidos (3).

Ecuador es uno de los países en donde no existe un control riguroso para esta enfermedad, sin embargo, Ramos (5) manifiesta que Agrocalidad está ejecutando un proyecto dedicado al control de enfermedades de notificación obligatoria en bovinos, tales como la tuberculosis y brucelosis, que gracias a la colaboración del sector privado realizan regímenes y plantean planes para erradicar y prevenir estas patologías que influyen en la salud pública. Por otro lado, es de gran importancia señalar que se deben realizar estudios de incidencia y prevalencia de la TBB en el país, porque no existe la suficiente

información del porcentaje de ésta a nivel provincial o cantonal en la mayoría de lugares del Ecuador. No obstante, últimamente en el Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación (INSPI), se está llevando a cabo un proyecto que se dedicará a estimar el porcentaje de prevalencia de tuberculosis bovina en los mataderos de bovinos de todo el Ecuador.

En el Ecuador se aplica un protocolo que deben seguir los ganaderos, que consiste en que estos deben ejecutar de manera obligatoria dos pruebas de tuberculina a cada animal para confirmar positividad o negatividad a la enfermedad. A los reactores positivos tienen la obligatoriedad de reportarlos y sacrificarlos. En todo caso, es factible hacer uso de métodos diagnósticos complementarios para así plantear resultados más certeros, es por ello que se efectuó esta investigación para comprobar la prevalencia de tuberculosis bovina aplicando inspección post mortem, baciloscopia y PCR-LAMP, dado a que en el cantón Santa Rosa de la provincia de El Oro, son escasos sus estudios.

OBJETIVO GENERAL

Estimar el porcentaje de prevalencia de tuberculosis bovina, mediante métodos diagnósticos de inspección macroscópicos, cultivos especializados, y análisis de PCR-LAMP de linfonódulos obtenidos de canales sospechosas, en el centro de faenamiento del cantón Santa Rosa de la provincia de El Oro.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la presencia de linfonodos alterados en cadenas ganglionares gastrointestinal y respiratoria con lesiones compatibles con tuberculosis por medio de inspección macroscópica.

- Identificar la presencia de *Mycobacterium bovis*, como causa de las lesiones ganglionares, mediante cultivos bacteriológicos, tinción Ziehh-Neelsen y baciloscopia para gérmenes ácido-alcohol resistentes.

- Determinar la presencia de *Mycobacterium bovis* mediante la técnica PCR-LAMP.

- Establecer el índice de tuberculosis bovina según la raza, el sexo, edad y el lugar de procedencia de los animales sacrificados en el camal Santa Rosa.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Generalidades de la tuberculosis bovina

1.1.1. Definición

Cuando hablamos de la Tuberculosis Bovina (TBB), nos referimos a una patología infecciosa crónica, cuyo agente etiológico es el *Mycobacterium bovis*, el cual es un bacilo que forma parte del complejo MBTC (Mycobacterium tuberculosis). Principalmente está presente en el ganado vacuno, pero eso no quiere decir que no afecta a otros animales, pues la tuberculosis tiene incidencia en una gran cantidad de animales tanto domésticos como salvajes, además por ser de carácter zoonótico, el ser humano es también uno de sus huéspedes, por lo que se trata de una enfermedad de notificación obligatoria (6).

La tuberculosis bovina, siendo zoonótica y encontrándose a nivel global, tiene impactos significativos en la salud humana y animal, así como en el bienestar económico. Su erradicación es obstaculizada fundamentalmente por su epidemiología compleja, que implica a huéspedes silvestres en una gran cantidad de países en el mundo (7). A nivel global, a pesar de la existencia de programas nacionales de erradicación de TBB, aún existen porcentajes de prevalencia significantes, que deben ser considerados para establecer métodos de prevención y control efectivos, en especial en países en desarrollo, en donde se presenta la patología con más frecuencia.

El *Mycobacterium bovis* es el causante principal de tuberculosis en una amplia variedad de huéspedes animales salvajes y domésticos, limita considerablemente la productividad del ganado y representa una muy grave amenaza zoonótica, debido a que según estudios, causa aproximadamente el 10% del total de los casos de tuberculosis humana en el mundo (8). Schiller et al. (9) señalan que es un desafío erradicar completamente a la tuberculosis por motivo de la presencia del *M. bovis* en animales salvajes y su alto potencial para propagarse a otras especies de mamíferos y aves.

1.1.2. Historia

En el año 1720, el médico inglés Benjamín Marten, conjeturó el origen infeccioso de la tuberculosis (10). La tuberculosis a mediados del siglo XIX provocaba muchas desgracias, pues en 1815, esta enfermedad era muy frecuente y exterminó prematuramente a la cuarta parte de la población europea aproximadamente. El científico famoso Robert Koch aisló el bacilo tuberculoso y fue capaz de demostrar este logro en Berlín el 24 de marzo de 1882 (11).

Unos años después, en 1890, Koch desarrolló la tuberculina y reconoció que existía la posibilidad de usarla para detectar animales infectados con tuberculosis. Las primeras pruebas rápidamente se desarrollaron, y hoy en día sigue usándose este método diagnóstico. Con el pasar de los años, varios investigadores cooperaron en optimizar y refinar la estandarización y producción de la tuberculina, además a mejorar la sensibilidad y especificidad de esta prueba diagnóstica experimentando diversas metodologías y sitios de inoculación de la misma (12). Smith (13) señala que el bacilo causante de la TBB (*M. bovis*) y tuberculosis humana (*M. tuberculosis*), difieren en distintos aspectos con relación a su patogenicidad.

En 1921, Calmette Albert y Guérin Camille, científicos franceses, elaboraron una vacuna para la prevención de la tuberculosis, ésta se denominó “bacille Calmette-Guérin” (BCG) que es una cepa atenuada de M. bovis (14).

La tuberculosis presenta una distribución a nivel mundial desde hace muchísimos años; en América la TBB apareció hace aproximadamente 17000 años, esto se comprobó al determinar que, en una muestra del sistema óseo de un bisonte existían micobacterias del complejo M. tuberculosis (CMTB) y además lesiones compatibles con la enfermedad (15).

1.1.3. Etiología

Abdifetah (16) manifiesta que la tuberculosis bovina es una patología de origen bacteriano causada por Mycobacterium bovis, bacteria Gram positiva. Este patógeno pertenece al complejo Mycobacterium tuberculosis (MBTC), el cual es un grupo

clasificatorio de micobacterias genéticamente relacionadas. El Mycobacterium bovis, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium africanum, Mycobacterium pinnipedi, Mycobacterium caprae, Mycobacterium microti, el oryx bacillus, dassie bacillus, y el últimamente descubierto Mycobacterium mungi, forman este complejo MBTC; aunque es necesario decir que el Mycobacterium bovis y el Mycobacterium tuberculosis son las especies más importantes de este complejo mencionado, porque son los más frecuentes que provocan la tuberculosis en humanos y animales.

Jemal (17) indica que el *M. bovis* es un bacilo que posee una forma recta o ligeramente curvada, cuyas medidas oscilan entre 1-10 µm de longitud y de 0,2-0,6 µm de ancho. El M. bovis tiene una membrana celular rica en lípidos, por lo que presenta una capa cerosa que le proporciona ácido resistencia e hidrofobicidad. Esta capa cerosa en gran medida es responsable de su resistencia bacteriana a muchos desinfectantes, distintos antibióticos y a lesiones físicas, es por esto que se dice que probablemente sea esta la razón de su lenta tasa de crecimiento al restringir la absorción de nutrientes de manera más dinámica.

1.1.4. Clasificación taxonómica del Mycobacterium bovis

En investigaciones pasadas, se agrupaban a las distintas especies relacionadas con Mycobacterium tuberculosis en el mismo género, por ejemplo: Mycobacterium fortuitum, Mycobacterium abscessus, Mycobacterium goodii, Mycobacterium chelonae, Mycobacterium smegmatis y Mycobacterium bovis (18), sin embargo, Tsang (19) señala que clasificaciones taxonómicas recientes basadas en estudios evolutivos y genómica comparativa han distribuido a todas estas especies en tres diferentes géneros con historias evolutivas separadas, es por esto que ahora se clasifican en: Mycobacteroides abscessus y Mycobacteroides chelonae; Mycolicibacterium goodii, Mycolicibacterium smegmatis; Mycobacterium tuberculosis y Mycobacterium tuberculosis variante bovis. En la tabla 1, se muestra la clasificación taxonómica del agente etiológico de la tuberculosis bovina.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del M. bovis

REINO	Bacteria
FILO	Actinobacteria
CLASE	Actinobacteria
SUBCLASE	Actinobacteridae
ORDEN	Actinomicetales
SUBORDEN	Corynebacterineae
FAMILIA	Mycobacteriaceae
GÉNERO	Mycobacterium
ESPECIE	Mycobacterium bovis

Fuente: (20,21)

1.1.5. Signos y síntomas

La tuberculosis es una de las enfermedades más antiguas que existen; como ya se mencionó, posee un periodo de incubación largo, por ende, es difícil juzgar los signos y síntomas clínicos en su fase temprana. La TBB permanece en estado subclínico en la mayoría de las ocasiones, pero entre sus signos clínicos se puede destacar que animales con tuberculosis presentan leves grados de pirexia, letargo, anorexia, emaciación, disnea, y tos (22).

Leghari et al. (23) manifiestan que la TBB se caracteriza por producir granulomas a nivel de ganglios linfáticos, además por ser una afección debilitante. Puede afectar a cualquier tejido del organismo, pero se centra de manera particular en pulmones, linfonodos, tejido hepático, bazo, pleura y además peritoneo. En algunos casos es una enfermedad latente por lo que es difícil determinar con “ojo clínico” la presencia de la patología, aunque en otros casos, los animales con tuberculosis pueden volverse afectados de una manera severa en unos pocos meses de haber contraído el M. bovis. En otros casos, hay animales que pueden tardar varios años en demostrar signos clínicos compatibles con la enfermedad.

1.1.6. Transmisión

Las infecciones por Mycobacterium bovis pueden ocurrir en una gran diversidad de animales, provocando la tuberculosis, y estos seres infectados son categorizados como hospedadores reservorios (24) que posteriormente pueden propagar la enfermedad hacia distintos animales.

Campbell (25) indica que debido a que la tuberculosis se presenta frecuentemente en animales silvestres, es de gran importancia conocer que estos pueden transportar al *M. bovis* hacia seres susceptibles, dado a que propagan al agente infeccioso dentro de las poblaciones y es por esto que en países donde no se controla la enfermedad, estos hospedadores reservorios son un riesgo complicado para los animales domésticos y por ende para la población humana.

Al existir una gran cantidad de especies hospedantes del agente infeccioso, da lugar a que acaezcan múltiples vías de transmisión (26). Es por esto, que el M. bovis se puede transmitir entre animales por inhalación de aerosoles o por la ingestión de alimentos contaminados con este bacilo. La transmisión es reforzada por una gran variedad de factores de riesgo, comúnmente relacionados con sistemas de ganadería intensiva. En ganadería, se han realizado estudios en donde han determinado que la transmisión de tuberculosis desde animales silvestres al ganado ocurre a través del contacto directo con recursos que comparten, como por ejemplo el lugar en donde ingieren agua, o de forma indirecta a través de la contaminación de pasturas por parte del animal silvestre, que el bovino consume posteriormente (27); la bacteria también puede infectar por otras vías, como por tejido expuesto en heridas en tejido tegumentario, además por vía láctea (28). Ramos (5) señala que la transmisión vertical de la TBB no es común, pero puede suceder hasta en el 1% de los casos de vacas infectadas, esto se da mediante la transmisión de la micobacteria por el cordón umbilical; por vía genital no es común su transmisión.

El ser humano generalmente contrae el M. bovis por consumir leche que no se ha sometido a procesos de pasteurización, por ingerir derivados lácteos crudos infectados, mediante la inhalación por vía aerógena o al estar en contacto con animales afectados con tuberculosis (29). Hurtado (30) manifiesta que las buenas prácticas de manejo,

preparación y cocción de la carne de animales con tuberculosis, evitan la transmisión por consumo.

1.1.7. Periodo de incubación y excreción

En bovinos, los signos de la tuberculosis aparecen de manera tardía, pueden presentarse de 15 a 34 meses después de la infección, o bien, manteniéndose como infección latente. Los signos podrían observarse después de varios años cuando el animal tenga una inmunodepresión por estrés, edad avanzada y entre otras causas (31).

La excreción del *M. bovis* se da por distintas vías, pueden expulsarse por las heces o principalmente a través de fluidos como saliva, esputo, leche, semen y secreciones vaginales (32).

1.1.8. Patogenia

Mehmood (33) menciona que la TBB conlleva a lesiones en linfonodos retrofaríngeos, cervicales y además afecta a los pulmones. Los primeros en interactuar cuando ocurre la infección a través del tracto respiratorio (la cual es la principal vía) son los macrófagos alveolares.

En humanos la respuesta inmune a M. bovis y a M. tuberculosis es similar, pero de igual manera hay una gran necesidad de investigar más a fondo estos procesos, especialmente la parte en la que se da la interacción Macrófago-Mycobacterium, debido a que podría conducir a un desarrollo terapéutico selectivo y efectivo (34).

Las lesiones de la tuberculosis bovina dependen directamente de la vía de ingreso del patógeno. Siendo la ruta más común por inhalación, causa lesiones en el tracto respiratorio superior, afectando linfonodos del área dicha. Si la vía de ingreso es oral, provoca lesiones en ganglios linfáticos mesentéricos y de la pared intestinal. La forma de transmisión vertical es muy rara, producto de los controles de erradicación y prevención que se efectúan (33).

Al entrar el antígeno al huésped, se reclutan neutrófilos, monocitos y células dendríticas en el sitio de infección. Los macrófagos destruyen a los bacilos si el número es

relativamente bajo. A pesar de ello, las micobacterias tienen la capacidad de evadir estas respuestas inmunes y de sobrevivir y replicarse de manera intracelular. Los monocitos fagocitan los bacilos y se dirigen hacia linfonodos regionales para inducir la respuesta de los linfocitos Th1 (linfocitos T helper 1) formando granulomas (34).

En organismos con inmunidad fuerte, por lo común las células inmunológicas previenen la formación y difusión de lesiones a los demás órganos, la respuesta inmune en las vías respiratorias por lo regular no puede controlar la infección. Es por esto que, con el pasar del tiempo, las pequeñas lesiones evolucionan y se tornan más grandes provocando tuberculosis crónica en pulmones, presentando en estos órganos necrosis caseosa y lesiones en el lóbulo afectado. Los nodos linfáticos afectados de manera crónica se hipertrofian y se cubren por un material caseoso granulomatoso rodeado por tejido fibroso (33).

- *Estructura y función de los granulomas*

Ndlovu (35) señala que una característica patológica común de la tuberculosis es la formación de granulomas, esto se da por factores bacterianos y del huésped en los pulmones de individuos infectados. Un granuloma es una estructura inmunológica compacta y organizada, rica en células inmunes, entre ellas monocitos, macrófagos, neutrófilos, macrófagos epitelioides, células dendríticas, células NK (natural killers), células gigantes multinucleadas y células espumosas. Esta estructura es rodeada por una capa de linfocitos, logrando establecer una estructura sólida y ordenada (Figura 1).

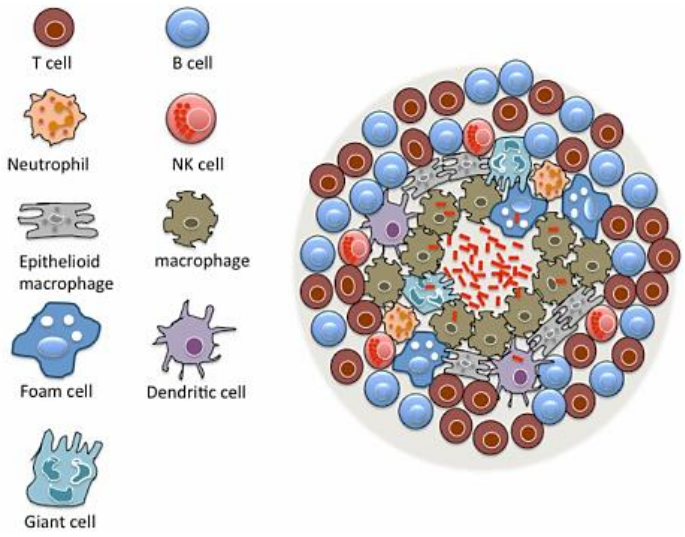


Figura 1. Estructura básica de un granuloma tuberculoso

Estos tipos de células mencionadas forman el granuloma o tubérculo, que es un nódulo granulomatoso amarillento inflamado con un diámetro de aproximadamente 2-20 mm, y un centro caseoso necrótico (36). Al formarse los granulomas, se previene la propagación de micobacterias a otros órganos y tejidos del organismo, además cabe resaltar que el granuloma no afecta al huésped y no elimina a las micobacterias, por lo que se convierte en tuberculosis latente (37).

1.1.9. Fases de la tuberculosis

- *Fase de primo-infección*

Esta fase ocurre cuando el bacilo ingresa por primera vez al organismo. En la primo-infección acontece el aparecimiento de lesiones en el órgano de penetración y su ganglio dependiente, a esto se le llama complejo primario, que implica (dependiendo la vía de ingreso de la micobacteria) al sistema respiratorio, hepático, renal o digestivo. En los pulmones la lesión se suele dar en la porción dorso-caudal, en la zona subpleural del lóbulo diafragmático, o también en el lóbulo craneal pulmonar. El complejo primario, dependiendo al sistema inmune del hospedador, puede evolucionar a una bacilemia sin

reacción tisular, a una bacilemia con reacción tisular por causa del bacilo diseminado por las diferentes vías, a una total curación o a un estado de latencia de la enfermedad (38).

- *Fase post primaria*

Cushicóndor (39) manifiesta que esta fase se da cuando hay infección sobreaguda del *M. bovis,* producto de una reinfección exógena (llamada así porque el hospedador adquiere más bacilos del exterior), o por una reactivación endógena. La reactivación endógena acaece cuando en la primera fase (primo-infección), hay una reactivación de focos preexistentes.

- *Fase de agravamiento*

Esta fase es la que se origina por el vencimiento de la resistencia adquirida al bacilo, que puede ser originada principalmente por una inmunosupresión por alimentación deficiente, infecciones secundarias, agotamiento, o periodos fisiológicos como gestación o lactancia (39).

1.1.10. Diagnóstico

La tuberculosis se caracteriza porque en algunos casos presenta un largo periodo latente en donde un individuo infectado puede excretar intermitentemente las bacterias, antes de que la enfermedad se vuelva clínicamente aparente. Es por esto que para prevenir la propagación de la patología es de gran importancia diagnosticar y controlar la infección (40). Li (41) explica que los métodos de diagnóstico para TBB se los puede dividir en dos grupos, como por ejemplo en pruebas directas e indirectas. Las pruebas directas están diseñadas para identificar directamente al organismo infeccioso en el huésped, en esta categoría tenemos principalmente a los exámenes post mortem y pruebas asociadas que se usan para confirmar la infección, como puede ser la identificación de lesión y el posterior cultivo bacteriológico. Si hablamos de las pruebas indirectas, nos referimos a los métodos diagnósticos ante mortem, que ayudan a identificar la infección del *M. bovis* en animales vivos.

- *Prueba de la tuberculina*

Es el más común, implica la inyección de una pequeña cantidad de PPD (Derivado Proteico Purificado de tuberculina), el cual es un extracto antigénico que se deriva de un cultivo del Mycobacterium en un medio sintético. El PPD se inocula en el animal para determinar si presenta el agente etiológico de la tuberculosis, por lo que en reactores negativos no se observa una respuesta inflamatoria local importante luego de 48-72 horas post inyección. No obstante, animales enfermos o infectados, presentarán la reacción tuberculínica, siento esta una respuesta inmune de hipersensibilidad tipo IV tardía en el sitio donde se inyectó el PPD (42).

- *Diagnóstico Clínico*

Cushicóndor (39) señala que el diagnóstico clínico tiene un valor limitado debido a que la tuberculosis puede seguir un curso rápidamente progresivo o también puede ser latente o subclínica y presentar sus signos y síntomas en fases tardías.

Para el diagnóstico clínico, el especialista se basa en signos clínicos de la tuberculosis, entre los cuales tenemos la hipertrofia de linfonodos, fiebre fluctuante, pelo áspero, debilidad, dolor respiratorio agudo. Podría presentar manifestaciones como diarrea o estreñimiento, esto depende si el bacilo infestó el tracto digestivo (39).

- *Inspección Veterinaria*

La inspección veterinaria se la realiza en camales, y consiste en la observación macroscópica de lesiones granulomatosas, caseosas o mineralizadas en ganglios linfáticos y órganos relacionados con posibles vías de entrada de los bacilos. Este examen posee una sensibilidad de 28,2% si hablamos de inspecciones ordinarias en centros de faenamiento; la especificidad para lesiones identificadas como tuberculosis es del 99,3% (39).

- *Baciloscopía*

La técnica mayormente usada para observar los bacilos tuberculosos es la tinción Ziehl-Neelsen, con la cual se colorea de color rojo a los BAAR (Bacilos Ácido Alcohol Resistentes), grupo en el que se encuentra el *M. bovis*. El compuesto fenólico carbol

fucsina se usa como colorante primario, el cual penetra la pared del bacilo. Después de haber teñido la muestra, la micobacteria debe resistir a la decoloración por el ácido alcohol. Por motivo del uso de azul de metileno como medio de contraste, en la microscopía se observan bacilos rojos en fondo azul. La baciloscopía presenta una sensibilidad de 43,5% y una especificidad de 94,4% (39).

- *Cultivo bacteriológico y medios de cultivo*

Los procesos de descontaminación son muy importantes al realizar cultivo bacteriológico para aislar colonias de bacilos tuberculosos. Las condiciones de incubación y los medios de cultivos empleados influyen directamente en el aislamiento del *M. bovis*. El cultivo bacteriológico presenta una sensibilidad de 53% y un 88% de especificidad. Las muestras cultivadas generalmente son provenientes de ganglios linfáticos y/o tejidos pulmonares de animales sospechosos observados con lesiones macroscópicas compatibles con la enfermedad. Para realizar el cultivo bacteriológico se debe realizar una correcta descontaminación de la muestra con NaOH y después para la neutralización se emplea un ácido. Después se inocula en medios de cultivos como Ogawa Kudoh y Stonebrink para someter a incubación a temperatura de 37° C en oscuridad. El crecimiento micobacteriano se debe observar cada 7 días hasta la semana 8 de incubación (39).

El medio de cultivo Ogawua Kudoh (OK) es muy recomendado para aislar M. tuberculosis. Se trata de un medio económico, cuyo pH debe ser de 6,4; el OK no es selectivo para *M. bovis*, por lo tanto, otras micobacterias (incluye no patógenas) pueden crecer en el mismo. Contiene huevos enteros frescos, verde malaquita, sales minerales, asparragina y glicerol (43). Por otro lado, Mora (44) señala que el medio de cultivo Stonebrink, el cual contiene huevos enteros frescos, verde malaquita, agua purificada, y en lugar de glicerol, contiene piruvato, por lo que es especial para el crecimiento de *M. bovis.*

- *PCR*

El diagnóstico por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) del *Mycobacterium bovis*, usando cebadores específicos, altamente sensible, rápido y posee un gran valor en estudios epidemiológicos (45). El PCR ha sido utilizado para amplificar diferentes

regiones del genoma micobacteriano (46). Cedeño (45) manifiesta que este método diagnóstico muestra una sensibilidad que varía de moderada a buena, oscila entre 65 a 90%; la especificidad del PCR es muy alta, con porcentajes de 98 a 99%.

1.1.11. Tratamiento

En bovinos con tuberculosis se han aplicado tratamientos sin eficacia, como por ejemplo la utilización de isoniazida (el cual es un fármaco antituberculoso) en el pastoreo. Sin embargo, esta patología se puede controlar y luego erradicar, ejecutando programas y/o acciones orientados a identificar, detectar y eliminar a los animales reactores positivos (47).

Es de gran importancia aclarar que en la actualidad se comercializan una gran variedad de quimioterápicos y antibióticos para combatir a la TBB, pero no se recurre a estos por motivo de costos elevados, mutación del agente etiológico, riesgo de resistencia al antimicrobiano y por peligro de contagio (47). Por otro lado, en cuanto al ser humano, Bartaula et al. (48) señalan que para tratar la tuberculosis se utilizan antibióticos, aunque estos pueden conducir efectos adversos por ser hepatotóxicos.

1.1.12. Prevención y control

No existe aún una vacuna eficaz como método de prevención de la TBB. La vacuna compuesta por el bacilo Calmette-Guerín (BCC) no muestra una protección importante (49). En la actualidad se utiliza la vacunación principalmente para prevenir formas graves de tuberculosis extrapulmonar, sin embargo, la vacuna no previene la forma más común de la patología en estudio (14); por otro lado, Jacobus (49) nos dice que al vacunar se interfiere en el diagnóstico de TBB mediante la prueba de tuberculina, debido a que causa reactividad, mostrando falsos positivos en los resultados de la prueba.

Básicamente, para controlar y erradicar la TBB se emplea la tuberculinización a los animales. A los reactores positivos (que son de notificación obligatoria) se los sacrifica. Para el ingreso de nuevos animales a un hato, deben ser sometidos a la prueba de tuberculina para descartar su positividad a la enfermedad. No obstante, como método de

prevención complementario, se deben realizar protocolos de bioseguridad. Por otro lado, refiriéndose a centros de faenamiento, es necesario ejecutar una vigilancia por parte de especialistas conocedores de la patología, para así identificar y hacer el seguimiento al rebaño de origen de animales con TBB (49).

1.1.13. Importancia en salud pública

La causa principal de tuberculosis en el ser humano se debe al *M. tuberculosis*, pero hay que considerar que los humanos también son susceptibles al *M. bovis*, pudiendo infectarse por consumir carne cruda, leche cruda, derivados lácteos de bovinos enfermos o mediante la inhalación de aerosoles con el antígeno. En la mayoría de países desarrollados la patología está relativamente controlada debido a que toman precauciones, como por ejemplo la inspección rigurosa de la carne y la pasteurización de la leche, además realizan niveles de higiene mejorados. Esto ha minimizado significativamente el riesgo de infección a las personas (50).

Según datos de la Organización Mundial de Salud (OMS), la Tuberculosis está en el top 10 de causas principales de mortalidad humana a nivel global. En el año 2018, de 10 millones de personas enfermas con tuberculosis, murieron 1,5 millones de ellas. Se estima que, en ese mismo año, enfermaron 1,1 millones de niños, de los que 251.000 fallecieron. Además, hay que tener en cuenta que la principal causa de muerte de personas con VIH, es la tuberculosis (51).

El Ecuador se encuentra entre el grupo de países latinos que presentan un alto nivel de prevalencia de TBB. En base a los estudios que cada año se van realizando en el país, se ha dado a conocer que esta enfermedad está presente en ganado de carne y leche, por esto, se justifica la implementación de un programa nacional efectivo para controlar la enfermedad, pues se necesita de manera urgente un plan de erradicación para evitar el aumento de porcentaje de esta patología. Estas medidas permitirían reducir el impacto zoonótico de la tuberculosis en las poblaciones, en especial en personas con alto riesgo de contagio (52).

1.1.14. Epidemiología

En el mundo entero, existe la tuberculosis, siento buena parte del territorio africano y ciertas partes de América y Asia presentan la prevalencia más elevada. En varios países desarrollados se ha logrado erradicar esta patología en el ganado bovino, pero aun presentan problemas en cuanto a la fauna silvestre porque que también son huéspedes para el *M. bovis* y no han podido eliminar el agente etiológico en estas especies. El *Mycobacterium bovis* también ha sido aislado en ovejas, cabras, caballos, cerdos, perros, gatos, jabalíes, ciervos, zorros, elefantes, tapires, ardillas, rinocerontes, mapaches, zarigüeyas, focas, topos, alces, hurones, tigres, coyotes, linces, liebres, leones, camellos, llamas, nutrias, leopardos, tejones, búfalos, bisontes, ratas y primates (53).
En humanos la TBB es considerada una zoonosis reemergente, debido a la aparición de cepas resistentes a los medicamentos anti tuberculosos, los reservorios del *M. bovis* en animales silvestres y la persistencia de la infección en el ganado (54). Sin embargo, en países industrializados, ha disminuido de manera considerable la incidencia anual de tuberculosis humana por *M. bovis* (55). La Organización Mundial de la Salud, en el año 2014, puso en marcha un proyecto para lograr un mundo libre de tuberculosis que tendría resultados en 2035, erradicando completamente la enfermedad (56).

El 44% de países, entre los meses de enero de 2017 y junio de 2018, notificaron casos de TBB. Esto quiere decir que existe prevalencia de tuberculosis bovina en 82 de los 188 países que han notificado al Sistema mundial de información sanitaria de la OIE su situación sobre la presencia de la patología (Figura 2) (57). En la mayoría de los países en desarrollo, existe la presencia de la enfermedad, por motivo de que no se llevan a cabo protocolos efectivos de erradicación, prevención y control de la misma.

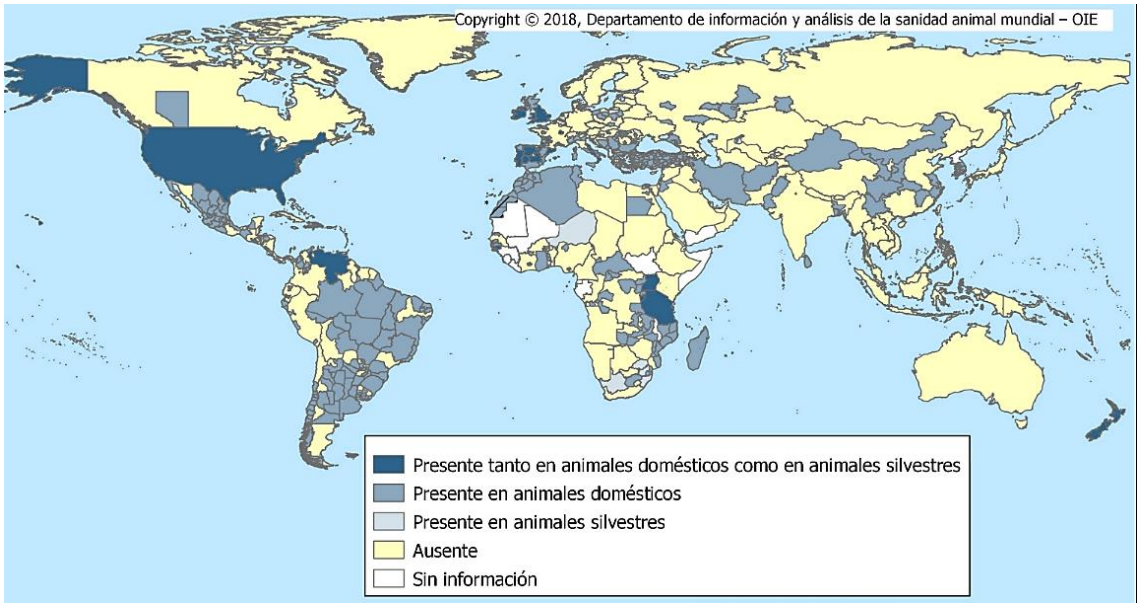


Figura 2. Distribución mundial de TBB en el año 2017 y el primer semestre del 2018

Fuente: (57)

En la Figura 2, se muestra la situación de la tuberculosis bovina a nivel mundial, y es necesario dar a conocer que el 62,2% de países (51 países) señalan que la enfermedad solo había tenido incidencia en ganado bovino; el 2,4% (2 países) señalan que presentan la patología en la fauna silvestre y que en el 35,4% (29 países) existe presencia de infección en ganado bovino y fauna silvestre (57).

Según Proaño (54) en el Ecuador, los estudios de prevalencia de TBB son escasos, hasta el año 2008 es notable que los investigadores realizaban como técnica primordial, el método de la tuberculina.

En la figura 3, se muestra un mapa epidemiológico de la situación de la tuberculosis bovina hasta el año 2008, según investigaciones reportadas a nivel nacional.

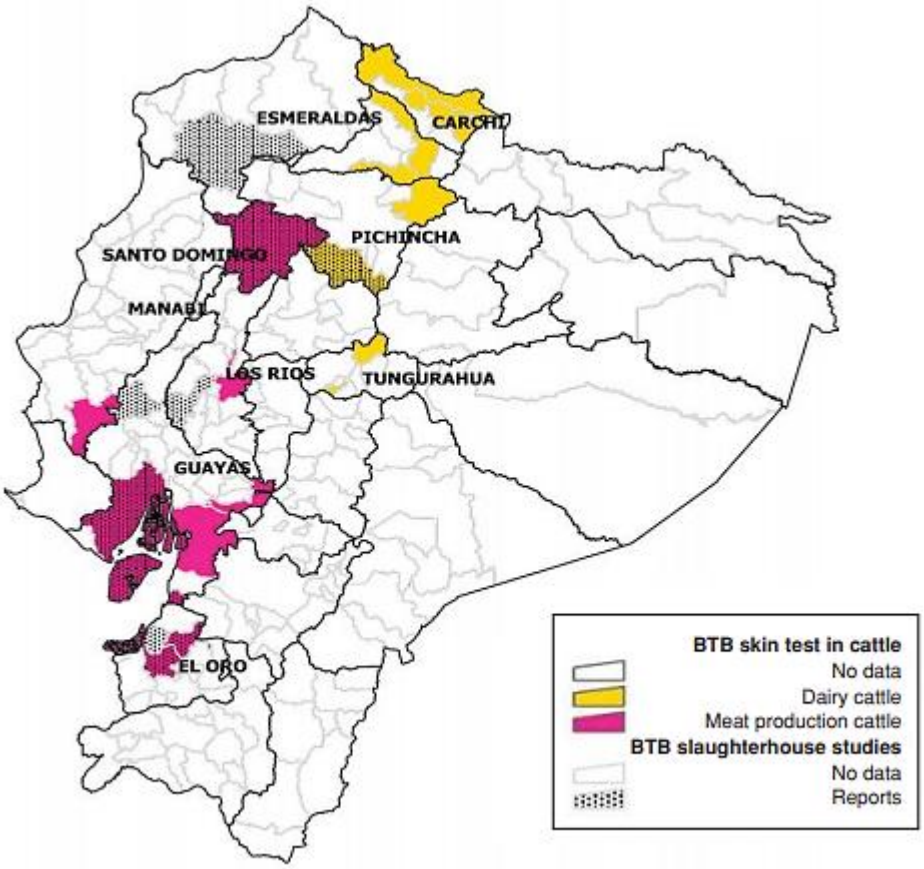


Figura 3. Situación de la Tuberculosis Bovina en Ecuador, 1972-2008 (43)

Sin embargo, en los últimos años se han estado llevando a cabo múltiples investigaciones en diferentes localidades del país empleando distintos métodos de diagnósticos post mortem para transmitir datos reales con bajo porcentaje de sesgo.

En la tabla 2 se detalla la prevalencia aparente de Tuberculosis Bovina en ganado de carne en distintos cantones del Ecuador, entre los años 1977 y 2004, cuyos investigadores en su mayoría usaron la prueba intradérmica de la tuberculina.

Tabla 2. Prevalencia aparente de Tuberculosis Bovina en ganado de carne en Ecuador, acorde a estudios entre 1977-2004 (43)

Year	Location		Positive cattle/ No. of animals	(%)
	Province	Canton		
1977	Guayas	Guayaquil	33/975	3.38
1981	Galápagos	San Cristóbal	0/1 000	0.00
1982	El Oro	Santa Rosa	4/1 465	0.27
1984	El Oro	Pasaje	0/500	0.00
1996	Santo Domingo	Santo Domingo	21/4 888	0.43
1997	Guayas	El Triunfo	0/300	0.00
1998	Los Ríos	Ventanas	0/320	0.00
2000	Manabí	Paján	0/300	0.00
2003	Guayas	Naranjal	14/250	5.60
2003	Guayas	Bucay	2/200	1.00
2004	Santo Domingo	Santo Domingo	20/4 029	0.50

La tabla 3 y 4 indican el porcentaje de prevalencia aparente de Tuberculosis Bovina en ganado lechero y a nivel de camal respectivamente, en varios territorios del Ecuador.

Tabla 3. Prevalencia aparente de Tuberculosis Bovina en ganado lechero en Ecuador, acorde a estudios entre 1977-2008 (43)

Year	Location		Positive cattle/ No. of animals	(%)
	Province	Canton		
1977	Tungurahua	Píllaro	7/2 132	0.33
2001	Pichincha	Cayambe	5/178	2.81
	Imbabura	Otavalo	24/329	7.29
	Carchi	Espejo	11/516	2.13
2002	Pichincha	Cayambe	14/3 006	0.47
2002	Pichincha	Mejía	152/3 089	4.92
2002	Carchi	Espejo, Tulcán Montufar, Huaca	52/3 011	1.73
2003	Imbabura	Ibarra, Otavalo	73/3 005	2.43
2003	Tungurahua	Píllaro, Mocha	49/4 012	1.22
2006	Pichincha	Mejía	26/327	7.95
2007	Pichincha	Mejía	142/1 644	8.63
2008	Pichincha	Mejía	122/1 446	8.43

Tabla 4. Prevalencia de Tuberculosis Bovina a nivel de camal en Ecuador, acorde a estudios entre 1972-2008 (43)

Year	Location		Positive cattle/ No. of animals	%
	Province	Canton		
1973	Guayas	Guayaquil	16/3 425	0.47
1993	Guayas	Guayaquil	28/23 029	0.12
2000	Santo Domingo	Santo Domingo	6/2 778	0.21
2002	Guayas	Guayaquil	80/4 200	1.90
2002	El Oro	Pasaje	0/1 395	0.00
2002	El Oro	Santa Rosa	0/1 047	0.00
2003	Guayas	Colimes	0/283	0.00
2003	Esmeraldas	Quinindé	0/400	0.00
2007	Pichincha	Mejía	16/687	2.33
2008	Pichincha	Mejía	17/703	2.24

En la tabla 5 se pueden observar los porcentajes de prevalencia de tuberculosis bovina en el Ecuador a partir del año 2008 hasta el 2019. Los datos han sido recopilados desde la web, clasificando la información para un mejor entendimiento sobre la epidemiologia de esta enfermedad en el país.

Tabla 5. Porcentajes de prevalencia de Tuberculosis bovina en Ecuador, basado en estudios realizados desde 2008 hasta 2019

Referencia	**Año**	**Provincia**	**Cantón**	**Método Diagnóstico**	**Prevalencia**
(58)	2008	Pichincha	Cutuglahua (Cantón Mejía)	Prueba de la tuberculina	3,23%
(58)	2010	Pichincha	Aloasí (Cantón Mejía)	Prueba de la tuberculina	0,83%
(59)	2011	Imbabura	Otavalo	Prueba de la tuberculina	6,9%
(60)	2011	Pichincha	Cayambe	Nested PCR	4,059%
(60)	2011	Tungurahua	Pelileo	Nested PCR	4,56%
(61)	2012	Loja	Hoya (Loja)	Prueba de la tuberculina	6%
(62)	2012	Chimborazo	Tunshi Politécnica (Riobamba)	Prueba de la tuberculina	7,69%

(62)	2012	Chimborazo	Molobog (Riobamba)	Prueba de la tuberculina	7,77 %
(63)	2013	Los Ríos	Quevedo	Prueba de la tuberculina	12,86%
(64)	2013	Cotopaxi	Latacunga	Prueba de la tuberculina	8,47%
(64)	2013	Carchi	Tulcán	Prueba de la tuberculina	3,57%
(64)	2013	Imbabura	Ibarra	Prueba de la tuberculina	4,55%
(39)	2014	Pichincha	Mejía	Inspección Macroscópica y Cultivo Bacteriológico	1,52%
(65)	2014	Napo	Carlos Julio Arosemena Tola	Prueba de la tuberculina	0%
(66)	2015	Loja	Loja	Tinción por Ziehl Neelsen	27,56 %
(30)	2015	Esmeraldas	Esmeraldas, Eloy Alfaro y Quinindé	Prueba de la tuberculina	22%
(67)	2015	Carchi	Parroquia Santa Marta de Cuba (Cantón Tulcán)	Prueba de la tuberculina	0,54%
(68)	2015	Loja	Loja	Kit Pure Link Genomic y PCR	43,13%
(69)	2015	Chimborazo	Chambo	Prueba de la tuberculina	0,73%
(6)	2016	Loja	Loja	Prueba de la tuberculina	6,16%
(70)	2016	Santo Domingo de los Tsáchilas	Santo Domingo	Prueba de la tuberculina	0%

(5)	2017	El Oro	Parte baja de la Provincia	Prueba de la tuberculina	0%
(71)	2017	Santa Elena	Sur y Este de la provincia	Prueba de la tuberculina	Sur= 6,33% Este= 3,19%
(72)	2018	Guayas	El Empalme	LAMP	33,15%
(73)	2019	Guayas	Bucay	Prueba de la tuberculina	0%
(74)	2019	Carchi	Parroquia Tulcán (Cantón Tulcán)	Prueba de la tuberculina	1,05%
(75)	2019	Los Ríos	Buena Fe	LAMP	56,07%

Elaborado por: Autor

1.1.15. Factores asociados a la tuberculosis bovina

Con respecto a las razas de bovinos, Lomillos & Gomez (76) indican que la raza de lidia presenta una prevalencia hasta 20 veces mayor en comparación con razas bovinas lecheras. Por motivos de contacto entre el ganado y animales silvestres, los bovinos pueden contagiarse de la enfermedad. Debido a la inexistencia de interactividad del ganado perteneciente a explotaciones bovinas intensivas con animales silvestres, los brotes de TBB han sido controlados de manera rápida en este tipo de explotación ganadera.

Estudios realizados en Ecuador, por Paccha en 2012, señalan que la raza Holstein Friesian es la más susceptible a la TBB, seguida de la Holstein mestiza.

Cruz y Pozo (77) realizaron estudios en el camal Daule, y mencionan que no encontraron asociación estadística significativa entre la presencia de *M. bovis* y las variables sexo, propósito, y categoría zootécnica. Además, Cushicóndor (39) argumenta según los resultados de su investigación en el camal de Mejía, Pichincha que no logró determinar que el sexo, la edad, el biotipo y la procedencia de los animales estuvieran asociados a una mayor probabilidad de presentar lesiones macroscópicas compatibles con TBB.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Zona de estudio

2.1.1. Localización del área de estudio

El trabajo de investigación se realizó en el camal Municipal del cantón Santa Rosa (Figura4), ubicado en las afueras de la ciudad, en la vía Puerto Jelí. El Cantón Santa Rosa se localiza al sur de la región litoral del Ecuador, en la orilla derecha del río Santa Rosa, a una altitud de aproximadamente 10 msnm y con un clima tropical que varía de 21 °C a 32 °C.

Límites del Cantón Santa Rosa:

- *Norte:* Cantones Machala y Pasaje
- *Sur:* Cantones Arenillas y Piñas
- *Este:* Atahualpa y Pasaje
- *Oeste:* Cantón Arenillas y Océano Pacífico

Figura 4. Ubicación del centro de faenamiento del Cantón Santa Rosa

Fuente: Google Maps

2.1.2. Características de la zona de estudio

El centro de faenamiento del cantón Santa, administrado por la Empresa Municipal de Mercado y Camal (EMCA), cuenta con un área para ganado bovino y otra para ganado porcino; en este lugar se faenan animales de la parte alta y de la parte baja de la provincia, siendo el horario de sacrificio desde las 20:00 hasta las 4:00. Los días de faenamiento son todos los días de la semana, exceptuando el día martes y el número de animales que faenan varía por día, pudiendo haber entre 25-40 o entre 15-24 animales a faenar.

2.2. Materiales

2.2.1. De campo

- Casco de seguridad
- Overol
- Guantes
- Mascarillas
- Cuchillo
- Pilas refrigerantes
- Botas
- Cubeta de 4L de capacidad
- Cloro al 5%
- Cooler
- Envases plásticos estériles
- Bolsas ziploc
- Hojas de registro
- Marcador permanente
- Esferográfico

2.2.2. De laboratorio

- Batas quirúrgicas esterilizadas
- Guantes
- Mascarilla 3M N95
- Baja lenguas
- Morteros con mango
- Hoja de Bisturí
- Mango de bisturí
- Pinza anatómica
- Gradillas
- Papel de empaque
- Envases de plástico
- Hisopos
- Papel filtro
- Algodón
- Asas bacteriológicas desechables
- Tubos de ensayo
- Criotubos
- Mascarillas
- Cofia
- Zapatones
- Placas porta objeto esmeriladas
- Pipeta Pasteur
- Gafas
- Caja de fósforo

2.2.3. Equipos

- Cabina de seguridad biológica
- Termobloque

- Incubadora de laboratorio
- Congelador
- Microscopio óptico

2.2.4. Sustancias y reactivos

- Medios de cultivo: Ogawa Kudoh (OK) y Stonebrink (ST)
- Soda al 4%
- Alcohol – ácido
- Agua destilada
- Alcohol industrial
- Colorantes: Fucsina fenicada y azul de metileno
- Aceite de inmersión
- Cloro

2.3. Metodología

2.3.1. Técnicas e instrumentos de investigación

- Recolección de muestras de linfonodos con lesiones macroscópicas compatibles con la tuberculosis bovina, de bovinos faenados, dos días por semana durante un mes.
- Siembra de muestras, cada una en dos tubos con medio de cultivo Ogawa Kudoh y en dos tubos con medio de cultivo Stonebrink.
- Revisión de crecimiento semanal por cuatro semanas post siembra.
- Baciloscopía de colonias bacterianas que se obtuvieron en los medios de cultivo.
- Diagnóstico molecular (PCR-LAMP) de colonias positivas en baciloscopía.

2.3.2. Tipo de investigación

El presente trabajo investigativo es un estudio de tipo observacional, transversal, prospectivo y analítico.

Se estimó la prevalencia de tuberculosis bovina utilizando técnicas de inspección macroscópica, cultivos especializados, y análisis de PCR-LAMP. Además, se evaluó la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre animales enfermos con tuberculosis bovina y las variables raza, sexo, edad y lugar de procedencia.

2.3.3. Población y muestra

La población de estudio fueron los bovinos que ingresaron al centro de faenamiento del cantón Santa Rosa, durante el mes de noviembre.

A partir de la población se procedió a observar y revisar las características de linfonodos de todos los bovinos y se recolectaron los que cumplían con los requisitos y criterios para la inclusión en la presente investigación durante el periodo de estudio en el mes de noviembre de 2019.

2.3.4. Variables

Se analizaron las siguientes variables:

- Animales positivos a tuberculosis bovina
- Raza
- Sexo
- Edad
- Lugar de procedencia

2.3.5. Análisis estadístico

La tabulación de los datos recolectados se efectuó en el programa Microsoft Excel. El análisis estadístico se realizó en el software IBM SPSS Statistics versión 25.

La descripción de variables cualitativas se realizó mediante tablas distribución de frecuencias.

2.3.6. Metodología del trabajo

La investigación se realizó en dos fases, una de campo y otra de laboratorio. El trabajo de campo comprendió en la recolección de muestras ganglionares con lesiones compatibles con tuberculosis bovina, en el centro de faenamiento del cantón Santa Rosa durante el mes de noviembre de 2019.

La fase de campo consistió en tomar muestras de ganglios linfáticos retrofaríngeos, cervicales y mediastínicos que hayan presentado alteraciones en tamaño y/o en color a través de una inspección macroscópica post mortem durante el faenamiento de los bovinos. Las unidades muestrales que se recolectaron fueron registradas considerando las variables: raza, el sexo, edad y el lugar de procedencia.

El análisis de laboratorio se efectuó en el Instituto Nacional de Salud Pública e investigación (INSPI). En el área de zoonosis fue en donde se realizaron las siembras de las muestras en los respectivos medios de cultivo microbiológico. Se utilizaron medios de cultivo Ogawa Kudoh (OK) y Stonebrink (ST).

Se empleó el método de baciloscopía a las colonias obtenidas en los medios de cultivo mediante la técnica de Ziehl-Neelsen. Posteriormente, para confirmar la positividad a tuberculosis bovina, se realizó análisis molecular PCR-LAMP.

- *Toma de muestras*

Se procedió a visitar el camal de Santa Rosa dos veces por semana durante un mes, los días en los que más animales se faenaban (en este caso eran los días sábado y domingo); las jornadas laborales en este centro de faenamiento inician a las 20:00 y culminan a las 4:00, por lo que, al inicio de la jornada de trabajo, se realizó una inspección clínica a los animales sospechosos de tuberculosis. En cuanto a la técnica de observación macroscópica de ganglios, se observaron los linfonodos retrofaríngeos, mediastínicos y bronquiales en la etapa de eviscerado de cada animal. Ganglios sospechosos, de coloración oscura y/o con alteración de tamaño y estructura eran destinados al laboratorio para analizar.

A cada ganglio examinado se le procedía a realizar un corte transversal con un cuchillo previamente desinfectado con cloro al 5%, al cual se lo colocó en la cubeta para sumergir el instrumento de corte por un lapso de 2 segundos. En el caso de que el linfonódulo presentase alteraciones, se procedía a guardarlo en un envase plástico estéril y posteriormente se lo colocaba en una bolsa ziploc rotulada con el número de muestra extraída. A la unidad muestral se la colocaba en el cooler con pilas refrigeradas.

Al conjunto de muestras se las mantuvo en refrigeración hasta transportarlas a los laboratorios del INSPI en la ciudad de Guayaquil. El trabajo en laboratorio se lo realizó semanalmente, los días lunes, por lo tanto, en ese día se efectuaba la siembra y/o lectura de muestras recolectadas.

- *Cultivo microbiológico*

Se utilizaron los medios Ogawa Kudoh (OK) y Stonebrink (ST). Las muestras fueron cultivadas por duplicado en cada medio de cultivo mencionado. Luego estuvieron en incubación durante cuatro semanas a una temperatura de 37°C. Las primeras 48 horas post siembra, los tubos permanecieron semi abiertos en posición horizontal y luego se los cerró totalmente y se los colocó en sentido vertical.

Preparación de la Cabina de Seguridad Biológica. - para iniciar la siembra en los medios de cultivos se prepara la cabina de seguridad biológica utilizando papel de empaque sobre la base de la cabina para luego colocar los materiales que se usaron para

realizar el cultivo bacteriano. Se debe tener mucho cuidado con el material estéril, debido a que éste no se debe contaminar.

Maceración y Homogenización. – con ayuda de una baja lengua estéril, se coloca la muestra en la cápsula de porcelana y se procede a tomar una porción pequeña del área más afectada cortando con el bisturí. Seguidamente, se agrega agua destilada estéril y se macera la muestra con el mortero hasta tener una mezcla homogénea.

Descontaminación. – se toma un hisopo estéril y se humedece el algodón con la muestra macerada, posteriormente se lo introduce en un tubo con el descontaminante hidróxido de Sodio (soda cáustica) a una concentración del 4%. El tiempo indicado del hisopo dentro del descontaminante es de exactamente 2 minutos.

Siembra. – transcurrido el tiempo indicado de descontaminación, se retira el hisopo y se realiza la siembra en los medios de cultivo con los tubos rotulados (un hisopo por tubo) de abajo hacia arriba en forma giratoria y en estrías (zigzag) sin tocar las paredes del tubo ni incrustando el hisopo con mucha fuerza en el medio de cultivo (77).

Los medios de cultivo utilizados fueron: Ogawa Kudoh (OK) y Stonebrink (ST), cada uno con dos tubos (en total 4 tubos por muestra). Se realiza lo mismo con cada muestra y se descarta los materiales (hisopos, baja lenguas y restos de macerado) en un envase plástico boca ancha tapa rosca con cloro al 5%. El resto de cada una de las muestras fueron crio almacenados en microtubos con su respectiva rotulación para así realizar futuras resiembras si se requiere.

Incubación y lectura de cultivos. – los tubos sembrados (colocados de manera ordenada en una gradilla) se los ubica en la incubadora, a una temperatura de 37° C, semi tapados, de forma horizontal durante 48 horas. Esto se realiza con el fin de permitir el intercambio de gases debido a que el *M. bovis* es una bacteria aerobia estricta.

Luego de haber transcurrido las 48 horas, se coloca los tubos en posición vertical y se cierra completamente la tapa; se mantiene los tubos en la incubadora mínimo por 4 semanas. Cada 7 días se procede a realizar revisiones del estado de crecimiento de UFC en los medios de cultivo. En el caso de encontrar contaminación en algún tubo, inmediatamente se debe efectuar una resiembra, aislando las colonias que posiblemente fuesen positivas.

Inactivación y conservación de colonias bacterianas. – si se observan UFC de un buen tamaño en la semana 4 post siembra, se procede a realizar el aislamiento de colonias. Por otro lado, se desechan los tubos que no presentan crecimiento de colonias bacterianas hasta la semana 8.

Para realizar el aislamiento de las colonias bacterianas, el encargado se debe equipar correctamente respetando las debidas normas de bioseguridad. Después se extraen los tubos con colonias bacterianas visibles. Posteriormente, se prepara la cabina de seguridad biológica para efectuar el proceso.

Luego de ingresar todo el material a utilizar y los tubos con colonias visibles, se rotulan los criotubos para así aislar las colonias en los mismos. En el caso de tener más de un tipo de colonias en un tubo, se rotulan más criotubos según el aspecto de la misma, siguiendo un orden adecuado.

Con una pipeta, se colocan 700 microlitros de agua destilada estéril y se coloca en cada criotubo, luego con un asa descartable, evitando rozar las paredes del tubo e impidiendo tomar medio de cultivo, se sustrae cada colonia presente en los tubos para colocarlas dentro de los criotubos agitando el asa para que la colonia se mantenga en el interior del criotubo. Posteriormente se desechaba cada asa utilizada y se repite el procedimiento para cada tubo.

A continuación, se ubican los criotubos en un termobloque (accublock digital dry bath), donde fueron sometidos a una temperatura de 87°C por 30 minutos para así realizar el proceso de inactivación de bacterias. Al finalizar el proceso de inactivación, se conservan los criotubos en el congelador a una temperatura de -86° Celsius, para luego efectuar la baciloscopía.

- *Baciloscopía*

Arévalo *et al.* (2015) manifiestan que la baciloscopia es el examen microscópico de una muestra que ha sido extendida sobre una lámina de vidrio y teñida mediante el método Ziehl-Nielsen. Con este método se detectan microorganismos calificados como BAAR (bacilos ácido-alcohol resistentes).

Se efectuó la baciloscopía a las colonias de los medios de cultivo., aplicando la técnica de tinción de Ziehl-Neelsen.

Rotulación de los portaobjetos. – para esto, se debe equipar tomando las respectivas nomas de bioseguridad. Se toman las muestras en congelación y se las ordena para realizar la rotulación de la placa portaobjetos. Se prepara la cabina de seguridad biológica colocando papel de empaque sobre la base de la cabina y se colocan los materiales junto a las placas rotuladas con los microtubos que poseen las colonias bacterianas ya descongeladas.

Preparación del extendido. – Con una pipeta Pasteur se absorbe una gota de cada microtubo en donde están las colonias y se coloca la muestra en el portaobjetos, luego con la misma se hace el extendido en forma circular. Se desecha la punta de la pipeta en un frasco con cloro, y se espera a que el extendido seque por completo a temperatura ambiente.

Tinción de Ziehl Neelsen. – La tinción Ziehl Neelsen se basa en colocar carbol fucsina y calentar la preparación para así solubilizar lípidos y otros ácidos grasos de la pared celular para que permita el paso libre del colorante, el cual tiene una gran afinidad con los ácidos micólicos (ácidos grasos presentes en las membranas celulares de las micobacterias). Al enfriar con agua, los componentes de la membrana vuelven a endurecer, resistiendo la acción abrasiva del alcohol-ácido, además se usa azul de metileno como contra tinción. (79)

1. Coloración: se coloca las placas en un soporte que permita el flameado, en un sitio en donde puedan ser correctamente manejadas para una tinción con mayor facilidad (lavabo). Se coloca papel filtro cortado en pequeñas partes sobre el extendido de cada placa. Posteriormente, con una pipeta se coloca fucsina sobre cada portaobjetos hasta cubrirlo totalmente durante 5 minutos. En el transcurso de ese tiempo se flamea con un mechero envuelto de algodón y empapado con alcohol industrial por debajo de las placas hasta producir tres emisiones de vapor. Transcurrido los 5 minutos y realizado el flameado se retira el papel filtro con una pinza, desechándolos en un envase plástico. Se enjuaga las placas con agua del grifo por ambos lados, teniendo en cuenta que el chorro no sea excesivo y evitando que caiga directamente sobre la tinción.

2. Decoloración: se ubica de nuevo las placas en el soporte y se agrega alcohol – ácido sobre cada placa con una pipeta durante 1 minuto. Se enjuaga nuevamente las placas con chorro de agua débil evitando que caiga sobre la tinción.

3. Contra – tinción: ubicadas nuevamente las placas en el soporte, con una pipeta se coloca azul de metileno sobre las ellas y se deja por 1 minuto, luego se vuelve a enjuagar para así dejarlas secar en un soporte de portaobjetos de manera inclinada.

Lectura de extendidos. – luego de realizar la tinción, se efectúa la lectura microscópica. Para ello, se observan las placas en el microscopio óptico con objetivo de 100x, para esto se coloca una gota de aceite de inmersión en el centro de cada placa y se observa identificando la presencia de bacilos teñidos de color fucsia que indican un resultado positivo a BAAR. Para agilizar el proceso se puede observar al inicio con el lente 10x sectores con coloración fucsia y luego pasar a 100x en aquellos sectores identificados.

- *Diagnóstico molecular PCR-LAMP*

LAMP es una técnica de ciclado automático cuya reacción es relativamente rápida, capaz de amplificar masivas copias de ADN (109 - 1010) a partir de un pequeño fragmento, en un límite de tiempo de hasta una hora requiriendo una sola temperatura (isotérmica) y única enzima ADN polimerasa.

Para la técnica de PCR-LAMP se utilizaron los primers Forward interno MbFIP: 5’ GGAAGGCGTCATGACCAAACCATTAATGTGCGAGCTGAGCG 3’ y Reverse interno MbBIP: 5’ GCCTACAACGGCGCTCTCCATTGACCAGCTAAGATATCCGG 3’; Forward externo MbF3: 5’ TTCCGAATCCCTTGTGAAGT 3’ y Reverse externo MbB3: 5’ CCCGTAGCGTTACTGAGAA 3’.

Con este método diagnóstico se logra determinar la presencia de Micobacterias (sean típicas o atípicas), bacilos del complejo Mycobacterium tuberculosis (MTCB) y además el M. bovis. Para ello se efectúa el siguiente proceso:

Extracción de ADN. – El ADN genómico es obtenido a partir de las colonias positivas aisladas en los medios de cultivo OK y ST.

Diseño de primers LAMP. – Los primers o cebadores LAMP se diseñan en base al gen o secuencia específica que se desee amplificar, esto es posible por la disponibilidad del software en línea Primer Explorer V4 que genera los conjuntos de cebadores en función de la secuencia objetivo (el gen específico de M. bovis es el gen mpb70; número de acceso de GenBank: EU683971).

Los conjuntos de cebadores que emplea LAMP son cuatro esenciales, Forward interno (FIP) y Reverse interno (BIP) y, dos externos: Forward (F3) y Reverse (B3), usados para identificar 6 regiones diferentes de un mismo ADN objetivo, lo que hace que sea altamente específico. Adicionalmente se puede emplear de manera opcional, los llamados cebadores de bucle: cebador de bucle hacia adelante (LF) y cebador de bucle hacia atrás (LB), que permiten acelerar la reacción y aumentar la sensibilidad al reconocer hasta 8 regiones diferentes de secuencia diana en total.

Los conjuntos de primers diseñados en este trabajo fueron tres, el primer o cebador 1 tiene como función reconocer si existe la presencia de Micobacterias, el primer 2 para conocer si pertenecen al complejo Mycobacterium tuberculosis y el primer 3 para estimar la presencia de *M. bovis.*

Desnaturalización. - Se coloca en un microtubo una porción de muestra y se la mezcla con el primer respectivo. Luego se realiza la desnaturalización, para ello se calienta en el termociclador a la mezcla a una temperatura de 96 °C durante 5 minutos para que se realice la separación de la doble cadena de ADN.

Alineamiento. – En esta etapa los primers se unen a un pequeño fragmento de ADN.

Elongación. - Es la etapa donde la hebra de ADN se alarga al agregar nuevos nucleótidos por la acción de la polimerasa. Para esto se agrega la polimerasa en cada microtubo y a continuación se los coloca en el termociclador a una temperatura de 60° C durante 60 minutos para posteriormente realizar la electroforesis.

Método de visualización. – Se aplica la electroforesis, la cual consiste en separar grandes moléculas (ácidos nucleicos) en un campo eléctrico, para esto se prepara un gel sea de agarosa o de acrilamida y se agrega bromuro de etidio que al unirse al ADN permite la visualización de amplicones en forma de bandas en una foto digital cuando es expuesto a la luz ultravioleta.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinación de la presencia de linfonodos alterados en animales muestreados

La tabla 6 indica el total de bovinos examinados con alteraciones y sin alteraciones de linfonodos durante el faenamiento. Se identifica que hubo un total de 157 bovinos inspeccionados de manera macroscópica de los cuales se muestra que el 15,9% (25/157) presentaron alteraciones compatibles con tuberculosis bovina. Por otro lado, el 84,1% (132/157) no mostraron alteraciones a nivel de ganglios linfáticos.

Tabla 6. Resultados de la presencia de alteraciones compatibles con tuberculosis bovina mediante la técnica de observación macroscópica

Inspección Macroscópica

	Frecuencia	Porcentaje
Sin Alteración	132	84,1
Con Alteración	25	15,9
Total	157	100,0

En el año 2014, Cushicóndor determinó la prevalencia aparente de lesiones compatibles con tuberculosis bovina mediante inspección macroscópica post-mortem, en el Matadero del Cantón Mejía, del 1.01% (4/395), y la consideró como alta prevalencia (mayor al 1%). Por otro lado, Suquilanda (2015) señala que recolectó 630 ganglios (Cervicales, Pulmonares, Retrofaríngeos, Bronquiales y Mediastinos) de 127 bovinos faenados, y obtuvo resultados de 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.

3.2. Identificación de la presencia de Bacilos Ácido-Alcohol Resistentes (BAAR) como causa de lesiones ganglionares, a partir de cultivos microbiológicos

En la tabla 7 se muestra el porcentaje de animales positivos y negativos a Bacilos Ácido-Alcohol Resistentes (BAAR), estos datos fueron obtenidos al efectuar la respectiva baciloscopía después de haber realizado la tinción Ziehl Neelsen a colonias bacterianas aisladas de los medios de cultivo Ogawa Kudoh (OK) y Stonebrink (ST). A su vez, en la tabla se puede evidenciar que, de las 25 muestras obtenidas con lesiones compatibles a TBB, el 28% fueron positivas a BAAR, esto quiere decir que 7 muestras presentaron bacilos ácido-alcohol resistentes. No obstante, el 72% (18/25) de animales fueron negativos a BAAR.

Tabla 7. Resultados de baciloscopía de colonias aisladas de los medios de cultivo Ogawa Kudoh y Stonebrink

Baciloscopía BAAR / Medios OK y ST		
	Frecuencia	Porcentaje
Negativo	18	72,0
Positivo	7	28,0
Total	25	100,0

Durante el mes de noviembre del 2018, Cruz & Pozo realizaron una investigación en el camal Daule, cantón perteneciente a la provincia del Guayas, recolectaron muestras ganglionares que presentaron alteraciones en tamaño y/o color en la inspección post – mortem, cultivaron las muestras en los medios de cultivo Lowenstein Jensen, Ogawa Kudoh y Stonebrink, y posteriormente realizaron baciloscopía utilizando tinción de Ziehl – Neelsen para determinar la presencia de bacilos ácido-alcohol resistente (BAAR) obteniendo resultados de 43,5% positivo a BAAR aislado en los tres medios de cultivo.

3.3. Determinación de la prevalencia de tuberculosis bovina mediante la técnica PCR-LAMP

Como se aprecia en la tabla 8, después de realizar el diagnóstico molecular, se obtuvieron los resultados siguientes, un 2,5% (4/157) de animales faenados fueron positivos a Mycobacterium spp (Micobacterias atípicas). No obstante, no se encontró presencia de Micobacterias del Complejo Mycobacterium tuberculosis (0%) ni de animales con Mycobacterium bovis (0%).

Tabla 8. Resultados de PCR-LAMP

	Positivos	*Negativos*	*%*
Mycobacterium spp.	4	153	2,5
Micobacterias del Complejo Mycobacterium tuberculosis	0	157	0
Mycobacterium bovis	0	157	0

En el año 2019 también se han realizado estudios ante mortem en ciudades de la provincia del Guayas (Bucay) y Carchi (Tulcán) dando como resultado porcentajes de prevalencia de 0% y 1,05% respectivamente (73)(74). En la provincia de Los Ríos, por medio de pruebas moleculares (LAMP), Plúas estimó un 56,07% de prevalencia de tuberculosis bovina en el cantón Buena Fe, lo cual es un valor bastante alto si lo comparamos con este estudio. Otro porcentaje alto de TBB es el de la provincia de Loja, que publicó Roa en el año 2015, determinando un 43,13% en el cantón Loja aplicando la prueba molecular PCR.

A nivel provincial (El Oro), Ramos en 2017 aplicando análisis ante mortem, mediante la prueba de tuberculina en bovinos de la parte baja de la provincia, estimó un 0% de prevalencia de TBB, lo que quiere decir que debido a que en mataderos se faenan también

animales de la parte alta, podrían estos presentar el agente etiológico en mayor proporción que los de la parte baja.

De acuerdo con la presente investigación, en el Cantón Santa Rosa el porcentaje de tuberculosis bovina ha aumentado con relación a estudios anteriores. Lojan en 1982 estimó un 0.27% de prevalencia, analizando 1465 bovinos de producción de carne aplicando la tuberculinización, de los cuales 4 de ellos fueron reactores positivos. En cuanto a determinación de TBB en el matadero del cantón, en el año 2002, Jaramillo efectuó su investigación en 1047 animales faenados y determinó un 0% de prevalencia de la enfermedad.

3.4. Variables

3.4.1. Variable Raza

La tabla 9 indica que, el 100% (25/25) de bovinos con alteraciones en linfonodos fueron de raza mestiza. El 2,5 % de los animales de esta raza fueron positivos a micobacterias atípicas y el 0 % fue positivo a Mycobacterium bovis.

Tabla 9. Prevalencia de tuberculosis bovina de acuerdo a la raza

RAZA DE BOVINOS				
Raza	**Frecuencia**	**%**	**Resultados**	
			Positivos a Mycobacterium spp.	**Positivos a Mycobacterium bovis**
Mestiza	157	100	2,5 %	0 %
Total	**157**	**100**	**2,5 %**	**0 %**

No se han calculado medidas de asociación porque la variable raza es una constante.

Lomillos & Gomez (2015) indican que la raza de lidia presenta una prevalencia hasta 20 veces mayor en comparación con razas bovinas lecheras. Por otro lado, estudios

realizados en Ecuador, por Paccha en 2012, señalan que la raza Holstein Friesian es la más susceptible a la TBB, seguida de la Holstein mestiza.

3.4.2. Variable Edad

De 25 animales con alteraciones ganglionares compatibles con tuberculosis, el 20% (5/25) representa animales entre 3-4 años, de ellos un 1,3% fueron positivos a Mycobacterium atípicas y un 0% a M. bovis; el 56% (14/25) tenían de 5-6 años y un 0,6% de éstos fueron positivos a Mycobacterium atípicas y un 0% a M. bovis; el 20% (5/25) fueron de edad entre 7-8 años en donde un 0,6% de éstos fueron positivos a Mycobacterium atípicas y un 0% a M. bovis. Por último, el 4% de las muestras de los animales con lesiones ganglionares (1/25) fue de animales con edades de entre 9-10 años, y se determinó que un 0% de éstos fueron positivos a Mycobacterium spp. Esto se ve reflejado en la tabla 10.

Tabla 10. Prevalencia de tuberculosis bovina de acuerdo a la edad

RANGO ETARIO				
	Frecuencia	**%**	**Resultados**	
			Positivos a Mycobacterium spp.	**Positivos a Mycobacterium bovis**
3-4 años	5	20	1,3 %	0 %
5-6 años	14	56	0,6 %	0 %
7-8 años	5	20	0,6 %	0 %
9-10 años	1	4	0 %	0 %
TOTAL	**25**	**100**	**2,5 %**	**0 %**

Cushicóndor (2014) según los resultados de su investigación en el camal del cantón Mejía provincia de Pichincha, estableció que la edad de los animales no está asociada a una mayor probabilidad de presentar lesiones macroscópicas compatibles con TBB. No

obstante, Quinatoa & Chicaiza en el año 2013 en 3 provincias de Cotopaxi, Carchi e Imbabura indicaron que la edad aumenta el riesgo de la enfermedad en animales adultos debido a que tienen mayor tiempo de exposición al Mycobacterium bovis en el medio ambiente.

3.4.3. Variable Sexo

De los animales evaluados en el camal de Santa Rosa de la provincia de El Oro, en función del sexo del animal, se estableció que, del total de 25 muestras con lesiones macroscópicas, 16 fueron de hembras con el 64% y el 36% (9/25) corresponde a machos. Como resultados a la prevalencia de TBB tenemos un 0% en ambos sexos, pero se logró determinar un 1,9% de animales del sexo hembra y un 0,6% de animales de sexo macho positivos a Mycobacterium atípicas. Esto se puede observar en la tabla 11.

Tabla 11. Prevalencia de tuberculosis bovina con respecto al sexo

SEXO				
	Frecuencia	**%**	**Resultados**	
			Positivos a Mycobacterium spp.	**Positivos a Mycobacterium bovis**
Hembra	16	64	1,9 %	0 %
Macho	9	36	0,6 %	0 %
TOTAL	25	100	**2,5 %**	**0 %**

Ramos (2017) señala que en la parte baja de la provincia realizó estudios para conocer la prevalencia de tuberculosis bovina, en la cual muestreó a una población con el 91% de hembras y un 9% de machos, porcentaje relativamente bajo de animales machos debido a que en granjas se maneja más a las hembras. Cruz y Pozo (2019) realizaron estudios en el camal Daule, y manifiestan que no encontraron asociación estadística significativa entre la presencia de *M. bovis* y la variable sexo. A su vez, Cushicóndor (2014) señala

que, según los resultados de su investigación en el camal de Mejía, Pichincha no logró determinar que el sexo estuviera asociado a una mayor probabilidad de presentar lesiones macroscópicas compatibles con TBB.

3.4.4. Variable Procedencia

En el gráfico 5 se puede podemos observar los datos de frecuencia y lugar de procedencia de los animales muestreados que presentaron alteraciones ganglionares compatibles con tuberculosis bovina. Con respecto a la tabla 11, es importante mencionar que un 24% (6/25) de animales sospechosos a tuberculosis bovina provinieron de Santa Rosa, un 16% (4/25) de Arenillas, 8% (2/25) de Pasaje, un 16% (4/25) de Torata; de Las Lajas era un 12% (3/25), un 4% (1/25) de Paccha, de Zaruma un 8% (2/25), de La Chilca un 4% (1/25), de Jumón el 4% (1/25) y un 4% (1/25) de El Amor.

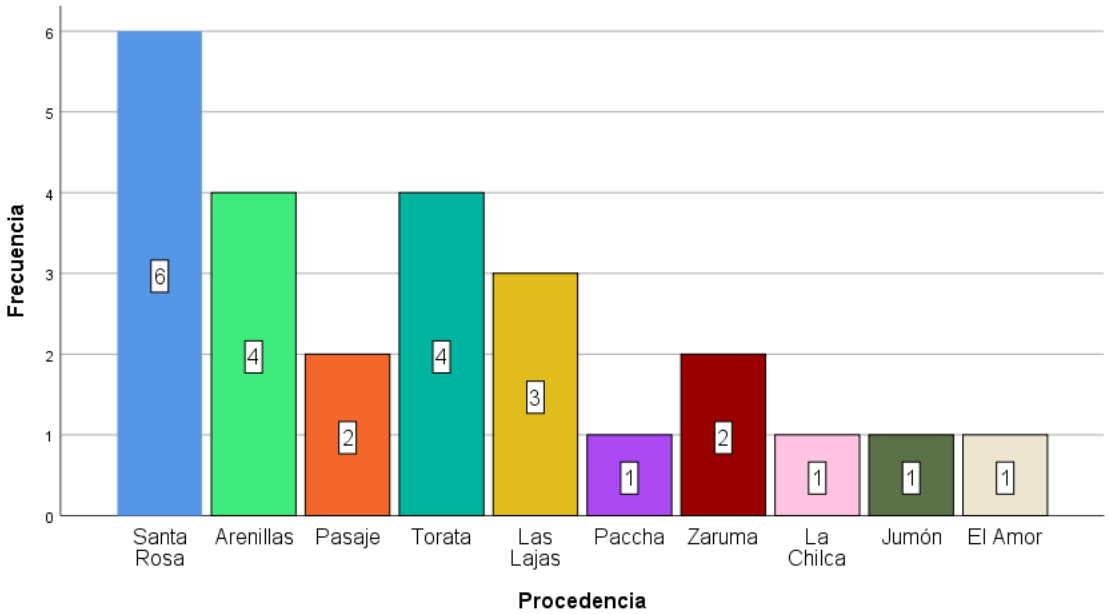


Gráfico 1. Datos de frecuencia del lugar de procedencia de bovinos que presentaron ganglios con lesiones compatibles a tuberculosis bovina

Tabla 12. Prevalencia de tuberculosis bovina según el lugar de procedencia

LUGAR DE PROCEDENCIA				
	Frecuencia	**%**	**Resultados**	
			Positivos a Mycobacterium spp.	**Positivos a Mycobacterium bovis**
Santa Rosa	6	24	0 %	0 %
Arenillas	4	16	0,6 %	0 %
Pasaje	2	8	0 %	0 %
Torata	4	16	0,6 %	0 %
Las Lajas	3	12	0,6 %	0 %
Paccha	1	4	0 %	0 %
Zaruma	2	8	0,6 %	0 %
La Chilca	1	4	0 %	0 %
Jumón	1	4	0 %	0 %
El Amor	1	4	0 %	0 %
TOTAL	25	100	**2,5 %**	**0 %**

Estudios realizados anteriormente en el Ecuador señalan que no existe relación estadística significativa entre el lugar de procedencia de los animales y la presencia de tuberculosis bovina, esto lo señala Cushicóndor (2014). Ramos (2017) manifiesta que varias investigaciones indican que en ciertas regiones el índice de prevalencia sería más alto que en otras, puesto que en algunas zonas la explotación animal es más intensiva y por ende al aumentar la concentración animal se favorece el contagio del bacilo y con ello aumenta su incidencia y prevalencia. Sin embargo, Lomillos & Gomez (2015) nos dicen que, debido a la inexistencia de interactividad del ganado perteneciente a explotaciones bovinas intensivas con animales silvestres, los brotes de TBB han sido controlados de manera rápida en este tipo de explotación ganadera.

4. CONCLUSIONES

- La prevalencia de tuberculosis bovina en el centro de faenamiento del cantón Santa Rosa de la provincia de El Oro fue del 0%, porcentaje obtenido al realizar el análisis molecular PCR-LAMP. Sin Embargo, existió un 2,5% de animales con Micobacterias atípicas.

- De los 157 bovinos evaluados mediante análisis macroscópico post mortem, se encontraron 25 animales que presentaban linfonodos con lesiones compatibles con TBB, lo que representa un 15,9%.

- Al realizar el cultivo bacteriológico en medios de cultivo Ogawa Kudoh y Stonebrink se identificó mediante baciloscopía, un 28% de animales positivos a BAAR (7/25), lo que significa que las alteraciones ganglionares que presentaban eran provocadas por bacilos ácido-alcohol resistentes.

- Al aplicar el análisis molecular PCR-LAMP a las colonias aisladas de los medios de cultivo, se determina una prevalencia de *M. bovis* de 0%.

- Los resultados del análisis de las variables son los siguientes: en cuanto a la raza, todos los animales faenados fueron mestizos (100%). En la variable sexo se concluye que en 1,9% de animales hembras y en 0,6% de machos se encontró Micobacterias atípicas. Por otro lado, respecto a la edad, los animales pertenecientes al rango de edad de entre 3-4 años fueron los más afectados por estas micobacterias atípicas (1,3%), además un 0,6 % de animales de entre 5-6 años y un 0,6% de animales de entre 7-8 años presentaron los agentes infecciosos mencionados. Con respecto al lugar de procedencia, 1 animal procedente de Arenillas, 1 animal procedente de Torata, 1 de Las Lajas y 1 de Zaruma, fueron positivos a Mycobacterium atípicas. Debido a que los resultados obtenidos fueron

solamente positivos a micobacterias atípicas y no a M. bovis, no se pudo establecer el índice de tuberculosis bovina según las variables mencionadas.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas de análisis molecular con primers que ayuden a clasificar estas micobacterias atípicas encontradas debido a que son de importancia zoonótica.

- Plantear a nivel nacional un protocolo efectivo de inspección macroscópica post mortem en mataderos, debido a que, en la mayoría de los casos, solamente revisan tejido hepático y pulmonar, y olvidan analizar afecciones en ganglios linfáticos y otros órganos y tejidos.

- Consumir leche pasteurizada y realizar buenas prácticas de manejo, preparación y cocción de la carne de animales, para así evitar el contagio de estos Mycobacterium spp.

- Las autoridades del país como el Ministerio de Salud Pública y Agrocalidad deberían trabajar en forma coordinada para establecer planes que permitan erradicar el contagio de estos tipos de microorganismos como son las Micobacterias.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Banos G, Winters M, Mrode R, Mitchell AP, Bishop SC, Woolliams JA, et al. Genetic evaluation for bovine tuberculosis resistance in dairy cattle. J Dairy Sci [Internet]. 2017;100(2):1272–81. Available from: https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0022030216308517?token=19AA51679B66EE831E84C54BEE32FE0B1D7021C5039D3FF1ADE47EAFF14B0EF1B91C16027F7C785A0BEC022ABB84E581

2. Nuñez J, Downs S, Parry J, Darrel A, Broughan J, Cameron A, et al. Meta-analyses of the sensitivity and specificity of ante-mortem and post-mortem diagnostic tests for bovine tuberculosis in the UK and Ireland. Prev Vet Med [Internet]. 2018;153:94–107. Available from: https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0167587716302963?token=A0F1824DD82AFAE0D27A122D0AD109A3E8112CCFAA5D683E52CA7539C076F2824046D03E5387997D9381F5EE7673927A

3. Memon M-R, Latif A, Ghiasuddin S, Khatri P, Baloch J, Riaz A, et al. Prevalence and pathological lesions of bovine tuberculosis assessment through routine procedures of meat inspection in infected cattle in Karachi metropolitan corporation abattoirs. Pure Appl Biol [Internet]. 2019;8(3):1909–18. Available from: https://media.proquest.com/media/hms/PFT/1/HWbYB?_s=i9qIfd3xbrXDnIHalMyaNAvOAm4%3D

4. McCulloch SP, Reiss MJ. Bovine Tuberculosis and Badger Control in Britain: Science, Policy and Politics. J Agric Environ Ethics [Internet]. 2017;30(4):469–84. Available from: https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10806-017-9686-3.pdf

5. Ramos N. Determinación de prevalencia de tuberculosis bovina a nivel de hatos ganaderos en la parte baja de la provincia del Oro. 2017; Available from: http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/11718

6. Román F, Chávez R. Prevalencia de enfermedades que afectan la reproducción en ganado Bovino Lechero del cantón Loja Prevalence of diseases that affect reproduction in dairy cattle. Rev la Dir Investig [Internet]. 2016;83–90. Available from: http://192.188.49.30/index.php/cedamaz/article/view/65/64

7. Byrne AW, Allen AR, O'Brien DJ, Miller MA. Bovine tuberculosis—international perspectives on epidemiology and management. Front Vet Sci [Internet]. 2019;6(JUN):1–5. Available from: http://www.readcube.com/articles/10.3389/fvets.2019.00202

8. Srinivasan S, Jones G, Veerasami M, Steinbach S, Holder T, Zewude A, et al. A defined antigen skin test for the diagnosis of bovine tuberculosis. Sci Adv [Internet]. 2019;5(7). Available from: https://advances.sciencemag.org/content/advances/5/7/eaax4899.full.pdf

9. Schiller I, Oesch B, Vordermeier HM, Palmer M V., Harris BN, Orloski KA, et al. Bovine tuberculosis: A review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication. Transbound Emerg Dis [Internet]. 2010;57(4):205–20. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1865-1682.2010.01148.x

10. Barberis I, Bragazzi NL, Galluzzo L, Martini M. The history of tuberculosis: From the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. J Prev Med Hyg [Internet]. 2017;58(1):E9–12. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5432783/pdf/2421-4248-58-E9.pdf

11. Duarte I. Sanatorios Para Tuberculosos: Auge Y Decadencia. Rev Médica Clínica Las Condes [Internet]. 2015;26(3):409–18. Available from: https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-pdf-S0716864015000796

12. Good M, Bakker D, Duignan A, Collins DM. The history of in vivo tuberculin testing in bovines: Tuberculosis, a "One Health" issue. Front Vet Sci [Internet]. 2018;5(APR). Available from: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2018.00059/full

13. Smith T. A comparative study of bovine tubercle bacilli and of human bacilli from sputum. J Exp Med [Internet]. 1898;3(4–5):451–511. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2117982/pdf/451.pdf

14. Kaufmann S, Weiner J, Von Reyn F. Novel approaches to tuberculosis vaccine development. Int J Infect Dis [Internet]. 2017;56:263–7. Available from: https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1201971216312024?token=B920522AB043E8EA505B1BDD3FE8180F66C8CCAA87789F238C3F39DB19712DC81538E0192D6B297CF1018047FA877777

15. Rothschild BM, Martin LD, Lev G, Bercovier H, Bar-Gal GK, Greenblatt C, et al. Mycobacterium tuberculosis Complex DNA from an Extinct Bison Dated 17,000 Years before the Present. Clin Infect Dis [Internet]. 2001;33:305–11. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11438894

16. Abdifetah M. Bovine tuberculosis at the human–livestock–wildlife interface and its control through one health approach in the Ethiopian Somali Pastoralists: A review. One Heal [Internet]. 2020;9. Available from: https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2352771419300631?token=AEB78CBCB8203320A8AEB38026197D5D6532BDF379F22B61E1CD86941FA1CA867B457EB2ECA7CDF8A97A2A2209831A93

17. Jemal AM. Review on Zoonotic Importance of Bovine Tuberculosis and Its Control. OALib [Internet]. 2016;3:1–13. Available from: https://www.scirp.org/pdf/OALibJ_2016072711421408.pdf

18. Tsukamura M, Mizuno S, Toyama H. Taxonomic Studies on the Mycobacterium tuberculosis Series. Microbiol Immunol [Internet]. 1985;29(4):285–99. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1348-0421.1985.tb00827.x

19. Tsang KK, Speicher DJ, Mcarthur AG. Pathogen taxonomy updates at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database : Implications for molecular epidemiology. Preprints [Internet]. 2019;(July):1–5. Available from: https://www.preprints.org/manuscript/201907.0222/v1

20. Wagary A. Bovine tuberculosis lesion description with molecular characterization

of mycobacterium species from cattle slaughtered at Abattoirs Bishoftu, Ethiopia [Internet]. Addis Ababa University; 2016. Available from: http://etd.aau.edu.et/bitstream/handle/123456789/3960/Akinaw Wagari.pdf?sequence=1&isAllowed=y

21. Woldemariam T. Epidemiology of bovine tuberculosis and its zoonotic transmission in contact humans in east Shewa Zone, central Ethiopia [Internet]. Addis Ababa University; 2019. Available from: http://213.55.95.56/bitstream/handle/123456789/18758/Tefera2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y

22. Aslam MS, Javed MT, Khan A, Iqbal Z, Aslam MS, Javed MT, et al. Bacterial and Pcr Based Diagnosis of Naturally Occurring Bovine Tuberculosis in Cattle and Buffaloes. Pakistan J Agric Sci [Internet]. 2019;56(2):481–7. Available from: https://pdfs.semanticscholar.org/02c2/a2084a9ff906973d28fdd82ff73487022e94.pdf

23. Leghari A, Kamboh AA, Lakho SA, Khand FM, Malhi KK, Chandio IB, et al. Prevalence and risk factors associated with bovine tuberculosis in cattle in Hyderabad and Tando Allahyar Districts, Sindh, Pakistan. Pak J Zool [Internet]. 2020;52(1):207–12. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Iqra_Bano2/publication/336814187_Prevalence_and_Risk_Factors_Associated_with_Bovine_Tuberculosis_in_Cattle_in_Hyderabad_and_Tando_Allahyar_Districts_Sindh_Pakistan/links/5db7a26f4585151435cddb63/Prevalence-and-Risk-Fac

24. Humblet MF, Boschiroli ML, Saegerman C. Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: A stratified approach. Vet Res [Internet]. 2009;40(5). Available from: https://www.vetres.org/articles/vetres/pdf/2009/05/v09132.pdf

25. Campbell EL, Byrne AW, Menzies FD, McBride KR, McCormick CM, Scantlebury M, et al. Interspecific visitation of cattle and badgers to fomites: A transmission risk for bovine tuberculosis? Ecol Evol [Internet]. 2019;9(15):8479–89. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ece3.5282

26. Barron MC, Tompkins DM, Ramsey DSL, Bosson MAJ. The role of multiple wildlife hosts in the persistence and spread of bovine tuberculosis in New Zealand. N Z Vet J [Internet]. 2015;63(0):68–76. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4566902/pdf/tnzv-63-068.pdf

27. Petronillah R, Vander C, Séverine T, Michel A. Risk practices for bovine tuberculosis transmission to cattle and livestock farming communities living at wildlife-livestock-human interface in northern KwaZulu Natal , South Africa. BioRxiv [Internet]. 2019;1–37. Available from: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/699520v1.full.pdf

28. Skuce RA, Allen AR, McDowell SWJ. Herd-level risk factors for bovine tuberculosis: A literature review. Vet Med Int [Internet]. 2012; Available from: http://downloads.hindawi.com/journals/vmi/2012/621210.pdf

29. Yahyaoui-Azami H, Aboukhassib H, Bouslikhane M, Berrada J, Rami S, Reinhard M, et al. Molecular characterization of bovine tuberculosis strains in two slaughterhouses in Morocco. BMC Vet Res [Internet]. 2017;13(1):1–7. Available from: https://link.springer.com/content/pdf/10.1186%2Fs12917-017-1165-6.pdf

30. Hurtado M. Diagnóstico de tuberculosis bovina mediante la prueba intradermica caudal (tuberculinas) en los cantones de Esmeraldas, Eloy Alfaro y Quininde de la provincia de Esmeraldas [Internet]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2015. Available from: http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/1543/1/T-UTEQ-0178.pdf

31. Jha VC, Morita Y, Dhakal M, Besnet B, Sato T, Nagai A, et al. Isolation of Mycobacterium spp. from milking buffaloes and cattle in Nepal. J Vet Med Sci [Internet]. 2007;69(8):819–25. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/69/8/69_8_819/_pdf/-char/ja

32. Perez AM, Ward MP, Ritacco V. Simulation-model evaluation of bovine tuberculosis-eradication strategies in Argentine dairy herds. Prev Vet Med [Internet]. 2002;54(4):351–60. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587702000442

33. Mehmood A. Investigating the role of conglutinin in host- pathogen interactions in

bovine tuberculosis [Internet]. Brunel University London; 2019. Available from: https://bura.brunel.ac.uk/handle/2438/19041

34. Pollock JM, Pollock DA, Campbell DG, Girvin RM, Crockard AD, Neill SD, et al. Dynamic changes in circulating and antigen-responsive T-cell subpopulations post-Mycobacterium bovis infection in cattle. Immunology [Internet]. 1996;87(2):236–41. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1365-2567.1996.457538.x

35. Ndlovu H, Marakalala MJ. Granulomas and inflammation: Host-directed therapies for tuberculosis. Front Immunol [Internet]. 2016;7(OCT). Available from: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00434/full

36. Hogan LH, Markofski W, Bock A, Barger B, Morrissey JD, Sandor M. Mycobacterium bovis BCG-induced granuloma formation depends on gamma interferon and CD40 ligand but does not require CD28. Infect Immun [Internet]. 2001;69(4):2596–603. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC98196/pdf/ii002596.pdf

37. Sundaramurthy V, Pieters J. Interactions of pathogenic mycobacteria with host macrophages. Microbes Infect [Internet]. 2007;9(14–15):1671–9. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1286457907002870?via%3Dihub

38. Menin Á, Fleith R, Reck C, Marlow M, Fernandes P, Pilati C, et al. Asymptomatic Cattle Naturally Infected with Mycobacterium bovis Present Exacerbated Tissue Pathology and Bacterial Dissemination. PLoS One [Internet]. 2013;8(1):18–21. Available from: https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0053884&type=printable

39. Cushicóndor D. Prevalencia de tuberculosis bovina (TBB) mediante inspección post-mortem y cultivo bacteriológico en el matadero municipal del cantón Mejía (Pichincha) [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2014. Available from: http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6634/1/T-UCE-0014-010.pdf

40. Trewby H. The genetic and spatial epidemiology of bovine tuberculosis in the UK:

[Internet]. University of Glasgow; 2016. Available from: http://theses.gla.ac.uk/7232/1/2015trewbyphd.pdf

41. Li S. Evaluating surveillance strategies for bovine tuberculosis in Scotland [Internet]. The University of Edinburgh; 2016. Available from: https://era.ed.ac.uk/handle/1842/31083

42. Torres P. Las pruebas tuberculínicas en el ganado bovino. Programa Control Tuberc [Internet]. 2010; Available from: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/file1014-1011.pdf

43. Vanegas E, Mora L. Diagnostico de mycobacteriosis por técnicas microbiologicas en animales faenados en un camal de la provincia del Guayas [Internet]. Universidad de Guayaquil; 2018. Available from: http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/32934/1/2018- 343 Vanegas Guerrero%2C Eduard-Mora Trujillo%2C Ana.pdf

44. Mora L. Determinación de micobacterias spp en bovinos faenados en el matadero municipal de la ciudad de Guayaquil. Universidad Agraria del Ecuador; 2018.

45. Cedeño I, De Obaldía R, Sanjur O, Bayard V, Ortega-Barría E, Escobar C. Use of the polymerase chain reaction for diagnosing bovine tuberculosis in Panama. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics) [Internet]. 2005;24(3):1067–75. Available from: https://doc.oie.int/seam/resource/directMedia/mpQFfmmrv3PTwCwETH1FW3otGdXrIQ0Y;jsessionid=6f4a3b4a9e6d31a657eeb40e258c?binaryFileId=9535&cid=1533

46. Nahar Q, Pervin M, Islam M, Khan M. Application of PCR for the detection of bovine tuberculosis in cattle. J Bangladesh Agric Univ [Internet]. 2011;9(1):73–8. Available from: https://doi.org/10.3329/jbau.v9i1.8747

47. Mantilla GJ, Ortiz MM, Acosta AM, Acosta GR, J. SZ. Diagnóstico De Tuberculosis Bovina Por Aislamiento Bacteriológico O Histopatológico De Vacunos Reactores a La Prueba De Tuberculina. 2009; Available from: http://infolactea.com/wp-content/uploads/2015/03/620.pdf

48. Bartaula B, Pradhan B, Bhatta N, Naveen P, Baral D, Mudbhari B. Study of predictive factors of anti tuberculosis treatment induced hepatotoxicity. Eur J Biomed Pharm Sci [Internet]. 2017;4(1):210–2015. Available from: https://www.researchgate.net/publication/315476343_STUDY_OF_PREDICTIVE_FACTORS_OF_ANTI_TUBERCULOSIS_TREATMENT_INDUCED_HEPATOTOXICITY

49. Jacobus H. Tuberculosis bovina [Internet]. Manual de Ganadería Doble Propósito. Caracas, Venezuela; 2005. 364–369 p. Available from: http://avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo14-s5.pdf

50. De la Rua-Domenech R, Goodchild AT, Vordermeier HM, Hewinson RG, Christiansen KH, Clifton-Hadley RS. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests, γ-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. Res Vet Sci [Internet]. 2006;81(2):190–210. Available from: https://www.sci-hub.tw/10.1016/j.rvsc.2005.11.005

51. OMS. Tuberculosis [Internet]. 2019 [cited 2020 Feb 5]. Available from: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis

52. Proaño-Pérez F, Benítez-Ortiz W, Portaels F, Rigouts L, Linden A. Situation of bovine tuberculosis in Ecuador. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Heal. 2011;30(3):279–86.

53. OIE. Tuberculosis bovina: OIE - World Organisation for Animal Health [Internet]. Organización Mundial de Sanidad Animal. 2019 [cited 2020 Feb 5]. Available from: https://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-los-animales/tuberculosis-bovina/

54. Proaño F. Contribution to the epidemiology of bovine tuberculosis in northern Ecuador [Internet]. Université de Liège; 2011. Available from: http://bictel.ulg.ac.be/ETD-db/collection/available/ULgetd-09152011-224004/unrestricted/ThesisFreddyProano.pdf

55. Nebreda-Mayoral T, Brezmes-Valdivieso MF, Gutiérrez-Zufiaurre N, García-de Cruz S, Labayru-Echeverría C, López-Medrano R, et al. Human Mycobacterium

bovis infection in Castile and León (Spain), 2006-2015. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2019;37(1):19–24. Available from: https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X17303828

56. Olea-Popelka F, Muwonge A, Perera A, Dean AS, Mumford E, Erlacher-Vindel E, et al. Zoonotic tuberculosis in human beings caused by Mycobacterium bovis—a call for action. Lancet Infect Dis [Internet]. 2016;17(1). Available from: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Our_scientific_expertise/docs/pdf/Tuberculosis/Zoonotic_TB_The_Lancet.pdf

57. Murai K, Tizzani P, Awada L, Mur L, Mapitse NJ, Caceres P. Tuberculosis bovina: distribución mundial y aplicación de medidas de prevención y control según los datos de WAHIS. Organ Mund Sanid Anim [Internet]. 2019; Available from: https://oiebulletin.com/index.php?panorama=wahis-tb-es&lang=es&edition=7596&pdf=panorama&article=8602

58. Fuentes Quisiguano O, Paredes Muñoz J, Mosquera J. Prevalencia de brucelosis bovina en el periodo 2004-2012 y tuberculosis bovina en el periodo 2006-2012 en hatos lecheros del Cantón Mejía. In: Maskana, 1er Congreso Internacional de Producción Animal especializada en bovinos [Internet]. 2015. Available from: https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/683/597

59. Herrera E. Diagnóstico de Tuberculosis Bovina, mediante la Prueba Intradérmica Cervical comparada en cinco hatos lecheros en la Ciudad de Otavalo, Provincia de Imbabura [Internet]. Universidad de las Américas; 2016. Available from: http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/2808/8/UDLA-EC-TMVZ-2011-12.pdf

60. Echeverría G. 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 (Tunguragua) [Internet]. Escuela Politécnica del Ejército; 2011. Available from: http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4982/1/T-ESPE-033021.pdf

61. Paccha D. Diagnóstico de tuberculosis bovina, por medio de la prueba cervical

comparativa en hembras bovinas De la Hoya de Loja [Internet]. Universidad Nacional de Loja; 2012. Available from: https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5399/1/TESIS Darwin Aurelio Paccha Paccha DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA%2C.pdf

62. Guamán M. Diagnostico De Tuberculosis Bovina Mediante Alerginización [Internet]. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo; 2012. Available from: http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/2126/1/17T1096.pdf

63. Zambrano M. Determinacion de tuberculosis (Mycobacterium bovis) con la prueba tuberculina en el area de influencia del cantón El Carmen [Internet]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2013. Available from: http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/604/1/T-UTEQ-0096.pdf

64. Quinatoa Iván, Chicaiza J. Análisis de factores de riesgo y determinación de la prevalencia de tuberculosis bovina utilizando técnicas estadísticas bayesianas en las provincias de Cotopaxi, Carchi e Imbabura [Internet]. Universidad Central del Ecuador; 2013. Available from: http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1274/1/T-UCE-0014-34.pdf

65. Moyano J, López J, Vargas J, Quinteros O, Marini P. Prevalencia de enfermedades infecciosas en la Amazonia del Ecuador. In: Memorias del XXXIX Congreso Nacional e Internacional de Buiatría 2015 “Lic Luis Bravo Tornel” [Internet]. 2015. p. 37–9. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Frank_Goyes/publication/312653150_Ganancia_de_peso_en_ovinos_alimentados_con_ensilajes_de_Pennisetum_purpureum_y_un_suplemento_proteico/links/58897635a6fdcc9a35c14c9c/Ganancia-de-peso-en-ovinos-alimentados-con-ensilaje

66. Suquilanda R. Prevalencia de tuberculosis bovina (TBB), en el cantón Loja mediante inspección post mortem en el camal frigorífico de Loja [Internet]. Universidad Nacional de Loja; 2015. Available from: https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10242/1/TESIS- Rober Luciano Suquilanda Ludeña.pdf

67. Paillacho PG. Prevalencia De Tuberculosis Bovina En La Parroquia Santa Martha De Cuba Del Cantòn Tulcán [Internet]. Universidad Politécnica Estatal del Carchi; 2015. Available from: http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/468/1/292 prevalencia de tuberculosis bovina en la parroquia santa martha de cuba del caton tulcan.pdf

68. Roa J. Estudio De La Prevalencia De Tuberculosis Bovina En Ganaderias Bovinas Del Canton Loja" [Internet]. Universidad Nacional de Loja; 2015. Available from: http://192.188.49.17/jspui/bitstream/123456789/11684/1/TESIS JUNIOR EDUARDO ROA ARMIJOS.pdf

69. Vinueza S. Determinación de la prevalencia de tuberculosis bovina en la hacienda Pucate del cantón Chambo Provincia de Chimborazo [Internet]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015. Available from: http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/5215/1/17T1301.pdf

70. Andrade D. Situación actual de la brucelosis y tuberculosis bovina en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas [Internet]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2016. Available from: http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/5350/1/17T1383.pdf

71. Salazar S. Prevalencia de tuberculosis (mycrobacterium bovis) mediante la aplicación de la prueba de tuberculina en el sector sur-este de la provincia de Santa Elena [Internet]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2017. Available from: http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/2711/1/T-UTEQ-0077.pdf

72. Palacios C. Aplicación de la técnica de lamp en el estudio de (Mycobacterium bovis) en el camal municipal del cantón El Empalme, provincia del Guayas 2018 [Internet]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2019. Available from: http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3723/1/T-UTEQ-0033.pdf

73. Nuques C. Prevalencia de tuberculosis bovina (TBB) en 3 hatos ganaderos del cantón General Antonio Elizalde (Bucay). AUTOR [Internet]. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil; 2019. Available from: http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/12712/1/T-UCSG-PRE-TEC-CMV-65.pdf

74. Orbe R. Prevalencia de tuberculosis bovina en haciendas ganaderas de la Parroquia Tulcán del Cantón Tulcán [Internet]. Universidad Politécnica Estatal del Carchi; 2019. Available from: http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/830/1/361 Prevalencia de tuberculosis bovina en haciendas ganaderas de la parroquia tulcan del canton tulcan.pdf

75. Plúas L. "Técnica de LAMP (amplificación isotérmica mediada por Loop) para la detección directa de Mycobacterium bovis en el Camal Municipal del cantón Buena Fe [Internet]. Universidad Estatal de Quevedo; 2019. Available from: http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3725/1/T-UTEQ-0035.pdf

76. Lomillos J, Gomez C. Tuberculosis bovina: aspectos generales y problemática [Internet]. Centro de vigilancia veterinaria. 2015 [cited 2020 Feb 8]. p. 52–4. Available from: https://www.visavet.es/es/tuberculosis-bovina-aspectos-generales-y-problematica/12=470/

77. Cruz L, Pozo K. Diagnóstico de Mycobacterium bovis en bovinos faenados en el camal de Daule durante el mes de noviembre del año 2018 [Internet]. Universidad de Guayaquil; 2019. Available from: http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39228/1/2019 Cruz Molleturo Lissette y Pozo Márquez Kevin.pdf

78. Arévalo AR, Alarcón H, Arévalo DE. Métodos diagnósticos en Tuberculosis; lo Convencional y los Avances tecnológicos en el Siglo XXI. Revista Médica La Paz [Internet]. 2015;21(1). Available from: http://www.scielo.org.bo/pdf/rmcmlp/v21n1/v21n1_a11.pdf

79. Hurtado J. Diagnóstico de Mycobacterium tuberculosis en esputo de pacientes mediante la técnica de tinción de Ziehl Neelsen [Internet]. Universidad Técnica de Machala; 2017. Available from: http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10256/1/ORELLANA HURTADO JAVIER VICENTE.pdf

80. Lojan F. Prevalencia de tuberculosis en hembras bovinas adultas del Cantón Santa Rosa, provincia de El Oro. Universidad Técnica de Machala; 1982.

81. Jaramillo B. Presencia de tuberculosis bovina en animales sacrificados en el camal municipal de Santa Rosa. Universidad Técnica de Machala; 2002.

7. ANEXOS

Anexo 1. Descripción de bovinos inspeccionados macroscópicamente que presentaron lesiones compatibles con TBB a nivel de ganglios linfáticos

FECHA	N° MUESTRA	RAZA	SEXO	EDAD (AÑOS)	PROCEDENCIA
1/11/2019	1	Mestiza	HEMBRA	5	ARENILLAS
1/11/2019	2	Mestiza	HEMBRA	5	TORATA
1/11/2019	3	Mestiza	MACHO	3	SANTA ROSA
1/11/2019	4	Mestiza	HEMBRA	7	PASAJE
1/11/2019	5	Mestiza	MACHO	5	SANTA ROSA
2/11/2019	6	Mestiza	MACHO	7	PASAJE
2/11/2019	7	Mestiza	HEMBRA	5	TORATA
2/11/2019	8	Mestiza	MACHO	5	SANTA ROSA
9/11/2019	9	Mestiza	HEMBRA	5	LAS LAJAS
9/11/2019	10	Mestiza	HEMBRA	3	ARENILLAS
9/11/2019	11	Mestiza	MACHO	5	ARENILLAS
10/11/2019	12	Mestiza	HEMBRA	5	PACCHA
10/11/2019	13	Mestiza	HEMBRA	8	ZARUMA
16/11/2019	14	Mestiza	HEMBRA	5	LA CHILCA
16/11/2019	15	Mestiza	HEMBRA	3	LAS LAJAS
16/11/2019	16	Mestiza	MACHO	5	TORATA
17/11/2019	17	Mestiza	HEMBRA	6	TORATA
17/11/2019	18	Mestiza	HEMBRA	5	LAS LAJAS
17/11/2019	19	Mestiza	MACHO	9	JUMÓN
24/11/2019	20	Mestiza	HEMBRA	7	EL AMOR
24/11/2019	21	Mestiza	HEMBRA	4	SANTA ROSA
24/11/2019	22	Mestiza	HEMBRA	5	ZARUMA
24/11/2019	23	Mestiza	MACHO	3	SANTA ROSA
24/11/2019	24	Mestiza	HEMBRA	5	SANTA ROSA
24/11/2019	25	Mestiza	MACHO	4	ARENILLAS

Anexo 2. Determinación de muestras positivas en medios de cultivo Ogawa Kudoh y Stonebrink por medio de baciloscopía

N° muestra	Sexo	Edad (años)	Procedencia	Ogawa Kudoh		Stonebrink		BAAR
				1	2	1	2	
1	HEMBRA	5	ARENILLAS	-	-	-	-	NEGATIVO
2	HEMBRA	5	TORATA	-	✕	-	-	NEGATIVO
3	MACHO	3	SANTA ROSA	-	-	✕	-	NEGATIVO
4	HEMBRA	7	PASAJE	-	-	-	-	NEGATIVO
5	MACHO	5	SANTA ROSA	-	-	-	-	NEGATIVO
6	MACHO	7	PASAJE	-	-	-	-	NEGATIVO
7	HEMBRA	5	TORATA	-	-	-	-	NEGATIVO
8	MACHO	5	SANTA ROSA	-	✕	-	-	NEGATIVO
9	HEMBRA	5	LAS LAJAS	-	-	-	✕	NEGATIVO
10	HEMBRA	3	ARENILLAS	✓	-	-	-	POSITIVO
11	MACHO	5	ARENILLAS		✕			NEGATIVO
12	HEMBRA	5	PACCHA	-	-	-	-	NEGATIVO
13	HEMBRA	8	ZARUMA	✕	✓	✕	✕	POSITIVO
14	HEMBRA	5	LA CHILCA	-	-	-	✕	NEGATIVO
15	HEMBRA	3	LAS LAJAS	✓	✕	✓	✕	POSITIVO
16	MACHO	5	TORATA	✕	✓	✓	✕	POSITIVO
17	HEMBRA	6	TORATA	✓	-	-	✓	POSITIVO
18	HEMBRA	5	LAS LAJAS	-	-	-	-	NEGATIVO
19	MACHO	9	JUMÓN	-	-	-	-	NEGATIVO
20	HEMBRA	7	EL AMOR	-	-	-	-	NEGATIVO
21	HEMBRA	4	SANTA ROSA	-	✕	-	-	NEGATIVO
22	HEMBRA	5	ZARUMA	✓	✕	✕	-	POSITIVO
23	MACHO	3	SANTA ROSA	✕	✕	✕	-	NEGATIVO
24	HEMBRA	5	SANTA ROSA	✕	✕	✕	-	NEGATIVO
25	MACHO	4	ARENILLAS	✕	✓	-	✓	POSITIVO

Anexo 3. Ficha de reporte general de canales observadas

FICHA DE REPORTE CAMAL #1

Reporte General de Canales observadas

Datos Generales

Fecha: 01/11/2019

Código del estudiante: AVSAN

Nombre de Camal: Santa Rosa

Descripción

Línea de Faenamiento: 1 ☑ 2 ☐

-marcar con un visto la línea de Faenamiento donde se reportan las canales

Canales sin lesiones compatibles: ☒ ☒ ☒ ☒ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales sin lesiones compatibles

Canales con lesiones compatibles: ☒ ☐ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales con lesiones compatibles

Comentarios y observaciones:

Ninguna

Firma del estudiante

Firma de Tutor

FICHA DE REPORTE CAMAL #1

Reporte General de Canales observadas

Datos Generales

Fecha: 02/11/2019

Código del estudiante: AVSAN

Nombre de Camal: Santa Rosa

Descripción

Línea de Faenamiento: 1 ☑ 2 ☐

-marcar con un visto la línea de Faenamiento donde se reportan las canales

Canales sin lesiones compatibles: ☒ ☒ ☒ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales sin lesiones compatibles

Canales con lesiones compatibles: ☒ ☐ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales con lesiones compatibles

Comentarios y observaciones:

Ninguna

Firma del estudiante

Firma de Tutor

FICHA DE REPORTE CAMAL #1

Reporte General de Canales observados

Datos Generales

Fecha: 04/11/2019

Código del estudiante: AVSAN

Nombre de Camal: Santa Rosa

Descripción

Línea de Faenamiento: 1 ☑ **2** ☐

-marcar con un visto la línea de Faenamiento donde se reportan las canales

Canales sin lesiones compatibles: ☒ ☒ ☒ ☒ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales sin lesiones compatibles

Canales con lesiones compatibles: ☒ ☐ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales con lesiones compatibles

Comentarios y observaciones:

Ninguna

Firma del estudiante

Firma de Tutor

FICHA DE REPORTE CAMAL #1

Reporte General de Canales observados

Datos Generales

Fecha: 10/11/2019

Código del estudiante: AVSAN

Nombre de Camal: Santa Rosa

Descripción

Línea de Faenamiento: 1 ☑ **2** ☐

-marcar con un visto la línea de Faenamiento donde se reportan las canales

Canales sin lesiones compatibles: ☒ ☒ ☒ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales sin lesiones compatibles

Canales con lesiones compatibles: ☒ ☐ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales con lesiones compatibles

Comentarios y observaciones:

Ninguna

Firma del estudiante

Firma de Tutor

FICHA DE REPORTE CAMAL #1

Reporte General de Canales observadas

Datos Generales

Fecha: 16/11/2019

Código del estudiante: AVSAN

Nombre de Camal: Santa Rosa

Descripción

Línea de Faenamiento: 1 ☑ **2** ☐

-marcar con un visto la línea de Faenamiento donde se reportan las canales

Canales sin lesiones compatibles: ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales sin lesiones compatibles

Canales con lesiones compatibles: ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales con lesiones compatibles

Comentarios y observaciones:

Ninguna

Firma del estudiante

Firma de Tutor

FICHA DE REPORTE CAMAL #1

Reporte General de Canales observadas

Datos Generales

Fecha: 17/11/2019

Código del estudiante: AVSAN

Nombre de Camal: Santa Rosa

Descripción

Línea de Faenamiento: 1 ☑ **2** ☐

-marcar con un visto la línea de Faenamiento donde se reportan las canales

Canales sin lesiones compatibles: ☒ ☒ ☐ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales sin lesiones compatibles

Canales con lesiones compatibles: ☒ ☐ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales con lesiones compatibles

Comentarios y observaciones:

Ninguna

Firma del estudiante

Firma de Tutor

FICHA DE REPORTE CAMAL #1

Reporte General de Canales observados

Datos Generales

Fecha: 24/11/2019

Código del estudiante: AVSAN

Nombre de Camal: Santa Rosa

Descripción

Línea de Faenamiento: 1 ☑ **2** ☐

-marcar con un visto la línea de Faenamiento donde se reportan las canales

Canales sin lesiones compatibles: ☒ ☒ ☒ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales sin lesiones compatibles

Canales con lesiones compatibles: ☒ ☐ ☐ ☐ ☐

-remarcar las líneas del número de canales con lesiones compatibles

Comentarios y observaciones:

Ninguna

Firma del estudiante

Firma de Tutor

Anexo 4. Ficha de reporte de camal por canal con lesión compatible detectada

FICHA DE REPORTE CAMAL #2

Reporte por canal con lesión compatible detectada

Datos Generales

Fecha: 9/11/2019

Código del estudiante: AVSAM10

Nombre de Camal: Santa Rosa

Lesiones macroscópicas	
☐ Lesiones pulmonares	☐ • Lesiones de gran tamaño de apariencia caseificada y zonas de mineralización. ☐ • En superficies serosas, se observan nódulos firmes de 2-10 cm de diámetro. ☐ • Se aprecien nódulos firmes de aspecto granulomatoso. ☐ • Se encuentran abscesos generalizados en todo el parénquima pulmonar.
☑ Lesiones en Ganglios Cervicales y Retro faríngeos	☑ • Lesiones caseosas exclusivamente en ganglios cervicales anteriores, la vía de entrada pudo haber sido respiratoria o digestiva. ☐ • Lesiones caseosas en ganglios retro faríngeos, la vía de entrada mucosa nasal. ☐ • Nodos de color grisáceo o amarillento.
☐ Lesiones en Ganglios Mediastinos	☐ • Ganglios con aumento de tamaño y pequeños tubérculos de tipo caseoso.

- Marcar con un visto las lesiones con las que son compatibles el análisis macroscópico

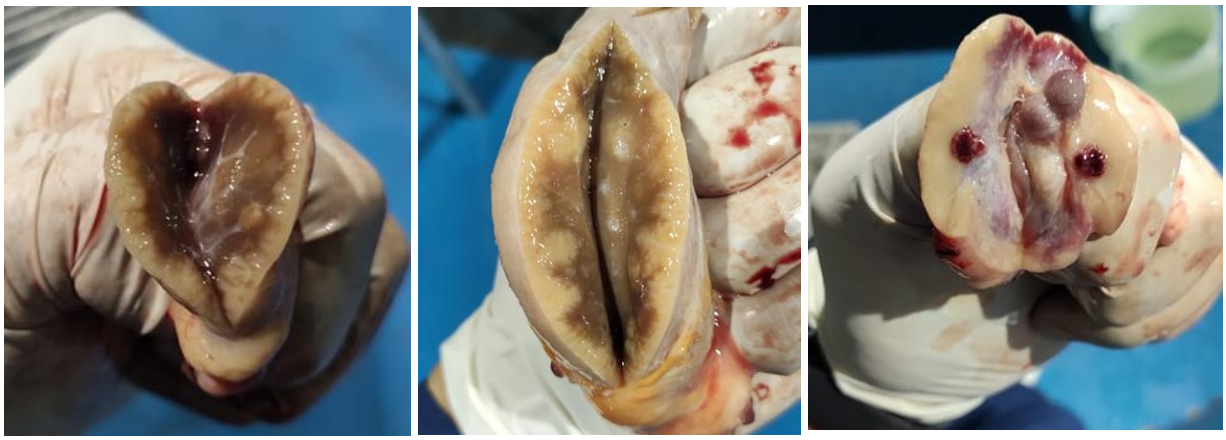
Comentarios y observaciones

Mestiza, Hembra.
3 años
Arenillas

Firma del estudiante

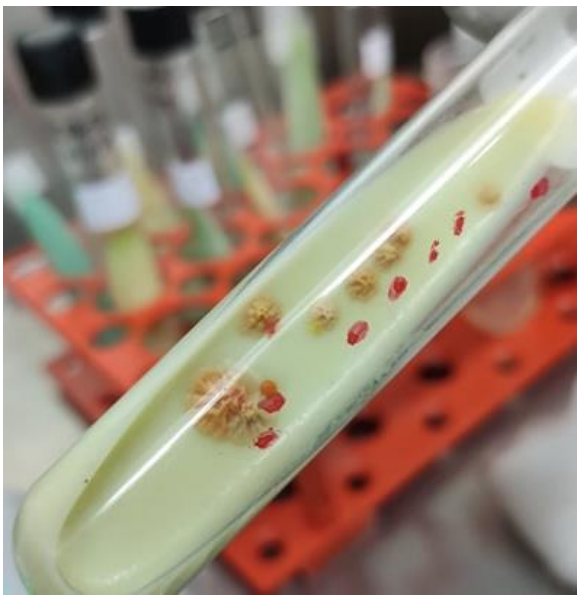
Firma del Tutor

Anexo 5. Inspección macroscópica post mortem de linfonodos

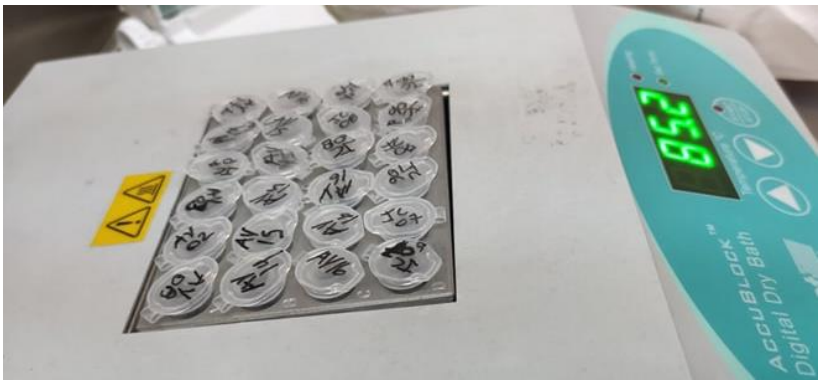


Anexo 6. Maceración y homogeneización de la muestra para su posterior cultivo microbiológico

Anexo 7. Crecimiento bacteriano en medios de cultivo Ogawa Kudoh y Stonebrink



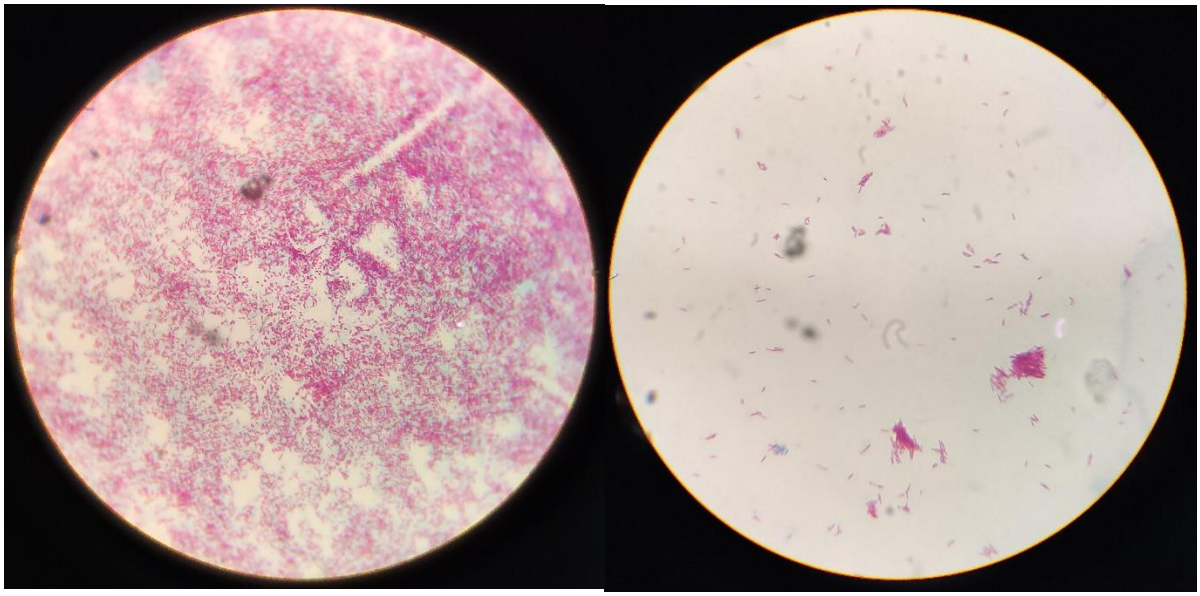
Anexo 8. Aislamiento e inactivación de colonias bacterianas

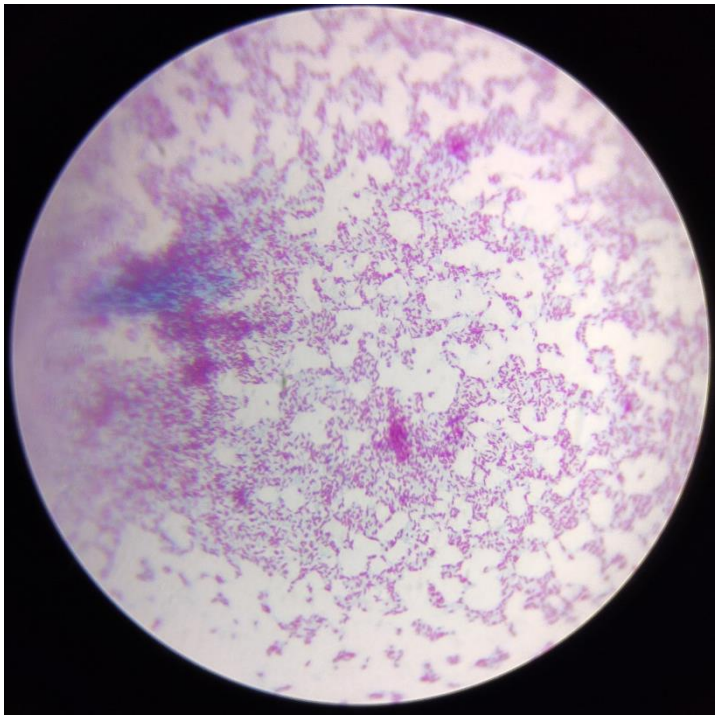


Anexo 9. Ejecución de la técnica de tinción de Ziehl Neelsen

Anexo 10. Análisis microscópico para evidenciar la presencia de BAAR

Anexo 11. Imágenes microscópicas que demuestra la presencia de BAAR en muestras recolectadas en el centro de faenamiento del cantón Santa Rosa





Anexo 12. Proceso de Ejecución PCR-LAMP

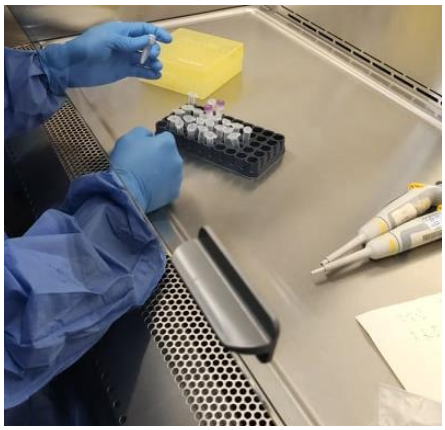


Figura 5. Preparación de primers para LAMP

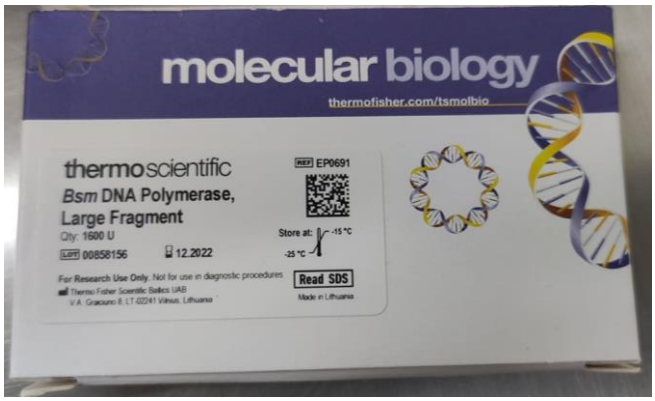


Figura 6. ADN Polimerasa

Figura 7. Muestras en termociclador

Figura 8. Electroforesis

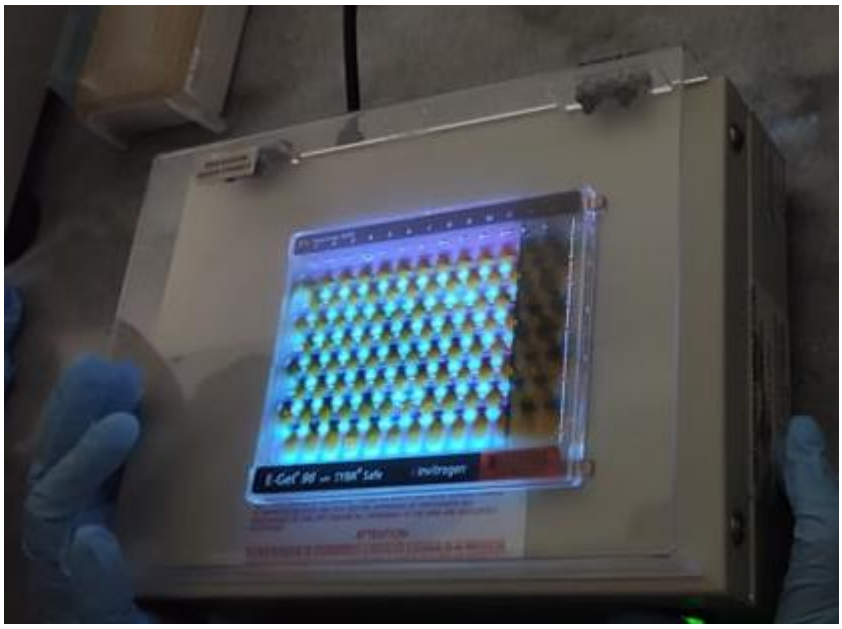


Figura 9. Lectura con luz UV