



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“CONCORDANCIA ENTRE EL CULTIVO BACTERIOLÓGICO Y EXAMEN
HISTOPATOLÓGICO DE LESIONES SUGESTIVAS A TUBERCULOSIS ENCONTRADAS
EN EL EXAMEN POST-MORTEM, EN LOS LABORATORIOS AUTORIZADOS EN
DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA EN MÉXICO DEL AÑO 2009 AL 2012”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

JACOBO CARRISOZA URBINA

Asesores:

MVZ M en C Noé Orlando Juárez López

MVZ M en C Estela Flores Velázquez

MVZ M en C José Alfredo Gutiérrez Reyes



México, D. F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A la facultad de medicina veterinaria y zootecnia, por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente.

A la Dra. Estela Flores Velázquez por su gran apoyo en la realización de mi tesis y el servicio social, así como por sus enseñanzas, consejos y ser un ejemplo a seguir.

Al Dr. José Alfredo Gutiérrez Reyes por darme la oportunidad de realizar la tesis.

Al Dr. Noé Orlando Juárez López por su gran apoyo en la parte estadística, así como por brindarme su amistad y apoyo incondicional.

A mis sinodales por darse el tiempo de leer y estudiar mi tesis, hacerme sus críticas y ayudarme a mejorarla.

MVZ. Arturo Federico Olguín Bernal

MVZ. Jorge Francisco Monroy López

MVZ. Frida Salmerón Sosa

MVZ. Jaime Campuzano Granados

MVZ. Orbelin Soberanis Ramos

DEDICATORIAS

A mi madre y padre por darme la vida, por haberme educado de esta manera, gracias por estar siempre a mi lado y apoyarme en mis decisiones.

A mis hermanos por su amistad, por alegrarme la vida y ser un ejemplo a seguir.

A mi familia que padeció tantas ausencias y desencuentros, pero que su amor incondicional les permitió apoyarme después de todo. Gracias por ser el gran motor que me ha hecho triunfar en la vida.

A mis amigos, quienes estuvieron dispuestos a escuchar las frustraciones y logros a cada paso que di.

“Ahora puedo decir que soy lo que soy gracias a todos ustedes”

ÍNDICE

RESUMEN	1
1 INTRODUCCIÓN.....	3
2 MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Panorama mundial de la tuberculosis humana	4
2.2 Panorama nacional de la tuberculosis humana	5
2.3 Importancia de la tuberculosis bovina en salud pública.....	6
2.4 Distribución geográfica	7
2.5 Pérdidas económicas.....	8
2.6 Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina (<i>Mycobacterium bovis</i>)....	9
2.7 Epidemiología.....	12
2.7.1 Etiología.....	12
2.7.2 Patogenia	12
2.8 Ventajas y desventajas de las pruebas diagnósticas para la tuberculosis bovina realizadas en México	14
2.8.1 Tuberculina.....	15
2.8.2 Bacteriología	18
2.8.3 Histopatología.....	19
2.8.4 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	20
2.8.5 Prueba de Interferón-Gamma (INF- γ).....	21
2.9 Vigilancia epidemiológica de la tuberculosis bovina.....	23
2.9.1 Vigilancia en rastros	23
2.9.2 Proceso de inspección en los rastros	25
2.9.3 Laboratorios autorizados o aprobados en el diagnóstico de tuberculosis bovina.	31
2.9.4 Centros de sacrificio	32
2.9.5 Concordancia entre pruebas de diagnóstico	34
3 JUSTIFICACIÓN.....	35
4 OBJETIVO GENERAL	37

4.1	Objetivos específicos.....	37
5	MATERIAL Y MÉTODOS.....	37
5.1	Material.....	37
5.2	Análisis estadístico.....	38
5.2.1	Primer objetivo.....	38
5.2.2.	Segundo objetivo.....	38
6	RESULTADOS.....	39
6.1	Primer objetivo.....	39
6.2	Segundo objetivo.....	47
7	DISCUSIÓN.....	49
8	CONCLUSIONES.....	51
9	BIBLIOGRAFÍA.....	53

RESUMEN

CARRISOZA URBINA JACOBO. Concordancia entre el cultivo bacteriológico y examen histopatológico de lesiones sugestivas a tuberculosis encontradas en el examen post-mortem, en los laboratorios autorizados en diagnóstico de tuberculosis bovina en México del año 2009 al 2012 (bajo la dirección de: MVZ M en C Noé Orlando Juárez López, MVZ M en C Estela Flores Velázquez y MVZ M en C José Alfredo Gutiérrez Reyes).

La tuberculosis bovina es una de las enfermedades más complejas y difíciles a la que se enfrenta el sector ganadero. La inspección en la matanza regular de bovinos en rastro, es una de las actividades que se realizan en México con el objetivo de detectar la enfermedad. Muestras de tejido con lesiones sugestivas a tuberculosis son enviadas a laboratorios autorizados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación (SAGARPA), para el diagnóstico de la tuberculosis bovina, mismos que realizan el examen histopatológico y cultivo bacteriológico, para confirmar la enfermedad.

En este estudio determino el grado de concordancia entre los resultados del examen histopatológico y cultivo bacteriológico, de las lesiones sugestivas a tuberculosis, recolectadas por los inspectores de rastro durante la matanza regular de bovinos y posteriormente remitidas a los laboratorios autorizados para el diagnóstico de tuberculosis bovina por la SAGARPA del año 2009 al 2012 a nivel nacional. 10,818 muestras con lesiones sugestivas a tuberculosis fueron enviadas a diez laboratorios

autorizados, obteniendo los siguientes resultados: el 23.1% de las muestras fueron confirmadas a *Mycobacterium bovis* mediante cultivo bacteriológico (2,499/10,818), el 34.6% de muestras fueron positivas al examen histopatológico (3,738/10,818), mediante la prueba de Cohen's kappa se obtuvo una concordancia de $k = 0.633$ con un IC al 95% = 0.618 – 0.649, lo cual indica una concordancia buena, entre las dos pruebas.

1 INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina es una de las enfermedades más complejas y difíciles que enfrenta la industria ganadera, la cual es causada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), que afecta a una amplia gama de mamíferos,¹ incluyendo los seres humanos. Esta enfermedad se caracteriza por la formación de granulomas conocidos como tubérculos, los cuales pueden afectar a cualquier tejido, sin embargo las lesiones se observan más frecuentemente en los nódulos linfáticos de la cabeza, cuello, tórax y pulmón. Macroscópicamente, los granulomas tienen una apariencia caseosa de color amarillo. Histológicamente, se observan lesiones necróticas caseosas, células epitelioides, células gigantes de tipo Langhans, macrófagos y en algunos casos se pueden encontrar bacilos ácido alcohol resistente (BARR).^{2,3}

La detección de lesiones tuberculosas localizadas en la matanza regular de bovinos aunado con las pruebas de tuberculina, ha demostrado ser indispensable en el sistema de vigilancia epidemiológica de la tuberculosis bovina en la población de ganado en general.^{4,5,6} En México, muestras de tejidos con lesiones sugestivas a tuberculosis bovina detectadas en rastro de: animales positivos a la prueba de tuberculina, bovinos de matanza regular, así como los nódulos de la cabeza, mediastínicos y mesentéricos, de animales positivos a la prueba de tuberculina sin lesiones, se colectan y envían a los laboratorios autorizados por la SAGARPA a nivel nacional en el diagnóstico de tuberculosis bovina. El personal del laboratorio es el encargado de realizar las pruebas de histopatología y bacteriología de estas ultima,, se realiza el aislamiento e identificación de *M. bovis*, además de notificar a la Dirección General de Salud Animal del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y

Calidad Agroalimentaria (SENASICA), la cual aplica diferentes estrategias con el objetivo de ubicar el hato de origen infectado.⁷ Con la vigilancia en rastros, se ha logrado encontrar casos nuevos de tuberculosis bovina, los cuales no habían podido ser detectados por las pruebas de tuberculina, esto ha contribuido a disminuir la propagación de la enfermedad especialmente en zonas de baja prevalencia.^{5,6} Debido a la importancia de estas actividades en el control de la enfermedad, es necesario que se realicen capacitaciones al personal involucrado, auditorías a los laboratorios, control de calidad etc, con la finalidad de monitorear y plantear mejoras en sus procedimientos.⁸

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Panorama mundial de la tuberculosis humana

La Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que a nivel mundial una tercera parte de la población humana se encuentra infectada por *Mycobacterium tuberculosis*. De acuerdo al Informe mundial sobre la tuberculosis 2012 publicado por la OMS, se calcula que en 2011 hubo 8.7 millones de nuevos casos de tuberculosis (Tb).⁹

En el año 2011 la mayoría de las personas afectadas por Tb se registraron en Asia (59%) y en África (26%) con una menor proporción en las regiones del Mediterráneo oriental (7.7%), la región europea (4.3%) y la región americana (3%). La Región de África tiene un 24% de los casos mundiales debidos a tuberculosis y la mayor cantidad de casos y muertes.

De acuerdo al Programa Regional de Control de la Tuberculosis de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para el 2010 se estimaron alrededor de 267,000 casos nuevos en la Región de las Américas, más de dos tercios (69%) se estima que ocurrieron en América del Sur, 14% en el Caribe, 12% en México y Centro-América, así como el 5% en América del Norte.¹⁰

2.2 Panorama nacional de la tuberculosis humana

En México esta enfermedad representa una prioridad de salud pública, ya que a pesar del descenso que se ha observado de los casos de tuberculosis humana en todas sus presentaciones clínicas, se ha mantenido entre las primeras veinte causas de defunciones. Según el registro y notificación del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Tuberculosis, en 2010, se reportó un total de 18,848 casos por cada 100,000 habitantes. Los tres estados con mayor número de casos fueron: Baja California, Tamaulipas y Guerrero.

La mayor proporción de casos que se presentan en México corresponden a tuberculosis pulmonar, se calcula que nueve de cada diez casos de tuberculosis corresponden a esta presentación.¹⁰

En el 2009, el índice de mortalidad por tuberculosis en todas sus formas fue de 2,225 defunciones, de las cuales 1,535 corresponden al género masculino representando el 69%, el 84.3% se asociaron a tuberculosis respiratoria. La relación hombre mujer fue de 2.2 defunciones en hombres por cada mujer fallecida.¹⁰

2.3 Importancia de la tuberculosis bovina en salud pública

Mycobacterium tuberculosis (*M. tuberculosis*) es principalmente un patógeno que afecta a los seres humanos, mientras que *M. bovis* tiene una amplia gama de huéspedes y es el principal agente responsable de la tuberculosis en los mamíferos domésticos y silvestres. *M. bovis* también puede infectar a los seres humanos, causando una zoonosis la cual es indistinguible clínica, radiológica y patológicamente de la enfermedad causada por *M. tuberculosis*, esto hace que sea difícil o imposible estimar con precisión la proporción de casos de tuberculosis en humanos debido a *M. bovis*.^{11,12} La identificación de estas dos bacterias, sólo se puede lograr por métodos de laboratorio sofisticados que implican, el cultivo bacteriológico de muestras clínicas, seguido por la tipificación, de acuerdo con las características de crecimiento, propiedades bioquímicas y resistencia a la pirazinamida de cada bacteria.

La forma de transmisión ser al humano, se da por la inhalación de aerosoles de animales infectados, la ingestión de leche contaminada, y, con menor frecuencia, por contacto de las membranas mucosas infectadas con la piel lacerada.^{12,13} Afortunadamente con la práctica del consumo de leche y derivados lácteos pasteurizados, ha disminuido drásticamente la infección por vía digestiva. Sin embargo, el riesgo de infección por la vía aérea sigue presente y con mayor frecuencia en trabajadores de la industria ganadera, como son: médicos veterinarios en personas dedicadas al procesamiento de carne y leche de bovinos infectados.^{12,14,15}

En México con el objetivo de controlar esta zoonosis, es indispensable reforzar la practicas de pasteurización de leche y subproductos lácteos, proteger de la transmisión por vía aérea a los trabajadores en ocupaciones relacionadas con los animales, especialmente la industria de ganadera, así como continuar con la campaña de control y erradicación de la tuberculosis.

2.4 Distribución geográfica

La tuberculosis bovina, se encuentra distribuida en todo el mundo, sin embargo, algunos programas de control y erradicación prácticamente la han eliminado de los animales domésticos en muchos países. Los países que actualmente se clasifican como libres de tuberculosis bovina son Australia, Islandia, Dinamarca, Suecia, Noruega, Finlandia, Austria, Suiza, Luxemburgo, Letonia, Eslovaquia, Lituania, Estonia, República Checa, Singapur, Jamaica, Barbados e Israel. Se están implementando programas de erradicación en otros países como, Japón, Nueva Zelanda, Estados Unidos de América, México y algunos países de América Central y del Sur.^{16,17}

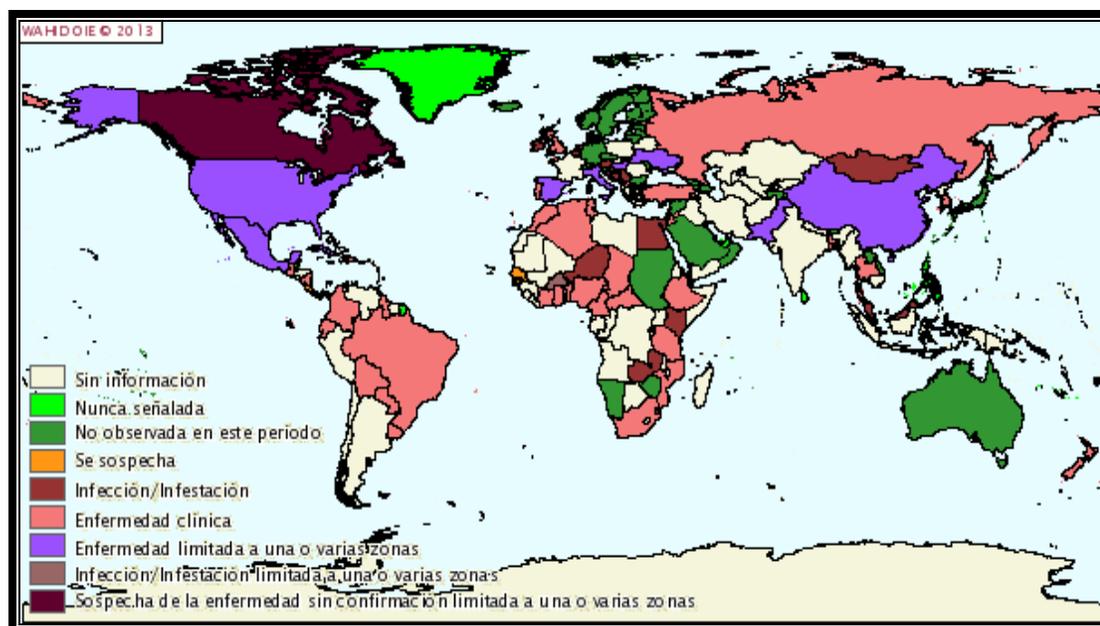


Figura 1. Mapa de la distribución mundial de tuberculosis bovina 2013

2.5 Pérdidas económicas

M. bovis afecta a la mayoría de las especies de importancia económica como son: bovinos, ovinos, caprinos, equinos, porcinos reportado por Aguas Ray W. *et al.* 2012, estas especies son susceptibles a la infección de forma variable.¹⁸

La tuberculosis bovina provoca pérdidas económicas importantes para los ganaderos, con estimaciones de más de 50 millones de bovinos infectados en todo el mundo, con un costo aproximado de \$3,000 millones de dólares anuales, debido a gastos asociados con las pruebas de diagnóstico, el sacrificio de los animales infectados, la pérdida de los acuerdos comerciales, restricciones a la movilización, pago de indemnización, mantenimiento de los programas de control regionales y federales de la enfermedad y la investigación para el desarrollo de mejores estrategias de control.¹⁸

En México, esta enfermedad pone en riesgo, la producción promedio anual de 6.7 millones de cabezas de ganado bovino, de las cuales 1.2 millones de bovinos castrado en pie se exportan a los Estados Unidos de América generando un ingreso de divisas por más de 480 millones de dólares, 2.3 millones se engordan de manera intensiva en corrales y el resto comprende al ganado que se engorda de manera extensiva y se sacrifica, lo que representan una derrama económica mayor a los \$19,300 millones de pesos; más de \$1,754 millones de dólares.¹⁹

Un promedio de 9.5 mil millones de litros de leche anuales se producen en el país, esto equivale a 3,516 millones de dólares, el 72% de la leche producida se pasteuriza o industrializa y el 28% se consume cruda o se transforma en derivados lácteos sin proceso térmico, lo que implica un alto riesgo zoonosario y de salud pública.^{.20,21}

2.6 Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*)

En el año 1993, en México se creó y estableció legal y operativamente la Campaña Nacional para la Erradicación de la Tuberculosis y Brucelosis (CANETB), sin embargo, desde 1942 se habían estado realizando actividades para el control de la brucelosis y un poco más tarde para el control de la tuberculosis bovina, en 1994, se publicó de forma emergente, la primera Norma Oficial Mexicana contra la tuberculosis bovina, la cual se modificó en 1998 y continúa vigente.¹⁹

La SAGARPA a través del SENASICA ha establecido la Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*) sustentada en la Norma Oficial Mexicana NOM-031-ZOO-1995, con el objetivo de prevenir, controlar y erradicar la

presencia de tuberculosis bovina en los animales y a efecto de mejorar y mantener la condición zoonosanitaria en el país, considerando el riesgo zoonosanitario, el impacto social y económico que produce esta enfermedad.²²

Posteriormente, en el año 1993 se crea el Comité Binacional México Estados Unidos para el control de la tuberculosis con el objeto de asistir a México en los esfuerzos de erradicación de la enfermedad y así continuar la exportación de ganado bovino en pie a los Estados Unidos de América. Este comité evaluó los programas de control y erradicación en los Estados de México, clasificándolos con base en la prevalencia de la enfermedad y el grado de avance de la campaña.¹⁹

En prácticamente 16 años de Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*), se ha avanzado considerablemente, en el control y erradicación de esta enfermedad ya que antes de 1992, la prevalencia de tuberculosis bovina era desconocida y actualmente, se tiene un avance del 83% del territorio nacional en fase de erradicación.¹⁹

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA) reconoce a 25 regiones en México, como de baja prevalencia a la tuberculosis bovina, las cuales equivalen al 63.23% del territorio nacional, de estas regiones 13 pueden exportar con una sola prueba de tuberculina del lote, 11 con prueba de lote y prueba de hato de origen, y una no requiere pruebas de tuberculina para exportar ganado castrado a los Estados Unidos de América. (figura 2 ,3).¹⁹

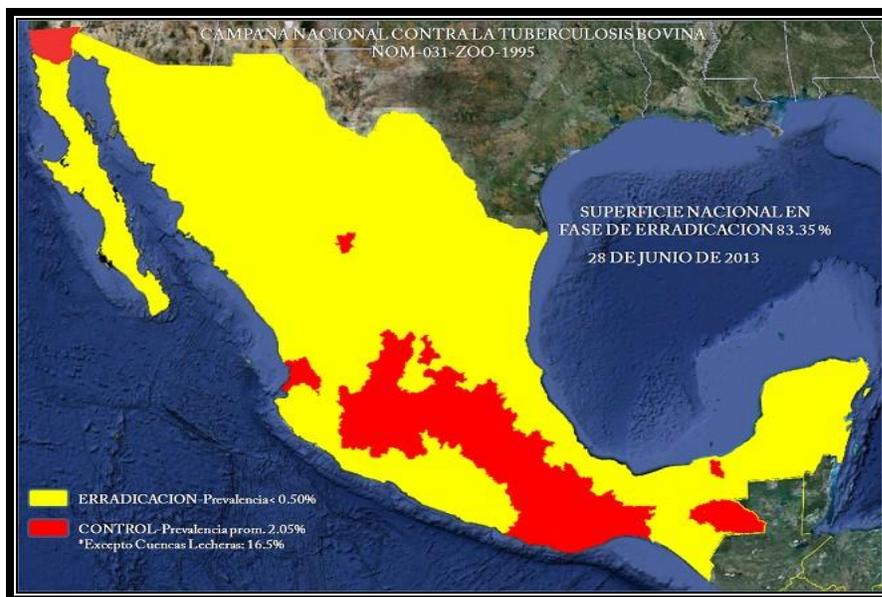


Figura 2. Mapa de la regionalización de acuerdo a la prevalencia de tuberculosis bovina en México.

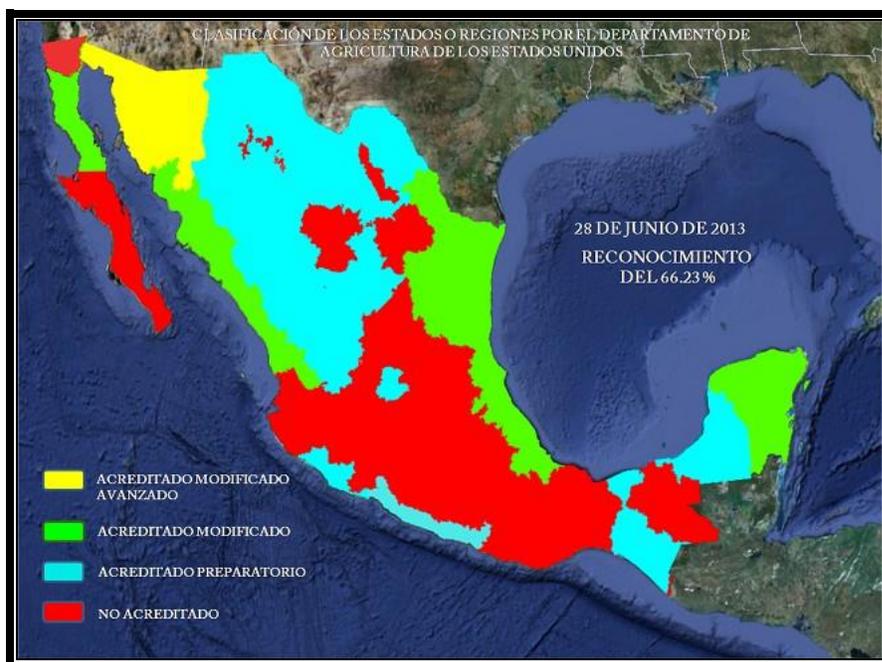


Figura 3. Mapa de la Regionalización de acuerdo a la prevalencia de tuberculosis bovina realizada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA) a México.

Con la finalidad de seguir con el control y la erradicación de la enfermedad en el país la campaña nacional contra la tuberculosis bovina aplica estrategias de difusión y promoción de las actividades, así como la capacitación del personal involucrado en

estas actividades, aplicación de cuarentenas en hatos infectados, eliminación e indemnización de animales reactivos a las pruebas diagnósticas, inspección en rastros para confirmar y detectar casos nuevos, control de la movilización, reconocimiento y protección de regiones de baja prevalencia, certificación de hatos libres de la enfermedad, seguimiento epidemiológico, etc.²³

2.7 Epidemiología

La tuberculosis bovina es una enfermedad infecciosa causada por *M. bovis*, la cual afecta a una amplia gama de mamíferos, incluyendo los seres humanos. La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) clasifica la esta como una enfermedad de la lista B, la cual es considerada de importancia para la salud pública dentro de los países, así como para el comercio internacional de animales y de productos de origen animal.^{24,25,26}

2.7.1 Etiología

Mycobacterium bovis es una bacteria aeróbica, inmóvil, ácido alcohol resistente, de crecimiento lento, su pared celular es muy rica en lípidos, no produce esporas y no presenta cápsula. Esta bacteria pertenece al complejo *Mycobacterium tuberculosis* el cual está formado por: *M. tuberculosis*, *M. bovis-BCG*, *M. africanum*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. caprae* y *M. pinnipedi* los cuales son morfológicamente similares.²⁷

2.7.2 Patogenia

M. bovis puede infectar al ganado bovino por diferentes vías, que son determinadas por la edad de los animales, las condiciones climáticas y las prácticas agropecuarias. Los animales infectados pueden excretar las micobacterias por: secreciones

respiratorias, heces, leche, saliva y orina lo cual favorece el contagio entre el ganado bovino y el ser humano en contacto cercano con estos animales.²⁸

La vía aérea es considerada la principal ruta de infección de *M. bovis*.¹ La inhalación de aerosoles infectados con el bacilo son fagocitados por los macrófagos alveolares, iniciando una serie de mecanismos destinados a su eliminación.²⁹ Se han descrito cuatro posibles consecuencias durante el proceso infeccioso, a) la respuesta puede ser efectiva conduciendo a la muerte y eliminación del bacilo, el animal jamás desarrollará signos de tuberculosis, b) la micobacteria no es eliminada totalmente y empieza a multiplicarse inmediatamente causando tuberculosis primaria como signo clínico, c) el sistema inmune puede impedir el crecimiento del bacilo sin causar eliminación total, esto puede sospecharse cuando los animales resultan positivos a la prueba de tuberculina y d) las micobacterias que han estado latentes, eventualmente vuelven a multiplicarse causando reinfección.^{2,28,30}

Cuando la actividad microbicida de los macrófagos fracasa en la destrucción de las micobacterias, estas se replican en su interior ocasionando su destrucción y provocando quimiotaxis de monocitos hacia esta zona iniciando la formación del granuloma o tubérculo, que es considerada la lesión característica de la tuberculosis.^{31,32} El granuloma se caracteriza por un centro necrótico, rodeado de macrófagos infectados, células epitelioides, células gigantes de tipo langhans, todo esto a su vez puede estar rodeado por tejido conectivo fibroso y linfocitos.³³

Cuando la lesión localizada en el parénquima pulmonar alcanza cierto tamaño y existe necrosis, este material necrótico infectado y los bacilos libres o dentro de

macrófagos son acarreados a otras porciones del pulmón produciendo nuevos granulomas, o bien otra forma de diseminación es por medio de los vasos linfáticos que tienden a localizarse en los nódulos linfáticos, en donde la micobacteria encuentra un ambiente adecuado para el crecimiento y el desarrollo de las lesiones granulomatosas.²⁸

Las lesiones tuberculosas del ganado comúnmente se localizan en los nódulos linfáticos del tórax, la cabeza y el abdomen, en particular los nódulos linfáticos mediastínicos, retrofaríngeos y traqueobronquiales, se estima que entre el 70% y 90 % de las lesiones se encuentran en los nódulos linfáticos de la cabeza y los de la cavidad torácica, sin embargo debido a que la tuberculosis es una enfermedad que afecta el sistema fagocítico mononuclear, las lesiones pueden ocurrir en prácticamente cualquier región anatómica del animal.²

2.8 Ventajas y desventajas de las pruebas diagnósticas para la tuberculosis bovina realizadas en México

En México para efectos de la campaña nacional contra la tuberculosis bovina, el diagnóstico de la enfermedad se lleva a cabo por medio de la prueba de tuberculina, la inspección *post mortem*, el análisis histopatológico y bacteriológico en el laboratorio, de las muestras sospechosas colectadas al momento de la inspección en rastro. Actualmente, existen técnicas como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), prueba de Interferón Gamma (IFN- γ), las cuales se llevan a cabo en México pero aún no forman parte del diagnóstico oficial.^{23,34}

2.8.1 Tuberculina

La prueba de la tuberculina es el método estándar o de tamizaje para el diagnóstico *ante mortem* de la tuberculosis bovina, la cual está prescrita como prueba de referencia por la OIE para el comercio internacional de ganado bovino.³⁵ esta prueba consiste en la obtención de una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardado, a la aplicación intradérmica de un derivado proteico purificado (PPD), con la evaluación a las 48 ó 72 horas posteriores en el sitio de inyección, un animal sensibilizado a los antígenos de *M. bovis* tendrá una inflamación local alcanzado esta su mayor intensidad de 48-72 horas, después de la aplicación y disminuye rápidamente a partir de entonces.³⁶

La sensibilidad de la prueba de tuberculina se encuentran en el rango 68-95%, mientras que la especificidad se estima en 96 a 99%.³⁴ Sin embargo la sensibilidad y especificidad de la prueba se ven afectadas por diversos factores que se muestra en los cuadros 4, 5 y 6

FACTORES QUE AFECTAN LA SENSIBILIDAD DE LA PRUEBA	
Factores relacionados con el animal, al que se le aplica la prueba	
1.	Prueba aplicada antes de terminar el periodo de desensibilización a la prueba de la tuberculina (10 a los 45 días post aplicación).
2.	Período no reactivo (Puede no aparecer hipersensibilidad retardada, durante las primeras 3 a 6 semanas de la infección).
3.	Infección severa o generalizada con <i>Mycobacterium bovis</i> (anergia).
4.	Infección con agentes que deprimen el sistema inmunológico, ejemplo, la diarrea viral bovina (BVD).
5.	Uso de medicamentos como corticosteroides y medicamentos inmunosupresores.
6.	Inmunosupresión durante el post-parto.
7.	Estado nutricional deficiente del animal, así como el estrés del transporte pueden alterar el resultado de la prueba.

Cuadro 4. Factores que afectan la sensibilidad de las prueba de tuberculina. Adaptado de Domenech RR, *et al.* 2006.

FACTORES QUE AFECTAN LA ESPECIFICIDAD	
La sensibilización no específica (reacción cruzada) a la tuberculina bovina.	
1.	Reacción cruzada por la infección o exposición a otras micobacterias o géneros relacionados.
2.	La vacunación experimental con <i>M. bovis</i> cepa BCG.
3.	La infección con <i>Nocardia</i> spp.

Cuadro 5. Factores que afectan la especificidad de la prueba de tuberculina. Adaptado de Domenech RR, *et al.* 2006.

FACTORES QUE AFECTAN LA ESPECIFICIDAD Y SENSIBILIDAD DE LA PRUEBA
A) Factores relacionados con el producto
<ol style="list-style-type: none"> 1. Producto caducado 2. Producto almacenado incorrectamente (expuesto a la luz y el calor) 3. Errores en la fabricación de la tuberculina.
B) Factores relacionados con la forma de administración, la lectura de la prueba (errores debido a la inexperiencia, la falta de atención, instalaciones inadecuadas, equipo de la prueba en mal estado, etc)
<ol style="list-style-type: none"> 1. Aplicación de cantidad y dosis insuficiente de tuberculina. 2. La aplicación en un lugar incorrecto. 3. Lectura de la prueba antes o después de 72 h \pm 4-6 h de la aplicación. 4. Error en la medición, de las lecturas en piel. 5. Error en la identificación del animal reactor.

Cuadro 6. Factores que afectan la sensibilidad y especificidad de las prueba de tuberculina. Adaptado de Domenech RR, *et al.* 2006.

Aunque varios factores pueden reducir la sensibilidad y especificidad de las pruebas cutáneas, éstas siguen siendo las herramientas de diagnóstico *ante mortem* principales para la tuberculosis en el ganado, que proporciona un medio rentable y confiable de la detección de poblaciones de ganado bovino.³⁴ En México las pruebas de tuberculina autorizadas por la Secretaría son:²³

- a) Prueba en el pliegue caudal simple
- b) Prueba cervical doble comparativa
- c) Prueba cervical simple.

2.8.2 Bacteriología

El cultivo bacteriológico es el principal método utilizado en México para confirmar la infección por *M. bovis*, en el laboratorio se realiza el aislamiento del bacilo a partir de muestras sospechosas a tuberculosis bovina de: tejidos, exudado nasal, leche y sangre.

El aislamiento bacteriológico del bacilo tuberculos, sirve para corroborar el diagnóstico realizado en campo por medio de las pruebas de tuberculina y de las lesiones sospechosas de tuberculosis detectadas durante la inspección, en la matanza regular de bovinos en los rastros.

El aislamiento y cultivo del *Mycobacterium*, se realiza a través de la siembra de material sospechoso en medios específicos como: Middlebrock 7H10, Middlebrock 7H11, Stonebrink con piruvato de sodio, Lowenstein Jensen y la tipificación es realizada por medios bioquímicos.²³

Los medios con las muestras se incuban durante un mínimo de 8 semanas (y preferentemente durante 10-12 semanas) a 37°C con o sin CO². Se comprueba si en las superficies inclinadas hay crecimiento macroscópico a intervalos periódicos durante el tiempo de incubación. Cuando hay crecimiento, se preparan y tiñen frotis con Ziehl-Neelsen. El crecimiento de *M. bovis* en general se da en un plazo de 3-6 semanas de incubación en función de los medios de cultivo utilizados.²⁴

El cultivo bacteriológico es considerado el estándar de oro en el diagnóstico de la tuberculosis bovina, sin embargo existe una gran variedad de factores que dificultan la implementación de la técnica en los laboratorios;³⁷

- Mayor dedicación del personal por cada muestra examinada
- Entrenamiento en prácticas de mayor riesgo biológico
- Equipo costoso
- El laboratorio requiere un sistema de direccionamiento y purificación de aire
- Calidad de la muestra. (en el anexo 1 se mencionan los errores más frecuentes en la toma y envío de muestras al laboratorio)

2.8.3 Histopatología

La manera más eficaz en la identificación *post mortem* de animales enfermos, ha sido con el uso en paralelo del cultivo bacteriológico y el examen histopatológico de muestras de tejido, con lesiones sugestivas a tuberculosis.

Las muestras utilizadas en el examen histopatológico son de animales asegurados en la línea de inspección de canales con lesiones sugestivas a tuberculosis, o bien, de animales positivos a la prueba de la tuberculina, de ellos se recolectan los nódulos linfáticos: traqueobronquiales, mediastínicos, medial retrofaríngeo, mandibulares, parotídeos, hepáticos y mesentéricos. En algunos casos de pulmón, hígado, bazo y riñón si estos presencia de lesiones.

El diagnóstico histopatológico diferencial de tuberculosis bovina, en lesiones granulomatosas presentes en nódulos linfáticos y otros órganos de bovinos es de vital importancia, dada la gran cantidad de patógenos bacterianos y parasitarios que pueden provocar lesiones similares a de *M. bovis*.^{38,39}

La tinción de hematoxilina-eosina es usada en la identificación de lesiones compatibles con tuberculosis bovina y para diferenciar con otras entidades patológicas.

Se realizó la tinción de Ziehl Neelsen como procedimiento de rutina, para el diagnóstico confirmatorio de bacilos ácido-alcohol resistentes en muestras teñidas con hematoxilina y de lesiones compatibles con tuberculosis bovina, clasificando los resultados como:

- ✓ Sugestivo a Tuberculosis: Cuando en el campo microscópico se observa únicamente la lesión tuberculosa caracterizada por, lesión necrótica caseosa y/o calcificada por mineralización, células epitelioides multinucleadas, células gigantes de tipo Langhans y macrófagos.
- ✓ Compatible a Tuberculosis: Cuando en el campo microscópico se observa la lesión característica de tuberculosis e intra o extracelularmente los bacilos ácido-alcohol resistente.
- ✓ Negativa: cuando en el campo microscópico no se observan las lesiones características de tuberculosis, ni bacilos ácido alcohol resistentes.²³

2.8.4 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

En la actualidad existen diferentes protocolos de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la identificación de *M. bovis* en muestras clínicas de bovinos con el objetivo de realizar un rápido diagnóstico en animales vivos.^{40,41} Sin embargo, la técnica no ha demostrado ser mejor al cultivo bacteriológico en términos

de sensibilidad y especificidad, estas limitaciones probablemente se encuentran debido al bajo número de bacilos en muestras clínicas y la presencia de inhibidores de la PCR en las muestras entre otros, por lo cual es probable que siga siendo de poca utilidad para la detección de *M. bovis* en muestras clínicas, como: sangre, orina, heces, secreciones nasales y biopsias de nódulos linfáticos. Sin embargo debido a su rápido diagnóstico, se ha utilizado en tejidos fijados con formalina que son histológicamente compatible con la infección a tuberculosis bovina, reportando sensibilidades del 93%, 91% y 71%.^{42,43}

La prueba de PCR se ha establecido en el laboratorio como una técnica útil para el diagnóstico de laboratorio de *M. bovis* en situaciones donde las muestras tienen moderada a un gran número de bacterias y es importante tener un diagnóstico rápido, el cual va de uno o dos días, en comparación con semanas que necesita el cultivo bacteriológico.⁴⁴ Sin embargo, la PCR ha demostrado ser menos sensible que el cultivo bacteriológico y los intentos de mejorar esta situación sólo han logrado un éxito limitado.⁴⁵

2.8.5 Prueba de Interferón-Gamma (INF- γ)

Esta prueba se usa para medir en la sangre, la producción de Interferón-gamma (INF- γ) como respuesta a la estimulación *in vitro* con PPD bovino y aviar, de animales que han estado en contacto con *M. bovis*. Estos animales presentan linfocitos T circulantes, sensibilizados específicamente hacia antígenos de *M. bovis*, los cuales secretan IFN- γ , este es medido en la muestra de sangre, mediante una prueba de ELISA de captura utilizando un kit comercial (BOVIGAM[®]).^{34,46,47}

La sensibilidad de la prueba se calcula entre 73% y 100%, con un valor medio de 87.6% y especificidad media de 96,6%, con un rango de 85 a 99.6.³⁶ Esta prueba se utiliza de manera rutinaria en muchos países, para la detección de *M. bovis* en ganado bovino, búfalos y cabras.⁴⁷ Desafortunadamente presenta algunas ventajas y desventajas en su uso en comparación con las pruebas de tuberculina como las que se mencionan en los cuadros 7 y 8.

VENTAJAS PRÁCTICAS DE LA PRUEBA DE IFN- γ , EN COMPARACIÓN CON LAS PRUEBAS DE TUBERCULINA
<ol style="list-style-type: none"> 1. Su sensibilidad es similar a la prueba en el pliegue caudal simple y mayor que la prueba cervical doble comparativa. 2. El tiempo necesario para desarrollar una respuesta al ensayo de IFN-γ después de la infección es de 1 y 5, semanas esto es más corto que para las pruebas de tuberculina de 3-6 semanas. 3. Permite la repetición de la prueba sin esperar el tiempo de desensibilización. 4. Elimina la necesidad de una segunda visita a al hato para leer la prueba. 5. La interpretación de la prueba ya no es de manera subjetiva, esta se encuentra estandarizada por el laboratorio. 6. Se reducen los problemas prácticos asociados con las pruebas cutáneas, ejemplo instalaciones inadecuadas, equipamiento deficiente, errores del operador, la posibilidad de fraude etc. que pueden contribuir al bajo de detección de animales infectados o reactores.

Cuadro 7. Ventajas prácticas de la prueba de IFN- γ en comparación con las pruebas de tuberculina. Adaptado de Domenech RR, *et al.* 2006.

DESVENTAJAS PRÁCTICAS DE LA PRUEBA DE IFN- γ , EN COMPARACIÓN CON LAS PRUEBAS DE TUBERCULINA

1. Menor especificidad aparente en comparación a las pruebas de tuberculina.
2. Los animales jóvenes no infectados, son propensos a dar un resultado positivo.
3. Una inadecuada temperatura de las muestras, así como demasiado tiempo en el procesamiento pueden reducir significativamente la sensibilidad de la prueba.
4. Su costo es mayor.
5. Requiere un adecuado método de identificación de los animales, ya que estos no presentan ninguna marca de reacción a la prueba.

Cuadro 8. Desventajas prácticas de la prueba de IFN- γ en comparación con las pruebas de tuberculina Adaptado de Domenech RR, *et al.* 2006.

2.9 Vigilancia epidemiológica de la tuberculosis bovina

En México la vigilancia epidemiológica de la enfermedad es llevada a cabo mediante el análisis de la información, que generan los diferentes sectores involucrados en la operación de la campaña nacional contra la tuberculosis bovina, En este estudio se describirá la vigilancia que realizan los inspectores en rastro así, como el trabajo de los laboratorios autorizados en diagnóstico de tuberculosis bovina.²³

2.9.1 Vigilancia en rastros

Los objetivos generales de la inspección *post mortem* son asegurar que la carne sea inocua, libre de enfermedades, y que no plantea riesgo a la salud pública y salud animal. Para poder tomar la decisión correcta si la carne es apta o no para el consumo humano se requerirá de una adecuada observación y evaluación por parte del inspector de rastro, así como tomar en consideración los resultados de la

inspección *ante mortem*, y la información disponible sobre el historial de las enfermedades del hato o de la región de origen de los animales.⁵⁰

La vigilancia de la tuberculosis bovina en los rastros es realizada por los Médicos veterinarios encargados de la inspección, quienes son responsables de la toma y envío de muestras de tejidos sugestivos a tuberculosis, además de la recolección de tejidos procedentes de animales positivos a la prueba de tuberculina, remitiéndose estas a los laboratorios autorizados para su confirmación. Este procedimiento aunado a las pruebas *ante mortem*, ha sido un componente importante de los programas de control y erradicación de la enfermedad en diferentes países, ya que representa una fuente sustancial de información sobre la presencia, distribución geográfica, formas clínicas prevaletentes, también es considerado un procedimiento rentable en vigilala de la enfermedad y útil en zonas donde la prevalencia es baja.^{5,51}

Los objetivos de la vigilancia de tuberculosis bovina en rastro son:

- Detectar nuevos casos de tuberculosis para emprender acciones de erradicación de la enfermedad en los hatos de origen (animales de matanza regular).
- Confirmar la presencia de tuberculosis en animales que han sido clasificados como reactores o sospechosos a pruebas de tuberculina.
- Valorar la habilidad de la prueba de tuberculina para detectar tuberculosis (control de calidad)

- Tomar muestras sugestivas a tuberculosis para enviar al laboratorio y confirmar la enfermedad.
- Valorar el programa de saneamiento en campo de los hatos bajo seguimiento, al conocer la distribución de las lesiones en los animales y las posibles vías de transmisión de la enfermedad dentro del hato.⁵²

2.9.2 Proceso de inspección en los rastros

La inspección del ganado, comienza con la inspección *ante mortem* en la cual se recolecta la información de los animales que ingresan al rastro, observando la conducta en estática y dinámica para detectar animales posiblemente enfermos, en caso de encontrar alguno, deberán de ser sacrificados al final de la matanza del día.

Se realiza la revisión de documentos (certificado zoosanitario de movilización constancia de tratamiento garrapaticida, dictámenes de pruebas de tuberculosis y brucelosis, facturas, flejes, guías de tránsito y demás documentación de acuerdo a ley ganadera de cada estado)

Se clasifican a los animales antes del sacrificio como:

- ✓ Animal reactor a tuberculosis Bovina: son aquellos animales positivos a alguna de las pruebas oficiales de Tuberculina y pueden estar marcados en el masetero izquierdo con la letra "T", un arete de campaña rojo, o con una perforación circular de la oreja izquierda de 2.5 cm de diámetro.

- ✓ Animal expuesto a tuberculosis bovina: son los animales cuyo origen es un hato confirmado con *M. bovis* o un hato colindante o relacionado a otro afectado por *M. bovis*.
- ✓ Animal sospechoso a tuberculosis bovina: son los animales con resultado sospechoso a la prueba cervical comparativa.
- ✓ Animales de matanza regular: animales que llegan diariamente a sacrificio y de los cuales se desconoce su condición, respecto a tuberculosis bovina.²³

Se elabora el orden de matanza diaria, el cual consiste en: relacionar los animales conforme a su ingreso a la sala de matanza (línea) y registrando todos los datos de identificación de cada animal.

1. Verificación de todos los fierros, aretes y marcas en la piel del animal
2. Recolección de aretes de acuerdo al ingreso de los animales a la sala de matanza, mismos que se deben colocar en un tablero de acuerdo al orden de ingreso y utilizando aretes en blanco o dejando un espacio para aquellos animales que no presenten alguna identificación.
3. Se realiza la correlación de partes, que consiste en identificar con un número cada parte del animal de acuerdo al ingreso a la sala de matanza (número en línea).⁵²

Para poder realizar la inspección *post mortem*, el inspector utilizara la vestimenta y equipo adecuado.

❖ Vestimenta del inspector:

✓ Ropa de trabajo (filipina o bata)

✓ Botas de hule

✓ Casco plástico de seguridad

✓ Mandil de plástico

✓ Cofia

✓ Cubre bocas

✓ Guantes

❖ Equipo:

✓ Cuchillo recto y curvo

✓ Guante metálico

✓ Porta cuchillos

✓ Gancho de inspección

✓ Chaira

La técnica de inspección post mortem consiste en:

Incidir los nódulos linfáticos en sentido transversal, realizando laminados de 2 mm de espesor con la finalidad buscar la presencia de granulomas.

Palpación firme del pulmón, hígado y demás órganos que puedan estar afectados. ⁵²

Se deberá revisar toda la cadena de nódulos linfáticos empezando por:

Inspección de los cuatro pares de nódulos linfáticos de la cabeza

- Dos mandibulares
- Dos retrofaríngeos laterales
- Dos retrofaríngeos medios
- Dos parotídeos

Inspección de los nódulos linfáticos de la cavidad torácica y abdominal:

1. Vísceras rojas:

- Mediastínico craneal
- Mediastínico medio
- Mediastínico caudal
- Traqueobronquial izquierdo
- Traqueobronquial derecho

2. Vísceras verdes:

- Hepáticos
- Mesentéricos

Inspección de los nódulos linfáticos de la canal

- Cervicales superficiales
- Subiliacos
- Inguinales superficiales (mamario y escrotal)
- Poplíteos profundos⁵²

El personal a cargo de la inspección debe recibir una preparación especializada que le permita realizar el diagnóstico macroscópico de la tuberculosis, se ha reportado que un examen cuidadoso de los cuatro pares de nódulos linfáticos de la cabeza, los nódulos linfáticos del pulmón y mesentéricos resulta en un 95% de posibilidades de detectar a bovinos con lesiones,³⁷ no obstante, es recomendable que la inspección no se limite a estos órganos.

Si es detectada una lesión sugestiva a tuberculosis, esta deberá ser enviada al laboratorio en el cual se realizara el examen histopatológico y cultivo bacteriológico con la finalidad de confirmar la enfermedad.

➤ Forma de envío de las muestras

1. Requisitos de la muestra para histopatología:

- La muestra de tejido, debe ser laminada con un grosor de 5-6 mm entre corte y puede tener un largo de 2-3 cm.
- Colocar la muestra en formol amortiguado neutro al 10%, en una concentración de una parte de tejido por diez de formol (1:10).

- La muestra no deberá congelarse.
2. Requisitos de la muestra para bacteriología.
- La muestra no deberá de estar laminada.
 - Colocar la muestra en solución de borato de sodio al 3% en concentración de una parte de tejido por una parte de borato de sodio (1:1)⁵²
3. Requisitos generales para el envío de muestras al laboratorio:
- Las muestras deberán de tener una parte de tejido sano, con una que contenga la lesión.
 - Las muestras no deberá contener tierra, pelo, heces, tejido adiposo etc.
 - Meter las muestras en los frascos correspondientes, inmediatamente después de ser colectados.
 - Se procede al envío de la muestra tomada del mismo nódulo linfático dividiendo la lesión, la mitad para el examen histopatológico y cultivo bacteriológico.
 - En caso de que el animal fuese reactor a la prueba de tuberculina y en la necropsia no presenta cambios que sugieran la infección del animal, se deberán enviar al laboratorio nódulos de la cabeza, así como los nódulos mediastínicos y mesentéricos,²³ a esto se le conoce como “*pool*” de nódulos y en el formato de toma y envío de muestra se deberá especificar este.

- Rotular los frascos con los datos de la identificación del animal, número de caso del rastro, fecha de sacrificio, especie animal y descripción de la muestra que se envía.
- Realizar el llenado completo del formato de envío de muestra (anexo 2).
- Verificar que los contenedores de las muestras estén bien cerrados
- Enviar las muestras dentro de las primeras 24 horas posteriores a la toma, no excediendo los 5 días, esto es con el objetivo de evitar que el borato de sodio logre degradar las micobacterias que pudieran estar presentes.⁵²

2.9.3 Laboratorios autorizados o aprobados en el diagnóstico de tuberculosis bovina

Los laboratorios autorizados o aprobados son reconocidos por la SAGARPA, para llevar a cabo actividades en materia zoonosanitaria a las que se refiere la NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*).²³

En México se cuenta con un total de 16 laboratorios autorizados en el diagnóstico de tuberculosis bovina, en donde son realizadas las prueba de bacteriología y examen histopatológico en las muestras procedentes de rastro, para el aislamiento e identificación de *M bovis*, así como de notificar los resultados al propietario y a la Dirección General de Salud Animal del SENASICA.¹⁹

2.9.4 Centros de sacrificio

Se entiende como rastro a todo establecimiento dedicado al sacrificio y faenado de animales para abasto y los cuales se clasifican como:

Rastro Municipal: Es el establecimiento dedicado al sacrificio y faenado de animales para abasto que es administrado o concesionado por la autoridad municipal.

Rastro Privado: Instalaciones de particulares donde se sacrifican animales; procesan, envasan, empacan, refrigeran o industrializan bienes de origen animal, mismos que están sujetos a regulaciones de la Secretaría de Salud de acuerdo a su ámbito de competencia.

Establecimiento Tipo Inspección Federal (TIF): Las instalaciones en donde se sacrifican animales y/o procesan, envasan, empacan, refrigeran o industrializan bienes de origen animal y están sujetos a regulación de la SAGARPA en coordinación con la Secretaría de Salud de acuerdo al ámbito de competencia de cada Secretaría.

México cuenta con un total de 1,143 centros de sacrificio de diferentes especies como son bovinos, porcinos caprinos, ovinos, aves y equinos a nivel nacional de los cuales, 844 son rastros municipales, 144 rastros Privados y 115 Establecimiento Tipo Inspección Federal (TIF).⁵³

Para sacrificio de bovinos existen un total de 1007 centros de sacrificio de estos 897 son municipales, 58 establecimientos TIF, y 52 rastros privados, los cuales están distribuidos en los estados de México como se observa en el cuadro 9.

NÚMERO DE RASTROS PARA EL SACRIFICIO DE BOVINOS: TIF, MUNICIPALES Y PRIVADOS.				
ESTADO	TIF	MUNICIPALES	PRIVADOS	TOTAL
JALISCO	0	127	4	131
MICHOACÁN	1	99	1	101
VERACRUZ	6	60	9	75
SONORA	7	50	0	57
CHIHUAHUA	3	47	3	53
ZACATECAS	2	42	1	45
MÉXICO	1	40	7	48
GUERRERO	1	39	0	40
GUANAJUATO	2	37	2	41
NUEVO LEÓN	7	35	0	42
YUCATÁN	1	30	1	32
CHIAPAS	1	27	1	29
SAN LUIS POTOSÍ	2	27	0	29
HIDALGO	0	23	2	25
SINALOA	3	21	1	25
TAMAULIPAS	4	18	2	24
COAHUILA	5	16	3	24
DURANGO	2	19	1	22
NAYARIT	0	19	2	21
MORELOS	0	19	0	19
TABASCO	1	16	0	17
CAMPECHE	1	15	0	16
BAJA CALIFORNIA SUR	0	11	0	11
COLIMA	0	11	0	11
OAXACA	0	10	2	12
PUEBLA	0	10	0	10
QUERÉTARO	2	8	0	10
AGUASCALIENTES	1	6	3	10
QUINTANA ROO	0	6	1	7
TLAXCALA	0	6	2	8
BAJA CALIFORNIA	5	2	4	11
DISTRITO FEDERAL	0	1	0	1
TOTAL	58	897	52	1007

Cuadro 9. Número de rastros por estado para el sacrificio de bovinos: TIF, municipales y privados

Durante el 2012 se sacrificaron 5,881,221 cabezas de ganado bovino, del cual solo el 32% fue sacrificado en Establecimientos TIF y el 68% en rastros municipales, privados y casas de matanza,⁵⁴ desafortunadamente la mayoría de estos presentan ciertas deficiencias en infraestructura además de encontrarse en lugares poco adecuados y sin cumplir con las normas de higiene necesarias para un buen funcionamiento.^{55,57} Por lo que la eficacia de la inspección del ganado bovino en los rastros, puede verse afectada por el tipo de establecimiento donde son sacrificados los animales.⁸

Para cumplir con los requerimientos de validación de la inspección en rastros se ha establecido como indicador una tasa de envío de granulomas o lesiones sugestivas a tuberculosis de al menos 1 muestra por cada 2,000 animales adultos (de 2 años y mayores) sacrificados.⁵⁷ En el periodo que comprende de enero a junio del 2013 se tiene una tasa de envío de granulomas de 1.93.¹⁹

2.9.5 Concordancia entre pruebas de diagnóstico

Se entiende como concordancia al acuerdo o reproductibilidad de una medición, la cual resulta en obtener el mismo resultado cuando una medición se realiza en una misma muestra una o más ocasiones.⁵⁸

El grado de concordancia de una prueba diagnóstica se evalúa típicamente comparando los resultados obtenidos de una prueba, en comparación con los resultados obtenidos por una prueba de oro o de referencia. Los índices más comunes que miden el grado de acuerdo de las pruebas diagnósticas son la sensibilidad, especificidad y los valores predictivos positivo y negativo. Sin embargo,

estas medidas se ven afectadas por el hecho de que algunos resultados serán correctos debido a la casualidad lo que pone en juicio si son buenos indicadores de la eficacia de una prueba.⁵⁹

En este estudio se utilizará la prueba Kappa de Cohen's la cual es usada como una herramienta para el análisis de la calidad de las pruebas diagnósticas. La prueba proporciona una medida de concordancia entre las clasificaciones binarias dadas por dos pruebas diferentes, o por una prueba y un estándar de oro. El índice kappa relaciona el acuerdo que exhiben las pruebas u observadores, más allá del debido al azar, con el acuerdo potencial también más allá del azar.⁶⁰

La estadística Kappa de Cohen's proporciona un rango de valores que van desde: 0.00 a -1 que indican una concordancia inadecuada o discordancia, un menor acuerdo que el esperado por el azar, 0.01 a 0.39 concordancia insuficiente 0.40 a 0.75 concordancia adecuada o buena, 0.76 a 0.99, concordancia excelente y 1 indica una concordancia perfecta. Sin embargo, la ocurrencia de errores inevitables que se presenta en el diagnóstico usando pruebas y estándares de oro significa que los valores de kappa cercanos a 1 son poco probables que se logren en la práctica.⁵⁹

3 JUSTIFICACIÓN

La vigilancia de la tuberculosis bovina en los rastros ha sido un medio importante en la detección de hatos infectados en diferentes países.⁴ En el periodo 1993 al 2001 se informó que entre el 27% y 46% de los nuevos hatos infectados en Irlanda fueron detectados por la vigilancia en rastros, así mismo durante el 2008 casi el 16% de los

nuevos hatos confirmados a tuberculosis bovina en Gran Bretaña fueron detectados por este procedimiento.^{6, 61}

Con la identificación de animales sospechosos a tuberculosis en los rastros, se inicia una investigación epidemiológica para identificar la fuente de infección de los animales detectados en el rastro, y en su caso ubicar el hato de origen. Dada la naturaleza infecciosa de la tuberculosis bovina, es crítico poder identificar donde el animal pudo haber adquirido la infección y la ubicación de los otros animales que puedan haber estado en contacto con el animal tuberculoso,^{3,5} por lo tanto si no es detectada la infección en los rastros se contribuye a la propagación de la enfermedad, lo que conlleva al aumento en pérdidas económicas (impacto en la producción animal, limitaciones en el comercio local e internacional, impacto social a nivel de producciones familiares y grandes costos en la gestión de riesgo por parte de las autoridades sanitarias) y el aumento del riesgo de zoonosis.⁵

En este estudio se describirá, como se ha comportado la vigilancia epidemiológica de la tuberculosis bovina en los rastros y el diagnóstico de las muestras sugestivas a tuberculosis enviadas a los laboratorios autorizados, con la finalidad de poder encontrar las debilidades que se han presentado en este procedimiento y proponer acciones que contribuyan a su mejora.

4 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la concordancia de los resultados que se han presentado en el diagnóstico de tuberculosis bovina, en los laboratorios autorizados por la SAGARPA a nivel nacional en el periodo comprendido de enero del 2009 a diciembre del 2012.

4.1 Objetivos específicos

1. Determinar la concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico de las lesiones sugestivas a Tuberculosis, recolectadas por los inspectores de rastro de la matanza regular de bovinos y remitidas a los laboratorios autorizados a nivel nacional en el diagnóstico de tuberculosis bovina por la SAGARPA del año 2009 al 2012, mediante el cálculo del coeficiente de Cohen's Kappa.
2. Se pretende saber si la concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico que han presentado los laboratorios ha sido constante en el periodo 2009 al 2012

5 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Material

Se utilizó la información recolectada por la Dirección de Campañas Zoonositarias del SENASICA del periodo comprendido de enero del 2009 a diciembre del 2012, que han reportado los laboratorios de los estados de Chiapas, Chihuahua, Jalisco, Monterrey, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán, así como de la región Lagunera, los cuales se encuentran autorizados en el diagnóstico de tuberculosis

bovina y son los laboratorios que manejan una mayor cantidad de muestras, de los 16 autorizados que existen en el país.

La información analizada se encuentra en una base de datos en formato Microsoft Excel, los resultados obtenidos del examen histopatológico y cultivo bacteriológico, por los diferentes laboratorios autorizados de las muestras procedentes de matanza regular acumuladas del año 2009 al 2012 fueron utilizados.

5.2 Análisis estadístico

5.2.1 Primer objetivo

Para evaluar el acuerdo entre los resultados del examen histopatológico y cultivo bacteriológico de las lesiones sugestivas a tuberculosis, se utilizó el estadístico de Kappa de Cohen's.⁶² Los resultados obtenidos fueron clasificados de acuerdo a la siguiente escala a) 0.00 a -1 indican una concordancia inadecuada o discordancia que es un menor acuerdo que el esperado por el azar, b) 0.01 a 0.39 concordancia insuficiente c) 0.40 a 0.75 concordancia adecuada o buena, d) 0.76 a 0.99 concordancia excelente y e) 1 indica una concordancia perfecta.⁵⁹

5.2.2. Segundo objetivo

Se realizó una comparación de los coeficientes de kappa obtenidos mediante la prueba de homogeneidad de kappas, la cual tiene como hipótesis nula (H_0) que todos los coeficientes kappa que se comparan son iguales. Para esta prueba se utilizó una significancia de 0.05.⁶²

Estos procedimientos fueron analizados en el programa estadístico Statistical Package for the Social Sciences SPSS © 17.0.

6 RESULTADOS

6.1 Primer objetivo.

10,818 muestras procedentes de la matanza regular de bovinos, que resultaron con lesiones sospechosos a tuberculosis detectadas en rastro, fueron analizadas por diez laboratorios autorizados para el diagnóstico de tuberculosis bovina en México del año 2009 y 2012.

En el año 2011 hubo un incremento en el envío de muestras a los laboratorios (gráfico 10) y en los resultados obtenidos, se observa un mayor número de muestras positivas tanto a histopatología como a bacteriología, en comparación con los demás años (gráfico 11).

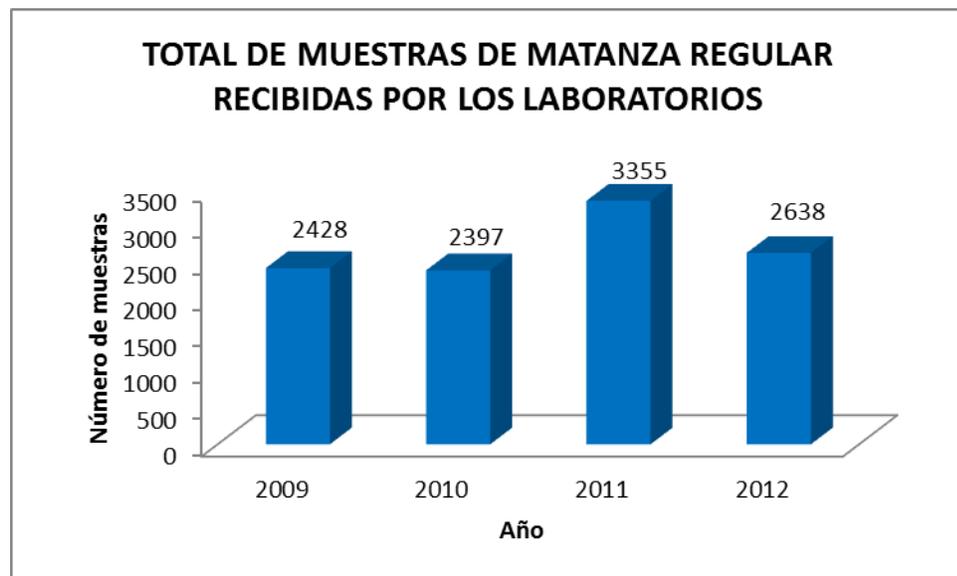


Gráfico 10. Total de muestras de matanza regular procesadas por los laboratorios autorizados del año 2009 al 2012.

El laboratorio de Jalisco y el laboratorio de Chihuahua analizaron 2,560 y 2,065 muestras respectivamente siendo los de mayor número de muestras trabajadas, el

laboratorio de la Región Lagunera proceso 329 muestras, siendo el laboratorio con menor número de muestras analizadas (gráfico 12).

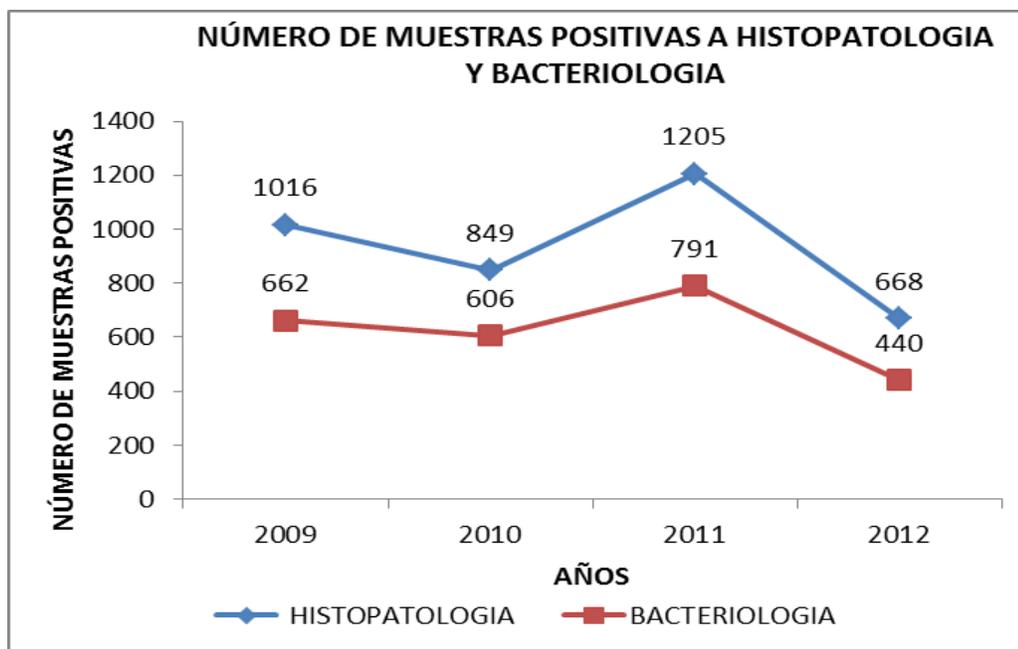


Gráfico 11. Total de muestras positivas a histopatología y bacteriología del año 2009 al 2012.



Gráfico 12. Total de muestras de matanza regular procesadas por laboratorio del año 2009 al 2012.

De 10,818 muestras sugestivas a tuberculosis, el 23.1% resultaron positivas a cultivo bacteriológico (2499/10818), un 34.6% de las muestras resultaron positivas al examen histopatológico (3738/10818). Por laboratorio, el mayor porcentaje lo obtuvo el laboratorio del estado de Jalisco con un 41% de resultados positivos a bacteriología (1,054/2,560), el laboratorio del estado de Sonora obtuvo un 5.1%, siendo el laboratorio con menor porcentaje de muestras positivas a bacteriología (41/799) gráfico 13. En todos los laboratorios se observa un mayor porcentaje muestras positivos a histopatología en comparación con las positivas a bacteriología, sin embargo el laboratorio del estado de Sonora obtuvo un mayor porcentaje de muestras positivas a bacteriología (5.1%) y un menor porcentaje de estas positivas a histopatología (4.1%).

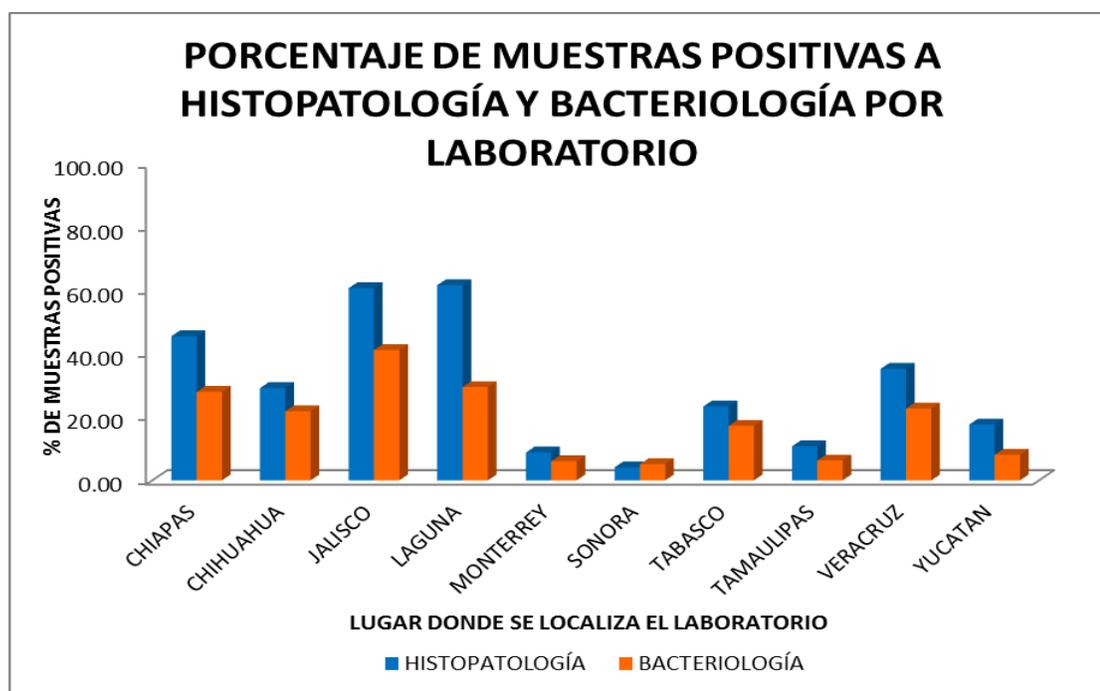


Gráfico 13. Porcentaje de muestras positivas a histopatología y bacteriología por laboratorio del año 2009 al 2012.

3,275 muestras fueron positivas a la tinción de Ziehl-Neelsen y compatibles a histopatología, pero el 33% (1,083/3,275) de estas fueron negativas a cultivo bacteriológico.

Se calculó la concordancia general mediante la prueba de Cohen's Kappa con un intervalo de confianza al 95% que han presentado los diez laboratorios autorizados en el diagnóstico de tuberculosis bovina, del año 2009 al 2012, entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico de lesiones sugestivas a tuberculosis, resultando en promedio una concordancia adecuada o buena ($k = 0.633$ con un intervalo de confianza al 95% = $0.618 - 0.649$) de los diez laboratorios, individualmente el Laboratorio del estado de Monterrey obtuvo un concordancia inadecuada ($k = -0.0046$) siendo el que presentó un menor acuerdo entre pruebas, el laboratorio del estado de Chihuahua mostró una concordancia excelente ($k = 0.7839$) siendo el que mejor valor de kappa (cuadro 14).

Cuadro 14

**RESULTADOS DE LA PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE KAPPAS OBTENIDAS
DEL AÑO 2009 AL 2012 EN LOS LABORATORIOS AUTORIZADOS EN EL
DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA**

Lugar donde se localiza el laboratorio	Valor de Kappa Global	IC 95%	
Chiapas	0.5848	0.5304	0.6393
Chihuahua	0.7839	0.7539	0.8139
Jalisco	0.5562	0.5273	0.5851
Región Lagunera	0.2396	0.1798	0.2995
Monterrey	-0.0046	-0.022	0.0128
Sonora	0.4584	0.3264	0.5904
Tabasco	0.4422	0.3708	0.5141
Tamaulipas	0.2788	0.1123	0.4463
Veracruz	0.6722	0.6329	0.7115
Yucatán	0.3449	0.2468	0.4431
General	0.6338	0.6181	0.6495

Se calcularon los coeficientes de kappa obtenidos del año 2009 al 2012 entre los diferentes laboratorios (cuadro 15), estos resultados se muestran en las gráficas 16 a la 26, se observa al laboratorio de la Región Lagunera y el laboratorio del estado de Monterrey obtuvieron un valor bajo de concordancia global (cuadro 14), pero entre años este ha ido aumentando (gráficas 19 y 21). En la gráfica 26 de concordancia general, se observa un mantenimiento de una buena o adecuada concordancia entre del año 2009 al 2012.

Gráfico 16.

Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 del Laboratorio del estado de Chiapas

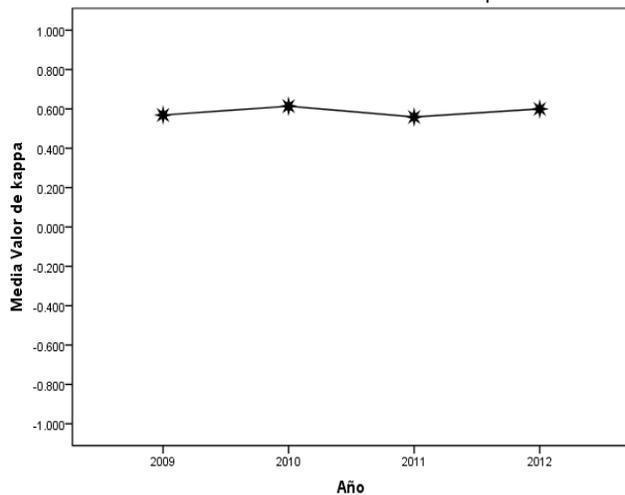


Gráfico 17.

Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 del laboratorio del Estado de Chihuahua

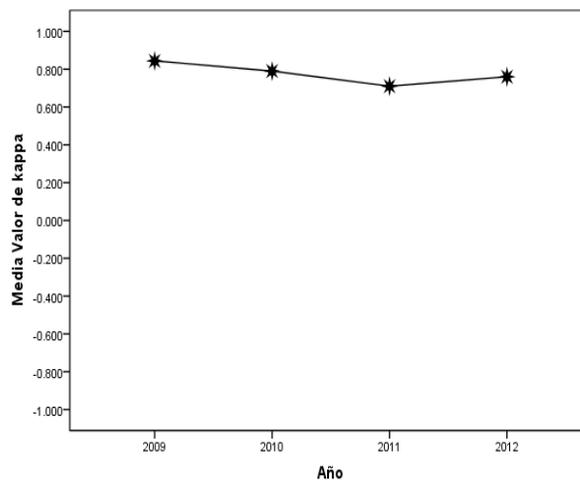


Gráfico 18.

Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 del Laboratorio del estado de Jalisco.

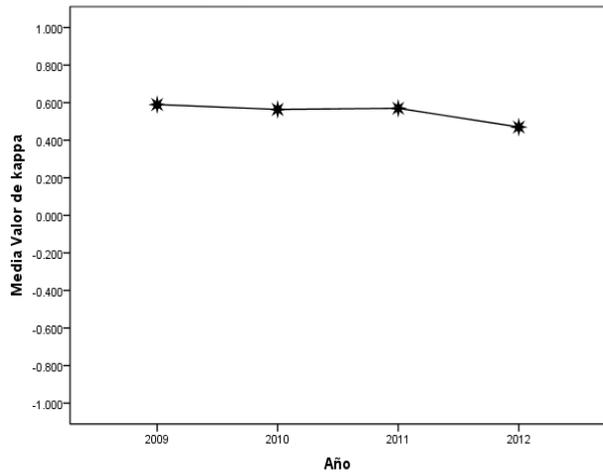


Gráfico 19.

Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 del Laboratorio de la Región Lagunera de Coahuila y Durango

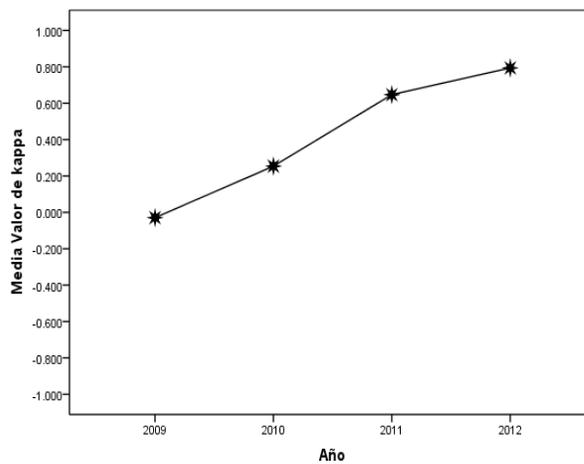


Gráfico 20.

Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 del Laboratorio del estado de Sonora

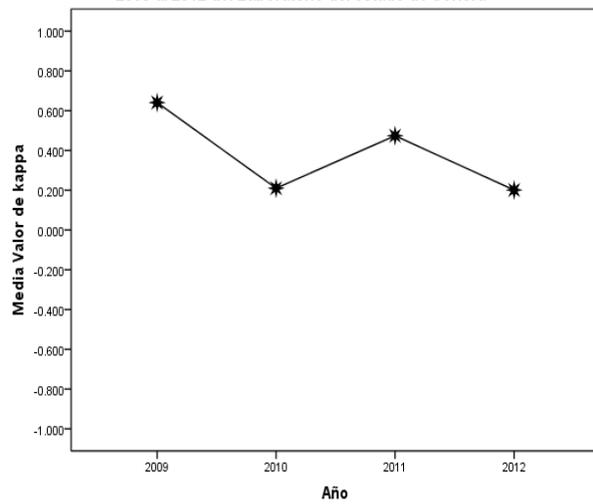


Gráfico 21.

Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 del Laboratorio del estado de Monterrey

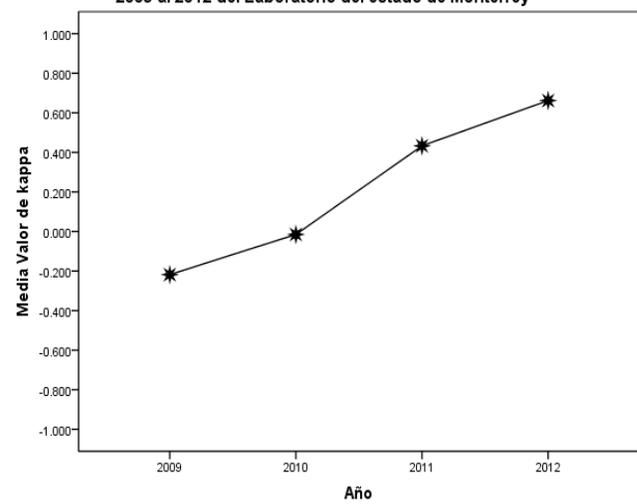


Gráfico 22.

Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 del Laboratorio del estado de Tabasco.

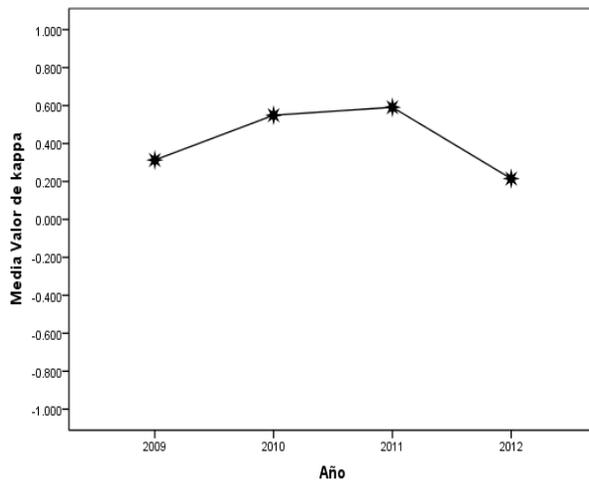


Gráfico 23.

Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 del Laboratorio del estado de Tamaulipas.

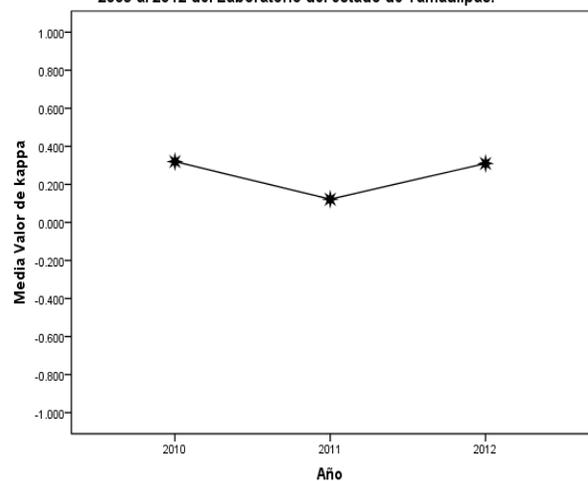


Gráfico 24.

Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 del Laboratorio del estado de Veracruz

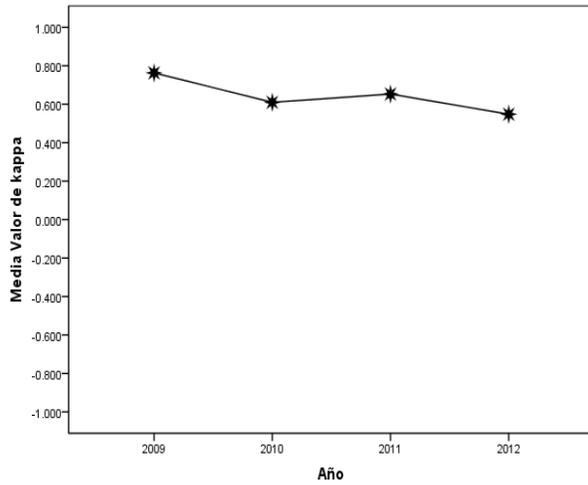
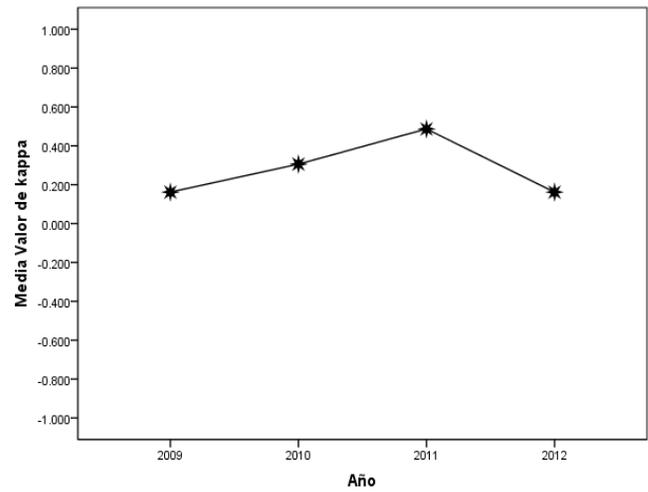


Gráfico 25.

Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 del Laboratorio del estado de Yucatan



Concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico del año 2009 al 2012 de los laboratorios autorizados en el diagnóstico de tuberculosis bovina

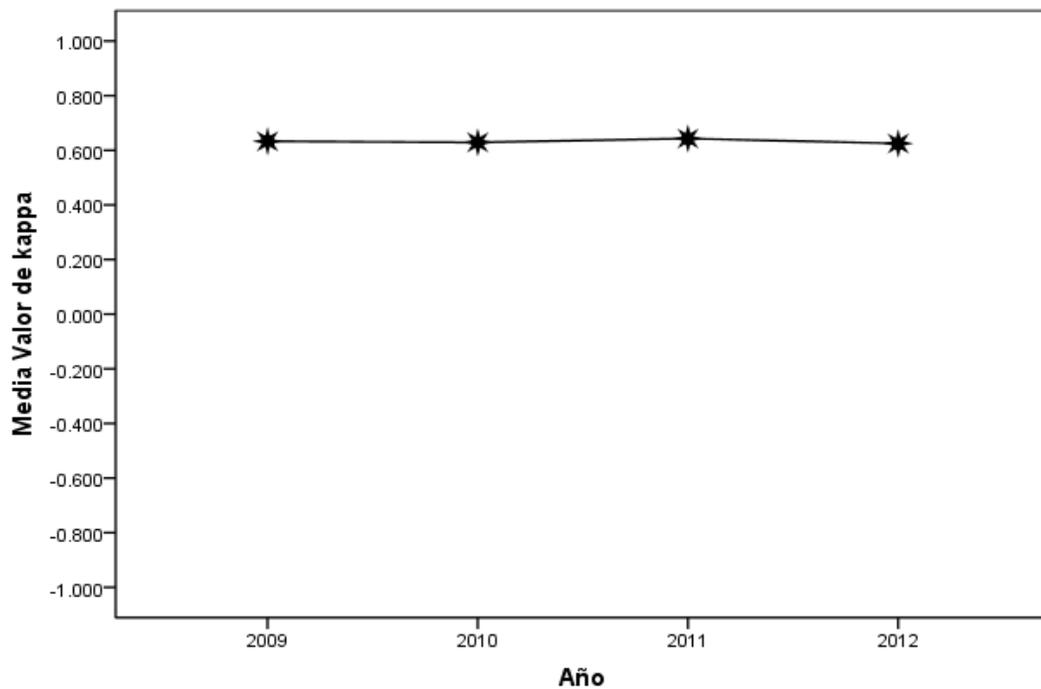


Gráfico 26. Resultados de los coeficientes de kappa en los laboratorio autorizados en el diagnóstico de tuberculosis bovina del año 2009 al 2012.

6.2 Segundo objetivo

Se realizó una comparación de los coeficientes de kappa mediante la prueba de homogeneidad de kappas la cual utiliza el error estándar así como una distribución de ji cuadrada para contrastar la hipótesis nula que plantea que: todos los coeficientes kappa que se comparan son iguales. Existe evidencia estadística suficiente para decir que los coeficientes de kappa entre años del laboratorio del estado de Chiapas, de Jalisco y Tamaulipas se han mantenido constantes con un 95% de confianza (Cuadro 26). También existe evidencia estadística suficiente para decir que los coeficientes de kappa entre años del resto de los laboratorios son diferentes con un 95% de confianza.

Cuadro 26

**RESULTADOS DE CONCORDANCIA MEDIANTE LA PRUEBA DE COHEN'S
KAPPA DEL AÑO 2009 AL 2012 EN LOS LABORATORIOS AUTORIZADOS EN
DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA**

Lugar donde se localiza el laboratorio	2009	2010	2011	2012	Valor P
	Kappa±EE	Kappa±EE	Kappa±EE	Kappa±EE	
Chiapas	0.569 ± 0.056	0.614 ± 0.054	0.559 ± 0.053	0.6 ± 0.06	0.8795
Chihuahua	0.844 ± 0.025	0.79 ± 0.039	0.71 ± 0.031	0.76 ± 0.032	0.0072
Jalisco	0.59 ± 0.031	0.564 ± 0.029	0.57 ± 0.025	0.47± 0.036	0.0629
Región Lagunera	-0.254 ± 0.07	0.254 ± 0.07	0.647 ± 0.092	0.794 ± 0.074	0
Monterrey	-0.218 ± 0.123	-0.015 ± 0,009	0.433 ± 0.09	0.662 ± 0.087	0
Sonora	0.641 ± 0.096	0.21 ± 0.186	0.474 ± 0.177	0.201 ± 0.14	0.0322
Tabasco	0.313 ± 0.057	0.549 ± 0.074	0.591 ± 0.069	0.215 ± 0.145	0.0025
Tamaulipas	*	0.32 ± 0.153	0.122 ± 0.199	0.31 ± 0.119	0.4302
Veracruz	0.763 ± 0.034	0.61 ± 0.048	0.653 ± 0.036	0.548 ± 0.049	0.0063
Yucatán	0.162 ± 0.116	0.306 ± 0.147	0.487 ± 0.07	0.162 ± 0.116	0.0272
General	0.633 ± 0.016	0.629 ± 0.017	0.643 ± 0.014	0.625 ± 0.018	0.8607

* No se observa el resultado ya que en ese año el laboratorio no obtuvo ningún resultado positivo a bacteriología

Al laboratorio de Tamaulipas no fue posible calcular el coeficiente de kappa para el año 2009, ya no obtuvo ningún resultado positivo a bacteriología.

7 DISCUSIÓN

El 23.1% de las muestras resultaron positivas a cultivo bacteriológico (2,499/10,818), el rango del porcentaje de resultados positivos a cultivo bacteriológico fue del 41.1% (1,054/2,560) del laboratorio del estado de Jalisco, que obtuvo el máximo y el mínimo fue de 5.1% (41/799) del laboratorio del estado de Sonora, En México Valencia *et al.* 1995 señala que de un total de 505 muestras analizadas el 49% de sus muestras fueron positivas a micobacteriosis el resto fue clasificado a otros diagnósticos diferenciales (actinobaciolosis actinomicosis, granuloma eosinofílico),⁶³ en Tanzania, Cleaveland *et al.* 2007 reportan que las lesiones sospechosas de tuberculosis pueden ser causadas por otras micobacterias saprofitas como, *M. terrae*, *M. avium*, *M. chelonae*, *M. gordonae*, *M. fortuitum*, *M. flavescens* y *M. smegmatis*⁶⁴ lo que puede ser un factor de confusión en muestras de bovinos sacrificados con lesiones visibles, por lo que es importante realizar un diagnóstico diferencial por parte del laboratorio. En Brasil un estudio realizado por Araujo *et al.* 2005 de un total de 72 muestras reportaron un 23.6% de estas positivas a cultivo bacteriológico, ellos explican que este resultado puede ser debido a que algunas muestras pueden tener pocas bacterias viables, el retraso en el envío de muestras al laboratorio y el uso de conservadores pueden reducir las posibilidades de un aislamiento.⁶⁵ En Ecuador, el 36,34% de las muestras sugestivas a tuberculosis fueron positivas a cultivo bacteriológico.⁶⁶ En Argentina Latini *et al.* 1997 con un total de 248 muestras reportaron el 83.3% de resultados positivos a bacteriología.⁶⁷

El 34.6% de las muestras fueron positivas al examen histopatológico (3,738/10,818), el rango de resultados positivos a examen histopatológico fue del 61.7% (203/329) del laboratorio de la Región Lagunera que obtuvo el máximo, y el mínimo fue de 4.1% (33/799) del laboratorio del estado de Sonora. En Argentina Latini *et al.* 1997 con un total de 248 muestras reportan un 81.8% de confirmación a examen histopatológico. Se ha mostrado que la sensibilidad del examen histopatológico puede verse afectada por la técnica utilizada y el número de láminas examinadas, así como la forma de toma, envío y conservación de la muestra.⁶⁷

El laboratorio del estado de Sonora obtuvo un mayor porcentaje de positivos a cultivo bacteriológico, en comparación con los positivos a examen histopatológico, este resultado pudo haber sido por una incorrecta toma de las muestras ó una inadecuada conservación de las muestras, que son remitidas a este laboratorio para diagnóstico histopatológico.

Se obtuvo un coeficiente de Kappa en promedio de 0.633, el cual resulta en una concordancia adecuada o buena, este valor es mayor en comparación con lo reportado por Pérez *et al.* 2011 en Ecuador, quienes obtuvieron una concordancia moderada entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico, con un coeficiente de kappa de 0.49⁶⁶, en Argentina Latini *et al.* 1997 se obtuvo concordancia moderada con un coeficiente de kappa 0.48⁶⁷. Sin embargo individualmente, el valor de kappa es muy variado, ya que se obtuvo un rango de $k=-0.0046$ en el laboratorio de Monterrey a $K=0.8139$ en el laboratorio de Chihuahua, por lo que se recomienda realizar un monitoreo a los laboratorios que

tienen una concordancia baja y tratar de identificar cual es la causa de este resultado.

Se deben realizar estudios que involucren un mayor número de factores que puedan afectar el correcto diagnóstico de las muestras con la finalidad de detectar cuáles son los factores que provocaron una baja concordancia en algunos laboratorios.

El resultado obtenido de la prueba homogeneidad de kappas con un 95% de confianza nos indica que en el Laboratorio del estado de Chiapas, de Chihuahua y Tamaulipas han sido constantes en la correcta clasificación de muestras del año 2009 al 2012.

8 CONCLUSIONES

- La vigilancia de la tuberculosis bovina en los rastos es un medio importante en la detección de nuevos hatos infectados por *mycobacterium bovis*.
- La concordancia entre el examen histopatológico y cultivo bacteriológico de lesiones sugestivas a tuberculosis encontradas en rastro y procesadas en los diez laboratorios autorizados por la SAGARPA en el diagnóstico de tuberculosis bovina, es adecuada o buena $k= 0.633$.
- Los coeficientes de kappa de los laboratorios del estado de: Chiapas, de Jalisco y Tamaulipas se han mantenido constantes del año 2009 al 2012.

- Es necesario difundir con mayor énfasis el procedimiento correcto de la toma, conservación, envío y procesamiento de muestras para optimizar los resultados bacteriológicos e histopatológicos, con la finalidad de obtener los beneficios de esta labor, no solo en el conocimiento de la tuberculosis sino de otras patologías.
- Se recomiendan realizar estudios que involucren un mayor número de factores que puedan afectar el correcto diagnóstico de las muestras, con la finalidad de detectar cuáles son los factores que han provocado una baja concordancia en algunos laboratorios.
- Se recomienda repetir el estudio periódicamente con el objetivo de comparar los resultados.

9 BIBLIOGRAFÍA

1. O'Reilly LM, Daborn CJ. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man. A review, *Tubercle and Lung Disease* 1995; 76:1–46.
2. Neill SD, Pollock JM, Bryson DB, Hanna J. Pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Veterinary Microbiology* 1994; 40: 41-52.
3. Salazar GD, Otero DF, Meza JL, Flores SM, García ER, Arriaga DC Detection and anatomopathological description of tuberculosis in an Ankole-Watusi colony. *Téc Pecu Méx* 2007; 45:101-109.
4. Shittu A, Cifton-Hadley RS, Ely ER, Upton PU, Downs SH. Factors associated with bovine tuberculosis confirmation rates in suspect lesions found in cattle at routine slaughter in Great Britain, 2003–2008. *Preventive Veterinary Medicine* 2013; 110: 395–404.
5. Kaneenea JB, Millera AN, Meyerb R. Abattoir surveillance: The U.S. experience. *Veterinary Microbiology* 2006; 112: 273–282.
6. Frankena K, White WP, O’Keeffe J, Costello E, Martin WS, Grevenhof IV. Quantification of the relative efficiency of factory surveillance in the disclosure of tuberculosis lesions in attested Irish cattle. *Vet. Rec.* 2007; 161: 679–684.
7. Norma Oficial Mexicana, NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*).

8. Fernández Luciano A. Menoscabo en la detección y efectividad de la inspección en la faena. Seminario Taller de Vigilancia Tuberculosis Bovina. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. 2001:18-22
9. World Health Organization (WHO) Library Cataloguing-in-Publication Data Global tuberculosis report 2012. Disponible en: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/index.html
10. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Salud en las Américas panorama regional y perfiles de país. Publicación Científica y Técnica No.636. 2012. Disponible en: <http://www.paho.org/hq/>
11. Acha N P, Szytires B. Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y a los animales, 3rd ed. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud, 2003.
12. De La Rúa DR. Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *Tuberculosis* 2006; 86: 77–109.
13. Thoen C, LoBue P, Kantor I. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. *Veterinary Microbiology* 2006; 112: 339-345.
14. Michel LA, Mülle B, Paul, Helden DP. *Mycobacterium bovis* at the animal–human interface: A problem, or not?. *Veterinary Microbiology* 2010; 140: 371-381.

15. Domenech RR. Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. *Tuberculosis* 2006; 86: 77-109.
16. The Center For Security and Public health Ficha técnica de Tuberculosis bovina, última actualización 2009 Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease.php?name=bovine-tuberculosis&lang=es>
17. World Animal Health Information Database (WAHID) .Mapas de distribución de las enfermedades. Interface Disponible en: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap
18. Waters RW, Palmer VM, Buddle MB, Vordermeier MH. Bovine tuberculosis vaccine research: Historical perspectives and recent advances. *Vaccine*. 2012; 30: 2611–2622.
19. SAGARPA [página en Internet]. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, [citado 25 de junio 2013]. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Paginas/default.aspx>
20. CANATB, 2004 Campaña Nacional para el Control y la Erradicación de la Tuberculosis Bovina en México, 2004. Memorias de la Reunión Anual del Consejo Nacional de Salud Animal. México, DF

21. Hernandez J, Baca D. Effect of tuberculosis on milk production in dairy cows. Texas Animal Health Commission, San Antonio, TX, USA. J Am Vet Med Assoc. 1998; 15: 851-4.
22. Ley Federal de Sanidad Animal, Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 25 de Julio del 2007.
23. Norma Oficial Mexicana, NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*). Norma Oficial Mexicana publicada en el Diario Oficial de la Federación el viernes 8 de marzo de 1996.
24. Amanfu W. The situation of tuberculosis and tuberculosis control in animals of economic interest. Tuberculosis 2006; 86: 330-335.
25. Wedlock ND, Skinner AM, Lisle WG, Buddle MB. Control of *Mycobacterium bovis* infections and the risk to human populations. Microbes and Infection 2002; 4: 471–480
26. OIE Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres 2012.
27. Sommer HM, Good RC, Lennette EH, Belows A, Hausler WJ, Shadomy HJ. Editorial, Washington DC. *Mycobacterium*. In Manual of Clinical Microbiology. Am. Soc. Microbiol. 1985; 216-248.
28. Nriell SD, Pollock JM, Bryson DB, Hanna J, Pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle, Veterinary Microbiology 1994; 40: 41–52.

29. Crevel RV, Ottenhoff THM, Van der Meer JWM. Innate Immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. Rev. Clin. Microbiol. 2002; 294-309
30. Jiménez MM, Báez SR, Linares CM, Chavez SR, Lascurain LR, Zenteno GE, Avances en el estudio de los mecanismos celulares de supresión de la respuesta inmunitaria de la tuberculosis. Rev. Int. Enf. Resp. Mex. 2001; 39-48.
31. Fuller C, Flynn J, Reinhart TA. In situ study of abundant expression of proinflammatory chemokines and cytokines in pulmonary granulomas that develop in cynomolgus macaques experimentally infected with *Mycobacterium tuberculosis*. Infection and Immunity. 2003; 71: 7023–7034.
32. Wangoo A, Johnson J, Gough J, Ackbar R, Inglut S, Hicks D, Spencer Y, Hewinson G, Vordermeier M. Advanced Granulomatous Lesions in *Mycobacterium bovis*-infected Cattle are Associated with Increased Expression of Type I Procollagen, $\gamma\delta$ (WC1+) T Cells and CD 68+ Cells. Journal of Comparative Pathology 2005; 133: 223-.234.
33. Johnson L, Gough J, Spencer V, Hewinson G, Vordermeier M, Wangoo A. Immunohistochemical markers augment evaluation of vaccine efficacy and disease severity in bacillus Calmette–Guerin (BCG) vaccinated cattle challenged with *Mycobacterium bovis*. Veterinary Immunology and Immunopathology 2006; 111: 219–229.
34. Domenech RR, Goodchild TA, Vvordermeier MH, Hewinson GR, Christiansen HK, Clifton-Hadley SR. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle. A

- review of the tuberculin tests, γ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Research in Veterinary Science* 2006; 81:190–210.
35. States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service Bovine Tuberculosis Eradication: Uniform Methods and Rules, effective January 1, 2005 United, Washington (2004).
36. Pollock MJ, McNair J, Bassett H, Cassidy PJ, Costello, Aggerbeck H, Rosenkrands I, Andersen P. Specific delayed-type hypersensitivity responses to ESAT-6 identify tuberculosis-infected cattle *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41: 1856–1860.
37. Corner LL, Gormley E, Pfeiffer UD. Primary isolation of *Mycobacterium bovis* from bovine tissues: Conditions for maximising the number of positive cultures. *Veterinary Microbiology* 2012; 156: 162–171.
38. Liebaena E, Johnson L, Gough J, Durr P, Jahans K, Clifton-Hadley R, Spencer Y, Hewinson RG, Downs SH. Pathology of naturally occurring bovine tuberculosis in England and Wales. *The Veterinary Journal* 2008; 176: 354–360.
39. Cassidy PJ. The pathology of bovine tuberculosis: Time for an audit. *The Veterinary Journal* 2008; 176: 263–264.
40. Vitale F, Capra G, Maxia L, Reale S, Vesco G, Caracappa S. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in cattle by PCR using milk, lymph node

- aspirates, and nasal swabs *Journal of Clinical Microbiology* 1998; 36: 1050–1055.
41. Sreedevi B, Krishnappa G. Standardization of polymerase chain reaction for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms from bovines. *Indian Journal of Animal Sciences* 2004; 74: 1120–1123.
42. Miller MJ, Jenny LA, Payeur BJ. Polymerase chain reaction detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and *Mycobacterium avium* organisms in formalin-fixed tissues from culture-negative ruminants. *Veterinary microbiology* 2002; 87:15–23.
43. Miller J, Jenny J, Rhyan J, Saari D, Suarez D. Detection of *Mycobacterium bovis* in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues of cattle and elk by PCR amplification of an IS6110 sequence specific for *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1997, 9: 244-249.
44. Wards BJ, Collins MD, Lisle WG. Detection of *Mycobacterium bovis* in tissues by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*. Volume 43, Issues 2–3 February 1995, Pages 227–240.
45. Collins MD. Advances in molecular diagnostics for *Mycobacterium bovis*. *Veterinary Microbiology* 2011; 151: 2–7.

46. Malone EF, Wilson CE, Pollock MJ, Skuce AR. Investigations into an outbreak of tuberculosis in a flock of sheep in contact with tuberculous cattle. *Journal of Veterinary Medicine* 2003; 50: 500–50.
47. Woodf RP, Jones LS. BOVIGAM: an in vitro cellular diagnostic test for bovine tuberculosis. *Tuberculosis* 200; 81: 147–155.
48. Suazo MF, Ruíz BA, Casillas, RC, Díaz AC. Genotyping of *Mycobacterium bovis* by geographic location within Mexico. *Preventive Veterinary Medicine* 2002; 55: 255–264.
49. Durr AP, Hewinson GR, Hadley CSR. Molecular epidemiology of bovine tuberculosis. I. *Mycobacterium bovis* genotyping. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 2000;19: 675–688.
50. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) manual de buenas prácticas para la industria de la carne. 2 edición 2007. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/010/y5454s/y5454s00.htm>
51. Irene Schiller I, Waters RW, Vordermeier MH, Jemmi T, Welsh M, Keck N, Whelan A, Gormley E, Boschioli LM, Moyon LJ, Vela C, Cagiola M, Buddle MV, Palmer M, Thacker T, Oesch B. La tuberculosis bovina en Europa desde la perspectiva de un país oficialmente libre de tuberculosis: Comercio, la vigilancia y el diagnóstico. *Microbiología Veterinaria* 2011; 151: 153-159.
52. Navarrete MEG, Juárez CPO. Manual de procedimientos de operación estándar para la vigilancia epidemiológica, toma y envío de muestras para el

diagnóstico de *M. bovis* en rastros mataderos y plantas TIF. CEFPP, SENASICA.

53. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) disponible en <http://www.siap.gob.mx/>
54. Gutiérrez RJA. Bovine Tuberculosis in Mexico: Control and Eradication, Achievements and Challenges. Reunión del Comité Binacional México – Estados Unidos para la Erradicación de la Tuberculosis Bovina y Brucelosis. Tampa, FL., EUA, febrero de 2013. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA).
55. Porchietto SM. Evaluación de riesgos de los rastros y mataderos municipal. México 2006.
56. Porchietto SM, Gual CS, Padilla BM, Cervantes EM. Guía para la administración de rastros y mataderos municipales. comisión federal para la protección contra riesgos sanitarios (COFEPRIS). México, D.F., octubre de 2005.
57. Memorándum 552.41 “Guía para las revisiones de tuberculosis (Tb) en México”. Publicado el 7 de octubre del 2009
58. González MA, Villegas SA, Fajardo FJ. Bioestadística amigable. Segunda edición 2006 Ed. Díaz de Santos.

59. Gilchrist MJ. Weighted 2 × 2 kappa coefficients: recommended indices of diagnostic accuracy for evidence-based practice. *Journal of Clinical Epidemiology* 2009; 62: 1045–1053.
60. Vach W. The dependence of Cohen's kappa on the prevalence does not matter. *Journal of Clinical Epidemiology* 2005; 58: 655–661.
61. Cousins Primos DV. *Mycobacterium bovis* infection and control in domestic livestock. *Rev. Sci. Technol* 2001; 20: 71–85.
62. Dawson B, Trapp GR,; Bioestadística médica, 4rd ed. México: Manual Moderno. S.A. de C.V., 2005.
63. Valencia LG, Anda HJ, Lira SE. Diagnostico post mortem en decomisos sugestivos a tuberculosis en ganado bovino sacrificado en Baja California. *Vet. Méx.* 28: 1997.
64. Cleaveland, D.J. Shaw, S.G. Mfinanga, G. Shirima, R.R. Kazwala, E. Eblate, M. Sharp. *Mycobacterium bovis* in rural Tanzania: risk factors for infection in human and cattle populations *Tuberculosis* 2007; 87: 30–43.
65. Cristina Pires de Araújo PC, Leite FQC, Prince AK, Jorge GSK Ana, Osório RAL. *Mycobacterium bovis* identification by a molecular method from post-mortem inspected cattle obtained in abattoirs of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* v.100 n.7 Rio de Janeiro nov. 2005.
66. Perez PF, Ortiz BW, Desmecht D, Coral M, Ortiz J, Portaels F, Rigouts L, Linder A. Post-mortem examination and laboratory-based analysis for the

diagnosis of bovine tuberculosis among dairy cattle in Ecuador. Preventive Veterinary Medicine 2011; 101: 65–72.

67. Latini O, Canal AM, Ferrara ME, Sequeira MDG, Bagnaroli RVM Torres P. Confiabilidad en la determinación de prevalencia de infección por *Mycobacterium bovis* en ganado bovino por decomisos en frigoríficos. Arch. med. Vet. 1997.

ANEXO 1

ERRORES FRECUENTES DETECTADOS EN EL LABORATORIO SOBRE EL MÉTODO DE MUESTREO.
Cantidad excesiva de la muestras, muestras con demasiada grasa en los frascos, esto no permite la adecuada fijación del formol ni el efecto bactericida del borato de sodio.
Muestras muy pequeñas o finamente laminadas, el borato de sodio destruye las micobacterias.
Muestra insuficiente, pequeña y que no se observa la lesión.
No enviar tejido aparentemente sano de la muestra.
Enviar las muestras sin lesiones y sin describirlas.
Describir lesiones que no aparecen en las muestras.
Muestras verdosas con gases y maceración de los tejidos.
Muestras con fragmentos de huesos, que provocan contaminaciones.
Muestras lavadas en el rastro, esto favorece la contaminación.
Muestras colocadas en borato de sodio con más de dos semanas de haber sido tomada, provoca muerte de las micobacterias.
Fracos sin identificación.
Fracos sin asegurar (derrames del líquido).

ANEXO 2

FORMATO DE TOMA Y ENVIÓ DE MUESTRAS AL LABORATORIO

SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD, INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA
DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD ANIMAL
CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA TUBERCULOSIS BOVINA

FORMATO DE ENVÍO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS

1. FOLIO: _____

2. INFORMACIÓN GENERAL DE LA ESTABLECERÍA:

A) TIPO DE ESTABLECERÍA: TIPO RASTRO PARTICULAR OTRO

B) ESPECIE: BOVINO CAPRINO PORCINO OVINO UTRA

C) FECHA DE SACRIFICIO: _____ DÍA _____ MES _____ AÑO _____

D) No. DE LOTE: _____

E) No. DE ANIMALES QUE INTEGRAN EL LOTE: _____

F) No. DE ANIMALES CON LESIONES EN EL LOTE: _____ DE QUÉ TIPO? _____

G) No. DE CASO DEL CENTRO DE MATANZA: _____

H) DATOS DEL MVZ QUE REMITE PARA RESULTADOS:
 NOMBRE COMPLETO: _____
 TEL. (LADA): _____
 CORREO ELECTRÓNICO: _____

I) DATOS DEL CENTRO DE MATANZA:
 RAJÓN SOCIAL: _____
 DOMICILIO: _____
 MUNICIPIO: _____ ESTADO: _____ TEL. (LADA): _____

J) DATOS DEL PROPIETARIO DEL ANIMAL:
 NOMBRE COMPLETO: _____
 DOMICILIO: _____
 MUNICIPIO: _____ ESTADO: _____ TEL. (LADA): _____

K) DATOS DE ORIGEN DEL ANIMAL:
 RAJÓN SOCIAL DE LA UPP: _____
 MUNICIPIO: _____ ESTADO: _____ PIN ZOO TÉCNICO: _____
 LIBRADO EN ZONA: A B AMORTIGUAMIENTO

L) DATOS DEL INTRODUCIDOR/COMPRADOR:
 NOMBRE COMPLETO: _____
 DOMICILIO: _____
 MUNICIPIO: _____ ESTADO: _____ TEL. (LADA): _____

M) TIPO DE ANIMAL EN RELACIÓN A TUBERCULOSIS BOVINA:
 EXPUESTO SUSPECHOSO MATANZA REGULAR (Demandado)
 REACTOR NEGATIVO

3. IDENTIFICACIÓN DEL ANIMAL:

A) No. DE ARETE DE CAMPAÑA: _____
INDICAR LAS IDENTIFICACIONES DE LOS ARETES DE IDENTIFICACIÓN

B) No. DE ARETE SINGLA: _____

C) OTROS ARETES: ROSA/REACTOR (R) NARANJA/IDENTIFICACIÓN AZUL/IDENTIFICACIÓN

D) OTROS IDENTIFICACIONES: ANIL/PIE (No. _____) TITULAR MARCA Y POCO MARCA EN PIE MARCA DE SANGRE TATUADO/IDENTIFICACIÓN

E) FIEBRE (CÓDIGO): _____

F) EDAD: _____ MESES

G) SEXO: HEMBRA MACHO

H) RAZA: _____

I) COLOR: _____

J) No. DE CERTIFICADO ZOO SANITARIO: _____ K) No. DE CITA DE TRANSITO: _____ L) No. DE FLEJE: _____ M) No. DE FACTURA: _____ N) No. DE CLAVE DE RETENCIÓN: _____

O) SE ANEXAN IDENTIFICACIONES: SI (Identificación) NO (Identificación)

O) No. DE CANAL: _____ P) PESO CANAL: _____ BILANZA: _____ ESTIMADO: _____ KILOGRAMOS

4. RESULTADO DE INSPECCIÓN POST-MORTEM: SELECCIONAR CON UNA X LA OPCIÓN CORRECTA
 CS. LEÓN CALIFORNIA CL. LEÓN CALIFORNIA

5. NÓDULOS LINFÁTICOS **6. OTROS**

A) CABEZA: CS. CL. RETROFARINGEA MEDIO CS. CL. RETROFARINGEA LATERAL CS. CL. MANDIBULAR CS. CL. FARINGEA

B) VISCERAS: CS. CL. TRAQUEO-BRONQUIALES CS. CL. MEDITERÁNEAS CS. CL. HEPÁTICAS CS. CL. MEDITERÁNEAS

C) CANAL: CS. CL. SUPERFICIAL CS. CL. PROFUNDO CS. CL. GLANDES CS. CL. ESCROCIALES (M) CS. CL. MORGAGNI (M)

D) ÓRGANOS: CS. CL. PULMÓN CS. CL. HÍGADO CS. CL. BAZO CS. CL. INTESTINO CS. CL. BÚNDA CS. CL. OTRO

E) GENERAL: MILAR (Demandado) OTRA (Especificar): _____

F) MUESTRA(S) QUE ENVÍA AL LABORATORIO Y DESCRIPCIÓN BREVE DE LAS LESIONES OBSERVADAS: _____

G) DATOS DEL MVZ OFICIAL RESPONSABLE DE LA CAMPAÑA EN LA LOCALIDAD:
 NOMBRE COMPLETO: _____
 TEL. (LADA): _____
 CORREO ELECTRÓNICO: _____

8. PARA USO EXCLUSIVO DEL LABORATORIO

A) FECHA DE RECEPCIÓN: _____ DÍA _____ MES _____ AÑO _____

B) No. DE CASO DEL LAB: _____

C) MUESTRA CONSERVADA EN: FRÍO SECO

D) RECIBO: _____ NOMBRE COMPLETO Y FIRMA _____

Impreso: Laboratorio P-1 Copia Coordinador Estatal y/o Supervisor Estatal de la DGA-SENASICA P-2 Copia Buzón P-3 Copia DGA de la Unidad Coordinadora de Epidemiología y Sanidad