



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA RELACIÓN ENTRE LA CLASIFICACIÓN, ANIMALES REACTORES A TUBERCULINA, Y EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA, REALIZADO EN LABORATORIOS AUTORIZADOS POR EL SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD, INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA (SENASICA), SAGARPA EN MÉXICO, DURANTE EL PERÍODO 2009-2012.”

TESIS

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

PRESENTA:

JOSÉ LUIS GARCÍA MORA

Asesores:

MVZ MPA Frida Salmerón Sosa.

MVZ M en C Estela Flores Velázquez.

MVZ M en C José Alfredo Gutiérrez Reyes.



México, D. F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 mis asesores la MVZ MPA Frida Salmerón Sosa, por su confianza, orientación y apoyo en la realización de la tesis, a la MVZ M en C Estela Flores Velázquez por darme la oportunidad de trabajar con usted y enseñarme siempre todo lo que sabe y a el MVZ M en C José Alfredo Gutiérrez Reyes por su apoyo y comentarios.

Al personal de la Dirección de Campañas Zoonosanitarias del SENASICA por sus palabras de aliento, ayuda y atención que me brindaron.

A los miembros de mi jurado la MVZ. Rosa Elena Miranda Morales (presidenta), el MVZ. Miguel Ángel Blanco Ochoa (vocal), el MVZ. Tomás Jorge Mas Ibáñez (secretario), la MVZ. Frida Salmerón Sosa (suplente) y el MVZ. Noé Orlando Juárez López (suplente) por sus observaciones que ayudaron a mejorar mi trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por mi formación académica y profesional.

A mis amigos (Jacobo, Diana, Dafne, Toño, Jorge y Pame) y a todas las personas que siempre confiaron en mi y me motivaron a concluir esta etapa de mi vida.

DEDICATORIA

A mi padre por sus consejos y estar siempre en los momentos difíciles, motivándome para levantarme y triunfar y a quien hice la promesa de titularme.

A mi mamá por brindarme su cariño, paciencia y apoyo, tu eres la fuerza que me impulsa a seguir adelante.

A mis hermanos Mónica y Ricardo que siempre han confiado en mí y me han inspirado a ser mejor cada día.

A toda mi familia por estar siempre ahí y creer que puedo hacer las cosas.

Al MVZ. Javier Avilés por mostrarme un poco de todo lo que sabe, por darme su cariño y recomendaciones para superarme.

Contenido

RESUMEN.....	1
ANTECEDENTES.....	3
SALUD PÚBLICA.....	4
TUBERCULOSIS BOVINA.....	6
AGENTE CAUSAL.....	7
PATOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS.....	8
SISTEMA INMUNE.....	10
La respuesta inmune innata.....	10
La respuesta inmune adquirida.....	11
MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO.....	11
Pruebas oficiales en México.....	11
Pruebas no oficiales en México.....	14
SITUACIÓN ACTUAL.....	22
Nacional.....	22
Internacional.....	22
JUSTIFICACIÓN.....	23
OBJETIVOS.....	24
MATERIAL Y MÉTODOS.....	25
RESULTADOS.....	28
DISCUSIÓN.....	39
CONCLUSIÓN.....	41
ANEXOS.....	42
REFERENCIAS.....	46

RESUMEN

GARCÍA MORA JOSÉ LUIS. Análisis comparativo de la relación entre la clasificación, animales reactivos a tuberculina, y el diagnóstico de tuberculosis bovina, realizado en laboratorios autorizados por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), SAGARPA en México, durante el período 2009-2012. (Bajo la dirección de: MVZ MPA Frida Salmerón Sosa, MVZ M en C Estela Flores Velázquez y el MVZ M en C José Alfredo Gutiérrez Reyes).

La tuberculosis bovina es una enfermedad de curso crónico causada por el *M. bovis*, es una enfermedad zoonótica importante a nivel mundial, en México una de las estrategias para la erradicación de la Tuberculosis es la eliminación de animales reactivos a las pruebas de intradermorreacción, sin embargo, con frecuencia se reportan ciertas discrepancias entre las pruebas de intradermorreacción y los resultados de laboratorio, por lo que los principales objetivos de este estudio fueron estimar el grado de asociación entre los animales reactivos a tuberculina con el examen bacteriológico y evaluar la presentación de *M. bovis* en los animales reactivos, se utilizó la información de 40,035 registros de diagnóstico de tuberculosis bovina, con ayuda del programa estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) se evaluaron asociaciones y probabilidades.

Los resultados muestran que la probabilidad de un animal reactor con resultado positivo a *M. bovis* es del 26% en el año 2009 disminuyendo a 11.51% en el año 2012. Respecto a la concordancia de los laboratorios entre el examen histopatológico y bacteriológico se encontró que seis laboratorios muestran una concordancia buena en un rango de (K) de 0.61 - 0.80, cuatro presentan concordancia moderada (K) de 0.41 - 0.60 y solo tres laboratorios muestran una concordancia débil (K) de menos de 0.40. Hay que destacar que la concordancia general de los laboratorios es buena (K) de 0.62.

ANTECEDENTES

La Tuberculosis bovina es una enfermedad infecto-contagiosa, de curso crónico y progresivo, causada por el *Mycobacterium bovis*, que afecta a los animales y al hombre.¹ La tuberculosis ha acompañado a la humanidad desde tiempos remotos. Se detectó como la causa de muerte en momias egipcias de tres mil años de antigüedad y en una momia peruana del año 700 d. C.²

El 24 de marzo de 1882, Robert Koch, publica sus resultados donde emplea un método de tinción y lo aplica a muestras de pacientes con tuberculosis, revelándose por primera vez el agente causante de la enfermedad, al que se llamo “Bacilo de Koch” o bacilo tuberculoso, es capaz de cultivarlo y lo inocula en conejos, observando que mueren con lesiones de la enfermedad y de sus cadáveres puede obtener de nuevo el microorganismo. Posteriormente, se le denomina *Mycobacterium tuberculosis*. En 1898, Theobald Smith hace una distinción entre la presentación de la enfermedad en bovinos y en humanos, sin embargo, es hasta 1902 cuando Maz'yck P. Ravenel, realiza el aislamiento del microorganismo bovino a partir de un niño con meningitis tuberculosa.³ En 1891, el mismo Koch desarrolla la tuberculina en colaboración con el veterinario Camille Guérin. Posteriormente, en 1907, Charles Mantoux desarrolla una prueba cutánea de intradermorreacción para detectar infección tuberculosa, utilizando como reactivo el Derivado Proteico Purificado (PPD).⁴

Como resultado de los tratamientos antibióticos, los programas de vacunación con el bacilo B C G (*Bacillus Calmette Guérin*) y el mejoramiento en las condiciones de vida, a partir de 1900 se observó una notable declinación en la enfermedad, sobre todo en los países industrializados.²

En el año de 1993, se crea el Comité Binacional México-Estados Unidos de América para la erradicación de la tuberculosis bovina en México como resultado del interés particular de Estados Unidos de América, su principal socio comercial, que declaraba el resurgimiento de la enfermedad en su territorio, debida entre otros factores, a la importación de animales infectados desde México.² Se iniciaron entonces, visitas de revisión a los estados mexicanos para evaluar su programa de erradicación de tuberculosis y, en su caso, permitirles o no la exportación de becerros.⁵

En 1994, se publicó de forma emergente, la primera Norma Oficial Mexicana contra la tuberculosis bovina (*Mycobacterium bovis*), asimismo, en 1996, se publicó la Norma Oficial Mexicana que regula la Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (NOM-031- ZOO-1995), la cual se modificó en 1998.⁵

SALUD PÚBLICA

A nivel mundial, la Tuberculosis bovina es una enfermedad importante del ganado vacuno, otros animales domésticos y en algunas poblaciones de animales silvestres, la transmisión al hombre representa un problema de salud pública, en los países desarrollados los programas de erradicación en el ganado bovino han

reducido significativamente la prevalencia de la enfermedad en el humano pero los reservorios de vida silvestre hacen difícil su erradicación.^{6,9}

En 2011, 8.7 millones de personas a nivel mundial se enfermaron de tuberculosis (Tb), incluyendo 1.1 millones de casos entre las personas con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). El número estimado de personas que enferman de tuberculosis cada año está disminuyendo lentamente, lo que significa que el mundo está en camino de alcanzar el objetivo de desarrollo del milenio de reducir la propagación de la tuberculosis en 2015.⁷

En México, datos del Sistema de información de los Objetivos de Desarrollo del Milenio, muestran que la tasa de mortalidad por tuberculosis pulmonar en México para el año 2009 fue de 1.6 defunciones por cada cien mil habitantes y en los años 2010, 2011 fue de 1.8 defunciones por cada cien mil habitantes.⁸ **ANEXO 1**

En los países donde la incidencia de la tuberculosis humana está en constante disminución, la tuberculosis zoonótica sigue siendo esencialmente estable, sin embargo, las causas inesperadas de inmunosupresión en humanos como el VIH podría ser el resultado en la persistencia (Enarson, D., 2005).⁹ La combinación de la epidemia del VIH y una alta carga de la tuberculosis en animales es un importante obstáculo para el control de *Mycobacterium bovis* en varios países.¹⁰

La tuberculosis bovina puede transmitirse a los humanos a través de la inhalación del agente infeccioso y por ingestión de leche cruda,¹⁰ la pasteurización obligatoria de la leche y las exitosas campañas de control y erradicación de la infección en bovinos, han tenido un impacto en la disminución de la tuberculosis de origen

animal en humanos. Sin embargo, la tuberculosis humana de origen animal no deja de ser un problema en áreas con alta prevalencia de infección en bovinos.¹¹

TUBERCULOSIS BOVINA

La tuberculosis bovina es una enfermedad con un curso que tiende a la cronicidad.¹³ Se caracteriza normalmente por la formación de granulomas nodulares conocidos como tubérculos. Las lesiones se observan con más frecuencia en los nódulos linfáticos (sobre todo de la cabeza y tórax).⁶

Existen numerosas vías por las que los animales pueden infectarse con *M.bovis*, no obstante, la infección pulmonar mediante la inhalación de aerosoles que contienen a la micobacteria o por medio del contacto con fluidos, es la vía de infección más común en animales adultos, mientras que en animales jóvenes, es a través de la ingestión de leche contaminada; la presentación puede ser pulmonar o extrapulmonar.¹⁴

Los bovinos son resistentes a *M. tuberculosis* y a *M. avium*, sin embargo, tienen mucha importancia en los programas de control, porque provocan sensibilización cruzada con la tuberculina y ocasionan problemas en el diagnóstico.¹¹ En lugares con programas de erradicación de la tuberculosis bovina, la importancia en el diagnóstico reside en que la prueba intradérmica de la tuberculina posibilita la detección y la eliminación de los animales infectados antes de que aparezcan los síntomas.⁶

La tuberculosis bovina es importante no solo porque constituye una fuente de infección humana, sino también por las pérdidas económicas que ocasiona.¹¹ El

diagnóstico de *M. bovis* en hatos lecheros implica el establecimiento de medidas cuarentenarias y el productor debe cumplir con medidas sanitarias que incluyen: un plan de trabajo asociado con muestreos múltiples en todo el hato para el diagnóstico de Tuberculosis bovina, segregación y/o sacrificio de animales clasificados como positivos a la prueba(s) de tuberculina, restricciones en la movilización y venta de animales y si es posible la eliminación total de animales en el hato, lo cual puede ocasionar pérdidas económicas.

Una disminución del 4% en la producción de leche asociado con Tb,¹² las pérdidas en la producción de carne que van de 6-12%, el incremento en la infertilidad en un 5% y un remplazo de un 15% de los animales infectados, son las principales pérdidas en el ganado por la presencia de tuberculosis.¹⁰

AGENTE CAUSAL

La tuberculosis es causada por bacterias del género *Mycobacterium*,¹⁶ las micobacterias son bacilos aerobios, que no forman esporas, con la tinción adecuada presentan la característica de ácido resistencia que consiste en que una vez teñidos, no se decoloran con una solución de alcohol etílico al 95% con ácido clorhídrico al 3%.¹⁷ Las micobacterias poseen una pared celular compleja con un gran contenido de proteínas, lipoproteínas y carbohidratos, que les confiere una barrera física con alta resistencia a la desecación y a diversos desinfectantes, la pared celular es relevante para la especie ya que presenta un factor de virulencia importante.¹⁸

Los bacilos pueden vivir y crecer fácilmente en el citoplasma de los macrófagos después de la fagocitosis, es razonable esperar que las sustancias lipídicas protejan a los bacilos de la digestión que sigue a la fagocitosis.¹⁶

Mycobacterium bovis puede causar enfermedades en los seres humanos que clínicamente son indistinguibles de la enfermedad causada por *Mycobacterium tuberculosis*.¹⁹ *M. bovis* es un patógeno resistente que puede sobrevivir en el medio ambiente y diferentes superficies, se ha informado la sobrevivencia de este microorganismo en las heces del ganado bovino por más de cinco meses durante el invierno, cuatro meses durante otoño y en el suelo por más de dos años. Lo cual implica una fuente potencial de infección tanto para los animales como para los seres humanos.²⁰

Para lograr su inactivación se deben utilizar elementos físicos o sustancias químicas tales como solución clorada o cloruro de calcio (cloro activo al 5%), el formol al 3-5%, sosa caustica al 3-5% a 70°C, soluciones de yodo con una alta concentración, glutaraldehido y formaldehido.²¹

PATOLOGÍA DE LA TUBERCULOSIS

Si la vía de infección fue la respiratoria, se afectan los nódulos cervicales anteriores, los mediastínicos y los bronquiales, la inhalación de la micobacteria origina la infección pulmonar primaria, la cual puede afectar a cualquier lóbulo, pero sobre todo los caudales en localización subpleural. El proceso tuberculoso se

inicia en la unión bronquioloalveolar y se extiende después a los alveolos, las lesiones en un inicio se aprecian amarillentas, discretas, de necrosis caseosa.¹⁵

Con el tiempo las lesiones caseosas son encapsuladas y acumulan prominentes depósitos de calcio. La infección inicial se difunde en el pulmón por vía bronquial y en menor proporción por vía linfática, en casos crónicos se pueden desarrollar úlceras en tráquea y bronquios los cuales se originan como granulomas tuberculosos. En los rumiantes se puede producir además una pleuritis tuberculosa, como extensión de las lesiones pulmonares, las zonas afectadas de la pleura muestran nódulos caseosos multifocales, además de tejido de granulación y abundante calcificación, la cual da un aspecto perlado a los nódulos tuberculosos.¹⁵

La necrosis caseosa que se observa es resultado de hipersensibilidad mediada por células (tipo IV), debida en parte a las linfotoxinas liberadas por linfocitos T y a las enzimas lisosómicas liberadas por los macrófagos. La precipitación de sales de calcio en el granuloma tuberculoso depende de la especie animal afectada, ya que, por ejemplo, mientras en bovinos resultan comunes, en perros no lo es.¹⁵

En el caso de la vía de infección oral se produce una enteritis proliferativa o granulomatosa, hay un engrosamiento de la última porción del intestino delgado e intestino grueso y se debe a la proliferación de células, principalmente macrófagos, infiltración de linfocitos y formación de células gigantes, también hay un aumento de tamaño de los nódulos mesentéricos.¹⁵

La afección del hígado se presenta ocasionalmente y es debida a la llegada del *Mycobacterium bovis* al hígado, puede ser por vía hematógona, sea en la forma

congénita a través de la vena umbilical en casos de placentitis tuberculosa, por la vena porta en casos de tuberculosis digestiva o durante la generalización del complejo primario pulmonar. La tuberculosis también puede afectar diferentes áreas neuroanatómicas como meninges, cuerpo mamilar, tálamo, causando en los animales meningoencefalitis crónica activa.¹⁵

SISTEMA INMUNE

La respuesta inmune innata

Ante infecciones por el género *Mycobacterium spp* comienza con el reconocimiento de diversas estructuras moleculares de origen micobacteriano por algunos receptores como los TRL (toll like receptors), los cuales inducen la producción de TNF- α y óxido nítrico (ON) que directa o indirectamente contribuyen a la muerte de los microorganismos, además de inducir la activación y orientación de la respuesta inmune adquirida a través del reclutamiento de linfocitos "T" al sitio de la lesión; así mismo se induce la activación de las células dendríticas, favoreciendo la producción de citocinas y quimiocinas.²²

Posterior a la fagocitosis, la micobacteria es incluida en el fagosoma para formar el fagolisosoma, donde en un proceso dinámico es destruida por los mecanismos bactericidas de los macrófagos.²² Un mecanismo bactericida de los macrófagos es la producción de óxido nítrico (NO), esta producción es regulada por el interferón gamma (IFN- γ), el NO inhibe la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN) y su actividad respiratoria; por lo que ocasiona la lisis de los microorganismos.²³ Sin embargo, existen algunos Mecanismos de evasión de la fagocitosis, por ejemplo,

durante la fagocitosis, la micobacteria despliega diversos mecanismos para evitar ser lisada, entre estos esta el secuestro del proceso de maduración del fagosoma en una etapa temprana, lo que impide la fusión al lisosoma y por lo tanto el inicio de la acidez del fago lisosoma para activar el estallido oxidativo.²⁴

La respuesta inmune adquirida

El proceso de presentación de antígenos constituye un paso importante en la transición de la respuesta inmune adaptativa, que se basa en el reconocimiento específico de antígenos por diferentes tipos celulares.²²

En exposiciones subsecuentes a los bacilos tuberculosos, el macrófago engloba al bacilo y presenta los antígenos Tb a los linfocitos T sensibilizados por contacto directo, estos reconocen al antígeno Tb y liberan linfocinas que activan, atraen y localizan fagocitos y monocitos a la zona, los cuales a las 48 horas llegan al área y de tres a seis días se presenta la respuesta de los macrófagos activados, posteriormente se forman células gigantes de Langhans, la hipersensibilidad celular y muerte pueden ocurrir, lo que estimula la fibrosis y de esto resulta la formación de granulomas o tubérculos.²⁵

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Pruebas oficiales en México

1.- *Tuberculinización*. Considerando tres pruebas:

Prueba del pliegue caudal: uso de PPD bovino (*M. bovis*) cepa AN5. Esta prueba es de rutina cuando se desconoce la situación sanitaria del hato.¹

Se realiza Insertando la aguja intradérmicamente en forma paralela al pliegue, aplicando 0.1 ml del biológico. En el sitio de la aplicación aparecerá un pequeño abultamiento. La lectura de esta prueba se realizará 72 horas (+ 6 horas).

Positiva: cualquier signo de inflamación.

Negativa: sin inflamación.¹

Prueba cervical comparativa: uso de PPD bovino (*M. bovis*) cepa AN5 y PPD aviar (*M. avium*) cepa D4 con colorante rojo de Ponceau para distinguirlo del bovino. Esta prueba se utiliza para diferenciar entre animales infectados con *M. bovis* y los que responden a la tuberculina bovina como consecuencia de una exposición a otras micobacterias.¹

Primero se debe rasurar el área donde se inoculará la tuberculina en el tercio medio superior del cuello. El sitio de aplicación superior será cerca de 10 cm debajo de la cresta, el sitio inferior será aproximadamente de 13 cm debajo de la anterior, esta prueba se aplica mediante la inoculación intradérmica de 0.1 ml de PPD aviar y 0.1 ml de PPD bovino. Previo a la inoculación, se levanta un pliegue de piel en el centro de las áreas rasuradas y se procederá a medir el grosor de éstos, utilizando el cutímetro. El registro final de las medidas deberá redondearse según el siguiente criterio: de 6.2 baja a 6.0; de 6.3 sube a 6.5; de 6.7 baja a 6.5; de 6.8 sube a 7; debiendo registrarse los valores en los formatos de control de campo para prueba cervical comparativa.¹

El PPD aviar se inocula intradérmicamente en el área rasurada superior y el PPD bovino en la inferior. La lectura de esta prueba se realizará 72 horas (+ 6 horas), midiendo con el cutímetro el grosor de las reacciones, éstas serán anotadas en el formato oficial de la prueba cervical comparativa, sustrayendo el valor de la primera lectura al de la segunda; una vez realizada esta operación se procede a graficar los valores obtenidos tanto de PPD aviar como del bovino y el punto de intersección dará el resultado de la prueba. De acuerdo a la gráfica oficial se interpretarán los resultados.¹

La reacción de la prueba se clasifica en:

- a) Negativo.
- b) Sospechoso.
- c) Positivo.

Prueba cervical simple: uso de PPD bovino (*M. bovis*) cepa AN5. Esta prueba es utilizada en hatos o regiones donde se conoce la presencia de *M. bovis* o para ganado que haya estado expuesto a la micobacteria.¹

Se debe rasurar el área donde se inoculará la tuberculina en el tercio medio superior del cuello. El sitio de aplicación será aproximadamente 10 cm debajo de la cresta. Esta prueba se aplica mediante la inoculación intradérmica de 0.1 ml de PPD bovino en la región media cervical, haciendo la lectura el mismo Médico Veterinario que aplicó la prueba mediante la observación y palpación del sitio en donde se practicó, realizándose a las 72 (+ 6 horas) posteriores a su inoculación.¹

Las reacciones se clasifican como:

Negativa: Cuando no se observe ni se palpe ningún cambio en la piel del sitio de aplicación.

Reactor: Cuando sea visible y/o palpable cualquier engrosamiento, rubor, calor, dolor o necrosis en el sitio de aplicación.¹

2.- *Bacteriológico*. Se realiza examen directo mediante la tinción de Ziehl-Neelsen o de nueva fucsina. Puede utilizarse la microscopia de fluorescencia mediante la tinción con auramina-rodamina, auramina acridina o auramina fenol, que tiñe a la bacteria de color verde brillante. El examen indirecto se llevará a cabo mediante cultivo, aislamiento e identificación del *Mycobacterium spp*, a través de la siembra de material sospechoso en medios especiales como Herrolds con y sin huevo, Middle Brook y Stonebrink, Petraghani y Lowenstein Jensen.¹

3.- *Histopatológico* Se deberá utilizar la tinción de hematoxilina-eosina. Esta técnica permite identificar cualquier cambio morfológico de los tejidos, así como la presencia de los granulomas. Además, pueden utilizarse las tinciones de Ziehl Neelsen y nueva fucsina en cortes o improntas realizados con el material sospechoso.¹

Pruebas no oficiales en México

1.- *Métodos de reconocimiento del ácido nucleico*. La identificación específica de un aislamiento de *M. bovis* puede llevarse a cabo utilizando una reacción en

cadena de la polimerasa (PCR) orientada a la mutación en la posición 285 del nucleótido en el gen *oxyR*. La fiabilidad de esta prueba se ha reducido por los resultados falsos positivos y negativos, sobre todo en muestras con un número bajo de bacilos, también se cree que es debido a los procedimientos de extracción del ADN, no obstante, la PCR se utiliza actualmente de forma rutinaria en algunos laboratorios para detectar el complejo *M. tuberculosis* en tejidos incluidos en parafina.⁶

2.- *Prueba del gamma interferón*. En esta prueba se mide la liberación de una linfoquina, el gamma interferón (IFN- γ) en un sistema de cultivo de sangre completa. El ensayo se basa en la liberación de IFN- γ por linfocitos sensibilizados durante un período de incubación de 16–24 horas con antígeno específico (tuberculina PPD). Esta prueba compara la producción de gamma interferón tras la estimulación con PPD bovina y aviar. La cuantificación del gamma interferón se realiza mediante un ELISA “DAS” (Doblé Antibody Sándwich) que utiliza dos anticuerpos monoclonales contra el gamma interferón bovino.⁶

3.- *Prueba de proliferación de linfocitos*. Este tipo de ensayo compara la reactividad *in vitro* de los linfocitos de la sangre periférica a la tuberculina PPD (PPD-B) y a una tuberculina PPD de *Mycobacterium avium* (PPD-A). La prueba se puede realizar con sangre íntegra o con linfocitos purificados de muestras de sangre periférica. En general, los resultados se analizan como el valor obtenido en la respuesta a PPD-B menos el valor obtenido en la respuesta a PPD-A.⁶

4.- *Enzimoimmunoensayo (ELISA)*. En esta prueba se colocan antígenos de *M. bovis* en una fase sólida para llevar a cabo la captura de anticuerpos específicos

contra la micobacteria a partir del suero de los pacientes. La captura del anticuerpo se pone de manifiesto mediante el empleo de un segundo anticuerpo conjugado con una enzima (frecuentemente peroxidasa), que al reaccionar con su sustrato (H₂O₂) permite revelar la reacción antígeno-anticuerpo.²⁶ Una ventaja de esta prueba es su simplicidad, pero su especificidad y sensibilidad son limitadas en el ganado, debido principalmente al desarrollo tardío e irregular de la respuesta inmune humoral durante la enfermedad.⁶

5.- *Spoligotyping*. Este es un método que detecta la presencia de espaciadores de secuencias repetidas (DR, por sus siglas en inglés) en un locus del genoma de *M. bovis*. Se encontró que esta región cromosomal contiene un número grande de DRs de 36 pares de bases (pb) separadas por espaciadores de ADN variable (DVRs, por sus siglas en inglés) de 35 a 41 pb de longitud. Cuando se compararon las DRs de varios aislados, se observó que el orden de los espaciadores era similar, pero que ocurrían algunas deleciones o inserciones. De este modo, el polimorfismo viene de la ausencia/presencia de uno o más de estos espaciadores variables. Así, spoligotyping detecta la presencia o la ausencia de estos espaciadores de secuencia conocida, característica que es utilizada para determinar similitud genética entre cepas.²⁷

Aunque esta técnica es básicamente utilizada para la tipificación de cepas extraídas de cultivo, también ha demostrado su utilidad para simultáneamente detectar y tipificar cepas del complejo *M. tuberculosis* directamente de muestras clínicas. Dado que el procedimiento involucra la amplificación de la región DR por PCR, seguido de la hibridación con oligonucleótidos específicos para cada

espaciador, supuestamente esta técnica muestra mayor sensibilidad y especificidad que otros métodos basados en PCR.^{28,29.}

La utilidad clínica del Spoligotyping se determina por su rapidez, el tiempo de respuesta del laboratorio con la técnica de Spoligotyping es menor que para la identificación de cultivo. La detección y tipificación temprana podrían ser útiles en el tratamiento de la tuberculosis.³⁰

La Tuberculosis bovina (Tb) se ha controlado en muchos países mediante la identificación y el sacrificio de animales reactivos o reaccionantes a la tuberculina,²⁵ la prueba tuberculínica constituye el instrumento básico para detectar la presencia de infección tuberculosa, ésta es una prueba indirecta, ya que no se utiliza para detectar al agente de la enfermedad, sino para evidenciar en los animales en estudio, una reacción inmunitaria contra el agente.³¹ La respuesta a la tuberculina es un ejemplo clásico de respuesta de hipersensibilidad retardada (DHT), por lo tanto mide la habilidad de un animal para montar una adecuada respuesta celular que pueda ser leída directamente o detectada por observación, palpación o medición.²⁵

La exactitud de una prueba puede medirse y expresarse, con base en su habilidad de clasificar correctamente animales de acuerdo a su situación sanitaria. Estas son dos propiedades esenciales, en las cuales se basa la decisión del tipo de prueba a utilizar estas medidas son la sensibilidad (Se) y especificidad (Ep).³²

Sensibilidad.

Es la medida de la habilidad de la prueba para identificar correctamente animales

infectados con *M. bovis* y usualmente se expresa en porcentaje. La medida práctica de estimación de la sensibilidad de la prueba en animales naturalmente infectados, se toma basado en la habilidad que tiene la prueba para identificar correctamente los animales infectados con *M. bovis* como aquellos que presentan lesiones macroscópicas de tuberculosis en la inspección post-mortem.³³

Especificidad.

Es la medida de la habilidad de la prueba para identificar correctamente aquellos animales que no están infectados con *M. bovis* y usualmente se expresa en porcentaje.³³ Para cualquier prueba de tuberculina, la sensibilidad y la especificidad son inversamente proporcionales.

*Valores de Sensibilidad y Especificidad de las Pruebas de Tuberculina.*³³

Prueba	Sensibilidad	Falsos Negativos	Especificidad	Falsos Positivos
PPC	85-90%	10-15%	95-98%	2-5%
PCC	74%	26%	98%	2%
PCS	90-95%	5-10%	90%	10%

PPC= Prueba del pliegue caudal.

PCC = Prueba cervical comparativa.

PCS = Prueba cervical simple

Los animales con prueba de tuberculina positiva o prueba de tuberculina negativa puede clasificarse como:

A. Verdaderos positivos: Animales tuberculosos, positivos a la prueba.

B. Verdaderos negativos: Animales no tuberculosos, negativos a la prueba.

C. Falsos negativos: Animales tuberculosos, negativos a la prueba.

D. Falsos positivos: Animales no tuberculosos, positivos a la prueba.³³

Causas de sensibilidad a la prueba de tuberculina:

1. *Mycobacterium bovis*.
2. *Mycobacterium avium*.
3. Lesiones en la piel.
4. *Mycobacterium paratuberculosis*.
5. *Mycobacterium tuberculosis*
6. *Nocardia*.
7. Otros organismos del género *Mycobacterium*.
8. *Fasciola hepática*

Causas que pueden producir falsos negativos a la prueba de tuberculina:

1. Infección reciente, menos de treinta días.
2. Animales viejos y débiles.
3. Animales recién paridos, dentro de las 4-6 semanas.
4. Infecciones virales.
5. Enfermedades inmunosupresoras que afectan a órganos linfáticos.

6. Drogas inmunosupresoras.
7. Aplicación de la prueba de tuberculina antes de 60 días de la última aplicación.
8. Aplicación inapropiada de la prueba de tuberculina. (Vía de administración y cantidad de PPD (Derivado Proteico Purificado) inadecuada. ²⁵

¿Qué regula o anula la respuesta de hipersensibilidad?

Una teoría sugiere que el incremento en la población de células linfocíticas T supresoras influyen a las células T sensibilizadas para que detengan la salida o liberación de linfocinas. La influencia de las células supresoras T puede ser la responsable del periodo de desensibilización que sigue a una prueba de tuberculina. El periodo de desensibilización después de la prueba de tuberculina en el ganado es más pronunciado entre 10 y 45 días, según la NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*), este periodo es de 60 días post aplicación. Este periodo de desensibilización puede ser más prolongado en las especies exóticas como en los cérvidos en los que puede ser de más de 90-100 días.²⁵

ANERGIA

Es definida simplemente como la falla de un animal con evidencias visibles de padecer tuberculosis a presentar una palpable respuesta cutánea de

hipersensibilidad retardada a la tuberculina en el momento en el que la prueba es leída.²⁵

Teorías que explican la verdadera anergia:

1. La separación de los linfocitos que reaccionan ante los antígenos.
2. La circulación de células supresoras adherentes.
3. Circulación de inhibidores séricos o antígenos microbacteriales.
4. Respuesta inflamatoria defectuosa.
5. Deficiencias nutricionales, dietas bajas en calorías o en proteínas.
6. Predisposición genética.²⁵

Además de las pruebas de tuberculina debe existir una vigilancia epidemiológica y la participación de los rastros y mataderos que constituye un eslabón fundamental en las actividades de notificación de la enfermedad. La estrategia comprende la detección de lesiones en los rastros y mataderos, de los animales reactivos a la tuberculina y/o con lesiones anatomopatológicas sospechosas de Tb, seguida por la confirmación del diagnóstico por el laboratorio y el rastreo hasta la identificación del hato de origen (trazabilidad).³⁴

En lugares con fase de erradicación, el examen post mortem en rastros (apoyado con el diagnóstico histopatológico y bacteriológico) es un método eficiente en la detección de infección residual en poblaciones de ganado. Además, una vez declarada una región libre de Tb, la vigilancia en rastros constituye una

herramienta importante para comprobar que la enfermedad no existe en el hato regional o nacional.³⁵

Actualmente en México se aplican estrategias de difusión y promoción de las actividades de la Campaña Nacional Contra la Tuberculosis bovina; capacitación del personal involucrado en estas actividades, diagnóstico de campo, aplicación de cuarentenas en hatos infectados, eliminación e indemnización de animales reactivos a las pruebas diagnósticas, inspección en rastros para confirmar y detectar nuevos casos, control de la movilización, reconocimiento y protección de regiones de baja prevalencia, certificación de hatos libres de la enfermedad, seguimiento epidemiológico.⁵

SITUACIÓN ACTUAL

Nacional

En prácticamente 16 años de Campaña, se ha avanzado considerablemente, ya que antes de 1992, la prevalencia de tuberculosis bovina era desconocida y, actualmente, el 83.35% de la superficie nacional se encuentra en fase de erradicación.⁵ **ANEXO 2**

Internacional

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA) ha reconocido 25 regiones de baja prevalencia de tuberculosis bovina, de las cuales 13 regiones pueden exportar con una sola prueba de tuberculina del lote, 11 regiones con prueba de lote y prueba de hato de origen, y una región no requiere

pruebas de tuberculina para exportar ganado castrado a los Estados Unidos, obteniendo con esto un reconocimiento del 66.23% del territorio nacional.⁵

ANEXO 3

JUSTIFICACIÓN

Una de las estrategias que utiliza la Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina para lograr la erradicación de la Tuberculosis es la eliminación de animales reactivos a las pruebas de intradermorreacción, desafortunadamente, con frecuencia se encuentran ciertas discrepancias entre las pruebas de intradermorreacción y resultados histopatológicos en los cuales a pesar de encontrar lesiones sugestivas no se detecta el agente causal, por lo que es importante establecer una correlación entre una o más pruebas diagnósticas, para obtener un diagnóstico eficiente que confirme la presencia o ausencia de *M. bovis*. Además, estimar la frecuencia en la presentación de *M. bovis*, servirá para evaluar los resultados que ha logrado la Campaña Nacional Contra la Tuberculosis Bovina durante el ciclo 2009-2012 y proponer junto con la Dirección de Campañas Zoonosanitarias las medidas correctivas en lugares donde se detecten deficiencias.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el grado de asociación entre los animales reactivos a tuberculina con el examen bacteriológico realizado en laboratorios autorizados por SENASICA durante el período 2009-2012.

Objetivos particulares

- 1) Estimar la frecuencia relativa y absoluta en la presentación de *M.bovis* en los animales reactivos.
- 2) Calcular la probabilidad que existe de que un animal reactor resulte positivo a *M. bovis*.
- 3) Calcular la probabilidad que existe de que un animal reactor resulte con lesiones compatibles a tuberculosis bovina.
- 4) Describir la presentación de casos *M. bovis* en los animales reactivos durante el período 2009-2012 de manera gráfica.
- 5) Evaluar el grado de asociación entre los resultados de histopatología y bacteriología en los laboratorios autorizados.
- 6) Evaluar el comportamiento de los exámenes histopatológico y bacteriológico en los laboratorios durante el periodo 2009-2012.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó la información de 40,035 registros de diagnóstico de tuberculosis bovina de la Dirección de Campañas Zoonositarias del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). Se codificaron los datos y se utilizó el programa estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) para analizarlos, en este análisis solo se tomaron en cuenta las muestras de animales reactivos que fueron recibidas por los laboratorios a partir del año 2009 hasta el año 2012. Se descartaron aquellas muestras que no poseían resultados de las pruebas de histopatología y/o bacteriología. Se concentraron los datos en un cuadro, clasificados por año, con el objetivo de estimar las frecuencias en la presentación de *M.bovis* en los animales reactivos con ayuda de las siguientes fórmulas:

Frecuencia absoluta----- $\sum f_i = n$

FR = frecuencia absoluta/N.

Se realizó un análisis descriptivo gráfico y numérico de la situación de la Tuberculosis en México. Se calcularon diversas medidas de probabilidad utilizando la fórmula de Laplace³⁶. $p(A) = \text{número de casos favorables al suceso A} / \text{número de casos posibles}$, se utilizaron pruebas como: Correlación y la prueba de concordancia Cohen's KAPPA.

GLOSARIO

Animal enfermo: Es aquel animal de las especies bovinas del cual se aisló el *Mycobacterium bovis*.¹

Animal expuesto: Es aquel de las especies bovinas que ha tenido contacto con un animal o animales enfermos de los cuales se aisló el *Mycobacterium bovis*.¹

Animal negativo: Es aquel animal que ha sido sujeto a una o varias pruebas diagnósticas oficiales de tuberculosis y cuyos resultados han sido negativos.¹

Animal reactor: Es aquel que ha sido sujeto a una o más pruebas diagnósticas oficiales de tuberculosis y cuyos resultados han sido positivos.¹

Dirección: La Dirección General de Salud Animal.¹

Erradicación: Eliminación total de la tuberculosis bovina en un área geográfica delimitada.¹

Especies susceptibles: Bovinos, caprinos, ovinos, porcinos, aves, caninos, felinos, otros mamíferos silvestres y el hombre.¹

Incidencia: Número de nuevos casos de tuberculosis que aparece en una población animal determinada durante un periodo específico en un área geográfica definida.¹

M. bovis: *Mycobacterium bovis*.¹

Muestra: Sangre, suero, tejidos, órganos u otro definido por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, que tienen el propósito de ser analizados mediante pruebas de diagnóstico para identificar la presencia de tuberculosis.¹

PPD: Derivado Proteico Purificado, preparado a partir de filtrados de cultivo de *Mycobacterium bovis* o *avium*, autorizado para su empleo por la Dirección.¹

Prevalencia: Número de casos de tuberculosis que se presentan en una población animal, en un área geográfica definida durante un periodo de tiempo determinado.¹

Rastro: Establecimiento e instalaciones dedicadas al sacrificio e inspección de animales.¹

Tuberculina: Antígeno que se utiliza para el diagnóstico de la tuberculosis bovina.¹

RESULTADOS

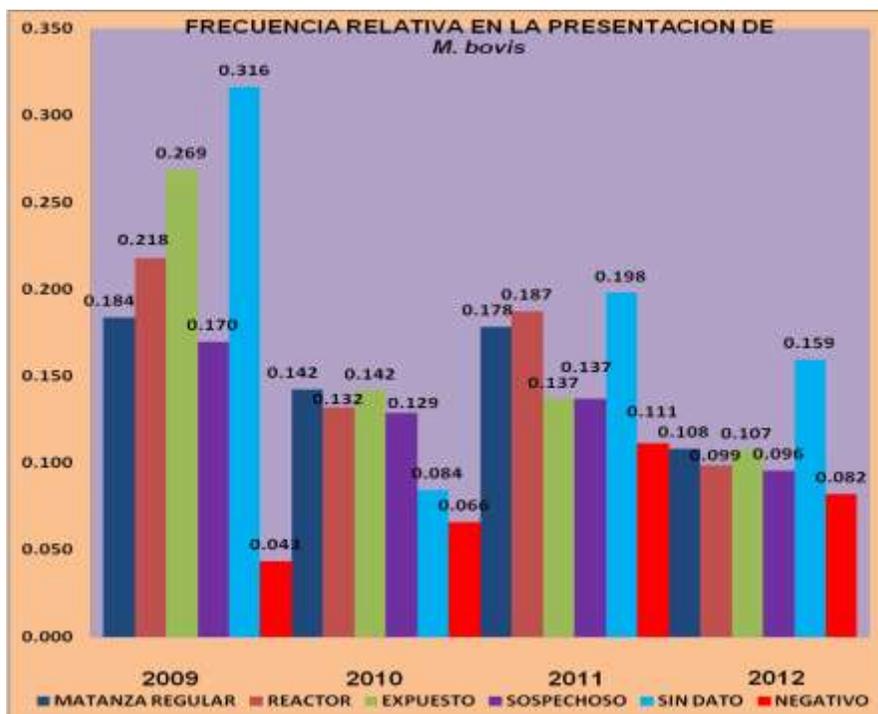
Se clasificaron los datos en un cuadro, agrupándolos por año y clasificación de la muestra (Matanza regular, reactor, expuesto, sospechoso, sin dato, negativo), con ayuda de las formulas: $FA = \sum f_i = n$ FR = frecuencia absoluta/N se estimaron las frecuencias. En el CUADRO 1. (*Frecuencias de M. bovis a la tipificación en las diferentes clasificaciones de muestra durante el periodo 2009-2012*) y (GRÁFICA 2. *Frecuencia relativa en la presentación de M. bovis*), se pueden observar las frecuencias de la presentación de *M. bovis* mostrando que la presentación de *Mycobacterium bovis* fue mayor en los animales de matanza regular durante el año 2011. Seguido por los animales reactores en donde en el año 2010 tuvo su menor presentación *M. bovis* con 390 muestras, observando el mayor número de animales positivos a *M. bovis* durante el año 2011 con 703 muestras positivas.

Frecuencias de *M. bovis* a la tipificación en las diferentes clasificaciones de muestra durante el periodo 2009-2012.

MATANZA REGULAR			
AÑO	TOTAL	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA
2009	3344	614	0.184
2010	3991	568	0.142
2011	4796	855	0.178
2012	5419	587	0.108
REACTOR			
AÑO	TOTAL	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA
2009	2881	628	0.218
2010	2954	390	0.132
2011	3750	703	0.187
2012	4698	463	0.099

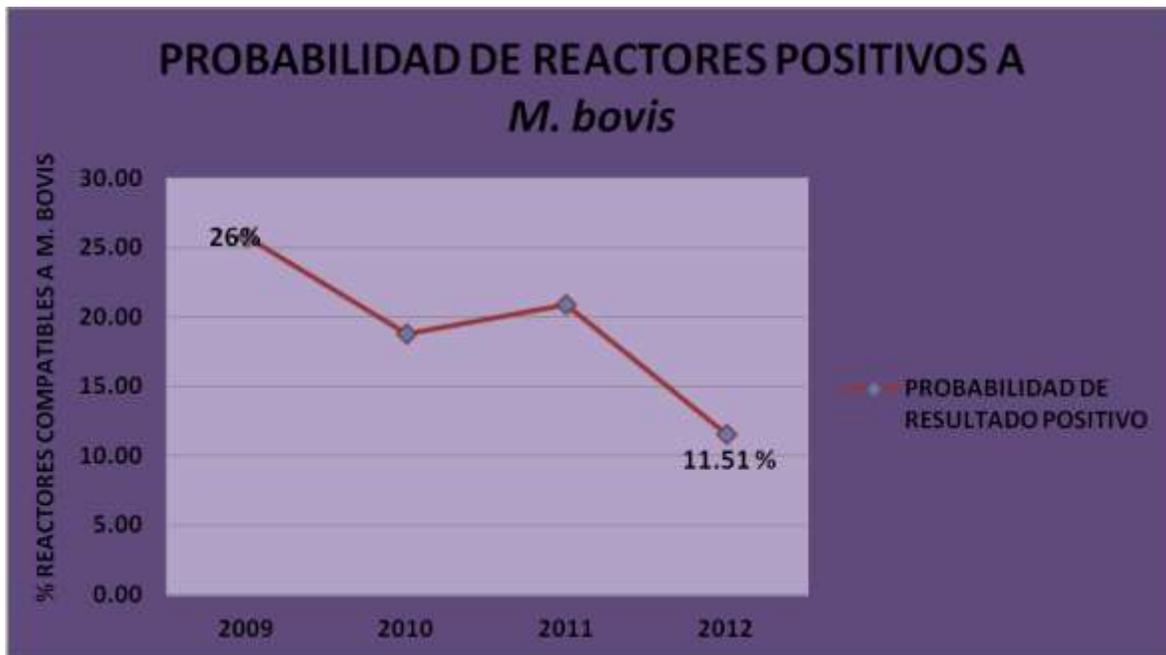
EXPUESTO			
AÑO	TOTAL	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA
2009	819	220	0.269
2010	734	104	0.142
2011	823	113	0.137
2012	578	62	0.107
SOSPECHOSO			
AÑO	TOTAL	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA
2009	159	27	0.170
2010	233	30	0.129
2011	263	36	0.137
2012	303	29	0.096
SIN DATO			
AÑO	TOTAL	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA
2009	275	87	0.316
2010	724	61	0.084
2011	1041	206	0.198
2012	1807	288	0.159
NEGATIVO			
AÑO	TOTAL	FRECUENCIA ABSOLUTA	FRECUENCIA RELATIVA
2009	161	7	0.043
2010	76	5	0.066
2011	117	13	0.111
2012	73	6	0.082

CUADRO 1. Frecuencias de *M. bovis* a la tipificación en las diferentes clasificaciones de muestra durante el periodo 2009-2012. Elaboración propia con datos de SENASICA.



GRÁFICA 2. Frecuencia relativa en la presentación de *M. bovis*, elaboración propia con datos de SENASICA.

Para este análisis descriptivo se estimaron las frecuencias de todos los animales reactivos de cada uno de los laboratorios autorizados, clasificando los resultados por año, se tomaron solo los resultados positivos a *M. bovis* de la prueba de tipificación de los animales reactivos, se estimó la probabilidad de que un animal reactor sea positivo según Laplace³⁶. En el año 2009, los animales reactivos presentaron una mayor probabilidad de ser positivos a *M. bovis* con el 26%, observando una tendencia descendente hasta llegar a una probabilidad de 11.51% en el año 2012. GRÁFICA 3. (Probabilidad de reactivos positivos a *M. bovis*).



GRÁFICA 3. Probabilidad que un animal reactor resulte positivo a *M. bovis*, elaboración propia con datos de SENASICA.

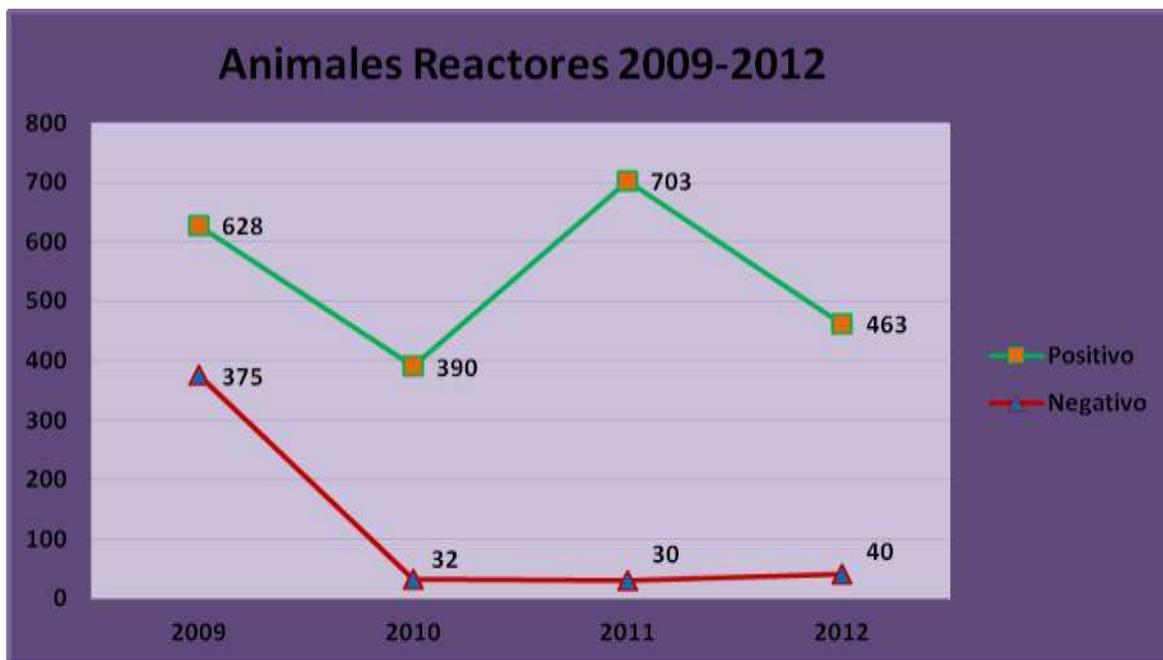
Asimismo, se estimaron las frecuencias de todos los animales reactores de cada uno de los laboratorios autorizados, clasificados por año, se tomaron solo los resultados sugestivos y compatibles a lesiones histopatológicas sugerentes a tuberculosis bovina de los animales reactores, se calculó la probabilidad mostrando en la GRÁFICA 4. (*Probabilidad de reactores con lesiones sugestivas*). Que en el año 2009 había una mayor probabilidad que los animales reactores resultaran con lesiones sugestivas en el examen histopatológico con un 38% sin embargo esta probabilidad fue disminuyendo hasta mostrar en el año 2012 una probabilidad del 24%.



GRÁFICA 4. Probabilidad que un animal reactor resulte con lesiones sugestivas a tuberculosis. Elaboración propia con datos de SENASICA.

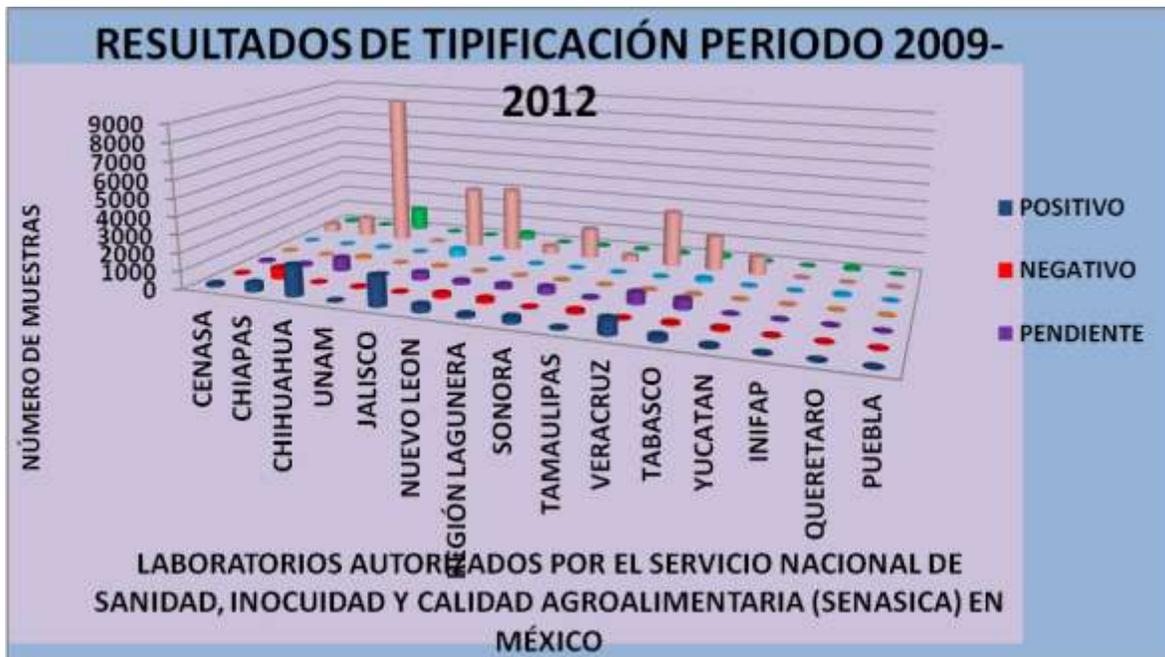
Se agruparon los animales reactores por año y por resultado de la prueba de tipificación, se estimaron las frecuencias de animales reactores y resultados de tipificación (positivo, negativo); Posteriormente los datos se organizaron por año, laboratorio y resultado de la prueba de tipificación (positivo, negativo, pendiente, inadecuada, sin muestra, no aplica y sin dato) se graficaron los resultados y se resumieron en la GRÁFICA 5. (*Animales reactores 2009-2012*), en donde podemos observar que en el año 2011 se encontró el mayor número de animales reactores compatibles a *M. bovis* con 703 animales, sin embargo, esta tendencia se vio disminuida hacia el año 2012 con 463, en el caso de animales reactores con resultado negativo a tipificación muestra en 2009 el mayor número de animales

reactores y disminuye en los dos años subsecuentes quedando con un total de 40 animales negativos en 2012.



GRÁFICA 5. Resultados de tipificación en animales reactivos. Elaboración propia con datos de SENASICA.

En la GRÁFICA 6. (*Resultados tipificación periodo 2009-2012*) se puede observar que el laboratorio de Chihuahua presenta el mayor número de resultados positivos a tipificación con 1,719 seguido por el de Jalisco con 1,672. Asimismo, se observa que las columnas de “NO APLICA” son las más pronunciadas debido a que una gran parte de las muestras fueron negativas al cultivo bacteriológico o solo se enviaron para realizar el examen histopatológico.



GRÁFICA 6. Resultados de tipificación de los laboratorios durante 2009-2012. Elaboración propia con datos de SENASICA.

Respecto a la concordancia entre el cultivo bacteriológico y el examen histopatológico se encontró que, seis laboratorios muestran una concordancia buena (K) en un rango de 0.61 - 0.80, cuatro presentan concordancia moderada (K) 0.41 - 0.60 y solo tres laboratorios muestran una concordancia débil (K) menos de 0.40. Hay que destacar que la concordancia general de los laboratorios es buena (K) 0.62 de acuerdo con *Landis y Koch*.³⁷

CUADRO 7. Concordancia de laboratorios

LABORATORIO	KAPPA (K)
CENASA	0.52
CHIAPAS	0.69
CHIHUAHUA	0.73
UNAM	0.34
JALISCO	0.56
NUEVO LEÓN	0.38
REGIÓN LAGUNERA	0.61
SONORA	0.65
TAMAULIPAS	0.37
VERACRUZ	0.61
TABASCO	0.48
YUCATAN	0.43
INIFAP	0.75
CONCORDANCIA GENERAL	0.62

CUADRO 7. Concordancia entre los exámenes histopatológico y bacteriológico de los laboratorios. Elaboración propia con datos de SENASICA.

Los resultados del examen bacteriológico (positivo, negativo, pendiente, inadecuado, sin muestra, sin dato) e histopatológico (sugestivo, compatible, negativo, inadecuado, sin muestra, pendiente) se organizaron por año y laboratorio y se muestran en un cuadro de frecuencias donde se puede observar el total de resultados de cada uno de los exámenes durante el 2009-2012. El CUADRO 9. (*Resultados del examen histopatológico periodo 2009-2012*). Muestra que del total de muestras recibidas por los laboratorios durante el periodo de estudio solo el 2.49% mostro lesiones sugestivas a tuberculosis, el 26.91% fueron

compatibles y el mayor porcentaje lo representan las muestras con resultado negativo con un 68.32%.

RESULTADOS DEL EXAMEN HISTOPATOLÓGICO 2009-2012

EXAMEN HISTOPATOLÓGICO	RESULTADOS					
	SUGESTIVO	COMPATIBLE	NEGATIVO	INADECUADA	SIN MUESTRA	PENDIENTE
LABORATORIO						
CENASA	0	342	479	2	7	0
CHIAPAS	19	731	1545	0	0	0
CHIHUAHUA	6	3343	8890	0	262	0
UNAM	0	4	0	0	48	0
JALISCO	104	3093	2687	1	139	0
NUEVO LEON	54	533	4127	0	47	46
REG. LAGUNERA	69	385	571	0	2	0
SONORA	34	338	1918	1	62	85
TAMAULIPAS	37	24	543	0	0	9
VERACRUZ	233	1516	2940	0	3	0
TABASCO	393	194	2410	0	150	35
YUCATAN	40	183	1051	0	0	2
INIFAP	0	4	23	6	0	0
QUERETARO	6	81	166	0	1	0
PUEBLA	0	1	1	0	9	0
TOTAL	995	10,772	27,351	10	730	177
PORCENTAJE %	2.49	26.91	68.32	0.02	1.82	0.44

CUADRO 8. Porcentaje de resultados del examen histopatológico de los laboratorios durante 2009-2012. Elaboración propia con datos de SENASICA.

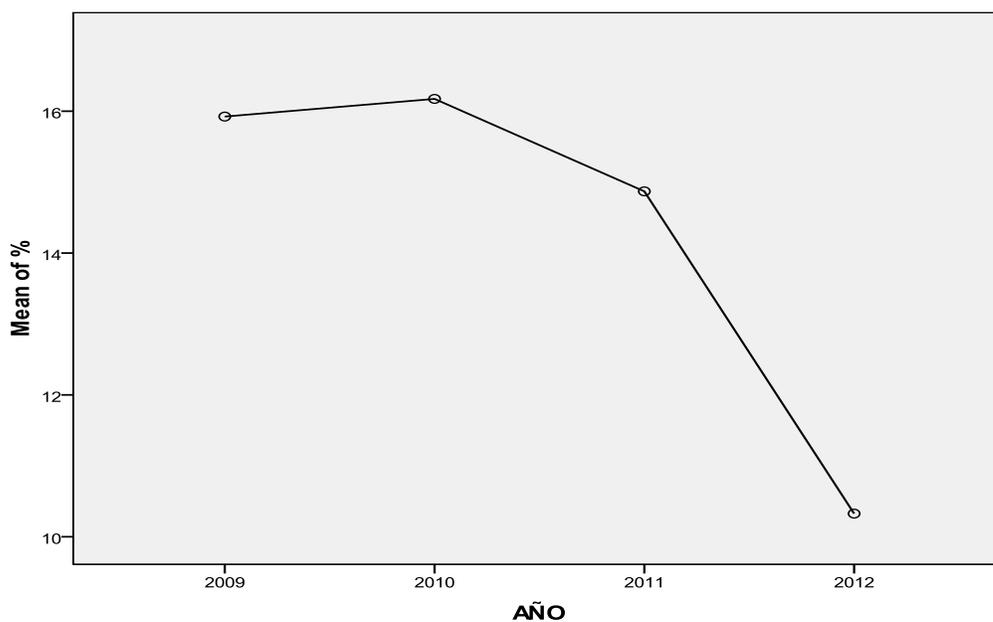
En el siguiente cuadro podemos observar que el mayor porcentaje de las muestras tuvo un resultado negativo con el 67.44% seguido por los resultados positivos con el 19.43%.

RESULTADOS DEL EXAMEN BACTERIOLÓGICO 2009-2012

EXAMEN BACTERIOLÓGICO	RESULTADOS					
	POSITIVO	NEGATIVO	PENDIENTE	INADECUADA	SIN MUESTRA	SIN DATO
LABORATORIO						
CENASA	241	479	11	10	0	89
CHIAPAS	563	1654	75	0	0	3
CHIHUAHUA	2338	8596	249	0	35	1283
UNAM	9	31	10	0	0	2
JALISCO	1977	3483	92	59	410	3
NUEVO LEÓN	493	3751	170	0	17	376
REG. LAGUNERA	212	579	236	0	0	0
SONORA	359	1694	332	4	4	45
TAMAULIPAS	36	483	45	0	0	49
VERACRUZ	935	3140	538	0	7	72
TABASCO	515	1960	390	0	183	134
YUCATAN	94	1127	0	0	1	54
INIFAP	7	24	0	0	0	2
QUERETARO	0	0	0	0	93	161
PUEBLA	0	0	0	0	1	10
TOTAL	7,779	27,001	2,148	73	751	2,283
PORCENTAJE %	19.43	67.44	5.37	0.18	1.88	5.70

CUADRO 9. Porcentaje de resultados del examen bacteriológico de los laboratorios durante 2009-2012. Elaboración propia con datos de SENASICA.

En la GRÁFICA 11 (*Porcentaje de animales con diagnóstico de Mycobacterium bovis durante 2009-2012*). Podemos observar una tendencia descendente durante el ciclo 2009-2012, destacando que el año 2012 presenta el menor número de animales con diagnóstico de *Mycobacterium bovis* con 10.33 de cada 100 animales.



GRÁFICA 10. Porcentaje de animales con diagnóstico de *Mycobacterium bovis* durante 2009-2012. Elaboración propia con datos de SENASICA.

DISCUSIÓN

Se observó una disminución en el número de animales reactivos a las pruebas de tuberculina con resultado positivo a *M. bovis*, así como en la probabilidad de encontrar lesiones sugestivas en animales reactivos que va de 38% a 24% de 2009 a 2012 respectivamente. También la probabilidad de un animal reactor a tener un resultado positivo a *M. bovis* fue decreciendo de 623 animales (26%) en 2009 hasta 468 animales (11.51%) en 2012. Estas disminuciones observadas concuerdan con un alto porcentaje de animales con un resultado negativo en el examen bacteriológico 67.44%, como lo reportan algunos estudios realizados en el Reino Unido, Irlanda y en otros países, en donde entre el 50-80 % de todos los bovinos reactivos a la prueba cutánea no muestran signos de la enfermedad, no se encuentran lesiones sugestivas a tuberculosis bovina en rastro y hay ausencia de aislamientos visibles de *M. bovis* en cultivo. (Byrne, 1992; Tweedle y Livingstone, 1994, Goodchild y Clifton - Hadley, 2001, Goodchild et al). Estas observaciones podrían dar una impresión superficial de que la especificidad de la prueba es mucho más baja de lo que se reporta, sin embargo varios autores han señalado que los exámenes post-mortem como la detección de lesiones en rastro y pruebas bacteriológicas estándar para detectar la enfermedad, son mucho menos sensibles que las pruebas inmunológicas que detectan una infección subclínica (Corner, 1994, Monaghan et al, 1994, Goodchild y Clifton -Hadley, 2001 ; Pollock y Neill , 2002; Vordermeier et al ,2004).

Se debe considerar que ninguna de las pruebas de tuberculina es 100% sensible ni 100% específica lo que resulta en algunos animales falsos positivos, que por

supuesto no tienen lesiones visibles y producen resultados negativos al cultivo bacteriológico, estos falsos positivos son el resultado de la existencia de infecciones causadas por otras micobacterias diferentes a *M. bovis* o animales no infectados expuestos a antígenos del medio ambiente, que presentan una reacción cruzada con la prueba de tuberculina bovina, animales en las primeras etapas de la infección. Las reacciones de los animales falsos positivos adquieren mayor importancia en las regiones de baja prevalencia ya que siguiendo el esquema de sacrificio de animales reactivos o reaccionantes a las pruebas de tuberculina podría dar lugar al sacrificio de un alto número de animales no infectados (Monaghan et al, 1997, Lauzi et al , 2000, Pollock et al, 2001) .

Sin embargo algunos estudios sobre sensibilidad y especificidad (Roswurm J. D. Kantor I.N. De, Marchevsky N., Spinelli K. & Spath E. 1979. -Sensibilidad de las pruebas tuberculínicas en ganado bovino en Argentina) sugieren que las pruebas de tuberculina dan un margen aceptable para identificar a los bovinos infectados con el *M. bovis* y de hecho muchos países han tenido éxito en la erradicación de la tuberculosis bovina con su uso((Reviriego Gordejo y Vermeersch, 2006; Coad, et al, 2010).

Además que estas son también las pruebas ante-mortem establecidas para el comercio internacional por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).

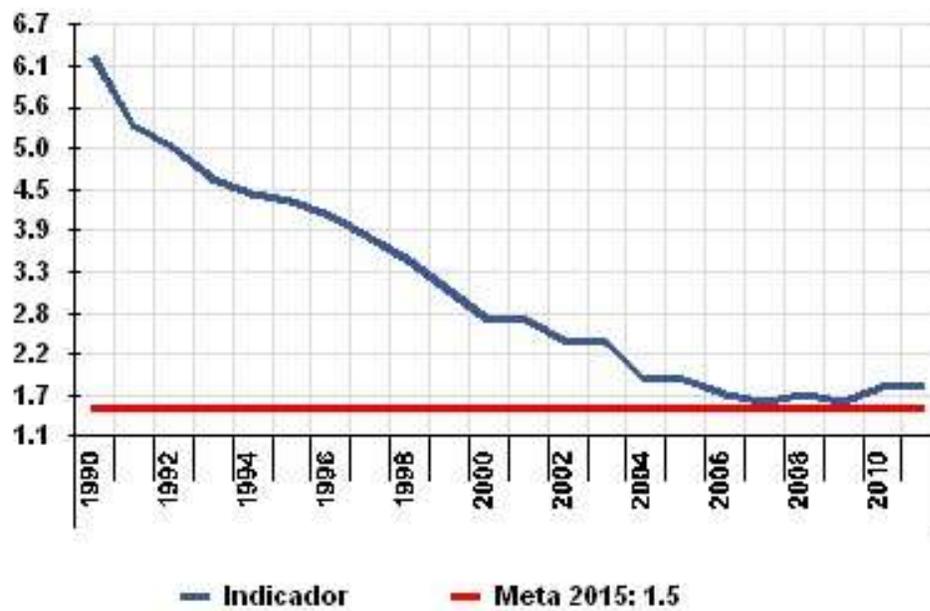
CONCLUSIÓN

1. La tuberculosis bovina presenta una tendencia descendente en los últimos años, aunque por el momento estadísticamente no es significativa esta disminución, se espera que en los próximos años haya una diferencia significativa si se continúa trabajando en la Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*).
2. La Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*) ha sido eficiente.
3. Las pruebas de intradermorreacción son una herramienta importante para detectar a los animales enfermos, sin embargo, ninguna prueba por si sola es suficiente para la detección de todos los bovinos infectados con el *Mycobacterium bovis*. Por lo que es recomendable utilizar varios métodos de diagnóstico aunado a un buen sistema de vigilancia epidemiológica para lograr el éxito en la erradicación de la enfermedad.
4. En general la concordancia entre el examen bacteriológico y el examen histopatológico de los laboratorios autorizados por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) es buena (K) 0.62.

ANEXOS

ANEXO 1

Tasa de mortalidad por tuberculosis pulmonar (defunciones por cada 100 mil habitantes): Nacional



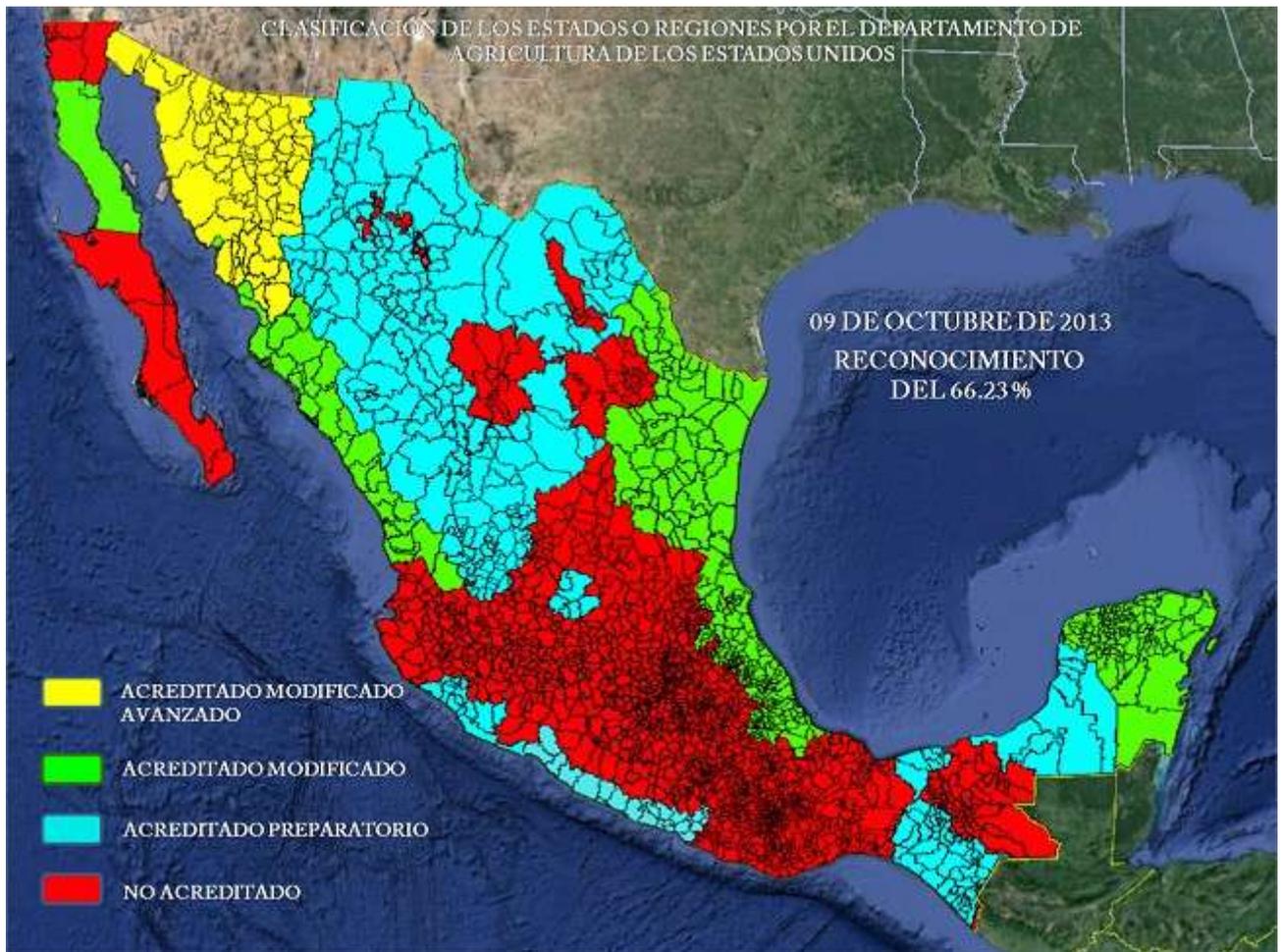
Fuente: Sistema de información de los Objetivos de Desarrollo del Milenio
<http://www.objetivosdesarrollodelmilenio.org.mx>, 4 de septiembre 2013.

ANEXO 2



FUENTE: Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria <http://www.senasica.gob.mx>

ANEXO 3



FUENTE: Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria <http://www.senasica.gob.mx>

REFERENCIAS

1. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Norma Oficial Mexicana, NOM-031-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*). Diario Oficial México, D.F. 08 de marzo de 1996. Modificación del 27 de agosto de 1998.
2. Lorena López de Buen, Ana Beatriz Celma Pohlenz, Jorge Bravo Madrigal y Héctor Manuel Zepeda López, Tuberculosis bovina: ¿zoonosis re-emergente?, revista de divulgación científica y tecnológica de la universidad veracruzana volumen XX numero 3. Septiembre-diciembre 2007
3. Donoghue HD, Spigelman M, Greenblatt CL, Maor GL, Bar-Gal GK, Matheson C, Vernos K, Nerlich AG and Zink A. 2004. Tuberculosis from prehistory to Robert Koch, as revealed by ancient DNA. *Lancet infect Dis.* 4: 584-92.
4. Alfonseca Silva Edgar, Gen de la invasina Mce2A de *Mycobacterium bovis*: Su expresión in vitro e in vivo, generación y evaluación de una vacuna mutante (Δ mce2A) proteína recombinante (Mce2Ar) y herramienta de diagnóstico de la tuberculosis. (Tesis de doctorado), México D.F. UNAM 2013.
5. SENASICA [página en Internet]. Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria [citado 15 de noviembre 2013]. Disponible en: <http://www.senasica.gob.mx>

6. Organización Mundial De Sanidad Animal. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. Capitulo 2. 4. 7. Tuberculosis bovina, 2008.
7. OMS [página en Internet]. World Health Organization, Tuberculosis, Global situation and trends, [citado 6 de junio 2013]. Disponible en: <http://www.who.int/gho/tb/en/index.html>.
8. Sistema de información de los Objetivos de Desarrollo del Milenio <http://www.objetivosdedesarrollodemilenio.org.mx>. 4 de septiembre 2013.
9. Enarson, D., Introduction to M. bovis infections in animals and humans. In: Mycobacterium bovis Infections in Animals and Humans, Blackwell Publishing, Ames, IA. 2005
10. Charles Thoen, Philip Lobue, Isabel De Kantor. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis, Buenos Aires, Argentina 2006.
11. Pedro N Acha Y Boris Szyfres. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales, tercera edición volumen 1 bacteriosis y micosis. Organización Panamericana de la Salud 2003.
12. J. Hernández, tuberculosis en vacas Holstein: efecto en la producción de leche, UF; CVM, 1998.
13. Gutiérrez Pabello José Ángel, inmunología veterinaria, Manual Moderno, México, 2010.

14. Itzel Nalleli Jiménez Vázquez. Atlas multimedia de la lesión de tuberculosis en aparatos y sistemas del ganado bovino lechero, (tesis de licenciatura), México, D.F. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2011.
15. Trigo Tavera Francisco J., patología sistémica veterinaria, quinta edición, Mc Graw Hill, México, 2011.
16. Jubb, K.V.F.; Kennedy, Peter C.; Palmer, Nigel. Patología de los animales domésticos 3a ed. Ed. Hemisferio Sur 1990
17. Romero Cabello Raúl, Microbiología y Parasitología Humana, Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias, tercera edición, Editorial Médica Panamericana, México, 2007
18. Gabriela Molina Olvera. Sobrevivencia y multiplicidad de diferentes subcepas de *Mycobacterium bovis* BCG en macrófagos de la línea thp-1, (tesis de licenciatura), México D.F, Facultad de química. UNAM, 2010.
19. M. G. Baker, L. D. Lopez, M. C. Cannon, G.W. De Lisle And D. M. Collins Continuing *Mycobacterium bovis* transmission from animals to humans in New Zealand, Epidemiol. Infect. (2006), 134, 1068–1073. F 2006 Cambridge University Press.
20. Pedro Torres González. Prevalencia de tuberculosis en trabajadores expuestos a ganado bovino infectado por *M. bovis*, (tesis de posgrado), México, D.F. Facultad de Medicina. UNAM, 2012.

21. Ward de, J. H, tuberculosis bovina. Manual de ganadería de doble propósito. Laboratorio de tuberculosis, instituto de medicina caracas Venezuela pp364-369 2005
22. Castillo Velázquez Uziel, Efecto de la resistencia natural a *Mycobacterium bovis* en la activación de los macrófagos bovinos por la vía alterna, tesis de licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM, México D.F. 2009.
23. Chan,E.D Chan, J et al What is the role of Nitric Oxide in murine and human defense against tuberculosis? Am J respir cell Mol Biol 25: 606-612. 2001.
24. Steinberg, Benjamin E, Grinstein Sergio, pathogen destruction versus intracellular survival: the role of lipids as phagosomal fate determinants. J clin invest June 2; 118(6): 2002–2011, 2008.
25. Robert M. Meyer, Erradicación de la tuberculosis bovina, seminario de actualización para médicos veterinarios, USDA, APHIS, Veterinary Services, 1999.
26. Desmond M. Collins, Advances in molecular diagnostics for *Mycobacterium bovis*, AgResearch, National Centre for Biosecurity and Infectious Disease, Wallaceville, P.O. Box 40063, Upper Hutt, New Zealand Veterinary Microbiology 151 (2011) 2–7.

27. Aranaz A, Liebana E, Mateos A. Spoligotyping of *Mycobacterium bovis* strains from cattle and other animals: a tool for epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1996;(34):2734-2740.
28. Kamerbeek J, Schouls L, Folk A, van Agterveld M, van Soolingen D, Kuijper S, Bunschoten A, Molhuizen H, Shaw R, Goyal M, van Embden J. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J Clin Microbiol* 1997;(35):907-914.
29. Roring S, Hughes MS, Skuce RA, Neill SD. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium bovis* directly from bovine tissue specimens by spoligotyping. *Vet Microbiol* 2000;(74):227-236.
30. Andrea Gori, Alessandra Bandera, Giulia Marchetti, Anna Degli Esposti, Lidia Catozzi, Gian Piero Nardi, Lidia Gazzola, Giulio Ferrario, Enero DA van Embden, Dick van Soolingen, Mauro Moroni and Fabio Franzetti, Spoligotyping and *Mycobacterium tuberculosis*, *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 11, No. 8, August 2005, University of Milan, Milan, Italy.
31. Díaz Otero Fernando, Banda Ruiz Víctor, Jaramillo Meza Laura, Arriaga Díaz Camila, González Salazar Dante, Estrada Chávez Ciro, "Identificación de bovinos portadores de *Mycobacterium bovis* aplicando técnicas inmunológicas y moleculares" *Revista veterinaria México* 34 (1) 2003.

32. Pedro M Torres, las pruebas tuberculínicas en el ganado bovino, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Buenos Aires, Argentina.
33. MVZ EPA Luisa Pamela Ibarra Lemas, Pruebas de Tuberculina: sensibilidad, especificidad y valor predictivo, revista Entorno Ganadero, No. 54 Junio- Julio 2012.
34. Pedro M Torres, Vigilancia Epidemiológica: Importancia de la detección en faena de la tuberculosis bovina, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Buenos Aires, Argentina.
35. López Valencia Gilberto, Hernández de Anda Jorge, Sierra Lira Eduardo, Diagnóstico post mortem en decomisos sugestivos a tuberculosis en ganado bovino sacrificado en rastros en Baja California, Revista Veterinaria México 28(3) 1997.
36. Ríus Díaz Francisca, Barón López Francisco Javier, Sánchez Font Elisa, Parras Guijosa Luis, Bioestadística: métodos y aplicaciones, versión electrónica, capítulo 4.8 <http://www.bioestadistica.uma.es/libro/> consultado el 6 de diciembre del 2013.
37. Landis J. Richard, Gary G. Koch, The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data, Biometrics Vol. 33, No 1, pp 159-174, Marzo1977.