

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P DE MEDICINA VETERINARIA

# **Prevalencia de la Tuberculosis Carpina en la Provincia de Barranca**

TESIS Para optar el título profesional de: MEDICO VETERINARIO

AUTOR

**Gino Eder Vergara Manrique**

**LIMA – PERU 2004**

## DEDICATORIAS

A mi madre, Isabel Manrique, por su dedicación, por su amor y su esfuerzo indismayable para lograr el bienestar y la superación de sus hijos... Por ser mi fuente inagotable de inspiración para alcanzar mis objetivos.

A Arturo, por su ejemplo, por mostrarme el camino a San Marcos y por su noble labor de padre, hermano y amigo.

A mis hermanos Marco e Isabel y a mis sobrinos Kevin y Paloma, por ser mi fuente constante de motivación.

A la memoria de mi abuelo, Nicanor Manrique, por su ejemplo de coraje y valentía al llevar adelante a su familia, a pesar de las adversidades.

A la memoria del Dr. Bruno Ampuero G., por los momentos compartidos en la Residencia Universitaria y por sus enseñanzas durante mi Internado en la Unidad local Huacho-Barranca del SENASA, donde nació la inquietud para realizar este trabajo.

A los productores de caprinos de la provincia de Barranca, por su loable y sacrificada labor en la crianza de esta singular especie y por su generosa colaboración en este trabajo.

A San Marcos, mi *alma mater*, mi gratitud eterna por todo lo que me ha dado.

## AGRADECIMIENTOS

Al SENASA, como institución, al Ing. Carlos Caballero.  
a la Dra. Imelda Cardozo, al Ing. Juan Díaz y al Dr. Miguel  
Quevedo, por hacer posible la realización de este trabajo.

Al Dr. Alfredo Delgado, por sus enseñanzas, su  
comprensión y su acertada orientación en el  
desarrollo de este trabajo.

A mis asesores.....  
por sus sugerencias y recomendaciones.

Al Sr. Asunción Rodríguez y al Ing. Roberto  
Mallqui, por su valiosa colaboración en el  
trabajo de campo.

Al Dr. José Rentería y al Dr. Pedro de Paz,  
por su amistad y colaboración en este trabajo.

Al Dr. Juan Huapaya, por su apoyo y  
comprensión.

A mis tíos Juana y Samuel, por su decisivo apoyo y aliento en el inicio de mi carrera y a mi primo Edwin por su fraternidad.

A mis tíos José y Carlos, por sus consejos, afecto y colaboración en este trabajo.

A mi tío Lucilo y a toda la familia Manrique, por su ejemplo de superación a pesar de los obstáculos y por los valores inculcados.

A mis amigos Fabian y Beto, por su aliento y apoyo fraterno durante los días oscuros de nuestra vida universitaria y por disfrutar juntos de los momentos maravillosos.

A Nike, en nombre de mis compañeros y amigos de la Residencia Universitaria, por convivir compartiendo y aprendiendo de los difíciles y gratos momentos durante nuestra formación profesional.

A Liz, por su aliento y comprensión.

A Paco, Estrella, Ignacio, Raúl, Marcos, Gonzalo,.....  
por su amistad y alegría en los instantes más precisos.

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
TABLA DE CONTENIDOS.....	ii
LISTA DE CUADROS.....	iv
APÉNDICE.....	v
RESUMEN.....	vi
SUMMARY.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Etiología.....	4
2.2. Fuentes de infección.....	5
2.3. Transmisión.....	6
2.4. Factores de riesgo.....	7
2.4.1. Factores de riesgo ambientales.....	7
2.4.2. Factores de riesgo del hospedero animal.....	7
2.4.3. Factores de riesgo del agente etiológico.....	8
2.5. Importancia zoonótica.....	8
2.6. Inmunopatología.....	9
2.7. Manifestaciones clínicas.....	14
2.8. Diagnóstico.....	15
2.8.1. Diagnóstico clínico.....	15
2.8.2. Diagnóstico anatomopatológico.....	16
2.8.3. Diagnóstico bacteriológico.....	17
2.8.3.1 Tipificación genética de <i>M. bovis</i> .....	19
2.8.4. Prueba Intradérmica de Tuberculina.....	21
2.8.4.1. Reacción Inmunológica a la Tuberculina.....	23

2.8.5. Prueba de Gamma-Interferón.....	25
2.8.6. Otros medios de diagnóstico.....	27
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1. Lugar de estudio.....	29
3.2. Animales.....	29
3.3. Tamaño muestral.....	30
3.4. Materiales.....	31
3.5. Metodología de trabajo.....	31
3.5.1. Procedimiento.....	32
3.5.2. Lectura.....	32
3.5.3. Interpretación.....	32
3.5.4. Análisis de datos.....	33
3.5.4.1. Prevalencia aparente.....	33
IV. RESULTADOS.....	34
V. DISCUSIÓN.....	36
VI. CONCLUSIONES.....	44
VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	45

## LISTA DE CUADROS

Cuadro N°1. Población total y estratificación de la muestra, según los 4 distritos evaluados de la provincia de Barranca.....31

Cuadro N°2. Número de animales muestreados según los 4 distritos evaluados de la provincia de Barranca, Lima.....35

Cuadro N°3. Números de hatos y animales muestreados por distrito en la provincia de Barranca, Lima.  
.....35

Cuadro N°4. Prevalencia de la tuberculosis caprina en la provincia de Barranca, Lima.....35

## APÉNDICE

APÉNDICE. Mapa del lugar de muestreo: Provincia de Barranca, Lima.....	50
---	----



## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia de la tuberculosis caprina en la provincia de Barranca, departamento de Lima, comprendiendo a los distritos de Paramonga, Pativilca, Barranca y Supe. Para tal objetivo se utilizó la prueba intradérmica única de tuberculina (PPD bovina), basada en la reacción de hipersensibilidad retardada, con la cual se alcanzó a muestrear 412 caprinos criollos mayores de dos meses de edad, criados de manera extensiva y sedentaria. La prueba fue aplicada en el pliegue caudal y su lectura se realizó a las 72 horas después de la inoculación de la tuberculina, encontrándose 2 animales reactores (positivos), con lo cual se determinó una prevalencia del  $0.48 \pm 0.67\%$ . Estos resultados nos sugieren que la tuberculosis se encuentra poco difundida en los caprinos en la provincia de Barranca.

**Palabras claves:** Prevalencia, tuberculosis caprina, prueba intradérmica, tuberculina (PPD bovina), hipersensibilidad retardada.

## SUMMARY

The objective of the present study was to determine the prevalence of the goat tuberculosis in the province of Barranca, department of Lima, including the districts of Paramonga, Pativilca, Barranca and Supe. For that objective the unique intradermal test of tuberculin was used (bovine purified protein derivative, PPD), based on the delayed hypersensitivity reaction. Four hundred twelve creoles goats, older than two months, from an extensive and sedentary breeding were tested. The test was performed in the caudal fold of the tail and remeasured 72 hours after the inoculation of the tuberculin. Two animals react positive, and the prevalence of  $0.48 \pm 0.67\%$  was determined. These results suggest that tuberculosis is a little spread in the goats from Barranca province.

**KEY WORDS:** PREVALENCE, GOAT TUBERCULOSIS, INTRADERMAL TEST, TUBERCULIN (BOVINE PPD), DELAYED HYPERSENSITIVITY REACTION.

## I. INTRODUCCIÓN

La crianza de caprinos en el Perú tiene una gran importancia social y económica, ya que involucra una especie animal de singulares características, en manos de familias campesinas de escasos recursos económicos, para quienes esta especie representa una fuente de ingresos por la venta de quesos y cabritos y una suerte de fondo de reserva. Según el último censo agropecuario realizado en 1994, en el país existen más de 2'080,000 caprinos, distribuidos principalmente en la costa y sierra. La crianza, casi en su totalidad, es de tipo extensivo con pastos naturales y rastrojos, los productores no cuentan con créditos ni asistencia técnica para mejorar su sistema de explotación.

Por lo tanto uno de los principales problemas que afecta a la producción de caprinos para su mejoramiento, además de la falta de asistencia económica, es la carencia de una adecuada información técnica y científica a disposición de los productores y profesionales dedicados a esta explotación (Arroyo, 1998a; Arroyo y Matossian, 2001).

Como en todo sistema de crianza animal, las enfermedades representan un obstáculo en la producción pecuaria, ya que influyen directamente sobre la productividad del animal. Sin embargo, a pesar de la importancia socioeconómica de la producción caprina en nuestro país, existe escasa información sobre la situación zoonosanitaria de esta especie, salvo

la brucelosis que es materia de investigación y vigilancia por su implicancia en Salud Pública. No obstante, existen otras enfermedades infecciosas, como es la tuberculosis que al afectar la salud y como consecuencia la producción de los caprinos podría estar poniendo en riesgo la salud de las personas, tomando en cuenta el carácter zoonótico de esta enfermedad y los hábitos alimenticios de algunos sectores de la población por el consumo de queso fresco de cabra, elaborado artesanalmente a partir de leche sin pasteurizar.

La tuberculosis (TBC) es una enfermedad infecciosa de curso crónico que afecta al hombre y a los animales domésticos y silvestres, ocasionada por bacterias del género *Mycobacterium*. Clínicamente se muestra muy variable en función de las lesiones producidas que suelen ser de carácter granulomatoso (Perea *et al*, 1999; Jubb *et al*, 1990). El principal agente causante de la tuberculosis caprina es el *Mycobacterium bovis*, el mismo bacilo que ocasiona la tuberculosis bovina (Bonilla, 2001; Juste, 1989; Radostits *et al*, 2002).

Cabe mencionar que hasta el momento no se han encontrado trabajos previos sobre la tuberculosis caprina realizados en nuestro país. Sin embargo, en otros países como España y Argentina se vienen realizando estudios para determinar la presentación y la epidemiología de la tuberculosis caprina, demostrándose en algunos casos la amplia difusión que tiene esta enfermedad en los caprinos, lo cual ha llevado a algunos de estos países a desarrollar programas de vigilancia, control y erradicación de la tuberculosis caprina, por que además de significar una amenaza para la salud humana, puede constituir un riesgo para el avance en la erradicación de la tuberculosis bovina, ya que podría representar una fuente de contagio y reinfección para los bovinos.

En tal sentido, el objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de la tuberculosis caprina en la provincia de Barranca, departamento de Lima, el cual ocupa el cuarto lugar con respecto a la población caprina nacional con una población de 184,181 caprinos, precedidos sólo por los departamentos de Piura, Ayacucho y Ancash. La provincia de Barranca cuenta con una población aproximada de 9944 caprinos, la cual está constituida principalmente por caprinos criollos criados en forma extensiva y sedentaria

(INEI, III CENAGRO 1994). Para determinar dicha prevalencia en este estudio se utilizó la prueba intradérmica única de tuberculina con el antígeno PPD bovino, aplicado en el pliegue caudal de la misma forma que en los bovinos. Se recurre a esta prueba como método indirecto, basada en la reacción de hipersensibilidad retardada como respuesta al antígeno, para establecer el diagnóstico de rutina de la tuberculosis en los caprinos y para determinar su prevalencia con resultados satisfactorios, basados en experiencias de otros países, así como en resultados obtenidos en estudios con cabras infectadas de manera experimental (Bonilla, 2001; Acha y Szyfres, 1986; Juste, 1989; Aiello, 2000; Radostits *et al*, 2002).

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ETIOLOGÍA

La tuberculosis es típicamente una enfermedad infecciosa crónica, causada por bacterias (bacilos) del género *Mycobacterium* (Jubb *et al*, 1990). Se reconocen tres tipos principales de bacilos tuberculosos: *Mycobacterium tuberculosis* (principal causante de la tuberculosis humana), *M. bovis* (tuberculosis bovina) y *M. avium* (tuberculosis aviar), los tres tipos pueden producir infección en especies distintas de las propias (Aiello y Mays, 2000).

La tuberculosis caprina es causada generalmente por *M. bovis* y *M. avium* (Jubb, *et al*, 1990). Aunque se sabe que después de los bovinos, los caprinos muestran gran susceptibilidad al *M. bovis* y tiene, al parecer, cierta resistencia natural al *M. tuberculosis* y *M. avium* (Juste, 1989; Radostits *et al*, 2002).

El *M. bovis* fue aislado por T. Smith en 1898, este *Mycobacterium* es patógeno para otros mamíferos, incluido el hombre, representando el agente principal de la tuberculosis zoonótica (De Kantor, 1988; Acha y Szyfres, 1986). Las micobacterias son bacilos delgados de 1,5 a 4µm de longitud por 0.2 a 0.6µm de grosor, inmóviles, no formadores de

esporas y aerobios (Cotrina, 1987; Cotran *et al*, 2000). Estos bacilos son ligeramente curvos o rectos, a veces se ramifican o forman filamentos, sus paredes celulares son muy ricas en contenido lipídico y contiene ceras con ácidos micólicos de 60 a 90 átomos de Carbono, estos ácidos grasos hidroxílicos complejos de cadena ramificada son los responsables de la ácido-alcohol-resistencia, característica de las micobacterias, es decir que luego que la fucsina básica ha penetrado en la bacteria con la ayuda del calor y fenol (método de Ziehl-Neelsen), los bacilos no se decoloran fácilmente con una solución acidoalcohólica, permaneciendo de color rojo (Prescott *et al*, 1999).

Las micobacterias poseen una gran capacidad de supervivencia en el medio ambiente, pueden permanecer vivas hasta 13 días en las heces en los pastos y 10 meses en moco desecado, sin embargo, la acción directa de los rayos solares reduce considerablemente el tiempo de supervivencia, llegando a eliminar a las bacterias en las heces tras 5 horas de exposición y en la mucosidad pulmonar tras 30 – 40 días. En la leche permanecen vivas 15 días a pesar del ácido láctico y mueren al calentarla a 65°C durante 30 minutos, o por pasteurización de 71 - 74°C en 42 segundos o por ebullición en 2 minutos (Beer, 1981; Blaha, 1995; Cotrina, 1987).

## **2.2 FUENTES DE INFECCIÓN**

La principal fuente de infección por *M.bovis* para muchas especies de mamíferos, incluido el hombre, lo constituye el ganado bovino infectado (Acha y Szyfres, 1986; Blaha, 1995; Radostits *et al*, 2002). La costumbre practicada en algunas regiones de pastorear juntos caprinos y bovinos favorece la transmisión de la tuberculosis entre estas especies (Arellano *et al*, 1999). Sin embargo, en los últimos años, cuando se ha comenzado a prestar atención a la patología de los caprinos, se está observando la amplia difusión que esta enfermedad tiene en esta especie, incluso en zonas de producción caprina en las que prácticamente no existe ganado bovino (Juste, 1989).

Al iniciarse el desarrollo de las lesiones es cuando gran parte de *M.bovis* son liberados al ambiente exterior; indudablemente que cuanto más graves y distribuidas estén

las lesiones en el animal enfermo, mayor será la cantidad de gérmenes volcados al ambiente. Los gérmenes salen al exterior con el aire espirado, los esputos, las heces (ya procedan de lesiones intestinales o de esputos deglutidos en el caso de lesiones pulmonares), la leche, la orina, las secreciones vaginales y uterinas y los exudados procedentes de ganglios linfáticos periféricos supurados. Por lo tanto, el medio ambiente puede representar una fuente secundaria de infección, tales como el suelo, el agua y los pastos contaminados (Cotrina, 1987; Radostits *et al*, 2002).

### 2.3 TRANSMISIÓN

Por lo general, los gérmenes penetran en el organismo por inhalación o ingestión. En las cabras la ruta de infección más común parece ser la aerógena, ya que las lesiones primarias se encuentran casi siempre en los pulmones (Beer, 1981; De la Vega, 1988; Jubb *et al*, 1990). La inhalación es la vía de entrada prácticamente invariable en el ganado estabulado, y se piensa que incluso en el que pasta libremente es también el modo principal de transmisión (Radostits *et al*, 2002).

La eliminación del *M.bovis* se verifica en ovinos y caprinos de forma semejante a como ocurre en los bovinos, resultando esta similitud especialmente marcada en la cabra por la existencia de tuberculosis mamaria (Beer, 1981). La infección por ingestión es posible en las praderas a través de la contaminación por heces del pasto, del agua de los abrevaderos y comederos, pero es preciso que la carga infecciosa sea muy elevada. En condiciones naturales, el agua estancada puede causar infección hasta 18 días después de haber bebido de ella un animal tuberculoso, mientras que una corriente de agua no representa una fuente importante de infección para el ganado. La toma de leche infectada por animales jóvenes es un modo habitual de transmisión en los lugares endémicos (Radostits *et al*, 2002).

En un estudio llevado a cabo por Torres *et al* (2000) en Argentina en un rodeo lechero caprino, a los cuales se les alimentaba con leche de origen bovino, se hallaron



lesiones macroscópicas granulomatosas a la necropsia compatibles con tuberculosis en el hígado y en la cadena de ganglios mesentéricos de dos caprinos reactivos a la prueba intradérmica de tuberculina con PPD bovino (además con histopatología, ZN, Stonebrink y PCR positivos), indicando una posible vía de transmisión digestiva a través de la leche de algún bovino enfermo de tuberculosis (Torres *et al*, 2000).

En la tuberculosis congénita, la infección se difunde vía vasos umbilicales hacia el feto, esta vía de infección tiene alguna importancia en zonas donde la enfermedad es común en los bovinos, en donde se han hallado hasta 0.5% de los terneros neonatos tuberculosos, pero es de poca significación en las demás especies, por que la endometritis tuberculosa es sólo común en las vacas (Jubb *et al*, 1990); así mismo la infección intrauterina durante el coito es infrecuente (Radostits *et al*, 2002).

## **2.4 FACTORES DE RIESGO**

### **2.4.1. Factores de riesgo ambientales**

Existe una mayor predisposición a la enfermedad cuando los animales están estabulados y no salen a pastar, por lo que es más frecuente y más grave en las explotaciones ganaderas que emplean este tipo de manejo, cuanto más íntimo sea el contacto de los animales entre sí, mayor es la probabilidad de que se contagien (Radostits *et al*, 2002).

### **2.4.2. Factores de riesgo del hospedero animal**

Las cabras son muy propensas a la tuberculosis causada por *M. bovis* y si conviven con rebaños de bovinos infectados, la incidencia puede llegar hasta 70% (Radostits *et al*, 2002). Debido a esta susceptibilidad en esta especie, en los países que han avanzado en la erradicación de la tuberculosis bovina se presta atención a la infección en los caprinos, ya que sufre con cierta frecuencia de tuberculosis pulmonar y puede reinfectar a los bovinos

( Acha y Szyfres, 1986). Los caprinos parecen tener una resistencia natural a la infección por el *M. avium* y *M. tuberculosis* ( Radostits *et al*, 2002).

La tuberculosis caprina parece ser de gran importancia en las razas lecheras, pero que no lo es tanto en razas de carne. Esto parece deberse sobre todo a los sistemas de manejo más que a la aptitud de las razas, ya que se observa también que razas muy lecheras pueden encontrarse libres de la infección si el manejo es suficientemente extensivo y se evita la entrada del agente infeccioso (Comunicación personal: Juste R., Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Gobierno Vasco, España, 2001).

#### **2.4.3 Factores de riesgo del agente etiológico**

El germen causal es moderadamente resistente al calor, la desecación y muchos desinfectantes. La luz solar lo destruye rápidamente, a menos que se encuentre en un medio húmedo. En condiciones favorables de calor, humedad y protección puede mantenerse viable durante semanas ( Radostits *et al*, 2002).

### **2.5 IMPORTANCIA ZONÓTICA**

El aumento actual de la incidencia de la tuberculosis en los seres humanos, en particular en los que padecen de una inmunodeficiencia como el SIDA, ha renovado el interés por la importancia zoonótica del *M. bovis*, sobre todo en países en vías de desarrollo. La infección de los seres humanos se produce sobre todo en los niños por el consumo de leche infectada, aunque también puede transmitirse por inhalación (Radostits *et al*, 2002)

La localización extrapulmonar del *M. bovis* no se debe a su afinidad con otros tejidos, si no a su modo de transmisión más común, por ingestión de leche cruda, y también por el frecuente consumo de productos lácteos (queso) elaborados artesanalmente con leche sin pasteurizar. Como ocurre en otras partes del mundo, los niños son las principales

víctimas, según lo indican algunos datos sobre tipificación provenientes de Brasil, Perú y México. Por lo tanto las cabras pueden constituir una fuente de infección de la tuberculosis no solamente para los bovinos, si no también para el hombre (Acha y Szyfres, 1986).

## 2.6 INMUNOPATOLOGÍA

En general, la tuberculosis de los pequeños rumiantes como la cabra, es muy semejante a la de los bovinos, tanto en lo referente a la anatomía patológica como a su evolución. La ruta de infección más común en los caprinos parece ser la aerógena (respiratoria), ya que las lesiones primarias se encuentran casi siempre en el pulmón (Jubb *et al*, 1990 ; De la Vega, 1989).

La tuberculosis se puede extender en el organismo animal en dos estadios, el del complejo primario y el de diseminación post primaria o secundaria. **En el estadio del complejo primario**, la lesión inicial denominado foco primario se desarrolla en el órgano que actúa como puerta de entrada del germen, posteriormente los bacilos drenan por vía linfática a los ganglios linfáticos regionales, donde origina el mismo tipo de lesión. El foco primario, provocado por una respuesta mediada por células y una reacción de hipersensibilidad, constituido por macrófagos muertos y degenerados, quedan pronto rodeados por células epitelioides, células gigantes y linfocitos. El foco necrótico central de la lesión, caseoso o purulento, puede calcificarse y la lesión puede aparecer rodeada de tejido conectivo, formándose el típico **granuloma tuberculoso o “tubérculo”** casi patognomónica de la enfermedad. La asociación de lesiones en el órgano de entrada y en los ganglios linfáticos regionales constituye el complejo primario. Un ejemplo de esto es la formación del complejo primario pulmonar; el bacilo penetra en los pulmones, se multiplica y se disemina en los mismos, produciendo una lesión granulomatosa e infectando al mismo tiempo los nódulos linfáticos bronquiales (Jubb *et al*, 1990; Radostits *et al*, 2002; Gázquez, 1991; Aiello, 2000; Perea *et al*, 1999; Cotran *et al*, 2000).

**El periodo de diseminación post primaria o secundaria**, se produce al disminuir las defensas del animal, en el cual el bacilo tuberculoso se disemina por vía linfática, sanguínea o por contacto entre serosas, produciendo lesiones granulomatosas en los órganos donde se detienen. En el caso de la diseminación por vía sanguínea los focos de infección se producen, sobre todo, en los pulmones, riñones, hígado y bazo (Jubb *et al*, 1990; Radostits *et al*, 2002; Cotran *et al*, 2002). La diseminación secundaria a través del torrente sanguíneo y las vías linfáticas puede ser generalizada y causar rápidamente la muerte, como en el caso de la tuberculosis miliar aguda. También puede adoptar la forma de lesiones nodulares aisladas en diversos órganos, incluyendo la pleura, peritoneo, hígado, riñones, huesos, glándula mamaria, aparato reproductor y sistema nervioso central o de tuberculosis orgánica crónica, causada por la reinfección endógena o exógena de tejidos que se han hecho alérgicos a las proteínas del bacilo tuberculoso (Aiello y Mays, 2000; Radostits *et al*, 2002).

Se ha estudiado mucho la composición química de las micobacterias, particularmente de sus paredes celulares, con el objetivo de clarificar la patogenia de las lesiones, perfeccionar las técnicas de diagnóstico y desarrollar vacunas. Estas bacterias presentan varios antígenos (aproximadamente 30) que al parecer no desempeñan ningún papel en la virulencia del microorganismo. Más importante parece ser el contenido microbiano de micósidos extraíbles (lípidos y carbohidratos complejos unidos mediante enlaces covalentes) (Jubb *et al*, 1990; Jawetz *et al*, 1996; Radostits *et al*, 2002).

Las micobacterias contienen abundantes lípidos, entre los cuales se incluyen ácidos micólicos ( ácidos de cadena larga ), ceras y fosfátidos. En la célula los lípidos están unidos principalmente a proteínas y polisacáridos, uno de estos glucolípidos (micósidos) que se ha extraído con éter de petróleo a partir de bacilos virulentos, ha sido identificado como trehalosa 6,6 dimicolato, denominado también **“factor cordonal”** por la propiedad que les confiere a los bacilos virulentos de formar cordones en forma de serpentinillas cuando crecen en medios de cultivo líquido, lo que representa el crecimiento de bacilos dispuestos en forma paralela. Los microorganismos que crecen de esta forma son virulentos para los animales, por el contrario, cuando se extrae este factor cordonal de los residuos

tuberculosos, pierden su virulencia. Este factor cordonal inhibe la migración de leucocitos, causa granulomas crónicos y puede servir como “coadyuvante” inmunitario ( Gyles y Thoen, 1986; Jubb *et al*, 1990; Jawetz *et al*,1996).

Los bacilos tuberculosos formadores de cordones también poseen un glucolípido surfactado (sulfátido) que inhibe la fusión de los fagosomas con los lisosomas, favoreciendo la supervivencia intracelular de las micobacterias en el interior de los macrófagos. Cuando son inyectados alguno de estos constituyentes de la pared micobacteriana como la cera D (glucolípido) y el muramil dipéptido (un pequeño componente hidrosoluble) junto con una tuberculoproteína (que en sí misma es débilmente inmunogénica), producen una intensa reacción de hipersensibilidad frente a la tuberculina y por tanto actúan como coadyuvantes. De esta manera, las fracciones lipídicas contribuyen tanto a la virulencia como al estado de hipersensibilidad asociado a la tuberculosis (Gyles y Thoen, 1986; Jubb *et al*, 1990; Jawetz *et al*, 1996).

Las tuberculoproteínas representan otra categoría importante de sustancias inmunorreactivas de las micobacterias, varias de estas proteínas inducen la reacción de la tuberculina. Las proteínas unidas a una fracción cética pueden, luego de la inyección, inducir a sensibilidad a la tuberculina. Además pueden inducir la formación de diversos anticuerpos. Las micobacterias contienen también diversos polisacáridos; siendo su función incierta en la patogenia de la enfermedad, pueden inducir hipersensibilidad de tipo inmediato y servir como antígeno en reacciones con el suero de personas infectadas (Jubb *et al*, 1990; Jawetz *et al*, 1996).

En la infección micobacteriana participan las tuberculoproteínas y los lípidos coadyuvantes, y el resultado es el desarrollo de respuestas humorales y mediadas por células. Los anticuerpos pueden demostrarse por técnicas serológicas pero no participan en la patogenia de las lesiones características ni en la producción de inmunidad, ambos aspectos dependen de las respuestas mediadas por células (Jubb *et al*, 1990; Jawetz *et al*, 1996).

La inmunidad mediada por células y la hipersensibilidad de tipo retardado son expresiones de respuestas inmunitarias mediadas por linfocitos, principalmente células T. En general ambas manifestaciones se desarrollan en forma simultánea. Sin embargo, sus mecanismos no son idénticos, por que a veces puede presentarse uno sin el otro y no hay una relación cuantitativa entre ellos cuando ambos están presentes. Dado que ambos están mediados por linfocitos T, esta disociación de respuestas podría eventualmente explicarse sobre la base de la intervención de diferentes subpoblaciones de células T (Jubb *et al*, 1990; Tizard, 1998).

Cuando un animal es invadido por el *Mycobacterium*, los microorganismos son fagocitados pronto por los macrófagos. Una parte de este antígeno micobacteriano se presenta a las células Th1, cuya función es de vital importancia, ya que la expresión de la hipersensibilidad retardada y la activación de macrófagos depende en gran medida de las citocinas secretadas por estas células. Las células Th1 producen principalmente IL-2, interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y linfotoxina (TNF- $\alpha$ ) durante las primeras horas que siguen a la estimulación por el antígeno. La IL-2 estimula la proliferación de las células T y activa a los macrófagos, los estimula para que secreten citocinas y aumenta su actividad citotóxica; el IFN- $\gamma$  es un potente activador de los macrófagos, en los que incrementa su capacidad para fagocitar y destruir microorganismos y estimula una mayor secreción de IL-12, la cual estimula específicamente la actividad de las células Th1; y el TNF- $\alpha$  también actúa activando a los macrófagos. Algunas de las células Th1 sensibilizadas penetran en la circulación y permanecen en el conjunto de células T de memoria durante largos periodos, a veces años, después de los cuales se pueden evocar fenómenos de hipersensibilidad retardada luego de la exposición al antígeno, como ocurre en la reacción frente a la tuberculina (Tizard, 1998; Cotran *et al*, 2000).

La inmunidad mediada por células se lleva a cabo por la habilidad aumentada de los macrófagos activados para fagocitar y matar bacilos. Los macrófagos son activados por linfoquinas (citocinas) secretadas por linfocitos T específicamente sensibilizados, que responden a antígenos procesados, liberados por macrófagos previamente infectados. Casi todos los macrófagos activados derivan de los monocitos sanguíneos. Por lo tanto, la

inmunidad frente a la tuberculosis está determinada principalmente por la habilidad de los macrófagos para inhibir el crecimiento de los bacilos intracelulares, intervienen aquí tanto la resistencia innata (genética) como la adquirida. Los macrófagos por razones inexplicables, pueden responder de manera diferente en órganos tales como el hígado y los riñones de un mismo animal. Debido a que el equilibrio entre la virulencia de la micobacteria y la habilidad de los macrófagos para eliminarla es frecuentemente precario, cualquier compromiso inmunitario del hospedero puede precipitar a exacerbar la enfermedad. Esto es corroborado por la frecuente asociación clínica de la tuberculosis con la inmunosupresión causada por enfermedades, drogas, hormonas o malnutrición (Jubb *et al*, 1990; Tizard, 1998; Radostits *et al*, 2002).

La reacción de hipersensibilidad retardada también está mediada por células T sensibilizadas en respuesta a los antígenos del bacilo tuberculoso. Las linfoquinas promueven una mayor acumulación de macrófagos y linfocitos. La liberación de linfoquinas citotóxica y enzimas hidrolíticas a partir de los macrófagos es principalmente responsable de la necrosis caseosa característica de muchas lesiones tuberculosas. La hipersensibilidad puede ser beneficiosa o perjudicial para el hospedero según las circunstancias. Como en la mayoría de las condiciones inflamatorias complejas, existe un equilibrio entre factores amplificadores y factores inhibitorios. Por una parte, la hipersensibilidad a números relativamente bajos de bacilos ocasiona la formación rápida del tubérculo, que promueve la muerte de los microorganismos y ayuda a prevenir la diseminación de la infección a partir del sitio de infección inicial. Por otra parte, la hipersensibilidad ante números importantes de antígenos micobacterianos ocasiona extensas necrosis celulares y destrucción tisular, lo cual es seriamente perjudicial. La respuesta más dañina es la licuefacción, producida por las enzimas hidrolíticas de los macrófagos y, posiblemente, neutrófilos. Los bacilos se multiplican extracelularmente en el material licuificado y quedan disponibles en grandes cantidades para diseminarse por las cavidades, vasos y vías aéreas. En resumen, los determinantes finales de la naturaleza y la intensidad de las lesiones son la masa de antígenos bacterianos presentados ante los linfocitos específicamente reactivos y las influencias modificadas de la estructura tisular involucrada ( Jubb *et al* , 1990).

En un estudio realizado por Seva *et al* (2000) para caracterizar el inmunofenotipo de los linfocitos asociados con tuberculosis pulmonar caprina infectadas en forma natural, se determinó que predominaron, prescindiendo de las etapas de la enfermedad, los linfocitos TCD4+ y CD8+ en las lesiones de nódulos linfáticos pulmonares y mediastínicos; pero las células T  $\gamma/\delta$  y células B (Ig M+) fueron observadas sólo raramente. En la fase del complejo primario, las células CD4+ superaron en número a las CD8+. En la fase de tuberculosis generalizada, sin embargo, y aun más en la fase post-primaria, las células CD8 + superaron en número a las células CD4+. En la fase final (neumonía tuberculosa), las células CD4+ y CD8+ estaban presentes en números menores pero aproximadamente igual (Seva *et al*, 2000).

## 2.7 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Los signos clínicos que se presentan en las diversas especies domésticas son esencialmente similares a los observados en los bovinos (Beer, 1981). Estos signos reflejan la extensión de las lesiones, así como la toxemia subyacente. Los signos generales consisten en emaciación progresiva, letargia, debilidad, anorexia y fiebre fluctuante de poca intensidad (Aiello y Mays, 2000).

La bronconeumonía es la forma más frecuente de la tuberculosis en los caprinos y se manifiesta por tos y disnea terminal. En algunas cabras se producen úlceras intestinales acompañadas de diarrea y adenopatías del tubo digestivo, en esta especie la enfermedad progresa lentamente y en los rebaños afectados se encuentran muchos más animales con reacción positiva y lesiones a la necropsia de lo que podría esperarse por los casos clínicos manifiestos. En las crías la enfermedad puede progresar con mucha mayor rapidez y causar la muerte en poco tiempo (Gázquez, 1991; Radostits *et al*, 2002).

El aumento de tamaño de los ganglios linfáticos superficiales puede ser considerado como un signo diagnóstico de interés. Por supuesto, los ganglios linfáticos profundos



afectados son imposibles habitualmente de palpar; sin embargo, pueden tener como resultado obstrucción por compresión de vías respiratorias, faringe e intestino, lo que tiene como resultado disnea y timpanismo ruminal (Aiello y Mays, 2002).

Algunas veces la tuberculosis caprina cursa con adelgazamiento crónico y progresivo, pelo hirsuto y la producción láctea disminuye considerablemente (Perea *et al*, 1999). Las cabras también presentan mastitis tuberculosa, lo cual cobra mayor importancia en salud pública, ya que su leche puede constituir un peligro para el consumidor (Acha y Szyfres, 1986; Perea *et al*, 1999).

## **2.8 DIAGNÓSTICO**

### **2.8.1 DIAGNÓSTICO CLÍNICO**

Debido al carácter crónico de la enfermedad y a la multiplicidad de signos clínicos, causados por la variable localización del proceso infeccioso, resulta difícil el diagnóstico de la tuberculosis valiéndose exclusivamente de la exploración clínica (Blood y Radostits, 1992). Como, al igual que en los bovinos, también en los demás animales domésticos aparecen las manifestaciones clínicas sólo raramente tan marcadas, incluso en casos muy avanzados, como para permitir un diagnóstico seguro, hay que recurrir a otros métodos de diagnóstico, entre los que también corresponde máxima importancia a la prueba de la tuberculina (Beer, 1981; Aiello y Mays, 2000).

En los caprinos, clínicamente se puede establecer un diagnóstico presuntivo cuando se observan animales con tos persistente y que comienzan a adelgazarse progresivamente (Bonilla, 2001).

## 2.8.2 DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO

Las lesiones causadas por *M. bovis* en los pulmones y ganglios linfáticos del ganado ovino y caprino son similares a las evidenciadas en el ganado bovino y el microorganismo puede en ocasiones diseminarse a otros órganos. Al efectuar la necropsia en los caprinos, la presencia de lesiones nodulares en pulmones constituyen un indicio más de la presencia de tuberculosis (Aiello y Mays, 2000; Bonilla, 2001).

En los hallazgos de necropsia, los bovinos, ovinos y caprinos presentan lesiones idénticas y con una distribución estándar, entre las lesiones macroscópicas más importantes constituyen las adenopatías con granulomas tuberculosos, sobre todo en los ganglios linfáticos bronquiales, retrofaringeos y mediastínicos, luego figuran las lesiones en el parénquima pulmonar, que son de carácter nodular de tamaño variado, algunos con núcleo purulento y otros con núcleo caseoso, también puede haber extensión de abscesos miliares hasta causar una bronconeumonía purulenta. Además pueden aparecer nódulos tuberculosos en pleura y peritoneo (Radostits *et al*, 2002; Jubb *et al*, 1990).

Todas las lesiones tuberculosas localizadas tienden a rodearse de una cápsula fibrosa, pero el grado de encapsulamiento varía con el desarrollo de la lesión. Los casos generalizados se reconocen por la presencia de una tuberculosis miliar, con lesiones pequeñas, transparentes y distribuidas como perdigones en muchos órganos, o bien de lesiones pulmonares incompletamente encapsuladas y caseosas. La presencia de bronconeumonía o hiperemia alrededor de las lesiones pulmonares es muy sugestiva de actividad. Las lesiones crónicas normalmente son aisladas y nodulares, y contienen un material caseoso, espeso, amarillo o anaranjado, a menudo calcificado y rodeado por una gruesa cápsula fibrosa; aunque es menos probable que esas lesiones causen una importante contaminación del ambiente, al contrario de las lesiones abiertas, los animales afectados son importantes como fuentes de infección (Radostits *et al*, 2002).

En las cabras, además se observan nódulos caseosos de diferente tamaño en hígado, bazo, intestinos y ganglios regionales como la cadena de ganglios mesentéricos. También

se observan úlceras mucosas tuberculosas en bronquios y tráquea. En la ubre pueden aparecer nódulos caseificados circunscritos (Perea *et al*, 1999; Torres *et al*, 2000; Juste, 1989; Beer, 1981).

Para el **examen histopatológico**, los fragmentos de tejidos lesionados (órganos y ganglios) se identifican debidamente y se fijan en formol al 10%, se envasan y se envían al laboratorio donde se procesan por las técnicas de parafina o congelación, y se colorean por el método de hematoxilina eosina. Las lesiones se pueden evaluar basándonos en las características de inflamación proliferativa y exudativa de tipo granulomatoso y sobre esta base se establece un resultado confirmando, o negando el padecimiento de la tuberculosis (Cotrina, 1987).

Una muestra procesada en histopatología muestra la característica lesión de granuloma, con los componentes celulares característicos de un núcleo purulento o caseoso, rodeado de células multinucleadas y más a la periferia de fibroblastos (Jubb *et al*, 1990).

### **2.8.3 DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO**

El método bacteriológico es un procedimiento para establecer el diagnóstico seguro del agente etiológico y sirve para verificar en ciertos casos los resultados del examen macroscópico y especialmente de aquellos reactores positivos a la prueba de tuberculina en los que no se encontraron lesiones visibles. Las muestras para exámenes bacteriológicos de tuberculosis pueden provenir de distintas partes del cuerpo animal o sus excreciones, tales como esputo, leche, exudados laríngeos, ganglios y órganos. Por lo general, las muestras que más se estudian son las de ganglios linfáticos y pulmón (Cotrina, 1987).

La observación de bacilos acidorresistentes en extensiones de material patológico obtenido por necropsia es factible con la tinción de **Ziehl-Neelsen**. Si se trata de *M. bovis*, hay que examinar casi siempre varios campos microscópicos o investigar incluso varios frotis hasta lograr ver bacilos aislados (Nicolet, 1986). En el método de Ziehl-Neelsen (ácido-alcohol resistente) el frotis se tiñe calentando una mezcla de fucsina básica y fenol,

una vez que la fucsina básica ha penetrado en la bacteria con la ayuda del calor y el fenol que disuelven la capa cética de la pared celular, este colorante se fija al *Mycobacterium*. Al enfriarse la lámina, la grasa toma su posición normal y al aplicarle una solución ácido-alcohólica, las bacterias ácido-alcohol resistentes no se decoloran, permaneciendo de color rojo. Esto se debe al elevado contenido en lípidos de las paredes de estas bacterias; en particular, el **ácido micólico**. Las bacterias no resistentes se decoloran con la solución ácido-alcohólica, por lo que se tiñen de azul con Azul de Metileno (colorante de contraste) (Prescott *et al*, 1999; Cotrina, 1987). Este método tiene un valor limitado, debido a que no permite diferenciar los bacilos tuberculosos patógenos de los microorganismos acidorresistentes que están ampliamente difundidos en la naturaleza (Cotrina, 1987).

Para el aislamiento del *Mycobacterium*, el cultivo es un procedimiento muy útil en el esclarecimiento de la causa de sensibilidad específica y paraespecífica en el ganado reactor a las pruebas de tuberculina (Cotrina, 1987).

Los medios de cultivo primarios de micobacterias deben incluir un medio selectivo y uno no selectivo. Los medios selectivos contienen antibióticos para evitar el sobrecrecimiento de bacterias y hongos contaminantes. Existen 3 formulaciones generales que pueden emplearse para ambos medios no selectivos y selectivos. Estos son: medios de agar semisintéticos por ejemplo el Middlebrook 7H10 y 7H11, los medios con huevo inspizado como el Lowenstein-Jensen y los medios en caldo como el Middlebrook 7H9 y 7H12 (Jawetz *et al*, 1996).

El cultivo en caldo selectivo es con frecuencia el método más sensible y proporciona resultados con mayor rapidez. Una vez sembrada la muestra se lleva a incubación a 37°C en 5 a 10% de CO<sub>2</sub> por periodo de hasta 8 semanas. Si los cultivos resultan negativos en presencia de una tinción acidorresistente positiva o se sospecha de micobacterias atípicas de crecimiento lento, entonces se debe incubar un conjunto de medios inoculados a temperaturas menores (24 a 33°C) e incubar ambos grupos durante 12 semanas. Las micobacterias aisladas deben identificarse hasta su especie. Los métodos convencionales para la identificación de micobacterias incluyen la observación de la tasa

de crecimiento, morfología de colonias, la pigmentación y los perfiles bioquímicos. Los métodos convencionales con frecuencia requieren 6 a 8 semanas para su identificación (Jawetz *et al*, 1996).

Las micobacterias crecen a la temperatura óptima de 37 - 38°C en medios complejos que contengan yema de huevo y papa. La adición de glicerina favorece el crecimiento de *M. tuberculosis* (medio de Lowenstein-Jensen), pero puede inhibir el de *M. bovis*, por el contrario el piruvato sódico beneficia el crecimiento de este último (medio de Stonebrink) (Nicolet, 1986). Se considera que para el aislamiento de *M. bovis* el medio de mayor eficacia es el de Stonebrink (Cotrina, 1987).

### 2.8.3.1 TIPIFICACIÓN GENÉTICA DE *Mycobacterium bovis*

Hasta hace poco tiempo, la falta de un sistema de tipificación de *Mycobacterium bovis* impedía llevar a cabo estudios epidemiológicos sofisticados que sirvieran de apoyo a las campañas de control y erradicación de la tuberculosis en animales domésticos. Pero la aplicación de técnicas de biología molecular a las micobacterias empezó a progresar a mediados de los años ochenta, y hoy existen diversos sistemas de tipificación genética de *M. bovis* (Durr *et al*, 2000).

Actualmente existen dos principales técnicas de tipificación genética de las micobacterias: El Spoligotyping (spoligotipado) y el análisis del Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP).

El **spoligotyping** es una técnica recientemente descrita que tinea oligotipos espaciadores, se basa en la amplificación *in vitro* de los espaciadores altamente polimórficos, que separan las regiones repetitivas (DR), que flanquean la secuencia de inserción IS6110 del ADN micobacteriano. La variación de los espaciadores es utilizada para obtener diferentes patrones de hibridación para una detección y discriminación simultánea de las micobacterias causantes de tuberculosis a partir de los especímenes clínicos que es difícil de obtener por los métodos bacteriológicos convencionales. Esta

técnica consiste en amplificar por **PCR** la región DR y luego hibridar este producto a una membrana de nylon que contiene un grupo de espaciadores de secuencia conocida. La diferenciación de las cepas se realiza por la presencia o ausencia de alguno de los espaciadores en las cepas estudiadas. Es así que en *M. bovis* es característica la falta de cinco de los espaciadores 3' (del 39 al 43) en la región DR, esta particularidad es la que distingue a estas cepas. Las ventajas adicionales de esta técnica son que puede ser aplicada directamente sobre las muestras clínicas y que permite diferenciar *M. tuberculosis* de *M. bovis* (Cicutta *et al*, 2001; Vidal, 2002; García, 2000).

El **RFLP (Restriction Fragments Length Polymorphism)**, basado en la secuencia de inserción IS6110 para analizar el polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción, es un método usado ampliamente en la investigación de TBC humana, debido al alto polimorfismo que representan las cepas de *M. tuberculosis*. Sin embargo algunos autores lo recomiendan para obtener un mayor nivel de discriminación entre cepas de *M. bovis*. La desventaja del análisis de RFLP además de ser una técnica compleja de biología molecular es que se necesita partir de cultivo positivo de *M. bovis* para realizar el estudio (Vidal, 2002; Durr *et al*, 2000).

En un estudio llevado a cabo por Gutierrez *et al* (1995) en España, en el cual se realizó una diferenciación por tipificación molecular de cepas de *M. bovis* causantes de tuberculosis en vacas y cabras, empleando PCR y RFLP, métodos basados en el polimorfismo de IS6110, se encontró similar sensibilidad para ambas técnicas moleculares para tipificar cepas de *M. bovis* causantes de tuberculosis caprina, así mismo se determinó la utilidad de estas pruebas para el estudio epidemiológico de la tuberculosis en esta especie (Gutierrez *et al*, 1995).

Tanto el spoligotipado como el análisis del RFLP son técnicas útiles para determinar diferentes patrones, tipos o cepas de *Mycobacterium* causantes de tuberculosis y tienen aplicaciones epidemiológicas para la localización del foco inicial de infección y en los posibles contagios inter-especie, incluyendo la infección en humanos (García, 2000; Durr *et al*, 2000)

#### 2.8.4 PRUEBA INTRADÉRMICA DE TUBERCULINA

Para establecer el diagnóstico de rutina de la tuberculosis caprina y para determinar su prevalencia, con resultados satisfactorios, se recurre a métodos indirectos como es la prueba intradérmica con tuberculina bovina, realizada de la misma forma que en la especie bovina (Bonilla, 2001; Acha y Szyfres, 1986; Juste, 1989; Aiello y Mays, 2000).

La tuberculina es el extracto de *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* o *M. avium*, que se emplea como antígeno en las pruebas cutáneas que se realizan en animales para identificar a los que padecen tuberculosis. Con ese objetivo se han empleado varios tipos de tuberculina, siendo el más importante el **derivado proteínico purificado (PPD)**, ya que es más específica y su producción es de menor costo, esta se prepara cultivando los microorganismos en un medio sintético, matándolos con vapor y filtrándolos. La tuberculina PPD se precipita al agregar a este filtrado ácido tricloroacético, lavarlo y, por último, resuspenderlo en un amortiguador, quedando listo para su uso. Es probable que su principal componente antigénico sea una proteína de choque térmico, la HSP65 (Tizard, 1998; Acha y Szyfres, 1986).

Para la elaboración de la tuberculina PPD, se han usado cepas humanas o bovinas, pero en la investigación de los últimos años se ha demostrado que la tuberculina elaborada con una cepa de *M. bovis* es más específica (Acha y Szyfres, 1986).

La prueba intradérmica de tuberculina presenta dos tipos principales de pruebas: **La prueba intradérmica única (PIU)**, la cual se basa en la inoculación de un antígeno micobacteriano (*M. bovis* o *M. tuberculosis*) en la región del cuello o en el pliegue caudal y **la prueba comparativa**, que consiste en la inoculación simultánea de tuberculina aviaria (*M. avium*) y bovina (*M. bovis*) en dos puntos separados del mismo lado del cuello (Aiello y Mays, 2000; Radostits *et al*, 2002). En la mayoría de países la prueba comparativa se reserva para los rebaños problemáticos cuando existe la sospecha de resultados falsos positivos (sensibilización inespecífica) (Acha y Szyfres, 1986; Radostits *et al*, 2002).

El principal inconveniente de la PIU es su falta de especificidad y la existencia de animales con reacción positiva pero sin lesiones visibles. La tuberculina de los mamíferos no es lo suficientemente específica para diferenciar la reacción debida a infección por *M. bovis*, de las causadas por *M. avium*, *M. tuberculosis*, *M. paratuberculosis* (incluyendo la vacunación) o *Nocardia farcinicus* (Radostits *et al*, 2002).

Una tuberculina altamente sensible será aquella que descubra el mayor número de animales infectados por *M.bovis* y con la cual se obtenga el menor grado de error por falsos negativos y será altamente específica al descubrir el mayor número de animales infectados por *M. bovis* y al obtener el menor número de reacciones positivas en animales sensibilizados por otras micobacterias. Al hablar de la sensibilidad de la prueba de tuberculínica es necesario señalar la dosis de tuberculina en unidades internacionales (UI) y el lugar de aplicación, ya que ambas son influyentes (Bolla, 1988).

La prueba se realiza por vía intradérmica, inoculando 0.1ml de tuberculina en el pliegue caudal o en la tabla del cuello y el número de unidades de tuberculina inyectada varía de 2000 a 10000 UI según las normas establecidas en cada país. A mayor dosis de UI de tuberculina, la prueba será generalmente más sensible pero menos específica (Acha y Szyfres, 1986). Se piensa que la prueba en la región del cuello es más sensible, mientras que en la región caudal es más específica. Además, se considera que una dosis de 5000 a 10000 UI de tuberculina (0.1ml de tuberculina con 0.1 ó 0.2 mg de PPD bovino) es preferible para detectar más animales infectados (Radostits *et al*, 2002).

En el caso de la tuberculosis bovina, se considera que la prueba de la tuberculina PPD tiene, aproximadamente, una sensibilidad del 85% y una especificidad del 98% (Rebhun, 1995). La variación de la eficacia de la prueba no sólo depende de la tuberculina y de su correcta aplicación, sino de la capacidad de respuesta del animal infectado. Las reacciones falsas negativas pueden presentarse en estadíos iniciales y casos avanzados de la enfermedad, en animales viejos y en los que han parido recientemente; por otro lado las reacciones falsas positivas pueden aparecer en animales sensibilizados a otros alérgenos micobacterianos como *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. paratuberculosis* y micobacterias



escasamente patógenas, como las de la tuberculosis cutánea (Acha y Szyfres, 1986; Radostits *et al*, 2002).

La prueba intradérmica única (PIU) empleada en ovinos y caprinos parece ser relativamente imprecisa, ya que algunos animales tuberculosos dan reacciones negativas. Sin embargo, en los caprinos resulta satisfactoria según los resultados obtenidos en cabras infectadas experimentalmente (Radostits *et al*, 2002). La aplicación y la interpretación de la prueba se llevan a cabo como en los bovinos (Beer, 1981; Juste, 1989; Radostits *et al*, 2002). La tuberculina en los caprinos se suele administrar en el pliegue caudal y la lectura se realiza 72 horas después, considerándose positivos a los animales que presenten signos de inflamación y tumefacción en el lugar de la inoculación, producto de la hipersensibilidad retardada en respuesta al antígeno (Radostits *et al*, 2002; Aiello y Mays, 2000; Tizard, 1998).

En las cabras, además del pliegue caudal y la región cervical, se puede usar la prueba intrapalpebral y la cara interna del muslo (Acha y Szyfres, 1986). No obstante, de un trabajo realizado en un hato de cabras lecheras en la provincia de Buenos Aires, Argentina, en la que se detectó una prevalencia del 2.7% de tuberculosis empleando la prueba intradérmica en la región caudal, se desprende que la utilización de la tuberculina en el pliegue caudal en los caprinos, se ha convertido en una herramienta útil para el control y erradicación de la enfermedad (Torres *et al*, 2000).

#### **2.8.4.1 REACCIÓN INMUNOLÓGICA A LA TUBERCULINA**

La reacción a la tuberculina es el prototipo de la hipersensibilidad de tipo IV o hipersensibilidad retardada, donde el agente inmunológicamente activo es el linfocito T. Esta reacción se caracteriza por la sensibilización de una población de linfocitos T, que en posteriores enfrentamientos con el antígeno inicia una serie de reacciones inmunológicas que culminan con el aflujo de linfocitos y macrófagos al lugar del estímulo antigénico. Este aflujo se produce en un periodo de 24 a 72 horas y por ello se denomina frecuentemente hipersensibilidad retardada (Bolla, 1988; Halliwell y Gorman, 1989).

Cuando se inyecta la tuberculina PPD por vía intradérmica a un animal normal, no hay respuesta inflamatoria local importante. Por el contrario, si se inyecta a animales sensibilizados por una infección con bacilo tuberculoso, se producirá una respuesta de hipersensibilidad retardada. Después de la inyección intradérmica de tuberculina a un animal sensibilizado, no se observan cambios detectables, ni macroscópica ni microscópicamente, durante varias horas. Sin embargo entre las 12 y las 24 horas se produce vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular, y como consecuencia de ellas se observa eritema y tumefacción; esta última tiene una induración característica. En el examen histológico, la lesión se diferencia de la respuesta inflamatoria aguda clásica en que la población de células que la infiltra es mayoritariamente mononuclear (macrófagos y linfocitos), si bien en las etapas tempranas de la reacción puede aparecer una acumulación transitoria de neutrófilos. La reacción inflamatoria alcanza su máxima intensidad entre 24 y 72 horas después de la inyección, y puede persistir durante varias semanas antes de desaparecer gradualmente. En las reacciones muy graves puede aparecer necrosis en el sitio de la inyección. Esta reacción a la tuberculina en un animal sensibilizado es una reacción inflamatoria inmunológicamente específica mediada por células T (Tizard, 1998).

Cuando un animal es invadido por el *Mycobacterium*, los microorganismos son fagocitados rápidamente por los macrófagos. Una parte de este antígeno micobacteriano se presenta a las células Th1, desencadena una respuesta celular y genera células de memoria, las cuales son capaces de responder al antígeno micobacteriano que entra al cuerpo por cualquier vía. Como la hipersensibilidad retardada puede evocarse muchos años después de la exposición al antígeno, es razonable suponer que algunas de estas células de memoria tenga una vida muy larga (Tizard, 1998).

Cuando se inyecta el antígeno en forma intradérmica, las células dendríticas captan una parte y luego migran al ganglio linfático que drena la región. Al igual que cualquier sustancia extraña, atraerá a neutrófilos y macrófagos. Sin embargo, en un animal sensibilizado también atraerá a las células T sensibilizadas. Las células Th1 circulantes reconocen al antígeno, se activan, se adhieren a las células endoteliales, y salen de los capilares hacia el depósito del antígeno. En los bovinos, 12 h después el sitio de inyección

ya está infiltrado, principalmente por células  $\alpha/\alpha+$ , células TWC1+ y neutrófilos. Las células infiltrantes guardan relación con los pequeños vasos sanguíneos y el desarrollo de vasculitis en la dermis. No se encuentran células B en esta lesión (Tizard, 1998).

Los linfocitos T infiltrativos secretan IFN- $\alpha$  e IL-2, que en las células endoteliales incrementan la expresión de las moléculas de adherencia y las del MHC clase II. Estos linfocitos T también liberan moléculas vasoactivas, como la serotonina, IL-8 y linfotactina (una quimocina con efecto quimiotáctico en los linfocitos), así como una citocina que atrae a los basófilos. La serotonina ocasiona aun más inflamación y aumenta la migración de las células mononucleares hacia la lesión (Tizard, 1998).

Las moléculas derivadas de las células T producen inflamación y atraen aún más células T. La mayor parte de estos nuevos linfocitos no tiene una sensibilización específica contra el antígeno causal. Sólo una proporción muy baja, tal vez 5%, de los linfocitos que se encuentran en una reacción de hipersensibilidad retardada, en realidad son específicos del antígeno. La mayor parte son atraídos en forma inespecífica por la linfotactina. Entre 24 a 72 h, los linfocitos predominantes son TCR-  $\alpha/\alpha+$ , CD4+ y CD8+. Los macrófagos son las principales células infiltrativas en la lesión, por la liberación de IL-8, y pueden ser activadas localmente por el IFN- $\alpha$ . Es posible que parte del daño hístico que se observa en las reacciones intensas de hipersensibilidad retardada se deba a la liberación de enzimas y metabolitos de oxígeno reactivos por parte de estos macrófagos activados. Los macrófagos ingieren y destruyen al antígeno inyectado. Esto, además de la aparición de células supresoras en la lesión, permite que los tejidos regresen a la normalidad (Tizard, 1998).

### **2.8.5 PRUEBA DE GAMMA – INTERFERÓN**

El recientemente desarrollado ensayo del gamma-interferón (IFN- $\gamma$ ), que se utiliza en linfocitos sanguíneos estimulados con el antígeno de *M. bovis*, parece ser una alternativa prometedora a la ampliamente difundida prueba intradérmica de tuberculina (Aiello y Mays, 2000).

Una de las pruebas *in vitro* consistente en cuantificar la liberación de citocinas por las células T en la respuesta inmunitaria mediada por células frente a un antígeno, incluye el análisis de la liberación de IFN- $\gamma$  por linfocito de sangre periférica al exponerse a tuberculina (Tizard, 1998; Radostits *et al*, 2002). Esta técnica se creó como sustitutivo de la prueba de tuberculina para el diagnóstico de la tuberculosis en bovinos. Consiste en añadir PPD a muestras de sangre entera, e incubar la mezcla durante 24 a 48 h a 37°C. Luego, se toma el plasma y se realiza un análisis de IFN- $\gamma$ , ya sea por medio de un bioanálisis simple o, de preferencia, mediante una prueba de ELISA utilizando anticuerpos monoclonales (Tizard, 1998).

En un estudio realizado por Liébana *et al* (1998), se utilizó la prueba de IFN- $\gamma$  y PIU para el diagnóstico de tuberculosis caprina, con la finalidad de obtener un grupo de animales libres de infección dentro de un hato con alta prevalencia, se emplearon 87 cabras de la raza Guadarrama, siguiendo un proceso de prueba simple y segregación de animales. Se encontró que el número de animales con infección detectado con la prueba de IFN- $\gamma$  fue mayor que aquel que se obtuvo por el PIU. Un grupo de 10 animales resultó negativo a ambas pruebas en dos controles consecutivos y 3 crías resultaron también negativas en el último control. Los investigadores llegaron a la conclusión de que la prueba de IFN- $\gamma$  es apropiada para la erradicación de tuberculosis en cabras y que la prueba tiene la posibilidad de detectar infecciones tempranas de *M. bovis*. Además, se demostró que por pruebas seriadas con IFN- $\gamma$  y PIU, y una segregación de las crías al nacimiento es posible obtener animales negativos de tuberculosis incluso en hatos con alta inmunoreacción a esta infección (Liébana *et al*, 1998).

Existen discrepancias sobre la sensibilidad de la prueba de IFN- $\gamma$  en comparación con la PIU. Hasta que no haya sido probado ampliamente en la práctica, el método de elección para la detección de portadores de la tuberculosis con fines prácticos sigue siendo la prueba intradérmica única, leída a las 72 h, mediante una inyección en un pliegue caudal de tuberculina PPD (Radostits *et al*, 2002).

### 2.8.6 OTROS MEDIOS DE DIAGNÓSTICO

Se han desarrollado pruebas serológicas como la de fijación de complemento, inmunofluorescencia, aglutinación bacteriana directa, precipitinas y hemaglutinación, pero el valor potencial de las mismas para el diagnóstico sistemático de la tuberculosis es limitado, coherente con una función menos relevante de los anticuerpos frente a la respuesta inmune celular en la enfermedad (Radostits *et al*, 2002; Aiello y Mays, 2002).

Las primeras pruebas de ELISA (Análisis de Inmunoabsorción Ligada a Enzimas) para antígenos micobacterianos crudos tenían escaso valor, sin embargo un ELISA que evaluó los anticuerpos para definir los antígenos de *M. bovis* antes y después de la prueba intradérmica de tuberculina parece ser útil para detectar animales con reacción positiva inespecífica (Radostits *et al*, 2002).

Así mismo en un estudio realizado por Estrada *et al* (2001) se evaluó mediante ELISA la respuesta de anticuerpos contra el derivado proteínico purificado de *M. bovis* (PPD) en hatos de bovinos lecheros con distintas prevalencias de tuberculosis, en el cual se encontró dos de los títulos más altos de anticuerpos en 2 animales con tuberculosis sin reacción a la tuberculina, confirmando la utilidad del ELISA con PPD como antígeno para identificar animales anérgicos (Estrada *et al*, 2001).

En otro estudio realizado por Gutierrez *et al* (1998) en el cual se evaluaron pruebas de diagnóstico celular y serológico para la detección de cabras infectadas con *M. bovis*, se encontró que las pruebas serológicas (IFN- $\gamma$  y ELISA) fueron más sensibles para la detección de cabras con lesiones severas que la prueba de diagnóstico celular (tuberculina), sugiriendo que una combinación de la prueba intradérmica comparativa de tuberculina y la prueba de ELISA pueden ser útiles como parte de una campaña de erradicación contra la tuberculosis caprina (Gutierrez *et al*, 1998).

La necesidad de una mejor prueba diagnóstica para detectar infecciones por *Mycobacterium tuberculosis* ha llevado a desarrollar nuevos métodos de detección que no

requieren del crecimiento del microorganismo. El PCR representa una alternativa para la detección de cepas de *Mycobacterium* por inserción de secuencias IS6110 lo que permite una mejor identificación por secuencias de bases (Salyers y Whitt, 1992).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 LUGAR DE ESTUDIO**

El estudio se llevó a cabo en los distritos de Paramonga (0-13 msnm), Pativilca (81 msnm), Barranca (49 msnm) y Supe (45 msnm) de la provincia de Barranca, situados entre los 166 y 192 Km al norte de la ciudad de Lima, departamento de Lima (Torres, 1998).

Se eligió este lugar como zona de estudio, por la sospecha que se tenía de la presencia de la tuberculosis caprina, debido a los hallazgos macroscópicos de lesiones granulomatosas principalmente en los pulmones, compatibles con esta enfermedad, observadas durante el beneficio de los caprinos en algunos camales de la provincia, principalmente en el distrito de Supe (Comunicación personal: Rentería, J.).

#### **3.2 ANIMALES**

La muestra evaluada estuvo constituida por caprinos criollos, criados en forma extensiva y sedentaria por familias campesinas para la obtención de carne (cabritos), leche y queso principalmente.

Los animales fueron elegidos al azar, incluyéndose machos y hembras mayores a los dos meses de edad.

### 3.3 TAMAÑO MUESTRAL

Para la determinación del tamaño muestral se utilizó la fórmula para estimar una proporción, y para ello se consideró una prevalencia referencial del 50% ( $P = 0.5$ ) por no existir estudios anteriores y por no conocer la prevalencia de la enfermedad en la zona de estudio, con lo cual se obtiene el mayor tamaño muestral mediante la siguiente fórmula (Daniel, 1996; Ahlbom y Norell, 1990):

$$n = \frac{z^2 \cdot p(1-p)}{d^2}$$

En donde:

n = tamaño muestral

z = 1.96 (95% de confianza)

p = 0.5 (prevalencia desconocida)

d = 0.05 (precisión o error máximo admisible)

Aplicando la fórmula se obtuvo como resultado que el tamaño de la muestra (n=385) representó el número mínimo a muestrear. Para una mejor cobertura y distribución del tamaño muestral, se estratificó las muestras según la población caprina que se encuentra en los 4 distritos muestreados de la provincia de Barranca (INEI, III CENAGRO, 1994) y se empleó la siguiente fórmula (Ahlbom y Norell, 1990):

$$n_d = \frac{Nk \cdot n}{N}$$



En donde:

$n_d$  = tamaño de muestra del estrato

$N_k$  = población del estrato

$N$  = población total

$n$  = tamaño muestral

Cuadro N° 1. Población total y estratificación de la muestra, según los 4 distritos evaluados en la provincia de Barranca.

<b>Distritos</b>	<b>Población de Caprinos*</b>	<b>Estratificación de la Muestra</b>
Paramonga	1847	72
Pativilca	2138	83
Barranca	1221	47
Supe	4738	183
Total	9944	385

\*Fuente: INEI (III CENAGRO 1994)

### 3.4 MATERIALES

**Material biológico:** Tuberculina PPD bovina

**Materiales, otros :** Caja térmica con refrigerantes, jeringas de tuberculina y agujas 25G x 5/8” descartables, algodón y marcadores.

### 3.5 METODOLOGÍA DE TRABAJO

La prueba empleada en el presente estudio fue la prueba intradérmica de tuberculina con PPD bovino (1mg/ml), basada en la reacción de hipersensibilidad retardada, aplicada en el pliegue caudal de los caprinos para el diagnóstico de la tuberculosis, es decir para detectar animales reactivos a la prueba de tuberculina (positivos).

### 3.5.1 PROCEDIMIENTO

Para realizar la prueba, los animales fueron elegidos al azar y luego se les inoculó 0.1ml de tuberculina PPD bovina con una jeringa de tuberculina y aguja de 25 x 5/8" descartables, previa limpieza, en el pliegue caudal izquierdo en todos los casos. La inoculación se efectuó en el espesor de la piel (intradérmicamente) evitando el tejido subcutáneo. La correcta aplicación se comprobó al observar y palpar en el punto de inoculación la formación de una pequeña vesícula conteniendo el antígeno inoculado.

### 3.5.2 LECTURA

La lectura se realizó a las 72 horas ( $\pm$  6 horas) post-inoculación, mediante la observación, palpación y comparación con el pliegue caudal homólogo que hizo las veces de testigo.

### 3.5.3 INTERPRETACIÓN

**Positivos:** Se consideraron animales con reacción positiva o reactores a la prueba de tuberculina a aquellos que presentaron cambios visibles y palpables como engrosamiento e induración de la piel con calor y dolor (reacción de hipersensibilidad retardada) en el punto de inoculación.

**Negativos:** Se consideraron animales negativos a aquellos que no presentaron o presentaron cambios discretos sin manifestaciones de inflamación.

### 3.5.4 ANÁLISIS DE DATOS

#### 3.5.4.1 Prevalencia a la prueba (P)

La prevalencia de la tuberculosis caprina en la zona de estudio se determinó utilizando la siguiente fórmula (Ahlbom y Norell, 1990):

$$P = \frac{\text{Número de animales reactivos (positivos)}}{\text{Número total de muestras}} \times 100$$

Con un **Intervalo de Confianza (IC)** estimado mediante la siguiente fórmula (Armitage y Berry, 1987):

$$IC = p \pm z \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}}$$

En donde:

p = Prevalencia

z = Nivel de Confianza al 95% (1.96)

q = 1-p

n = tamaño muestral

#### **IV. RESULTADOS**

En el presente estudio epidemiológico, de un total de 412 caprinos alcanzados a muestrear, se detectaron 2 animales reactivos (positivos) a la prueba intradérmica de tuberculina PPD bovina, lo que representa una prevalencia aparente de  $0.48 \pm 0.67\%$ .

Los animales reactivos fueron hembras y pertenecieron a un mismo hato ubicado en el distrito de Supe.

De manera complementaria al estudio, se llevó a cabo la necropsia de uno de los animales reactivos a la tuberculina. Los hallazgos se observaron a nivel de ganglios mesentéricos, estos se encontraron muy aumentados de tamaño y al corte se pudo apreciar material caseoso en su interior. Para confirmar los resultados obtenidos con la prueba intradérmica, se tomaron muestras a partir de ganglios linfáticos afectados, las cuales fueron procesadas en el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

La muestra coloreada con hematoxilina-eosina, reveló microscópicamente, la presencia de lesiones granulomatosas típicas, con un núcleo caseoso rodeado de células mononucleares (linfocitos y macrófagos) y más a la periferia de fibroblastos.

La muestra coloreada con la tinción especial de Ziehl-Neelsen, evidenció, en los focos de lesión, la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes (*Mycobacterium*).

Cuadro N° 2. Número de animales muestreados según los 4 distritos evaluados en la provincia de Barranca, Lima.

<b>Distritos</b>	<b>Estratificación de la Muestra</b>	<b>Animales muestreados</b>
Paramonga	72	76
Pativilca	83	85
Barranca	47	50
Supe	183	201
Total	385	412

Cuadro N° 3. Número de hatos y animales muestreados por distrito en la provincia de Barranca, Lima.

<b>Distritos</b>	<b>Hatos muestreados</b>	<b>Animales muestreados</b>	<b>Sexo</b>	
			<b>Machos</b>	<b>Hembras</b>
Paramonga	5	76	14	62
Pativilca	5	85	10	75
Barranca	3	50	4	46
Supe	11	201	16	185
Total	24	412	44	368

Cuadro N° 4. Prevalencia de la tuberculosis caprina en la provincia de Barranca, Lima.

<b>Animales muestreados</b>	<b>Animales reactivos</b>	<b>Prevalencia ± IC%</b>
412	2	0.48 ± 0.67

## V. DISCUSIÓN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la prevalencia de la tuberculosis caprina en la provincia de Barranca, departamento de Lima, empleando para ello la prueba intradérmica de tuberculina con el antígeno PPD bovino (derivado proteico purificado de *Mycobacterium bovis*) como método indirecto de diagnóstico, basado en la reacción de hipersensibilidad retardada.

La prevalencia encontrada de  $0.48 \pm 0.67\%$  como resultado final del estudio, indicaría un nivel relativamente bajo en la que se encontraría la tuberculosis en los caprinos de la provincia de Barranca. Cabe mencionar que este estudio constituye sino el primero, uno de los primeros trabajos de investigación realizado en nuestro país para detectar la proporción en que se hallaría la tuberculosis en esta especie. Por tal motivo los resultados hallados en este trabajo no pueden ser objeto de comparación con otros estudios similares previos en el Perú, ya que hasta el momento no se han encontrado publicación alguna. Sin embargo, podemos citar un estudio epidemiológico de tuberculosis caprina realizado por Balseiro *et al* (2001) en Asturias, España, utilizando la técnica del Gamma-Interferón, para lo cual se obtuvo 600 muestras de sangre procedentes de 25 rebaños (16 de aptitud cárnica y 9 de aptitud lechera) no vacunados contra paratuberculosis y distribuidos en forma

representativa. Como resultado, se encontró una prevalencia del 12.16% (73/600) en un total de 23 rebaños positivos (92%). A la vista de los resultados, los autores de este estudio indican que la tuberculosis caprina posee una prevalencia importante para esta especie en la comunidad autónoma de Asturias, al igual que se han descrito previamente en otras comunidades (Balseiro *et al*, 2001). Esto nos sugiere de alguna manera que la tuberculosis en los caprinos de la provincia de Barranca se encuentra muy poco difundida, en comparación con algunas comunidades de España, a pesar de las diferencias que pudieran existir entre las sensibilidades y especificidades de la prueba intradérmica de tuberculina y la de gamma-interferón aplicada en este estudio para detectar animales infectados.

En el estudio anteriormente citado también se encontró que a pesar que el número de rebaños de leche fue inferior, en el 100% de ellos se detectaron animales positivos mientras que en los de carne este porcentaje fue del 89.47%. Además, el porcentaje de animales positivos fue superior en el grupo de rebaños de leche que en el de carne, 18.75% y 10.08% respectivamente. En los rebaños de aptitud cárnica, los porcentajes de positividad oscilaron entre el 0 y 25% mientras que en los de leche osciló entre el 4 y 37.5%. Este hallazgo, similar a los encontrados en otros trabajos en España sugieren una mayor susceptibilidad de las razas lecheras que en las de aptitud cárnica (Balseiro *et al*, 2001). Este parecer de que la tuberculosis caprina es de mayor importancia en las razas lecheras que en las razas de carne, también es compartida por Juste (2001), aunque este último afirma además que esta diferencia entre las razas, parece deberse sobre todo a los sistemas de manejo más que a la aptitud de las razas, ya que se observa también que razas muy lecheras pueden encontrarse libres de la infección si el manejo es suficientemente extensivo y se toman medidas para evitar la entrada del agente infeccioso (Comunicación personal: Juste R., Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Gobierno Vasco, España, 2001).

En contraste con la aptitud de las razas de caprinos, ya sean de carne o leche existentes en las comunidades españolas, en la zona de estudio del presente trabajo sólo se hallaron caprinos criollos, esta raza o mejor denominado ecotipo, la misma que predomina en el resto del país, ha sido formada por el cruce de las diferentes razas traídas

principalmente de España. Los caprinos criollos tienden al tipo carnicero o de doble aptitud, a pesar que su producción láctea es bastante deficitaria (Arrollo, 1998a; Arrollo y Matossian, 2001). Por lo tanto no sería posible determinar claramente una mayor o menor susceptibilidad frente a la tuberculosis por la aptitud cárnica o lechera de los animales en estudio.

Lo que si podría estar influyendo de manera directa en la presentación, con una baja proporción, de la tuberculosis en los caprinos de la provincia de Barranca, es el sistema extensivo de crianza que caracteriza a la producción de estos animales en la zona de estudio, así como en la mayor parte del país.

El mayor confinamiento de los sistemas intensivos, a diferencia de lo que ocurre en los extensivos, hace que aumente la incidencia de las enfermedades a los cuales los caprinos son sensibles, entre ellas la tuberculosis. Por lo tanto existe una mayor predisposición a la enfermedad cuando los animales están estabulados y no salen nunca a pastar, por lo que es más frecuente y grave en las explotaciones ganaderas que emplean estos métodos. Cuanto más íntimo sea el contacto de los animales entre sí mayor será la probabilidad de que se contagien (Bonilla, 2001; Radostits *et al*, 2002).

Lo anterior también se corrobora en el caso de la tuberculosis bovina, ya que en las zonas donde se explota el ganado bovino bajo un sistema extensivo, mantenido casi exclusivamente en praderas, la infección se limita a casos esporádicos; mientras que en las áreas de explotación intensiva donde el ganado se mantiene exclusivamente estabulado, la tasa de contagio alcanza niveles muy elevados entre los animales (Blaha, 1995).

Del mismo modo, en el caso de bovinos, la asociación entre población concentrada e infección se observa claramente en explotaciones intensivas. Al separar los rebaños según su tamaño, se observa que a medida que aumenta el tamaño de los rebaños se incrementa proporcionalmente el número de animales reactivos a la prueba de tuberculina. Esta asociación es explicada por que el tamaño del rebaño se asocia a su vez, a una explotación más tecnificada, intensiva, así como la tasa de contacto y la densidad animal, se encuentran



en mayor expresión, facilitando la diseminación y mantención en el rebaño de una infección por *M. bovis* (Rivera, 2000).

Las características para una explotación intensiva de bovinos mencionada anteriormente por Rivera (2000), contrastan marcadamente con la producción de caprinos en la Provincia de Barranca, la cual se encuentra bajo el sistema extensivo de manejo con carácter sedentario, donde los rebaños son medianos y pequeños y donde se combina el pastoreo de los animales y la estabulación en corrales rústicos durante la noche. La alimentación de los caprinos se realiza sólo con pasturas nativas, vegetación eventual de acequias y caminos, y rastrojos de agricultura (Arroyo, 1998b; Arroyo y Matossian, 2001). Este tipo de explotación, suficientemente extensiva, probablemente estaría contribuyendo a evitar una mayor difusión del *Mycobacterium* en los caprinos, que determinaría a su vez proporciones elevadas de la tuberculosis en el área de estudio.

Adicionalmente al sistema de crianza, otro de los factores que podría estar influyendo indirectamente en el comportamiento epidemiológico de la tuberculosis caprina en la provincia de Barranca, es el factor socioeconómico. Debido a los cambios sociales y económicos en la región ocurrido en los últimos años como la sustitución de áreas de cultivo tradicionales como el maíz, marigol, tomate, frijol, etc., de cuyos rastrojos se alimentaban las cabras, por plantaciones de caña de azúcar para abastecer a la industria azucarera; los campos agrícolas que proporcionaban rastrojos a los caprinos han sufrido una notable reducción. Esto sumado a la escasez de pastos naturales, así como a la presencia estacional de otros animales (caprinos y bovinos) provenientes de la serranía en busca de pastos y criados bajo el sistema extensivo trashumante con los cuales compiten los caprinos de la zona, y al bajo precio en que son vendidos sus productos en el mercado (queso y carne); han obligado a los productores de caprinos a incrementar notablemente la saca de sus animales. Provocando así una considerable reducción en el número de animales por hato, es decir una disminución en el tamaño de sus rebaños; esto crea mayor espacio por animales y evitan el hacinamiento, el mismo que favorece la transmisión de la tuberculosis.

La principal fuente de infección por *M. bovis* para muchas especies de mamíferos, incluido los caprinos y el hombre, lo constituye el ganado bovino infectado (Blaha, 1995; Acha y Szyfres, 1986; Radostits *et al*, 2002). De ahí que Arellano *et al* (1999) afirman que la costumbre practicada en algunas regiones de pastorear juntos caprinos y bovinos favorece la transmisión de la tuberculosis entre estas especies (Arellano *et al*, 1999). Si bien es cierto que esta costumbre no se da en general en la provincia de Barranca, si existe estrecho contacto entre caprinos y bovinos, ya que estos en algunos casos se hallan en un mismo corral y en la mayoría de los casos en corrales distintos pero contiguos, separados solo por una cerca artesanal o pared de poca altura como se pudo verificar en el hatu donde se encontraron los animales reactivos a la prueba intradérmica de tuberculina. Esta forma de crianza podría sugerirnos de algún modo una probable transmisión del *M. bovis* entre estas especies. Además podemos señalar que en la campaña de control y erradicación de la tuberculosis bovina realizada por el SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria) en el año 2003 en la provincia de Barranca mediante el empleo de la prueba intradérmica con tuberculina PPD bovina en un total aproximado de 1000 bovinos, se encontró sólo en el distrito de Supe, dos bovinos reactivos a la prueba, a los cuales se les realizó luego de 60 días la prueba doble comparativa (como prueba confirmatoria) con tuberculina PPD bovina (*M. bovis*) y PPD aviar (*M. avium*), resultando ambos animales positivos a la tuberculina PPD bovina (Comunicación personal: Dirección Departamental SENASA, Lima-Callao, 2004).

Sin embargo, tal como lo menciona Juste (1989), que a pesar de que se había considerado, desde que se conoce la gran susceptibilidad de los caprinos al *M. bovis*, que esta especie sólo se infectaba cuando convivía con el ganado bovino; en los últimos años cuando se ha comenzado a prestar atención a la patología de la cabra, se ha observado la amplia difusión que tiene la tuberculosis en esta especie, incluso en zonas de producción caprina en las que prácticamente no existe ganado bovino (Juste, 1989).

Según Acha y Szyfres (1986), pese a que la prevalencia de la tuberculosis en los caprinos, en general, parece ser baja; en los países que han avanzado en la erradicación de la tuberculosis bovina se presta atención a la infección en los caprinos, ya que esta especie

es susceptible al *M. bovis*, sufre con cierta frecuencia de tuberculosis pulmonar y puede reinfectar a los bovinos (Acha y Szyfres, 1986). Sin embargo, en un trabajo mencionado anteriormente, realizado por Balseiro *et al* (2001) en España, en el cual se determinó que la tuberculosis caprina posee una prevalencia importante en la comunidad autónoma de Asturias, al igual que se había descrito previamente en otras comunidades; se señala como poco probable un efecto negativo de la tuberculosis caprina sobre el programa de erradicación en el ganado bovino, ya que por lo general no se produce una convivencia estrecha entre ambas especies, al menos en las comunidades españolas, y además por que recientemente se ha descrito una subespecie de *M. bovis* (*M. bovis subsp. caprae*) que presenta una mayor afinidad por el ganado caprino (Balseiro *et al*, 2001).

Uno de los estudios que describe un genotipo caprino en cepas de *Mycobacterium bovis* causantes de tuberculosis humana, fue el realizado por Gutierrez *et al*, en España (1997), en el cual se caracterizaron mediante la técnica de spoligotipado, 18 cepas de *M. bovis* aisladas de vacas y 23 cepas de *M. bovis* aisladas de cabras. Los spoligotipos revelaron que las cepas caprinas forman un grupo aparte bien diferenciado, con lo que se les denominó genotipo caprino. Para evaluar la importancia de este genotipo como causa de tuberculosis en otras especies animales, incluyendo humanos, se aplicó el método de spoligotipado para 112 cepas, comprendiendo a todos los aislados identificados como *M. bovis* por un laboratorio micobacterial de Referencia Nacional (Madrid), desde 1994 a 1996. Del total de cepas, 83 fueron identificadas en aislados de humanos. Como resultado se encontró que el genotipo caprino, además de ser identificado en 3 aislados de cabras y 2 aislados de ovejas, también fue hallado en 3 aislados causantes de tuberculosis humana. Este estudio no sólo demuestra la existencia de un genotipo caprino de *M. bovis* si no que también presenta una evidencia a través de la identificación de este genotipo en un aislado de un veterinario con una historia reciente de contacto con cabras tuberculosas, para sostener el argumento de que existe un riesgo zoonótico de tuberculosis caprina (Gutierrez *et al*, 1997).

Como toda prueba biológica, la prueba intradérmica única de tuberculina no es totalmente precisa y puede presentar algunas deficiencias, ya que la variación de la prueba

no sólo depende de la tuberculina y de su correcta aplicación, sino de la capacidad de respuesta del animal infectado. Las reacciones falsas negativas pueden presentarse en estadíos iniciales y casos avanzados de la enfermedad, en animales viejos y en los que han parido recientemente. Por otro lado las reacciones falsas positivas pueden aparecer en animales sensibilizados a otros alérgenos micobacterianos como *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. paratuberculosis* y micobacterias escasamente patógenas, como las de la tuberculosis cutánea (Acha y Szyfres, 1986; Radostits *et al*, 2002). Sin embargo, a pesar de los inconvenientes de esta prueba y la existencia de otras alternativas diagnósticas como la prueba del gamma-interferón (IFN- $\gamma$ ), hasta que estas no hayan sido probadas ampliamente en la práctica, el método de elección para la detección de animales que padecen de tuberculosis con fines prácticos continua siendo la prueba intradérmica única, leída a las 72 horas después de la inoculación de la tuberculina PPD en el pliegue caudal (Radostits *et al*, 2002).

Además, se puede considerar que la utilización de la prueba intradérmica de tuberculina aplicada en el pliegue caudal en los caprinos, representa una herramienta útil para la evaluación epidemiológica, así como para el control y erradicación de la tuberculosis en esta especie. Sin embargo, para cubrir algunas deficiencias que se puedan presentar al emplear esta prueba, se puede complementar con técnicas de diagnóstico directo de tipo bacteriológico (cultivo e identificación), así como estudios histopatológicos de las lesiones que presentan los animales reactivos y técnicas de caracterización molecular para que a partir de los aislados se pueda determinar, con fines epidemiológicos, si existen o no cepas comunes entre las especies bovinas y caprinas ( Torres *et al*, 2000; Radostits *et al*, 2002; Bonilla, 2001; Balseiro *et al*, 2001).

Tomando en cuenta lo anterior, se consideró de utilidad, pese a no formar parte de nuestro objetivo inicial, realizar el examen *post mortem* de uno de los animales reactivos a la tuberculina con la correspondiente evaluación histopatológica de las lesiones macroscópicas halladas. Tanto las lesiones macroscópicas, de aspecto caseoso a nivel de ganglios mesentéricos, así como la presencia de lesiones granulomatosas características y

de bacilos ácido-alcohol resistentes como revelación microscópica, refuerzan los resultados obtenidos con la prueba intradérmica de tuberculina.

Finalmente, se debe tomar en cuenta el potencial zoonótico que podría representar la tuberculosis caprina, por el riesgo de transmisión a través del queso fresco de cabra elaborado artesanalmente a partir de leche sin pasteurizar, cuyo consumo se encuentra arraigada en algunas zonas de nuestro país.

## **VI. CONCLUSIONES**

A la luz de los resultados del presente estudio de investigación, se llegó a la siguiente conclusión:

La tuberculosis caprina, presente en la provincia de Barranca, se encuentra con una prevalencia relativa del 0.48% (2/412).

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Acha P. y Szyfres B. 1986. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y los Animales. 2da Ed. Washington: OPS. p. 174-83.
2. Aiello S. y Mays A. 2000. El Manual Merck de Veterinaria. 5ta Ed. Océano. España p. 547-551.
3. Alhbom A. y S. Norell. 1990. Introduction to Modern Epidemiology. 2da Ed. USA: Epidemiology resources. p. 9-14.
4. Arellano RB.; Ramirez C.; Díaz AE.; Valero EG. y Santillán FMA. 1999. Diagnóstico de Tuberculosis en Hatos Caprinos empleando la Prueba Intradérmica Doble Comparativa y Cultivo Bacteriológico. Técnica Pecuaria México. 37 (1). p. 55-58 On line:  
<http://www.inifap.conacyt.mx/publicaciones/cientifica/TPM/1999/a55diagnohtm>  
(05/04/03)
5. Armitage P. y Berry G. 1987. Statistical methods in Medical Research. 2da Ed. Blackwell Scientific Publications. Gran Bretaña. p. 115-120.
6. Arroyo O. 1998a. Producción de Caprinos. PROCABRA. Perú. p. 20-60.

7. Arroyo O. 1998b. Sistemas de Producción de Pequeños productores de Cabras. Lima-Perú, Charla Sustentada en la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM. Mayo 1998. p. 2-8.
8. Arroyo O. y Matossian C. 2001. Experiencias en Producción Caprina en la zona de Lima: Limitaciones y Perspectivas. *Rev Vet Perú. Suplemento* 1.p. 154-158.
9. Balseiro A.; Prieto J.; Espí A. y García JF. 2001. Estudio Epidemiológico de la Tuberculosis Caprina en Asturias utilizando la técnica de Gamma-Interferón. XXVI Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. España. p. 671-675.
10. Beer, J. 1981. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. Tomo II. Ed. Acribia. España. p. 246-251.
11. Blaha T. 1995. Epidemiología Especial Veterinaria. Ed. Acribia. España (trad. españ. 1ra Ed.) p. 164-72.
12. Blood D. y Radostits O. 1992. Medicina Veterinaria. Vol.1.7a Ed. Interamericana. México. p. 764-776
13. Bolla L. 1988. Prueba Comparativa de la Tuberculosis Bovina, su interpretación en el Uruguay. En: Curso Taller sobre Tuberculosis, Brucelosis y Fiebre Aftosa. OPS-OMS. Trujillo-Perú. p. 2-27.
14. Bonilla W. 2001. Producción de Cabras Lecheras. Manejo Sanitario. Gobierno de Chile-INIA. On line: <http://www.inia.cl/cobertura/quilamapu/textos/cap4.htm>
15. Cicuta M., Zumárraga M., Alito A., Cataldi A. y Romano M. 2001. Tipificación molecular de aislamientos de *Mycobacterium bovis* del Nordeste Argentino. Argentina. On line: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2001/4-veterinarias/v-006.pdf>
16. Cotran R.; Kumar V. y Collins T. 2000. Patología Estructural y Funcional. 6ª Ed. McGrawHill. p. 218-220/370-373.
17. Cotrina, N. 1987. Epizootiología de la Tuberculosis Bovina. Ed. Científico - Técnica. La Habana - Cuba. p. 1-134.
18. Daniel W. M. 1996. Bioestadística: Bases para el Análisis de las Ciencias de la Salud. 5ª Ed. Limusa S.A. México. p. 202-208.
19. De Kantor I. 1988. Bacteriología de la Tuberculosis. OPS/OMS. Serie de Monografías Científicas y Técnicas. Rev. I. N 11.p. 11-47.



20. De la Vega, E. 1988. La tuberculosis Bovina en las distintas Especies Animales de Importancia Pecuaria - Anatomopatológica. En: Curso Taller sobre Tuberculosis, Brucelosis y Fiebre Aftosa. OPS-OMS. Trujillo - Perú. p. 2-8.
21. Durr P.A; Hewinson R.G. y Clifton-Hadley R.S. 2000. Epidemiología molecular de la tuberculosis bovina I y II. Tipificación genética de *Mycobacterium bovis* y Aplicaciones de la tipificación genética. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 19 (3): 675-701.
22. Estrada C.; Mancilla R.; Arriaga C.; Pérez R. y Díaz F. 2001. Determinación de Anticuerpos anti-PPD en Hatos Lecheros con distintas Prevalencias de Tuberculosis Bovina en México. *Vet. Méx.* 32(3): 207-210.
23. García JF. 2000. Tuberculosis y Paratuberculosis. *Producción Animal*. Abr. XV(154): 3-13. On line: <http://www.prodivesa.com/selab1.htm>
24. Gázquez, A. 1991. Patología Veterinaria. Ed. Interamericana. España. p. 406-416.
25. Gutierrez M.; Samper S.; Gavigan JA. ;García JF. y Martin C., 1995. Differentiation by molecular typing of *Mycobacterium bovis* strains causing tuberculosis in cattle and goats. España. *J Clin Microbiol. Nov.* 33(11): 2953-2956.
26. Gutierrez M.; Samper S.; Jiménez MS.; Van Embden JD.; Marin JF. y Martín C., 1997. Identification by spoligotyping of a caprine genotype in *Mycobacterium bovis* strains causing human tuberculosis. España. *J Clin Microbiol. Dec.* 35(12): 3328-3330.
27. Gutierrez M.; Tellechea J. y Garcia J. 1998. Evaluation of cellular and serological diagnostic test for the detection of *Mycobacterium bovis*-infected goats. España. *Esp Vet J. August.* 62(4): 281-290.
28. Gyles C. y Thoen C. 1986. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Iowa State University Press/Ames. USA. p. 26-36.
29. Halliwell R. y Gorman N. 1989. Inmunología Clínica Veterinaria. Ed. Acribia. España. p. 157-158/239-241.
30. Instituto Nacional de Estadística e Informática - INEI. 1994 . III Censo Nacional Agropecuario (III CENAGRO). On Line: <http://www.inei.gob.pe/BancoCuadros/bancua00.asp?p=03> (02/02/03).

31. Jawetz E.; Melnick J. y Adelberg A. 1996. Microbiología Médica. 16ª Ed. El Manual Moderno. México. p. 343-354
32. Jubb, K.; P. Kennedy y N. Palmer. 1990. Patología de los Animales Domésticos. Tomo II. 3ra Ed. Hemisferio Sur. Uruguay. p. 561-573.
33. Juste, R. 1989. Apuntes sobre Patología Caprina. Dpto. Agricultura y Pesca. Gobierno Vasco. On Line: <http://personal.redestb.es/rajuste/patcap1.htm> (01/02/03).
34. Liébana E.; Aranaz A.; Urquia JJ, Mateos SA. y Domínguez L., 1998. Evaluation of the gamma-interferon assay for eradication of tuberculosis in a goat herd. *Aus vet J. Jan* 76(1): 50-3.
35. Nicolet J. 1986. Compendio de Bacteriología Médica Veterinaria. Ed. Acribia S.A. España. p. 185-192.
36. Perea A.; Arenas A.; Maldonado A; Tarradas C.; Gómez-Villamandos IJ.; Sanchez P.; Quezada M. y Carrasco L., 1999. Patología de los Rumiantes en Imágenes (II). On Line: [http://www.colvet.es/infivet/oct99/ciencias\\_v/articuloI.htm](http://www.colvet.es/infivet/oct99/ciencias_v/articuloI.htm) (08/03/03).
37. Prescott L.; Harley J. y Keil D. 1999. Microbiología. 4a Ed. Mc Graw Hill Interamericana. España. p. 26-28.
38. Radostits, O.; C. Gay; D. Blood y Hinchcliff K. 2002. Medicina Veterinaria. 9na Ed. Mc Graw Hill. España. p. 1075-1088.
39. Rebhun, W. 1995. Enfermedades del Ganado Vacuno Lechero. Ed. Acribia. España. p. 613-616.
40. Rivera A. 2000. Experiencias en el Saneamiento de Tuberculosis Bovina en el Programa de Certificación de Predios Libres de la Xa Región. Taller de Actualización sobre Tuberculosis en Chile. On line: <http://www://A:/TBCSENASA/Chile.saneamientoycertificacióndehatoslibresTBC.htm>
41. Salyers A. y Whitt D. 1992. Tuberculosis. In: Bacterial Pathogenesis. A molecular approach. ASM Press. Washington, D.C. USA. p. 307-321.
42. Seva J.; Hernandez D.; Bernabé A.; Pallares FJ. y Navarro JA., 2000. Immunophenotypical characterization of the lymphocyte infiltrate in caprine pulmonary tuberculosis. *J Comp Pathol.* 123(2-3): 96-103.

43. Tizard, I. 1998. Inmunología veterinaria. 5ta Ed. Mc Graw Hill Interamericana. México. p. 409-418.
44. Torres, P.; Martinez M.; Bernardelli A.; Herrera M. y Lizziero M.; 2000. Saneamiento de la Tuberculosis Bovina en un Rodeo Lechero Caprino en la Provincia de Buenos Aires. SENASA. Argentina.
45. Torres U. 1998. Diagnóstico Situacional de la Provincia de Barranca. Barranca-Perú. p. 13-123.
46. Vidal R. 2002. Contribución de la epidemiología molecular. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica. *Arch Bronconeumol*; 38: 441-451.



APÉNDICE. Mapa del lugar de muestreo: Provincia de Barranca, Lima.