

DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA POR AISLAMIENTO BACTERIOLÓGICO O HISTOPATOLÓGICO DE VACUNOS REACTORES A LA PRUEBA DE TUBERCULINA

Mantilla G.J.1, Ortiz M. M.2, Acosta A. M. 3 , Acosta G. R.4 , Sousa Z. J. 5

SUMARIO

La tuberculosis bovina es una enfermedad causada por una bacteria llamada *Mycobacterium bovis*, pertenece al grupo de las enfermedades zoonóticas, afecta a los animales domésticos mayormente de explotación pecuaria, es cosmopolita, ataca especialmente a bovinos, caprinos, alpacas y porcinos, produce detrimentos considerables tanto en animales como en salud pública; el hombre se contamina por ingestión o inhalación. Esta enfermedad tiene un impacto directo en la eficiencia de los sistemas productivos y en la industria del sector pecuario, ello porque provoca importantes pérdidas en la producción de carne, leche y sus derivados, igualmente es una restricción muy severa en el comercio internacional tanto de animales como de productos y subproductos de origen pecuario.

La finalidad de este trabajo es mostrar opciones de diagnóstico de laboratorio, pasando de un primer período de diagnóstico histopatológico, al aislamiento (gold Standard); permitiendo de esta manera un soporte en la toma de decisiones y acciones en el control y erradicación de la Tuberculosis Bovina.

Este estudio vincula los resultados del trabajo de tesis intitulada “Estudio Histopatológico de Ganglios Linfáticos de Vacunos Positivos a la Prueba de Tuberculina, procesados en laboratorio de SENASA, Lima, Procedentes de las Regiones de Piura, Lambayeque, La Libertad y Lima (1997-2003)” a los resultados obtenidos del procesamiento de las muestras remitidas al mismo Laboratorio en el período 2007-2008 para el descarte de Tuberculosis bovina. En la primera parte se determino que 13 muestras, histológicamente presentaban lesiones compatibles con Tuberculosis bovina; y en la segunda etapa se logro el aislamiento del *Mycobacterium bovis* en 19 muestras remitidas.

INTRODUCCION

La enfermedad es de carácter crónico y es una de las más antiguas del mundo, su presencia se calcula entre 15-20 mil años de existencia y que de evento en evento, en algún momento de la evolución pasa a tener un reservorio en la escala animal en consecuencia y de manera específica su origen esta en una especie de *Mycobacterium tuberculosis* ancestral.

La Tuberculosis Bovina es producida por el *Mycobacterium bovis*, aislado por primera vez por en el año 1898 por Theobald Smith, el cual diferenció el bacilo tuberculoso humano del bacilo bovino, por las características de los cultivos y su diferente patogenicidad para animales de experimentación. Sin embargo, recién en 1970 se legitimó el nombre de *M. bovis* (Karlson y Lessel) para el bacilo bovino, que constituye parte del Complejo *M. tuberculosis*.

¹ Laboratorio de Bacteriología - Centro de Diagnostico de Sanidad Animal – Servicio Nacional de Sanidad Agraria – SENASA – Ministerio de Agricultura. Perú.

² Responsable del Laboratorio de Bacteriología - Centro de Diagnostico de Sanidad Animal – Servicio Nacional de Sanidad Agraria – SENASA – Ministerio de Agricultura. Perú

³ Consultor - Ex Profesor Principal a dedicación exclusiva de Microbiología y Serología de la Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Lima, Perú.

⁴ Jefe de Oficina de Centros de Diagnóstico y Producción del Servicio Nacional de Sanidad Agraria – SENASA – Ministerio de Agricultura. Perú.

⁵ Medico Veterinario - Consultor en Sanidad Animal

Las micobacterias pertenecen al orden Actinomycetales, familia de Mycobacteriaceae y género Mycobacterium. Son bacilos ácido-alcohol resistentes por que resisten a la decoloración con alcohol ácido (método de Ziehl Neelsen), debido a que sus paredes celulares son ricas en contenido lipídico por los ácidos micólicos (60 a 90 átomos de carbono), no móviles, no esporulados, pleomórficos, aerobios, parásitos intracelulares facultativos, en medios de cultivo sólido desarrollan formando colonias lisas o rugosas, generalmente opacas. *Mycobacterium bovis* crece más lentamente que *M. tuberculosis*, es microaerófilo y tiene una temperatura óptima de crecimiento de 37 °C. La morfología colonial de *M. bovis* es disgónica y no cromógena.

Existen más de 30 especies de éste Género descritas, pero interesan fundamentalmente aquellas que son estrictamente patógenas tanto para los animales como para el hombre: *M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. avium* cuyas especies receptoras vivientes mas afines son el hombre, los bóvidos y las aves respectivamente, aunque en ocasiones ocurren infecciones cruzadas. No debemos dejar de lado que en la identificación del agente etiológico se toma en cuenta sus propiedades metabólicas y bioquímicas, su estructura antigénica, sensibilidad y patogenicidad a las diferentes especies animales, a lo cual se agrega en la actualidad la Biología Molecular su ADN y el empleo de técnicas derivadas permitiendo de esta manera diferenciar especies y subespecies, incluso entre cepas de una misma especie

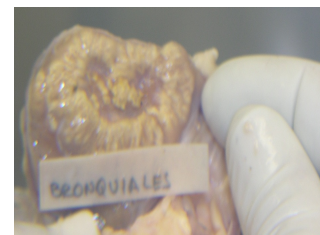
Su presencia y/o sospecha, significa una condicionante que limita la comercialización del o los animal(es), así como sus productos de manera que va más allá de la simple eliminación de los mismos con reacción positiva, la certificación de los hatos se hace en base a la totalidad de la población y no por animales individuales, es decir, existen hatos libres y hatos no libres. Los animales que provienen de establos y/o rebaños infectados, que no cuentan con la consagración de buena fe de ser libres de la infección acreditada y expedida por el Programa de Control y Erradicación del Ministerio de Agricultura (SENASA) ocasionan consecuentemente inconvenientes en el sistema de mercadeo reproductivo de reemplazos.

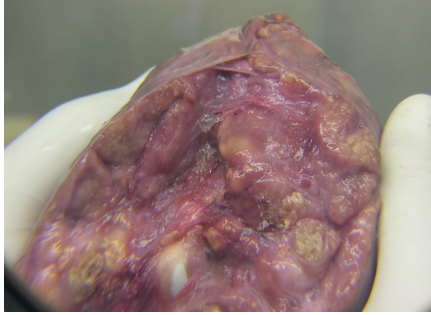
La infección en los bovinos no solamente motiva pérdidas de carácter económico para el ganadero, sino que también permite difundir la enfermedad ya sea por ingestión y/o manipuleo de material contaminado, de manera que la población humana se ve comprometida por el riesgo que ello conlleva, además es fuente de infección para muchas otras especies vivientes tanto domésticas como silvestres. Más aún con la integración y globalización económica de los países y/o regiones hacen necesario mejorar la población ganadera en términos de competitividad

Como antecedentes de la condición en la que se encontraba el país años atrás, SENASA en el año 1999 reportó una prevalencia promedio fue 0.22% de un total de 108265 bovinos, en el siguiente año 2,000 aumentó a 0.38%, por un mayor números de casos reportados en una región del país.

SÍNTOMAS Y LESIONES ANATOMOPATOLÓGICAS

En los bovinos la enfermedad no presenta manifestaciones y/o síntomas específicos, de manera que el diagnóstico clínico tiene poco valor, dado a que la misma es una infección crónica y que, por lo general en los estadios avanzados presenta una emaciación progresiva, en otros casos incluso suelen toser y ocasionalmente presentan





ganglios linfáticos agrandados: La vía de infección más común es la aerógena (80-90% de casos). Las lesiones pueden variar y localizarse en diferentes órganos y ganglios linfáticos en forma de nódulos o tubérculos con material purulento caseoso de color amarillento cuyo tamaño y cantidad es variable. Los hallazgos pulmonares, generalmente son áreas de tamaño considerable con presencia de caseificación con zonas de mineralización. En las superficies serosas así como en las cápsulas de los órganos se

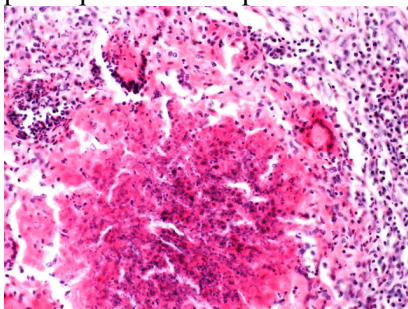
notan nódulos firmes de superficie lisa que van de los 2 a los 10 cm de diámetro. En otros suele presentarse zonas caseificadas en áreas profundas como en la TBC perlada.



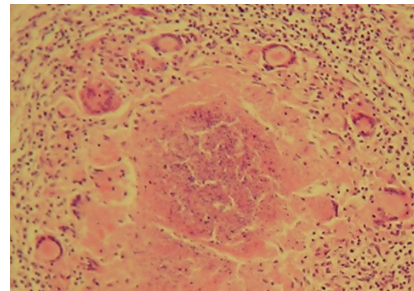
Reacción positiva a Prueba de Tuberculina (PPD) intradermoreacción ano caudal: se observa un gran edema, evidenciando la reacción

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Para el diagnóstico histopatológico se empleó la coloración de hematoxilina y eosina (HE). Se buscó lesiones características de tuberculosis, microscópicamente se observa la presencia de granulomas múltiples de diversos diámetros en el parénquima. La parte central engrosada con abundante material



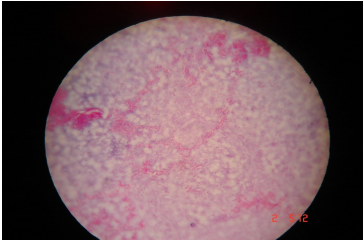
caseoso, los bordes con numerosas células mononucleares y células gigantes multinucleadas de diversos tamaños característicos en los granulomas tuberculosos. A la coloración Ziehl Neelsen de los mismos cortes se observó la presencia del bacilo tuberculoso.



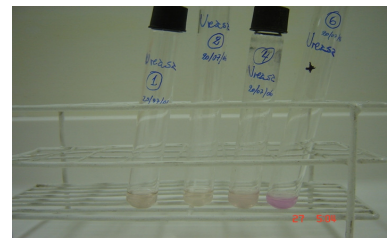
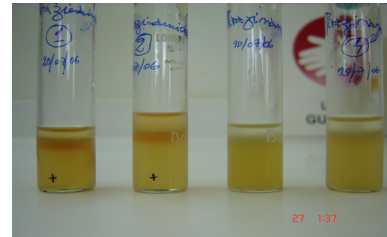
Para el diagnóstico bacteriológico, se decontaminó la muestra según Petroff, luego se sembró en medios sólidos con y sin huevo, con y sin piruvato, con y sin micobactina. La identificación de los aislamientos se realiza normalmente determinando propiedades bioquímicas y de cultivo. En un medio sólido adecuado con piruvato, las colonias de *M.*



bovis son lisas y de color pardusco. El microorganismo crece lentamente a 37°C, pero no crece a 22°C ni a 45°C. *Mycobacterium bovis* es sensible a la hidrazida del tiofen-2-ácido carboxílico (TCH) y a la hidrazida del ácido isonicotínico (INH). Son sensibles al ácido para-amino salicílico y a la estreptomina. La producción de niacina y la reducción de nitrato dan resultados negativos. En la prueba de la



amidasa, *M. bovis* es positivo para ureasa y negativo para nicotaminidasa y pirazinaminidasa, es catalasa negativo. Es una bacteria microaerófila y no cromogénica.



La tesis intitulada: “Estudio Histopatológico de Ganglios Linfáticos de Vacunos Positivos a la Prueba de Tuberculina, procesados en laboratorio de SENASA, Lima, Procedentes de las Regiones de Piura, Lambayeque, La Libertad y Lima (1,997 2,003)”, señala que se analizaron y/o estudiaron ganglios linfáticos (mesentéricos, bronquiales y supramamarios) encontrándose lesiones compatibles con tuberculosis bovina en 13 muestras. En el período comprendido entre los años 2007-2008, se solicitó el descarte de esta enfermedad por cultivo bacteriológico, habiéndose aislado el *Mycobacterium bovis* en 19 muestras. Esto demuestra claramente la fidelidad y eficacia de la prueba de tuberculina aplicada dentro del Programa de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina en los hatos comprometidos en este Programa del SENASA - Ministerio de Agricultura

TRATAMIENTO

La experiencia acredita que en bovinos afectados se han intentado numerosos tratamientos, por ejemplo el uso de isoniazida en el pastoreo, y otros; pero los reportes indican que NINGUNO es eficiente en controlar la enfermedad. Incluso el problema se agravó porque los propietarios esperanzados en el tratamiento que “aplicaban”, descuidaron otras medidas que permitió el contagio de otros animales sanos; incluso se infectaron rebaños adyacentes los cuales tenían condición de establo libre por mucho tiempo. Adicionalmente se puede manifestar que la enfermedad es controlable y luego erradicable mediante acciones y/o programas sistemáticos orientados a la detección, identificación y eliminación de los animales positivos a la infección por las pruebas conocidas.

Sin embargo se debe mencionar que en la literatura se exhiben muchos quimioterápicos y antibióticos activos contra el *M. bovis*, pero de ningún modo se recurre al tratamiento de lo animales enfermos (bovinos) con diagnóstico positivo y se debe a la

inconveniencia que conlleva principalmente a considerar otras causas como: costo del tratamiento, cantidad y disponibilidad de la droga, dificultad para fijar criterios de terapia con riesgo de resistencia a la droga y mutación del agente, conflicto de intereses y condición organizativa, inseguridad de selección y erradicación. En consecuencia todo esto llevaría a serios problemas en cualquier explotación pecuaria, no solamente en producción lechera, sino en otras similares por los riesgos que ello conlleva.

BIBLIOGRAFIA

1. Acha, P. N. y Szyfres, B. 1989. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 2da Ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud. p. 174-183.
2. Beer, J. 1,981. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. Tomo II. Ed. Acribia. España. p. 229-252.
3. De Kantor, I. 1988. Bacteriología de la Tuberculosis. OPS / OMS. Serie de Monografías Científicas y Técnicas N. 11 Rev. I. p. 11-13 / 40-47.
4. Guidelines for speciation within the Mycobacterium tuberculosis complex World health organization 1996.
5. Mantilla Gallardo José Bernardo. 2007. “Estudio Histopatológico de Ganglios Linfáticos de Vacunos Positivos a la Prueba de Tuberculina, procesados en laboratorio de SENASA, Lima, Procedentes de las Regiones de Piura, Lambayeque, La Libertad y Lima (1997 2003)”.
6. Manual de diagnóstico de micobacterias de importancia en Medicina veterinaria AAVLD – Comisión científica de micobacterias 2005.
7. Organización Mundial de Sanidad Animal OIE. Manual de Diagnóstico de Enfermedades de los animales Terrestres y de las Aves. Quinta Edición, 2004.
8. SENASA, 2000. Reglamento para el Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina. D. S. No. 031-2000-AG. Normas Legales. Diario “El Peruano”. 189944-189947 pp.
9. Stanchi, N. O y col. Microbiología Veterinaria. Primera Edición, 2005