

UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACION INTERNACIONAL
(UCI)

**DETERMINAR LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA METODOLOGÍA
DE DIAGNÓSTICO PARA LA TUBERCULOSIS BOVINA MEDIANTE LA
PRUEBA DE PCR EN HISOPADOS FARÍNGEOS**

JOSE DARIO GIRALDO ARANGO

PROYECTO FINAL DE GRADUACION PRESENTADO COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OPTAR POR EL TITULO DE
MASTER EN GERENCIA DE
PROGRAMAS SANITARIOS EN INOCUIDAD DE ALIMENTOS

San José, Costa Rica

Abril de 2010

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

A Nuestro Creador y a su Santísima Madre, por el haberme permitido concluir con éxito todas las actividades programadas en esta Maestría, el darme el valor y la posibilidad de llevar a término este sueño.

A mi querida y adorada esposa Diana Patricia, a mis dos pequeñas hijas que durante tantas horas de trabajo me alentaron y fueron mis coequiperas para que pudiera con toda la voluntad terminar satisfactoriamente el proceso iniciado.

A las instituciones ICA, COLEGIO MAYOR DE ANTIOQUIA, INVIMA, que de una u otra forma colaboraron en la feliz conclusión de la tesina, a sus representantes y colaboradores un mi Dios les pague.

A los docentes de la UCI y al tutor que han sido parte fundamental en todo el proceso formativo impartido en este espacio de la vida académica.

Y a mis compañeros del INVIMA, especialmente a los compañeros de la Maestría, Nancy Acevedo y Paulo Cesar Vera, con quienes se hizo equipo durante toda la permanencia de la jornada académica.

UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACION INTERNACIONAL
(UCI)

Este Proyecto Final de Graduación fue aprobado por la Universidad como
Requisito parcial para optar al grado de
Master en Gerencia de Programas Sanitarios en Inocuidad de Alimentos

JORGE ANIBAL BOLIVAR MEJIA
DIRECTOR DEL PROYECTO

SACHA TRELLES
Lector

HENRY BENAVIDES
Lector

JOSE DARIO GIRALDO ARANGO
SUSTENTANTE

CONTENIDO

	Página
Dedicatoria y Agradecimientos.....	i
Aprobación.....	ii
Contenido.....	iii
Resumen.....	vi
Abstract.....	vii
Índice de Cuadros.....	viii
Índice de Figuras.....	ix
Índice de Gráficas.....	ix
Lista de Abreviaturas y siglas.....	x

CUERPO DEL TRABAJO

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	OBJETIVOS	
2.1	OBJETIVO GENERAL.....	4
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
3.	MARCO TEÓRICO	
3.1	DESCRIPCIÓN DE LA SITUACIÓN DE LA TUBERCULOSIS	5
3.1.1	JUSTIFICACIÓN DEL IMPACTO.....	8
3.2	NORMATIVIDAD COLOMBIANA RELACIONADA CON LAS ZONOSIS.....	9
3.2.1	LEY 09 DE 1979.....	9
3.2.2	DECRETO 2278 DE 1982.....	10
3.2.3	DECRETO 1500 DE 2007.....	11
3.2.4	RESOLUCIÓN 2905 DE 2007... ..	12
3.2.5	RESOLUCIÓN 001513 de julio 15 de 2004 del INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO (ICA).....	15
3.2.6	DOCUMENTO CONPES 3375.....	17
3.2.7	DOCUMENTO CONPES 3376.....	18
3.2.8	DECRETOS Y RESOLUCIONES EN COLOMBIA RELACIONADOS CON LA PRODUCCION Y COMERCIALIZACION DE LA LECHE	
	A. DECRETO 616 DE 2006 (28 de Febrero).....	19
	B. DECRETO 2838 DE 2006 (Agosto 24).....	19
	C. RESOLUCION 000185 del 24 Enero del 2007.....	21
	D. DECRETO 3411 del 2008 (10 Septiembre).....	22
	E. RESOLUCION 2008032689 del 14 de Noviembre de	

	2008.....	24
3.3	NORMATIVIDAD INTERNACIONAL ACERCA DE LA TUBERCULOSIS	
3.3.1	ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS)...	24
3.3.2	LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DEL COMERCIO (OMC)...	25
3.3.3	ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (OIE)	26
	Capítulo 11.7 Tuberculosis bovina.....	26
	Artículo 11.7.1 Disposiciones generales.....	26
	Artículo 11.7.2 País o zona libre de TBC bovina.....	27
	Artículo 11.7.3 Compartimento libre de TBC bovina	28
3.4	ANTECEDENTES DE LA ENFERMEDAD	
3.4.1	DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD.....	30
3.4.2	TBC EN GANADO BOVINO EN EL MUNDO.....	37
3.5	TUBERCULOSIS EN COLOMBIA.....	46
3.5.1	EPIDEMIOLOGIA DE LA TUBERCULOSIS.....	46
3.5.2	INCIDENCIA ANUAL DE TBC PULMONAR.....	52
3.5.3	FACTORES DE RIESGO.....	55
3.5.4	FACTORES DE PROTECCIÓN.....	56
3.5.5	REPORTE DE CASOS EN HUMANOS POR CONSUMO DE LECHE CRUDA.....	59
3.6	CAMPAÑA PARA CONTRARRESTAR LA TUBERCULOSIS..	
4.	METODOLOGIA	61
4.1	MATERIALES Y MÉTODOS.....	62
4.1.1	MÉTODOS DIRECTOS.....	63
	COLORACIÓN DE ZIEHL NEELSEN.....	64
	HISTOPATOLOGÍA.....	65
	CULTIVO BACTERIOLÓGICO.....	65
4.1.2	MÉTODOS INDIRECTOS.....	66
	PRUEBA TUBERCULÍNICA CERVICAL SIMPLE.....	67
	PRUEBA TUBERCULÍNICA ANO-CAUDAL.....	68
	PRUEBA TUBERCULÍNICA COMPARATIVA.....	68
	REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	76
	DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD.....	80
	REACCIÓN TÉRMICA BREVE.....	87
	PRUEBA DE STORMONT.....	87
	PRUEBA DE INTERFERÓN GAMMA (IFN).....	88
	PRUEBA DE ELISA.....	89
4.1.3	TOMA, RECEPCIÓN CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS	
	EXÁMENES BACTERIOLÓGICOS.....	92
	EXUDADOS.....	95
4.2	LEGISLACIÓN ICA SOBRE PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO PARA TBC.....	96

4.3	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	97
4.3.1	ENSAYOS PREVIOS REPORTADOS.....	97
4.4	MÉTODOS Y MATERIALES UTILIZADOS	109
4.4.1	RECUPERACIÓN DE MATERIAL TOMADO POR HISOPADO.....	118
5.	RESULTADOS Y DISCUSION	
5.1	LIMITACIONES	120
5.2	RESULTADOS	121
5.2.1	RESULTADOS DEL LABORATORIO INSTITUCIONAL PARA MICROBIOLÓGICO E HISTOPATOLOGÍA.....	121
5.2.2	RESULTADOS DE LABORATORIO UNIVERSITARIO...	123
6.	CONCLUSIONES	125
7.	RECOMENDACIONES	130
	PARTE FINAL	
8.	BIBLIOGRAFIA	133
9.	ARTICULO CIENTIFICO PARA PUBLICACION	141
10.	APÉNDICES: GLOSARIO, RESULTADOS DE TUBERCU- LINAS, CHARTER,	146

RESUMEN

La determinación de la Tuberculosis bovina mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa, prueba del PCR, utilizando los exudados nasales, es un componente del presente trabajo, para lo cual se procedió a tomar muestras en búfalos en fosas nasales, positivos a Tuberculosis diagnosticados previamente con la prueba de la tuberculina.

La prueba del PCR tiene la propiedad de determinar el ADN del *Mycoplasma* específico en un término rápido en relación con el tiempo que tarda la prueba de tuberculina en obtener resultados. Permitiendo determinar la sensibilidad y la especificidad del agente productor de esta zoonosis.

Los métodos moleculares que permiten detectar secuencias de ADN, en este caso específicas de *M. bovis*, puede ser una forma más rápida y sensible para el diagnóstico. La prueba de PCR aplicada para el diagnóstico de *M. bovis*, exhibe una sensibilidad entre el 65% y el 99% y una especificidad del 98%. Sin embargo, el éxito de las metodologías que se aplican para la búsqueda de ADN depende de la secuencia blanco que se elija.

En el presente trabajo se integra toda la normatividad actual en el tema de la presencia, control y prevención de la Tuberculosis, su incidencia en los seres humanos y las repercusiones que se están dando en las zonas ganaderas del país y del departamento de Antioquia (Colombia) en particular.

Se hace referencia a la acción de este flagelo como zoonosis, como agente productor de enfermedades transmitidas por alimentos, como es la leche consumida cruda y sin pasteurizar, la cual es directamente contaminada al ser extraída de animales positivos a Tuberculosis y el cómo son afectados desde los operarios de las plantas de beneficio, los encargados de manejar los animales en los predios y los profesionales que tienen que ver en una u otra forma con la salud de los mismos bovinos

Muchos casos que tienen cuadros clínicos respiratorios infecciosos, con mastitis infecciosa y que probablemente son Tuberculosis, están siendo sub-diagnosticados, sub-registrados y por consiguiente, olvidados. Cerca del 70% del ganado en América Latina, se halla en zonas con infección tuberculosa prevalente, y sólo un 17% en áreas virtualmente libres de esa infección. La Tuberculosis bovina (TBB) se transmite al hombre por ingestión de leche no pasteurizada y por vía respiratoria. Habitantes rurales (especialmente los niños) y trabajadores de frigoríficos en áreas infectadas son una población de riesgo.

PALABRAS CLAVES: Polimerasa, *Mycoplasma*, Tuberculosis, Tuberculina, Normatividad.

ABSTRACT

DETERMINING THE SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF DIAGNOSTIC METHODS FOR BOVINE TUBERCULOSIS TESTING BY PCR THROAT SWABS

The determination of bovine TB through Chain Reaction Polymerase, PCR test, using nasal swabs, is a component of this work, for which we proceeded to take samples in buffalo nostrils, previously diagnosed TB positive with the tuberculin test.

The PCR test has the property to determine the specific Mycoplasma DNA in a quick word regarding the time it takes for the tuberculin test results. Possibilities to determine the sensitivity and specificity of the producing agent of this zoonoses.

Molecular methods to detect DNA sequences, in this specific case *M. bovis* may be a more rapid and sensitive for diagnosis. The applied PCR for the diagnosis of *M. bovis* exhibits sensitivity between 65% and 99% and a specificity of 98%. However, the success of the methodologies that are applied to the search for DNA depends on the chosen target sequence.

In the present work integrates all the current regulations on the issue of the presence, control and prevention of TB, its impact on humans and the impacts that are occurring in pastoral areas of the country and the department of Antioquia (Colombia) in particular.

Reference is made to the action of this scourge as zoonoses as an agent producing food-borne diseases, such as raw milk consumed unpasteurized, which is directly contaminated to be extracted from TB positive animals and how they are affected from plant operators to benefit those responsible for managing the animals on the premises and professionals that deal in one way or another with the health of their cattle

Many clinical cases have respiratory infections, infectious mastitis tables and are likely to TB, are being under-diagnosed, under-reported and therefore forgotten. About 70% of cattle in Latin America is found in areas with prevalent TB infection, and only 17% in areas virtually free of infection. The Bovine Tuberculosis (TBB) is transmitted to humans by ingestion of unpasteurized milk and airway. Rural residents (especially children) and refrigeration workers infected areas are a high risk population.

KEY WORDS: Polymerase, Mycoplasma, Tuberculosis, Tuberculin, Standardization.

INDICE de CUADROS

Cuadro 1.	Tabla 6 (Resolución 2905/2007) Procedimientos de referencia para la Inspección post-mortem.....	14
Cuadro 2.	Cuadro referente para determinar la muestra en predios para hatos Libres de tuberculosis.....	22
Cuadro 3.	Plazos otorgados para todo el proceso de reconversión según los términos establecidos en el decreto 2838 de 2006 para los municipios según la población de habitantes.....	23
Cuadro 4.	Población de bovinos, porcentajes estimados de infección TBC en ganado lechero, y casos humanos con aislamiento de M. bovis, en 10 países de América Latina y del Caribe (2000-2006).....	38
Cuadro 5	Europa. Tuberculosis bovina, en ganado, 2007).....	38
Cuadro 6.	Tipo de prueba de Tuberculina (Sensibilidad y Especificidad)	67
Cuadro 7.	Cálculos de la sensibilidad y especificidad diagnósticas mediante una tabla de 2 x 2 que asocia el estado de infección con los resultados de la prueba con 2.000 animales de referencia (OIE, 2006).....	86
Cuadro 8.	Principales características de los miembros del complejo M. tuberculosis.....	91
Cuadro 9	Componentes del medio de transporte Stuart.....	94
Cuadro 10	Características de los hallazgos a la Inspección post-mortem, Histopatología y PCR.....	102
Cuadro 11	(Tabla I) Resultados a las pruebas de Tuberculina y PCR de Ganado localizado en zonas de alta y baja prevalencia de Tuberculosis en el estado de Nuevo León, México.....	104
Cuadro 12	(Tabla II) Resultados de PCR y Tuberculina para análisis de Sensibilidad y especificidad.....	106
Cuadro 13	Resultados de la prueba de tuberculina a lote de búfalos, en Puerto Nare, Septiembre 29 de 2008, realizado por el ICA....	111
Cuadro 14	Resultados microbiológicos por Ziehl Neelsen, de muestras de Animales sacrificados del Municipio de Puerto Nare, Antioquia (pag. 1).....	122
Cuadro 14a	Resultados microbiológicos por Ziehl Neelsen, de muestras de Animales sacrificados del municipio de Puerto Nare, Antioquia (pág. 2).....	123
Cuadro 15	Resultados microbiológicos por Ziehl Neelsen de muestras de Animales sacrificados del municipio de Tarazá, Antioquia.	124
Cuadro 16	Relación de eventos presentados de Tuberculosis en el Dpto. de Antioquia en ganado bovino y bufalino, ICA, Medellín 2010.....	126
Cuadro 17	Relación de resultados de laboratorio a búfalos sacrificados el 14 de Diciembre de 2009 en Rionegro, INCAROSA S.A...	167

ANE
XO

INDICE de FIGURAS

Figura 1	Nódulos caseosos en Búfalos, Puerto Nare (Dpto. de Antioquia).....	33
Figura 2.	Nódulo o tubérculo, (pulmón de búfalo, Municipio de Puerto Nare, Dpto. de Antioquia),.....	34
Figura 3	Búfalos afectados de Tuberculosis, Municipio de Puerto Nare (Dpto. de Antioquia).....	35
Figura 4	También los búfalos han resultado afectados.....	40
Figura 5	Búfalos en Puerto Nare (Dpto. Antioquia).....	41
Figura 6	Fuentes de Infección y modo de transmisión.....	50
Figura 7	Comparación tuberculosos.....	51
Figura 8	Ciclo de transmisión del Mycobacterium bovis entre Bovinos y Humanos.....	53
Figura 9	Niños en Puerto Nare, predio infectado.....	61
Figura 10	Caseificación en pulmón y ganglio linfático mediastínico (Puerto Nare).....	63
Figura 11	Cuerdas de Mycobacterium tuberculosis (OPS, 2008).....	64
Figura 12	Granuloma tuberculoso.....	65
Figura 13	Prueba caudal de la tuberculina.....	70
Figura 14	Reacción positiva a la tuberculina.....	71
Figura 15	Desinfección de vehículos.....	113
Figura 16	Corral de observación. Planta INCAROSA S.A.....	113
Figura 17	Izado y sangría en planta de beneficio INCAROSA S.A.....	114
Figura 18	Protección funcionarios y operarios. Planta INCAROSA S.A...	114
Figura 19	Revisión ganglios de la cabeza.....	115
Figura 20	Ganglios afectados en vísceras rojas.....	116
Figura 21	Hígado, Nódulos caseosos en Búfalos, Puerto Nare.....	117

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1	Incidencia de Tuberculosis, Departamento de Antioquia, Colombia 2000-2008.....	54
Grafica 2	Tendencia de la incidencia tuberculosis pulmonar Vs. Tendencia de la mortalidad Antioquia 1959-2008.....	55
Grafica 3	Tuberculosis Pulmonar según baciloscopia Antioquia 2008....	58
Grafica 4	Interpretación de la Prueba Doble Comparativa.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS:

%:	Por ciento
ADN:	Acido desoxirribonucleico
AGAH:	Servicio de Sanidad Animal
BCG:	Bacillus Calmette-Guérin
BAAR	Bacilos Acido Alcohol resistentes
Cm:	Centímetros
cm ³ :	Centímetro cúbico
CODEX:	Código
Conf.:	Confirmado
CONPES:	Consejo Nacional de Política Económica y Social
dNTPS:	Dinucleótidos
Dpto.:	Departamento
EEB:	Encefalopatía Espongiforme Bovina
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
FEDEGÁN:	Federación de Ganaderos de Colombia.
IBAR:	Oficina Interafricana de Recursos Animales.
ICA:	Instituto Colombiano Agropecuario
INCAROSA:	Industrias Cárnicas del Oriente S.A. (Sede Rionegro, Antioquia, Colombia)
INF:	Interferón Gamma
INVIMA:	Instituto Nacional para la Vigilancia de Medicamentos y Alimentos
KCl:	Cloruro de Potasio
lb:	libra
M. bovis:	Mycobacterium bovis
min:	minuto
ml:	Mililitro
mm:	Milímetro

MSF:	Medidas Sanitarias y Fitosanitarias
MVA:	Médico Veterinario Auxiliar
MVO:	Médico Veterinario Oficial
°C:	Grados Centígrados
OIE:	Organismo Internacional de Epizootias
OIEA:	Organismo Internacional de Energía Atómica
OMC:	Organización Mundial del Comercio
OMS:	Organización Mundial de la Salud
OPS:	Organización Panamericana de la Salud.
OUA:	Organización de la Unidad Africana
P:	páginas
PCR:	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PPD:	Derivado Proteico Purificado.
PTub:	Prueba de tuberculina
S.A.:	Sociedad Anónima
Seg:	Segundos
SIDA:	Síndrome de la Inmunodeficiencia adquirida.
SIVIGILA:	Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica.
Sosp:	Sospechoso
TBB:	Tuberculosis bovina
TBC:	Tuberculosis
UI:	Unidades internacionales
Ufc:	Unidad formadora de colonias
US:	Dólares
USA:	Unión de Estados Americanos
VIH:	Virus de la Inmunodeficiencia humana.

CUERPO DEL TRABAJO

1. INTRODUCCION

El 24 de marzo de 1882, el bacteriólogo alemán Robert Koch anunció el valioso descubrimiento del bacilo de la tuberculosis, un paso vital en la prevención y el control de esta enfermedad, que en aquel momento era responsable de la muerte de una de cada siete personas en Estados Unidos y en Europa.

Cien años más tarde, la Organización Mundial de la Salud patrocinaba el Día Mundial de la Tuberculosis para conmemorar el descubrimiento del Biólogo. Koch y fomentar la toma de conciencia ante esta enfermedad, que aún hoy constituye una de las principales amenazas a la salud pública y sigue siendo responsable de casi 2 millones de defunciones al año.

Controlar la tuberculosis es una de las Metas de Desarrollo del Milenio, un compromiso por el bienestar humano que asumieron todos los países.

La legislación colombiana reporta dentro de la normatividad vigente sobre aspectos sanitarios, inicialmente en la ley 09 de 1979, en su artículo 375 referente a una de las causas de la Tuberculosis como enfermedad zoonótica de carácter obligatorio en su detección y eliminación: “Para consumo humano, la leche deberá ser obtenida higiénicamente; ésta y sus derivados deberán proceder de animales sanos y libres de zoonosis”.

El esputo blanco amarillento de los pulmones que es expulsado con la tos por los animales enfermos contiene gérmenes de la TB. Así se contagia la infección a otros animales. La leche de las vacas infectadas puede contener gérmenes de la TB y transmitir así la enfermedad a los terneros y a las personas. La tuberculosis

desde sus primeros inicios ha causado en la humanidad un sinnúmero de muertes. Los brotes han sido originados desde la más mínima insignificancia al consumir la leche cruda de animales positivos hasta el contacto con estos en los centros de faena o en los procedimientos de tratamiento médico veterinarios o de los operarios animales, o en la manipulación de las carnes y subproductos en la misma faena de proceso.

Es por lo anterior que en nuestro país se han ido multiplicando los casos de Tuberculosis en ganado bovino, quizás porque no se han eliminado en un todo y por todo con los fusiles sanitarios implementados a los portadores en otras épocas, o quizás porque las importaciones realizadas de otros países no han cumplido con los requerimientos que la normatividad exige.

Hay sectores de nuestro país en donde se diagnostica positivo el animal, pero es la base de la economía del propietario por lo cual no se programa su erradicación o sectores en donde no hace parte de su economía y tampoco se programa su erradicación o ésta es muy lenta.

El contagio de los operarios y consumidores de leche cruda o de sus derivados ha ido en incremento según se muestran en los diferentes reportes, contagio de los profesionales que atienden en las plantas de beneficio, personas y animales positivos que no se reportan y pasan desapercibidos y personas positivas que no concluyen con su tratamiento.

En los estudios realizados sobre tendencias de la producción pecuaria mundial, que efectúa la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), en el informe presentado en Brasil en el 2005, en los países en vías de desarrollo se estima un aumento considerable en los productos

pecuarios. Como es el caso de la carne bovina y la producción láctea, que en el 2005 es de 265 y 243 millones de toneladas respectivamente, la que se verá incrementada hasta 310 y 747 millones de toneladas para el 2014. Lo que deja en evidencia el incremento masivo que tendrá la demanda de productos pecuarios, en gran parte debido al aumento en el ingreso per cápita de los habitantes de los países en desarrollo.

Afirma el anterior informe que “Para satisfacer las futuras demandas de productos pecuarios el Continente Americano actualmente se encuentra bien posicionado y quizás sea el único continente con posibilidades de incrementar su producción. Por el momento ocupa el primer lugar mundial en producción de carne de ave y bovina, el tercero en carne de cerdo y el segundo en producción láctea y dentro del ámbito continental destacan los países sudamericanos como Brasil, Argentina, Chile, México y Uruguay como grandes productores de carne de bovino, de ave, de cerdo y productos lácteos. Empleando para ello sistemas extensivos e industriales de punta para la producción animal.

Para detectar la enfermedad en los animales se tienen un buen número de pruebas diagnósticas referenciadas en este estudio, todas ellas valoradas por su calidad, pero no determinantes. La presentación de la prueba de PCR es una para identificar patógenos de difícil cultivo mediante la amplificación de secuencias génicas presentes en los animales positivos, con la determinación de la sensibilidad y especificidad diagnósticas asociando los datos negativos y positivos con el estado infeccioso conocido o prueba de oro que es la tuberculina.

La justificación anterior mueve la presentación de este trabajo, más aún con la situación actual de la normatividad reinante en Colombia, para lo cual se aportarán elementos que puedan servir para entrar a modificar el actual sistema normativo

que tiene un apoyo reglamentario oficial con las leyes, decretos y resoluciones vigentes y contribuir, con el apoyo científico, en donde se pueda definir, hasta donde sea factible, que los animales no salgan de los predios en donde se les ha diagnosticado su positividad y sean sacrificados inmediatamente allí mismo, bajo condiciones especiales, por la gran posibilidad que tienen de diseminar en grandes extensiones de su recorrido a las plantas de beneficio el bacilo causante de esta enfermedad.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Plantear la posibilidad de utilizar otros métodos diagnósticos en la determinación de la Tuberculosis bovina y el control de su diseminación desde el mismo predio origen de su hallazgo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Objetivo específico 1. Determinar la sensibilidad de la metodología de diagnóstico actual de la tuberculosis bovina.
- Objetivo específico 2. Introducir un nuevo elemento de diagnóstico para definir el destino de animales positivos a tuberculosis bovina
- Objetivo específico 3. Ayudar en la lucha contra la Tuberculosis mediante el control en el predio de animales positivos y fijar su destino final en el mismo sitio de origen.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 DESCRIPCIÓN DE LA SITUACIÓN DE LA TUBERCULOSIS

Desde el año de 1976 cuando apareció el primer caso de TUBERCULOSIS bovina en Colombia, en el Municipio San Miguel de Sema (Boyacá), en una población de 220 bovinos enfermos: 49 (sacrificados) (Reporte por el ICA), Se aisló y tipificó por primera vez el *Mycobacterium bovis*, iniciándose la era de la dispersión de este flagelo por todo el país. Se realizó el control con fusil sanitario en unas regiones, pero el problema se diseminó aún en condiciones insospechadas.

Solo en el año 2008 – 2009 en el departamento de Antioquia, se realizaron sacrificios controlados de ocho (8) lotes de ganado bovino positivos a la prueba tuberculina, en plantas de beneficio animal, autorizadas por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) con el riesgo consabido para los operarios de las plantas, adicionando lo concerniente al tránsito de animales de un sitio a otro con la eliminación de bacilos en aerosoles por los mismos animales positivos por todas las regiones por donde circularon.

Por limitaciones administrativas en el año 2009 se sacrifican 29 animales en el mes de Diciembre, los que ya estaban diagnosticados como positivos desde el 29 de Septiembre del 2008, de un total de 130 animales diagnosticados positivos en varios municipios del departamento de Antioquia.

Quedan aún sin sacrificar, numerosos animales diagnosticados positivos con la prueba tradicional de la tuberculina, animales que llevan más de un año de declaración de positividad. La pregunta que se hace un ciudadano común, es qué

pasa con los animales a su alrededor, que pasa con los administradores y con los responsables de estos hatos? Qué pasa con los productos (leche cruda, quesos de leche cruda, carne), que de estas fincas se generan para los consumidores finales y más aun, cuando la normatividad permite la libre comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada.

Son una serie de interrogantes que surgen al conocer esta cruda realidad ante la carencia de protocolos estatales versátiles y aplicables al respecto. Cuál es el mapa de riesgos establecido sobre esta enfermedad en el país?, Cuántos y cuáles son los predios, los municipios y los departamentos afectados?, si no nos ubicamos en el contexto de la normativa mundial, hacia donde se va a dirigir nuestros mercados y cuántos son los muertos que vamos colocar?

El Instituto Colombiano Agropecuario ICA, presenta su Resolución número 001513 por la cual se establecen medidas sanitarias para la Prevención, el control y erradicación de la Tuberculosis Bovina en Colombia la cual fue fijada en el Diario Oficial 45616 de julio 21 de 2004.

Al Gobierno Nacional corresponde adoptar medidas para proteger la sanidad agropecuaria con el fin de evitar pérdidas económicas, perjuicios a la salud humana y restricción en la comercialización de animales o sus productos.

En tal sentido, la Tuberculosis Bovina ha sido considerada una grave zoonosis a nivel mundial, ocasionando igual o superior cantidad de muertos que la famosa gripe mal denominada porcina H1N1, diagnosticándose la Tuberculosis en diferentes cuencas lecheras, y últimamente en cualquier tipo de ganadería tanto de líneas europeas, asiáticas como en las especies bufalinas, por lo que se hace necesario adoptar medidas sanitarias urgentes para la prevención, el control y la erradicación de la Tuberculosis Bovina en Colombia.

En principio, la resolución define como zonas de erradicación de Tuberculosis bovina algunas cuencas lecheras de departamentos del país, declara zonas indemnes de la enfermedad, adopta metodologías para el diagnóstico de la zoonosis y establece el procedimiento para el saneamiento de predios con ganadería infectada. También adopta medidas para el control de la movilización de animales desde zonas de erradicación hacia zonas indemnes.

Finalmente y en aras de la vigilancia epidemiológica se imponen obligaciones a quienes tiene que ver con la actividad pecuaria en el país, tanto particulares como funcionarios públicos y define las sanciones a imponerse en caso de incumplimiento de la misma.

Versa en el Manual sobre la Preparación de los Planes Nacionales, para la preparación para emergencias nacionales para la enfermedad de los animales, de la FAO en el año de 1999, en su prefacio: “El control y la erradicación de las enfermedades del ganado son principalmente responsabilidad de los gobiernos nacionales, cuyo ejecutivo para este propósito es el servicio veterinario nacional.

Desde su creación la FAO ha participado activamente en el control de las enfermedades del ganado y su Servicio de Sanidad Animal (AGAH) está dedicado a este fin. A través de los años AGAH, con la ayuda de grupos de expertos y de asistencia técnica, ha jugado un papel normativo clave en el desarrollo de normas y políticas para hacer frente a las principales enfermedades.

El resultado ha sido la reorientación progresiva de los servicios veterinarios, la educación y la investigación a fin de garantizar un enfoque integrado de las principales enfermedades, a la mejora de la salud animal y la productividad y en la preparación de productos de origen animal. En este sentido AGAH colabora con otras organizaciones internacionales y regionales, en particular la Oficina

Internacional de Epizootias (OIE), la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Organismo Internacional de Energía Atómica, con el que la FAO tiene una División Mixta (FAO / OIEA), organizaciones regionales tales como la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Oficina Interafricana de Recursos Animales de la Organización de la Unidad Africana (OUA / IBAR), así como con organismos donantes bilaterales y multilaterales”.

3.1.1 JUSTIFICACIÓN DEL IMPACTO:

- Enfermedad zoonótica de amplia diseminación y riesgo en la población tanto humana como bovina, de transmisión al consumir leche cruda por el contacto con animales positivos a través de aerosoles.
- Presentar el problema de la tuberculosis bovina como tal, en el sentido de la contaminación de leche para consumo humano como una forma directa de afectar la inocuidad de alimentos de alto riesgo.
- Reducir el movimiento de animales de abasto de predios diagnosticados positivos a zonas libres, tanto para el proceso de beneficio como para el proceso productivo.
- Reducir el movimiento de animales de abasto con diagnósticos positivos a tuberculosis a plantas de beneficio de animales de abasto público.
- Impedir la diseminación del bacilo productor de la TBC de animales de abasto mediante el sacrificio en el sitio origen de los mismos.
- Impedir la diseminación del bacilo productor de la TBC de animales de abasto en empleados y productos que se beneficien en plantas de sacrificio.

- Participar en el mercado mundial de la carne, satisfaciendo necesidades de alimentación proteínica, sin restricciones sanitarias por ser enfermedad zoonótica.

3.2 NORMATIVIDAD COLOMBIANA SOBRE LAS ZONOSIS

Colombia luego de promulgado el Códex alimentarius en 1960 ingresa a la etapa motivacional de producir y entregar alimentos inocuos a la población consumidora. Son varios los intentos administrativos que realiza para ingresar en este tema, pero solo en 1979 con la Ley 09 establece normatividad sanitaria en el país y desde aquí se organizan los entes públicos encargados de presentar al mundo un estado comprometido con la necesidad ciudadana de alimentos saludables.

Desde su promulgación en 1979, han pasado muchos decretos, resoluciones, leyes, en un período de más de 30 años, y algo tan sencillo, como es el detectar y controlar animales diagnosticados positivos, se vuelve en una pesadilla para la economía de un país según muchos, pero para los investigadores de la salud, la vemos como una imposibilidad estatal de querer solucionar una de las causas de morbimortalidad por la presencia de esta zoonosis, que afecta directamente a un alimento de altísimo riesgo como es la leche y la carne proveniente de bovinos diagnosticados positivos.

3.2.1 LEY 09 DE 1979

Ley promulgada por el Congreso de la República de Colombia el 24 de Enero de 1979, entrada en vigencia el 25 de enero de ese mismo año, por el cual se dictan medidas sanitarias, tanto para la producción, comercialización y distribución,

dentro del cual en su contenido nos encontramos con mención especial sobre los siguientes artículos:

Artículo 375.- Para consumo humano, la leche deberá ser obtenida higiénicamente; ésta y sus derivados deberán proceder de animales sanos y libres de zoonosis.

Artículo 488.- El Ministerio de Salud deberá:

1. Establecer, organizar y reglamentar un sistema de auditoría para las profesiones médicas y
2. Reglamentar la atención en casos de enfermedades infecciosas y los procedimientos para su prevención y control;
3. Reglamentar los procedimientos de investigación, prevención y control de las zoonosis, fitonosis e intoxicaciones, previa consulta con los organismos especializados

Artículo 592.- En caso de sospecha de zoonosis, la autoridad sanitaria competente, podrá ordenar capturas individuales o masivas de animales sospechosos, para someterlos a observación en sitio adecuado, para su eliminación sanitaria o para su tratamiento, lo mismo que podrá ordenar y efectuar vacunaciones de animales cuando lo estime necesario.

El Ministerio de Salud podrá ordenar la vacunación de las personas que se encuentran expuestas a contraer enfermedades, en caso de epidemia de carácter grave.

3.2.2 DECRETO 2278 DE 1982

Reglamentando la Ley 9ª, se expide este decreto, referente en todo su contexto al tema de plantas de beneficio animal. Decreto que aún hoy está en vigencia y que

dentro del tema de la tuberculosis tiene artículos que hacen referencia al manejo de los animales positivos:

Los artículos 174 y 175 disponen de la autorización para el sacrificio de animales con precauciones especiales cuando hay sospecha de un estado anormal, o cuando ya han sido valorados y se deben someter a este procedimiento y contempla los casos de tuberculosis, brucelosis y fiebre aftosa.

Los artículos 282, 284, 295, específicamente tratan de afecciones de la pleura, afecciones del peritoneo sobre adherencias fibrinosas, Enfermedades y estados patológicos causados por agentes bacterianos o afines como la ... e) Tuberculosis, en los cuales se impone el decomiso total de la canal y las vísceras o se hará la retención de la canal hasta tanto se obtenga el resultado de laboratorio.

3.2.3 DECRETO 1500 DE 2007

En el año 2007 el congreso de la República de Colombia expide la Ley 1122, la cual en su artículo 34, modificó la competencia del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) y de las entidades territoriales en materia de inspección, vigilancia y control de alimentos, determinando como competencia exclusiva del INVIMA las acciones de inspección, vigilancia y control “de la producción y procesamiento de alimentos, de las plantas de beneficio de animales, de los centros de acopio de leche y de las plantas de procesamiento de leche y sus derivados así como del transporte asociado a estas actividades”. De igual manera consagró dicha normativa que a los departamentos, a los distritos y a los municipios les corresponde la vigilancia y control “de la distribución y

comercialización de alimentos y de los establecimiento gastronómicos, y el transporte asociado con dichas actividades.”

Artículo 14. Obligaciones sanitarias. Todos los predios y sistemas productivos de animales destinados al consumo humano deberán garantizar el cumplimiento de las siguientes obligaciones:

1. Implementar acciones para la prevención y el control de las enfermedades declaradas de control oficial.
2. Implementar programas para la prevención, control y vigilancia de los agentes zoonóticos, endémicos y exóticos que afectan a las poblaciones de animales.
3. Implementar las medidas de bioseguridad establecidas por la autoridad sanitaria competente.

3.2.4 RESOLUCIÓN 2905 DE 2007

Para dar cumplimiento al decreto 1500 de 2007 se expide esta resolución específica para el sacrificio sanitario del ganado bovino y bufalino, reglamentando todo el aspecto sanitario de la norma. Esta norma conjuntamente con el decreto 1500, no entran en vigencia hasta tanto los mataderos sean aprobados por la entidad reguladora, el INVIMA:

Resolución que en el **TITULO I**, con el **Objeto y Campo de Aplicación** da claridad al manejo e interpretación de la norma:

Artículo 14. Estado de salud. El personal manipulador debe acreditar su aptitud para manipular alimentos mediante reconocimiento médico soportado por el examen físico clínico y como mínimo con las siguientes pruebas de laboratorio.....:

Parágrafo. La autoridad sanitaria podrá exigir que el personal manipulador de alimentos se someta a exámenes médicos o clínicos cuando lo considere

necesario como es el caso de brucelosis, tuberculosis y otras enfermedades zoonóticas de riesgo ocupacional.

Artículo 59. Beneficio bajo condiciones especiales. El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA, podrá disponer que un animal o lote de animales para consumo humano sea sometido a beneficio bajo condiciones especiales, en los siguientes casos:

1. Cuando la inspección ante-mortem determine la sospecha de una enfermedad o estado anormal que, de ser confirmada en la inspección post-mortem, justifique el decomiso total o parcial.
2. Cuando el animal o lote de animales hayan sido admitidos en la planta de beneficio bajo la condición de que se sometan a precauciones especiales, tal como: Tuberculosis o Reactores a la Prueba de Tuberculina, brucelosis, fiebre aftosa, leptospirosis, lesiones múltiples severas, anasarca, lesiones nerviosas, anaplasmosis, epiteloma del ojo, exantema vesicular o estomatitis vesicular, listeriosis y otras enfermedades.

Artículo 60. Animales sospechosos. Si durante la inspección ante-mortem, la autoridad sanitaria establece la presencia de animales sospechosos:

....5. Los hallazgos compatibles con enfermedades de control oficial, en particular enfermedades vesiculares y lesiones granulomatosas compatibles con tuberculosis, deben comunicarse al ICA, para que se tomen las acciones de control correspondientes.

Artículo 74. Procedimientos y dictamen para la inspección post-mortem. Los procedimientos de inspección post-mortem, se presentan a continuación en la tabla que indica las lesiones, patologías y su correspondiente dictamen final:

Cuadro 1. Procedimientos de referencia para la Inspección Postmortem

(Tabla 6. Procedimientos de referencia para la inspección postmortem)

5. Enfermedades de la pleura			
	Canal	Vísceras	Observaciones
5.1 Pleuresía Fibrinosa Difusa o Serofibrinosa con compromiso de las condiciones generales y/o febriles	DECOMISO TOTAL	DECOMISO TOTAL	Se producirá el DECOMISO TOTAL para incineración de la canal y los órganos
5.2 Adherencias y manchas de tejido fibroso	APROBADO	APROBADO	Se permite la aprobación de la canal y los órganos y se decomisan los órganos y partes de la canal afectados para uso industrial o incineración según dictamen del inspector
5.3 Pleuresía Supurativa o Gangrenosa	DECOMISO TOTAL	DECOMISO TOTAL	Habrá DECOMISO TOTAL para incineración de la canal y los órganos
7. Afecciones del peritoneo			
7.2 Adherencias y manchas de tejido fibroso y abscesos encapsulados localizados.	APROBADO	APROBADO	Según los resultados de laboratorio que indique que la lesión es por tuberculosis, en cuyo caso se hará el decomiso total e incineración. Se permite la aprobación de la canal y los órganos y se decomisarán los órganos y partes de la canal afectados para incineración
18. Enfermedades y estados bacterianos (incluso los agentes afines).			
18.7 Tuberculosis			
18.7.1 Positivo a la prueba de tuberculina y con lesiones macroscópicas	DECOMISO TOTAL	DECOMISO TOTAL	Se producirá el DECOMISO TOTAL de la canal y sus órganos, se destinarán para uso industrial.
18.7.2 Positivo a la prueba de tuberculina y sin lesiones macroscópicas	APROBADO CONDICIONADO	DECOMISO TOTAL	Se permitirá la utilización de la carne deshuesada para el uso de derivados cárnicos procesados, bajo las condiciones especiales requeridas para el deshuesado y la elaboración de derivados cárnicos. Los huesos y vísceras se destinan para uso industrial.
18.7.3 Hallazgos de lesiones similares a las de tuberculosis	APROBADO	DECOMISO TOTAL	Se retendrá la canal hasta tanto no se obtengan los resultados de laboratorio.

3.2.5 RESOLUCIÓN 001513 DE JULIO 15 DE 2004 DEL INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO (ICA)

Por la cual se establecen medidas sanitarias para la Prevención, el Control y la Erradicación de la Tuberculosis Bovina en Colombia. **EL GERENTE GENERAL DEL INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA**, En uso de sus facultades legales y en especial de las que le confieren los Decretos 2645 de 1993, 1840 de 1994, y **CONSIDERANDO:**

- Que es deber del Gobierno Nacional proteger la sanidad agropecuaria con el fin de evitar pérdidas económicas, perjuicios a la salud humana y restricción en la comercialización de animales o sus productos.
- Que la Tuberculosis Bovina produce pérdidas económicas a la ganadería del país.
- Que la Tuberculosis Bovina en Colombia se ha diagnosticado esporádicamente en las cuencas lecheras de los departamentos de Atlántico, Boyacá, Norte de Santander, Caquetá, Cundinamarca, Nariño y Valle del Cauca.
- Que la Tuberculosis Bovina es una grave zoonosis.
- Que en el marco de la apertura económica y la globalización, ante la eliminación de las barreras arancelarias, las barreras de carácter sanitario adquieren mayor vigencia.
- Que de acuerdo con las políticas gubernamentales y la misión del ICA de proteger la salud de la ganadería de Colombia, la Tuberculosis Bovina ha sido catalogada como una enfermedad de control oficial y de declaración obligatoria.
- Que es necesario eliminar los factores de riesgo de diseminación de la Tuberculosis Bovina.

- Que es necesaria la participación directa de las entidades públicas y privadas del sector pecuario y de salud, de los productores y sus agremiaciones y de los médicos veterinarios debidamente autorizados.
- Que el Instituto Colombiano Agropecuario ICA es el responsable de establecer, reglamentar, coordinar, supervisar y evaluar las acciones de prevención, control y erradicación de la Tuberculosis de los animales domésticos en el territorio nacional.

Resuelve: Generalidades

ARTÍCULO PRIMERO.- Establecer medidas sanitarias para la Prevención, el Control y la Erradicación de la Tuberculosis Bovina en Colombia.

ARTÍCULO SEGUNDO.- Definir en el país como zonas de erradicación de la Tuberculosis Bovina, las cuencas lecheras de los departamentos de:

Atlántico, Boyacá, Caquetá, Cundinamarca, Nariño, Norte de Santander, Valle del Cauca.

PARÁGRAFO.- Además de las zonas de Erradicación establecidas en el presente Artículo, el ICA adicionará mediante Resolución los municipios en donde se diagnostique Tuberculosis Bovina.

ARTÍCULO TERCERO.- Definir en el país como zonas indemnes de Tuberculosis Bovina, a aquellas en las cuales no se ha detectado la presencia de la enfermedad durante un lapso de cinco años y que corresponden a los siguientes departamentos: Amazonas, Antioquia, Arauca, Bolívar, Caldas, Casanare, Cauca, Cesar, Chocó, Córdoba, Guainía, Guaviare, Huila, La Guajira, Magdalena, Meta, Putumayo, Quindío, Risaralda, San Andrés y Providencia, Santander, Sucre, Tolima, Vaupés y Vichada y a los municipios no relacionados en las cuencas lecheras de los departamentos que conforman las zonas de erradicación.

3.2.6 DOCUMENTO CONPES 3375

Mediante documentos llamados COMPESES, el Departamento Nacional de Planeación, organismo adjunto a la Presidencia de la República, fija la Política Nacional en materia de asentar las normas para Colombia. El documento del Consejo Nacional de Política Económica y Social - CONPES 3375, establece la Política Nacional de Sanidad Agropecuaria e inocuidad de alimentos para el Sistema Nacional de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias para Colombia.

El documento contiene los lineamientos de política que permitirán mejorar las condiciones de sanidad e inocuidad de la producción agroalimentaria nacional con el fin de proteger la salud y vida de las personas y los animales, aumentar la competitividad y fortalecer la capacidad para obtener la admisibilidad de los productos agroalimentarios en los mercados internacionales.

Para su cumplimiento se implementarán estrategias dirigidas a la adecuación y fortalecimiento institucional del Sistema de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias Nacionales, MSF, el mejoramiento de la estructura operativa que responde a un enfoque de Análisis de Riesgo y la implementación de un plan de transición que permita el engranaje y acomodamiento del Sistema MSF Nacional para su óptima operación.

Esta situación se puede resumir para el área de sanidad animal, así: a) En ganadería bovina: País endémico de..... brucelosis bovina, tuberculosis bovina y país libre de encefalopatía espongiforme bovina, EEB, pero sujeto a demostración para su certificación.

3.2.7 DOCUMENTO CONPES 3376

Conforme a las directrices internacionales de la Organización Mundial de Sanidad Animal -OIE-, referidas a las enfermedades de control oficial y a las condiciones del estatus sanitario de nuestra ganadería, el país (Colombia), enfrenta serias limitaciones con relación al estatus sanitario de las cadenas cárnica y láctea. Esta situación se puede resumir así..... b) País endémico de brucelosis bovina, c) País endémico de tuberculosis bovina y d) País libre de encefalopatía espongiforme bovina, EEB, pero sujeto a demostración para su certificación.

Análogamente, de acuerdo con las directrices del Código Alimentarius, se considera que el estatus sanitario en términos de inocuidad para la leche, la carne y sus derivados es desconocido, en razón a la carencia de una línea base de los factores de riesgo asociados que están determinados por la incidencia de peligros biológicos para la leche, la carne y sus derivados y la presencia de peligros químicos y contaminantes como residuos de medicamentos veterinarios, plaguicidas, hormonas, toxinas, aditivos y metales pesados.

3.2.8 DECRETOS Y RESOLUCIONES EN COLOMBIA RELACIONADOS CON LA PRODUCCION Y COMERCIALIZACION DE LA LECHE

A. DECRETO 616 DE 2006 (28 de Febrero)

Por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercializa, expendia, importe o exporte en el país.

CAPITULO II. Requisitos para la obtención de leche en la producción primaria.

Artículo 4.- **REGISTRO DE LOS HATOS.** Para efectos de la trazabilidad del hato y para el control oficial de enfermedades de declaración obligatoria, los hatos deben registrarse en la oficina local del ICA o a quién este delegue.

Artículo 5.- **REQUISITOS QUE DEBEN CUMPLIR LOS HATOS PRODUCTORES DE LECHE.** El diseño, la ubicación y el mantenimiento de los sitios o áreas y locales de los hatos deben garantizar el mínimo riesgo de contaminación de la leche cruda tanto de origen intrínseco (animal) como de origen extrínseco (ambiental) y deberán cumplir con los siguientes requisitos:.....

CAPITULO IV. PROHIBICIONES.

Artículo 14.- **PROHIBICIONES.** Teniendo en cuenta que la leche es considerada alimento de mayor riesgo en salud pública, queda prohibido:

1. La adición de lactosueros a la leche en todas las etapas de la cadena productiva.
2. La comercialización de leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano directo.
3. La rehigienización de la leche para consumo humano directo.

B. DECRETO 2838 DE 2006 (Agosto 24)

Del Ministerio de la Protección Social, reglamento técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano.

CAPITULO II. Excepciones para la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada.

Artículo 4°. *Zonas especiales para la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo.* A partir de la vigencia del presente decreto se podrá autorizar excepcionalmente la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo en aquellas zonas del país

que por sus condiciones de accesibilidad geográfica y disponibilidad no pueden comercializar leche higienizada.

Corresponde al Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA, y al Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, estudiar y autorizar las zonas especiales de comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo, previa solicitud del alcalde municipal, conforme a la reglamentación que para el efecto expidan los Ministerios de Agricultura y Desarrollo Rural y de la Protección Social.

En todo caso, para la autorización de las zonas especiales de comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo, se tendrán en cuenta los siguientes requisitos, tendientes a reducir el riesgo para la salud del consumidor:

- a) Estar ubicadas en zonas aisladas o de difícil acceso;
- b) Población a abastecer;
- c) Disponibilidad alimentaria;
- d) Desarrollar los programas sanitarios y de inocuidad que determine el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, para la vigilancia de brucelosis y tuberculosis.

CAPITULO III. Especificaciones técnicas de la leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo en las excepciones contempladas en el presente decreto

Artículo 5°. *Comercialización de leche cruda para consumo humano directo.* La leche cruda para consumo humano directo deberá comercializarse en un tiempo no superior a las ocho (8) horas transcurridas a partir del momento de su ordeño.

Artículo 6°. *Comercialización de leche cruda enfriada para consumo humano directo.* La leche cruda enfriada para consumo humano directo deberá

comercializarse en un tiempo no superior a las veinticuatro (24) horas transcurridas a partir del momento de su ordeño.....

Artículo 10. *Procedencia de la leche.* La leche cruda y leche cruda enfriada que se comercialice para consumo humano directo, deberá proceder de ganaderías inscritas en programas de saneamiento establecidas por el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, las cuales han cumplido con procesos de vigilancia epidemiológica de brucelosis y tuberculosis bovina. Estos procesos serán reglamentados por el ICA a través de resolución.....

C. RESOLUCION 000185 DE 24 ENERO DE 2007

El 24 de enero de 2007 el ICA expide la resolución 000185 para el caso en que las ganaderías expendan leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano y deben ejecutar la siguiente actividad:

1. Presentar certificado vigente de Finca Libre de Tuberculosis, de acuerdo con lo establecido por el ICA en la respectiva Resolución 001513 del 15 de julio de 2.003, para la certificación de Fincas Libres de Tuberculosis bovina o lo establecido en las normas que la modifiquen, deroguen o reemplacen.
2. Efectuar un chequeo a la ganadería por la prueba de tuberculina, cada año de acuerdo con los siguientes parámetros:
Para detectar al menos un animal positivo en los predios seleccionados, con un nivel de confianza del 95%, y una proporción estimada del 10% de bovinos infectados, se debe analizar la siguiente cantidad de animales según el cuadro N. 2.

Cuadro 2. Cuadro referente para determinar la muestra en predios para hatos libres de tuberculosis:

Total de hembras existentes > 24 meses y machos >3 años	No. de animales a incluir en la muestra
<16	Todos
17- 20	17
21- 30	19
31- 40	20
41- 50	21
51- 60	22
61- 70	23
71- 80	24
81- 100	25
101- 150	26
151- 200	27
201- 500	28
501- 1000	30
>1000	50

D. DECRETO 3411 DE 2008 (10 Septiembre)

"Artículo 3. PLAN DE RECONVERSIÓN. Los Gobernadores departamentales o las alcaldías distritales, serán responsables de aprobar los planes de reconversión que presenten los comercializadores de leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano directo.....

Los requisitos para la presentación y los lineamientos para la evaluación y aprobación de los Planes de Reconversión serán establecidos mediante resolución que expida el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA, dentro de los sesenta (60) días siguientes a la entrada en vigencia del presente decreto.

Para el cumplimiento de lo dispuesto en el artículo 2 del presente decreto se tendrá en cuenta los siguientes requisitos: (ver cuadro 3 resumen)

Cuadro N. 3. Plazos otorgados para todo el proceso de reconversión según los términos establecidos en el decreto 2838 de 2006 para los municipios según la población de habitantes.

POBLACION Habitantes	Plazo para presentación del plan de reconversión (meses)	Plazo para que la Gobernación apruebe (meses)	Plazo para dar cumplimiento al Plan de Reconversión (meses)
>500.000	2 - 6	6	18
100.000 – 499.999	2 - 12	6	18
50.000-99.999	2 - 18	6	18
30.000-49.999	2 - 24	6	18
<29.999	2 - 30	6	18

.....PARÁGRAFO 2. El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA, previa solicitud del alcalde del municipio, podrá autorizar la comercialización de leche cruda o leche cruda enfriada en los municipios con población total menor de 30.000 habitantes, siempre y cuando sea para consumo dentro del respectivo municipio, y estos desarrollen programas sanitarios y de inocuidad, conforme al concepto favorable que para el efecto emitan las autoridades competentes, en virtud del parágrafo del artículo 10 del Decreto 2838 de 2006. El INVIMA deberá informar a los Gobernadores de las autorizaciones que emita para la vigilancia del cumplimiento de los requisitos establecidos en el Capítulo 111 del Decreto 2838 de 2006. En caso de incumplimiento, las autoridades sanitarias departamentales o los Gobernadores deberán informar a las autoridades competentes para que se surtan por parte de éstas las actuaciones administrativas a que haya lugar.

PARÁGRAFO 3. Vencidos los términos señalados en el presente artículo, no se podrá comercializar leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano

directo en el territorio nacional, salvo lo dispuesto en el párrafo 2 del presente artículo."

E. RESOLUCIÓN 2008032689 del 14 de Noviembre de 2008

Por la cual se establecen los requisitos para la presentación y los lineamientos para la aprobación de los planes de reconversión para comercializadores de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo y se adoptan los formatos oficiales.

ARTÍCULO 6. El INVIMA ejercerá las funciones de Inspección, Vigilancia y Control de acuerdo a su competencia, una vez se encuentren implementados los planes de reconversión aprobados.....

3.3 NORMATIVIDAD INTERNACIONAL ACERCA DE LA TUBERCULOSIS

3.3.1 ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS)

El único enfoque nacional para reducir y eliminar las pérdidas ocasionadas por la infección en el ganado bovino y para prevenir los casos humanos por *Mycoplasma bovis* consiste en el establecimiento de un programa de control y erradicación de la Tuberculosis bovina. Las campañas de erradicación se basan sobre todo en la realización de pruebas tuberculinas repetidas, hasta eliminar por completo los animales infectados de un hato.

La operación de la prueba tuberculínica y el sacrificio de los reactores han dado excelentes resultados en todas las partes que han emprendido campañas de

erradicación. La mejor manera de prevenir la transmisión entre los bovinos a otras especies animales incluido el hombre es realizar el control de la tuberculosis por *M. bovis* en su reservorio natural (OPS, 2001).

3.3.2 LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DEL COMERCIO (OMC)

Aunque los Acuerdos de la Organización Mundial del Comercio, OMC en 2004, permiten explícitamente a los gobiernos adoptar medidas para restringir el comercio de conformidad con objetivos nacionales de política sanitaria, las normas de la OMC se centran en cómo se aplican las políticas, sin cuestionar el objetivo subyacente. En el presente capítulo se examinan las formas en que los gobiernos aplican políticas sanitarias específicas que pueden tener consecuencias para el comercio. Se examinan ocho cuestiones concretas en materia de salud, a saber, la lucha contra las enfermedades infecciosas, la inocuidad de los alimentos, la lucha contra el tabaquismo, el medio ambiente, el acceso a medicamentos, los servicios de salud, la seguridad alimentaria y la nutrición, y algunas cuestiones que están adquiriendo creciente importancia, como la de la biotecnología.

Aunque los Acuerdos de la OMC no tratan directamente de todas estas cuestiones, los encargados de la elaboración de políticas nacionales pueden necesitar tener en cuenta los Acuerdos al abordarlas.

En nuestra época han surgido nuevas amenazas para la salud de alcance mundial, para las que todavía se están buscando medidas de control (por ejemplo, el VIH/SIDA y los virus de Ebola y de Marburgo). Además, muchas enfermedades más "antiguas" (como la tuberculosis, el paludismo y la gonorrea) han adquirido mayor peligrosidad al desarrollar resistencia frente a los medicamentos corrientemente utilizados para tratarlas.

Desde el último Examen de sus Políticas Comerciales realizado en 1996, Colombia ha hecho concretos progresos para modernizar y liberalizar su régimen de comercio; se han reducido considerablemente los obstáculos no arancelarios, a pesar de que la protección arancelaria media ha aumentado ligeramente. En forma paralela, Colombia ha emprendido ambiciosas reformas en muchos sectores económicos, en particular el de servicios, como resultado de lo cual ha aumentado la competencia, han bajado los precios y se han ampliado las posibilidades de elección de los consumidores (OMC, 2006).

Colombia ha mantenido un activo programa de implementación de medidas sanitarias y fitosanitarias (MSF) y reglamentos técnicos. Entre abril de 1997 y agosto de 2006, Colombia presentó 151 notificaciones sobre sus MSF.

3.3.3 ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (OIE)

La declaración de un país libre de TBC bovina conlleva una serie de elementos que lo involucran en un ámbito completamente racional. El sentido de la expresión radica en la gravedad de ser una enfermedad zoonótica de amplia expansión a nivel mundial. En la lista de las enfermedades de notificación obligatoria está codificada con el número **B 105 TUBERCULOSIS BOVINA**. Es por eso que al clarificar este concepto, la Organización Internacional de Epizootias–OIE- ha definido a un país libre con los siguientes términos en su Código Sanitario de la OIE para los Animales Terrestres:

Capítulo 11.7 Tuberculosis Bovina

Artículo 11.7.1. Disposiciones generales

Las recomendaciones del presente capítulo tienen por objeto la gestión de los riesgos que entraña para la salud de las personas y los animales la infección de bovinos domésticos (criados en cautiverio permanente o en libertad) (*Bos taurus*, *B. indicus* y *B. grunniens*), búfalos (*Bubalus bubalis*), y bisontes (*Bison bison* y *B. bonasus*) por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*).

Artículo 11.7.2. País o zona libre de tuberculosis bovina.

Para ser reconocido(a) libre de tuberculosis bovina, un país o una zona deberán cumplir los siguientes requisitos:

1. La infección por *M. bovis* de cualquier animal debe ser de declaración obligatoria en el país;
2. Debe haberse establecido un programa de información continua que fomente la declaración de todos los casos compatibles con la tuberculosis bovina;
3. Pruebas regulares y periódicas efectuadas en todos los rebaños de bovinos, búfalos y bisontes deben haber demostrado que al menos el 99,8% de los rebaños y el 99,9% de los bovinos, búfalos y bisontes del país, la zona o el compartimento están libres de tuberculosis bovina durante 3 años consecutivos;
4. Debe haberse establecido un programa de vigilancia para detectar la tuberculosis bovina en el país o la zona mediante las inspecciones ante-mortem y post-mortem de los animales, tal como se describe en el Capítulo 6.2.;
5. Si el programa de vigilancia que se describe en los puntos 3 y 4 no ha detectado infección por *M. bovis* durante 5 años consecutivos, se puede mantener la vigilancia mediante las inspecciones ante-mortem y post-mortem descritas en el Capítulo 6.2.;

6. Los bovinos, búfalos y bisontes introducidos en el país o la zona deben ir acompañados de un certificado extendido por un veterinario oficial que acredite que proceden de un país, una zona, un compartimento o un rebaño libre de tuberculosis bovina o cumplen los requisitos pertinentes de los Artículos 11.7.5. y 11.7.6.

Artículo 11.7.3. **Compartimento libre de tuberculosis bovina**

Para ser reconocido compartimento libre de tuberculosis bovina, la Autoridad Veterinaria deberá certificar que los bovinos, búfalos o bisontes del rebaño cumplen los siguientes requisitos:

1. Los bovinos, búfalos y bisontes deben:
 - a. No haber manifestado ningún signo ni lesión de tuberculosis bovina en las inspecciones ante-mortem y post-mortem durante, por lo menos, 3 años consecutivos;
 - b. Haber tenido más de 6 semanas de edad en el momento de la primera prueba de diagnóstico y haber dado resultado negativo en, por lo menos, dos pruebas de tuberculina a las que han sido sometidos con 6 meses de intervalo como mínimo, la primera de las cuales se realizó en menos de 6 meses después del sacrificio del último animal afectado;
 - c. Haber reunido una de las condiciones siguientes:
 - i. Haber dado resultado negativo en una prueba de tuberculina a la que son sometidos todos los 6 meses para comprobar la ausencia de tuberculosis bovina si se ha confirmado que el porcentaje anual de rebaños infectados por la tuberculosis ha excedido el 1% de todos los rebaños del país o la zona en los 2 últimos años, o

- ii. Haber dado resultado negativo en una prueba de tuberculina a la que son sometidos todos los años para comprobar la ausencia de tuberculosis bovina si se ha confirmado que el porcentaje anual de rebaños infectados por la tuberculosis ha excedido el 0.2% pero no ha excedido el 1% de todos los rebaños del país o la zona en los 2 últimos años, o
 - iii. Haber dado resultado negativo en una prueba de tuberculina a la que son sometidos cada tres años para comprobar la ausencia de tuberculosis bovina si se ha confirmado que el porcentaje anual de rebaños infectados por la tuberculosis no ha excedido el 0,2% de todos los rebaños del país o la zona en los 4 últimos años, o
 - iv. Haber dado resultado negativo en una prueba de tuberculina a la que son sometidos cada cuatro años para comprobar la ausencia de tuberculosis bovina si se ha confirmado que el porcentaje anual de rebaños infectados por la tuberculosis no ha excedido el 0,1% de todos los rebaños del país o la zona en los 6 últimos años;
2. Los bovinos, búfalos y bisontes introducidos en el compartimento deben provenir de un rebaño libre de tuberculosis bovina. Este requisito podrá no aplicarse a los animales que hayan permanecido aislados por lo menos 90 días y que antes de ser introducidos en el compartimento hayan dado resultado negativo en, por lo menos, dos pruebas de tuberculina a las que hayan sido sometidos con 6 meses de intervalo, la segunda de las cuales se realizó menos de 30 días antes de su introducción en el compartimento;.....

Esta serie de conceptos nos traslada a la ubicación contextual de nuestro país. Colombia con más de 25 millones de cabezas de ganado ubicados en todas las latitudes, con todos los climas y variedades de forrajes, con un sinnúmero de

razas de animales tanto bovinos como bufalinos, especies estas que han ido ocupando un espacio significativo en nuestra geografía acercándose a una cifra no oficial de alrededor de 600.000 búfalos (130.000 registrados), en su gran mayoría importados de otros países (Venezuela y Brasil).

Así mismo, dentro de la división territorial de Colombia, se delimita geográficamente un departamento como el de Antioquia, con 63.612 km² de área, en el cual pastan más de 2 millones ochocientas mil cabezas de ganado, y desde el cual hace cerca de 10 años se está incursionando en el mercadeo internacional mediante la exportación de productos cárnicos en refrigeración a través de los diferentes frigoríficos que posee La Federación Colombiana de Ganaderos, FEDEGAN, tanto en el departamento de Antioquia, como en las otras regiones del país, además de ser el departamento que presenta la feria ganadera más grande del país, punto de comercialización.

3.4 ANTECEDENTES DE LA ENFERMEDAD

3.4.1 DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD

Los agentes etiológicos de la tuberculosis de los mamíferos son *Mycobacterium tuberculosis* (el principal causante de tuberculosis humana), *M. bovis* (tuberculosis bovina) y *M. africanum* (tuberculosis humana en África tropical). Ésta última especie tiene características intermedias entre *M. tuberculosis* y *M. bovis* (Acha y col, 1992).

El agente principal de la tuberculosis zoonótica es *M. bovis*.

Numerosos autores prefieren referirse a una sola especie (*M. tuberculosis*) y sus variantes o tipos humano y bovino.

La Tuberculosis Bovina enfermedad infecto-contagiosa crónica causada por bacterias del genero Mycobacterium, es una de las más importantes del ganado bovino, tanto por su impacto en salud pública como por las consecuencias económicas para un país. Su incidencia limita el desarrollo de la ganadería y sus productos asociados, incluyendo las exportaciones (Clavijo y col. 2004).

De acuerdo con lo informado recientemente por la Organización Mundial de la Salud, el número de casos de tuberculosis, en el hombre, supera los 8 millones al año y va en aumento. Los programas de control y eliminación de animales infectados, junto con la pasteurización de la leche, han reducido drásticamente la incidencia de la enfermedad causada por M. bovis, tanto en el hombre como en los animales. Sin embargo, este patógeno está presente en animales de países en desarrollo donde no existen medidas de control adecuadas.(Clavijo y col. 2004).

Aunque se considera que el verdadero hospedador de M. Bovis es el ganado vacuno, también se ha descrito la enfermedad en muchos otros animales domésticos y no domésticos.

La bacteria ha sido aislada en búfalos, bisontes, ovejas, cabras, caballos, camellos, cerdos, jabalíes, ciervos, antílopes, perros, gatos, zorros, visones, tejones, hurones, ratas, primates, llamas, cudús, tapires, alces, elefantes, sitatungas, órices, addaxes, rinocerontes, zarigüeyas, ardillas de tierra, nutrias, focas, liebres, topos, mapaches, coyotes y varios depredadores felinos como el león, el tigre, el leopardo o el lince (OIE, 2008)

Según el MVZ Gerardo Salas Garrido en 2003, es poco frecuente en los animales y puede presentarse en forma primaria o secundaria. En primer lugar se manifiesta en los becerros que ingieren el bacilo tuberculoso a través de la leche. Este penetra en la submucosa intestinal y culmina en la formación de pequeños granulomas

en la submucosa, linfonodos mesentéricos y frecuentemente en el hígado, donde permanece la infección latente.

La forma secundaria es característica de los bovinos adultos; se origina por diseminación tardía de los complejos primarios de pulmón e hígado. Cuando el *Mycobacterium* llega a la mucosa intestinal, invade sobre todo en las zonas de cúmulos linfoides intestinales, placas de Peyer en el íleon, ciego y colon, dando origen a úlceras tuberculosas.

Las micobacterias son sensibles a los desinfectantes a base de fenoles, y son resistentes al medio ambiente y a los desinfectantes solubles en el agua (Clavijo y col. 2004)

Es una enfermedad de evolución crónica que se caracteriza por la formación de granulomas nodulares conocidos como tubérculos predominando estas lesiones en el pulmón, de material purulento-caseoso (parecido a queso), de color amarillento cuyo tamaño y cantidad varían. El diagnóstico clínico es difícil debido a falta de signos visibles, observándose sólo fiebre, pérdida progresiva de peso y cuando el pulmón está afectado una tos húmeda, culminando con la muerte (Ward, 2005).

La tuberculosis bovina, la mayoría de las veces tiene un curso crónico. Los síntomas son tan variados como los órganos y sistemas afectados. Como en cualquier enfermedad crónica, la pérdida progresiva de peso y la reducción en la producción de leche o carne son constantes, pero inespecíficas. Con alguna frecuencia se observa una tumefacción no dolorosa de los ganglios explorables clínicamente; cuando hay infección hepática o intestinal se presenta diarrea, al igual que infertilidad por endometritis. Algunas veces la tuberculosis pulmonar

curso con signos respiratorios inespecíficos como tos crónica, casi nunca fuerte y sin mucha fuerza.

La vía de ingreso del *M. bovis* y la localización de la lesión están íntimamente relacionadas en esta enfermedad. Las lesiones pueden localizarse en cualquier órgano.



Figura 1 Nódulos caseosos en Búfalos Puerto Nare (Dpto. de Antioquia)

Como enfermedad crónica, la tuberculosis persiste por períodos prolongados en el ganado, donde las condiciones sanitarias y de hacinamiento contribuyen a su diseminación. La afección de los ganglios linfáticos mamarios ocasiona mastitis tuberculosa. Entre el 2 y el 5% de las vacas con la enfermedad, presentan mastitis tuberculosa, caracterizada por un endurecimiento y una hinchazón que, al principio, se desarrolla en la parte superior de la ubre, observándose en ciertos casos, los ganglios linfáticos mamarios duros y aumentados de volumen. Esta mastitis tuberculosa posee una importancia excepcional, no sólo por ser fuente de transmisión para los terneros, sino porque puede contagiar al hombre en el momento del ordeño. Las ubres infectadas por vía sanguínea pueden eliminar

bacilos en leche sin que aparezca mastitis clínica y se constituya en la principal fuente de infección para la especie humana.

La eliminación del *M. bovis* por parte de los animales afectados es intermitente y no está en relación con el grado de lesiones presentes. Por infecciones experimentales se comprobó que los animales recientemente infectados eliminan este microorganismo en las etapas tempranas de la enfermedad, cuando aún no son detectables por la prueba de diagnóstico.

La alimentación de los becerros con calostro o leche procedente de vacas con mastitis, o alimentados con suero de leche, o por alimentación directa de ubres tuberculosas, es la causa más común en estos animales jóvenes.

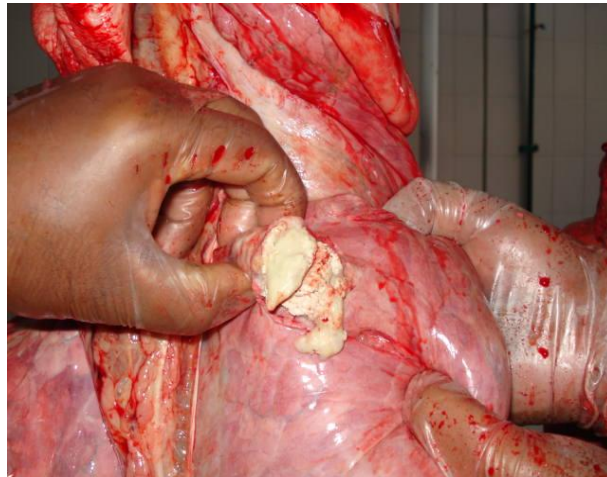


Figura 2. Nódulo o tubérculo, (pulmón de búfalo, Municipio de Puerto Nare, Dpto. de Antioquia)

La vía más frecuente (80 a 90%) de infección es por la inhalación de la bacteria (vía aerógena), presente en aerosoles, toses y secreciones de animales enfermos que expelen gran cantidad de microgotitas que contienen la bacteria, que al ser inhaladas por otro bovino llegan al sistema respiratorio y dan comienzo a una nueva infección. Sin embargo, la infección progresa por las vías hematógena o

linfática diseminándose a otras partes del cuerpo y afectando así otros órganos. Esto se ve favorecido por el contacto directo diariamente de los bovinos en el pastoreo, comederos, corrales y salas de ordeño.

Otra vía de ingreso es la digestiva (10 a 20% de los casos) por el consumo de pastos y alimentos contaminados con secreciones nasales, materia fecal y orina que contienen el agente causal. Este puede sobrevivir en heces, sangre y orina cerca de un año a una temperatura de 12 a 14°C y al resguardo de la luz solar. Esta sobrevivencia puede disminuir a 18 hasta 31 días con temperaturas de 24 a 43°C si es expuesto a la luz del sol.



Figura 3. Búfalos afectados de Tuberculosis, Municipio de Puerto Nare (Dpto. de Antioquia)

Es muy importante en terneros que se alimentan con leche cruda proveniente de las vacas enfermas, debido a que 1 a 2% de las vacas infectadas elimina el microorganismo en la leche. Cuando la vía principal de infección es por la alimentación, las lesiones pueden presentarse en nódulos linfáticos de la cabeza, cuello, mesenterio e hígado. Esta fue una de las principales vías de contagio al

humano (especialmente niños) hasta que se adoptó la pasteurización obligatoria de la leche y sus subproductos en la década del 60.

Otras vías no usuales pero probables son: la vía cutánea, congénita y genital. Por la vía cutánea se introduce el bacilo en lesiones de piel con material infectado.

La vía congénita (madre-feto) puede ocurrir hasta en 5% de las vacas afectadas, teniendo poca importancia relativa al igual que la transmisión por el servicio natural.

Por vía genital, los toros se infectan sirviendo vacas con metritis tuberculosa. La transmisión más importante se produce por medio de la inseminación artificial, al utilizar semen de toros infectados.

El programa de control y erradicación en Tuberculosis Bovina debe estar basado en procedimientos fáciles, económicos y sencillos de aplicar, por lo que para erradicar la enfermedad de un hato y hacerlo libre han dado resultado estos procedimientos:

- Todos los animales positivos o sospechosos de la enfermedad deberán eliminarse de la explotación.
- No se deberán introducir animales provenientes de otros lugares.
- Las instalaciones, el manejo, la higiene y la alimentación deberán de ser las ideales para esta especie, este punto tal vez es el más difícil de aplicar.
- Lavar y desinfectar todas las instalaciones.
- Se deberá contar con áreas de recría, de crecimiento y desarrollo de becerras, provenientes de vacas libres de tuberculosis y de otras

enfermedades, asegurando el reemplazo de la explotación con animales sanos.

- No se debe permitir el ingreso a las instalaciones de la explotación de ninguna persona o vehículo ajenos a esta.
- Es importantísimo para el programa, el control estricto de los partos utilizando parideros individuales limpios y desinfectados, para controlar la difusión del problema.
- Aplicar métodos de control de fauna nociva e insectos como moscas, roedores, entre otros.
- Realizar rutinariamente una vez por mes el diagnóstico de laboratorio, tal vez serológico como ELISA, para esta y otras enfermedades en la explotación, para tomar decisiones y estrategias de calendarios de vacunación y desparasitación, así como para utilizar los fármacos ideales, según las resistencias o susceptibilidades de los cultivos y antibiogramas de los agentes etiológicos existentes en el rancho.
- Realizar el proceso de secado 60 días antes del parto aproximadamente, así como proporcionar la nutrición ideal para llenar los requerimientos nutricionales de las vacas y los fetos.

3.4.2 TUBERCULOSIS EN GANADO BOVINO EN EL MUNDO

En los países industrializados, la tuberculosis bovina está erradicada o se encuentra en una fase avanzada de control, mientras que en la mayoría de los países en desarrollo la situación no ha mejorado o la prevalencia se encuentra en

aumento (ver cuadro 5). En casi todos los países de Europa Occidental, la prevalencia de la infección bovina es inferior a 0.1%(Acha, 1982).

Cuadro 4. Población de bovinos, porcentajes estimados de infección TBC en ganado lechero, y casos humanos con aislamiento de *M. bovis*, en 10 países de América Latina y del Caribe (2000-2006)

(Ref. OIE/FAO/OMS/ Tuberculosis (Edinb) 2008, Temas de Zoonosis, 2008) .

País	Población bovina (millones)	% de reactores PPD en ganado lechero	M. bovis aislado de humanos
<u>Argentina</u>	51.0	≥1.0	<u>Sí</u>
Bolivia	5.5	≥1.0	No
<u>Brasil</u>	189.0	0.5-1.0	<u>Sí</u>
Chile	3.7	0.5-1.0	No
<u>Colombia</u>	25.0	0.1-1.0	(?)
<u>Ecuador</u>	4.6	≥1.0	<u>Sí</u>
<u>México</u>	26.0	0.1-1.0	<u>Sí</u>
Perú	7.5	0.5-1.0	No
Uruguay	11.7	<0.1	No
<u>Venezuela</u>	13.5	<0.1	<u>Sí</u>

Cuadro 5. Europa. Tuberculosis bovina, en ganado (www.oie.int/WAHID, 2007)

País	Brotos	No. cabezas ganado (millones)
Austria	0	1.9
Bélgica	4	2.5
Dinamarca	0	1.5
Francia	Sosp.no conf	17.4
Alemania	13	12.1
<u>Irlanda</u>	<u>2806</u>	<u>6.3</u>
Italia	17	5.6
Holanda	Sosp no confirmado	3.4
Noruega	0	837 000
Polonia	60	4.8
Portugal	50	1.25
<u>España</u>	<u>800</u>	<u>6.0</u>
Suecia	0	1.5
Ucrania	10	6.9
<u>Reino Unido</u>	<u>4133</u>	<u>9.5</u>

En el hemisferio occidental, el Canadá y los Estados Unidos de América han reducido la tasa de infección a niveles muy bajos. En varios países de Centroamérica y del Caribe (cuadro 4), la tasa de infección es muy baja. Las tasas más altas de infección se encuentran en las cuencas lecheras, alrededor de las grandes ciudades de América del Sur.

Para marzo de 2009 el Instituto Colombiano Agropecuario ICA detecta 9 casos de Tuberculosis bovina en zonas del país donde históricamente no se tenían reportes de la enfermedad

- Las ganaderías afectadas deben proceder a la eliminación de los animales positivos a la enfermedad.
- El Instituto Colombiano Agropecuario ICA, hace un llamado a los productores del país a verificar la condición sanitaria de sus hatos
- Se han detectado casos en búfalos

Con el fin de evitar la diseminación de la tuberculosis bovina en los departamentos de Antioquia, Cesar, Magdalena y La Guajira, los cuales no registraban históricamente casos de esta enfermedad, el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, ordenó el sacrificio inmediato de 123 animales.

El proceso de certificación de fincas libres de tuberculosis que adelanta el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, así como la inspección por parte del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA, a los animales que se sacrifican en las plantas de beneficio animal de abasto público, han permitido identificar casos positivos a tuberculosis en zonas del país donde nunca se habían reportado

La producción de búfalos en Colombia ha tenido un crecimiento importante, se considera que el país cuenta hoy con una población aproximada de 130.000 búfalos y se ha diseñado una estrategia especial para garantizar que la presencia de la tuberculosis en esta especie no trascienda a otras zonas del país.



Figura 4. También los búfalos han resultado afectados

Para el diagnóstico de la enfermedad, el ICA utiliza en campo la prueba de la tuberculina, la cual detecta animales infectados de Tuberculosis Bovina con o sin presentación de sintomatología clínica. La lectura de las reacciones se hace dentro de las 72 horas posteriores a la aplicación de la inyección de la Prueba tuberculínica.

- La prueba es realizada por los Médicos Veterinarios del Instituto o por Médicos Veterinarios particulares integrantes del Sistema de Autorización del programa de tuberculosis del ICA.

- En los exámenes post-mortem se buscan tubérculos en los pulmones y ganglios linfáticos (Código sanitario para los animales terrestres de la **OIE: Capítulo 6.2**).
- La detección de los animales infectados impide que su carne penetre en la cadena alimentaria y pone a los servicios veterinarios tras la pista de su rebaño de origen, que es sometido a pruebas y, en caso necesario, eliminado.
- La pasteurización de la leche de animales infectados hasta una temperatura suficiente para matar a las bacterias ha impedido que la enfermedad se propague en poblaciones humanas.



Figura 5. Búfalos en Puerto Nare (Dpto. Antioquia)

Rara vez se intenta administrar un tratamiento a los animales infectados, porque resulta muy caro y prolongado, y porque el gran objetivo último se cifra en erradicar la enfermedad.

En el país la incidencia de la TBC ha sido de una manifestación amplia si tenemos en cuenta los datos que aporta el sistema nacional de salud pública.

Procedimientos a adelantar en predios infectados.

Clavijo y col. 2004, registraron: Los programas de control y erradicación se basan en la aplicación de la prueba de tuberculina a todo el rebaño. Una vez que ha sido diagnosticado como positivo el predio, se realizan evaluaciones cada seis meses, y los animales reactores positivos deben eliminarse en forma inmediata para evitar la diseminación a otros bovinos.

Para detectar un predio positivo se deben hacer pruebas de rebaño que incluyan animales de 24 meses o mayores, incluso las vacas secas de las fincas lecheras. El tamaño de la muestra animal se puede determinar mediante la fórmula para estudios de prevalencia de la OPS-OMS que establece que para detectar la presencia de hatos seropositivos, se recolectaran como mínimo 30 muestras de suero en cada finca, tomando en consideración los criterios siguientes: una población igual o mayor a 100 animales, una prevalencia esperada de 20% y un nivel de confianza de 95%. Este tamaño de muestra es el requerido para detectar, con 95% de confianza, al menos un animal positivo si la enfermedad concuerda con la prevalencia esperada. La fórmula para determinar el tamaño de la muestra es la siguiente:

$$n = [1 - (1 - a)^{1/d}] [N - d/2] + 1$$

Donde

n= tamaño de muestra necesario

N= tamaño de la población

d= número de animales enfermos en la población

1-a= nivel de confianza deseado (probabilidad de encontrar al menos un animal positivo).

Las estrategias de erradicación realizadas por países desarrollados, como Estados Unidos e Inglaterra, han utilizado programas de "test y sacrificio", los cuales demandan la aplicación de políticas gubernamentales que posibilitan al productor participar en este tipo de programas. Las campañas de control y erradicación se basan en la prueba de la tuberculinización simple (PPD bovina) pero existen varios casos en los que sería aconsejable incorporar además otras metodologías:

1. Explotaciones con porcentajes elevados y/o persistentes de reactores cada año. La posibilidad más factible es que esta situación sea debida a la presencia de animales "anérgicos" a la tuberculina, con gran capacidad de contagio. En este caso, se realizará conjuntamente con la tuberculina una prueba de ELISA para detectar Interferón gamma, eliminando los positivos a esta última prueba. La aplicación de esta sistemática durante 3 veces consecutivas en un año, garantiza la eliminación de la infección en la mayoría de los casos.
2. Explotaciones libres de tuberculosis en los últimos años y presencia en la última campaña de un porcentaje de animales positivos, generalmente con reacciones débiles. En este caso puede tratarse de un nuevo foco de infección tuberculosa o de una reacción cruzada con otras infecciones por micobacterias del complejo M. avium, generalmente M. avium paratuberculosis. En estos casos, se deberá realizar la tuberculinización comparada (PPD aviar y PPD bovina), acompañándose si se quiere, del test de gamma-Interferón. No obstante, la realización de un test de ELISA

entre los 15 y 20 días posteriores a la tuberculinización simple oficial, puede detectar sin error si se trata de infección tuberculosa.

Manejo a seguir en mataderos y frigoríficos

- La inspección veterinaria en mataderos y frigoríficos es una herramienta importante para la vigilancia epidemiológica de esta enfermedad. La Inspección, Vigilancia y Control constante en las faenas de sacrificio determinan las diferentes lesiones que se puedan presentar y a la par detectarlas.
- La detección diaria de lesiones en la faena permite determinar prevalencias actualizadas de zonas lecheras y áreas de cría bovina. Un sistema de identificación de bovinos para localizar sus sitios de origen (trazabilidad), cuando se observan lesiones de tuberculosis en frigorífico, permitiría detectar los predios afectados e iniciar medidas de control.

Pérdidas ocasionadas por la enfermedad.

La presencia de la enfermedad ocasiona serias pérdidas al sector productivo, pudiéndose analizar desde tres aspectos diferentes:

1) Pérdidas Directas de Producción

2) Comercio interior y exterior: el diferencial de precios percibido por el productor por la venta de sus productos provenientes de animales enfermos, y las regulaciones sanitarias que influyen en mercados internacionales. El mercado internacional restringe el flujo de animales o canales de zonas positivas a Tuberculosis, lo que directamente redundará en la reducción de los mercados factibles.

3) Salud pública: pérdidas productivas por invalidez parcial o total de los trabajadores ligados al sector lácteo y ganadero, como así también operarios de frigoríficos, veterinarios, etc. Y quizás lo más importante y difícil de medir es la repercusión de la enfermedad en los consumidores de productos cárnicos y lácteos. Se observa una preocupación de los Organismos Sanitarios Internacionales OIE/OMS (Oficina Internacional de Epizootias/Organización Mundial de la Salud) por la presencia de esta enfermedad en el ganado bovino e instan a los países, a través de sus representaciones regionales como la Organización Panamericana de la Salud (OPS), a ejecutar planes de control y erradicación de la enfermedad.

La experiencia acumulada indica que la enfermedad es controlable y erradicable, mediante acciones sistemáticas orientadas a la detección, identificación y eliminación de animales positivos.

En Venezuela, en los últimos años, los controles sanitarios en los rebaños, particularmente los referidos a enfermedades como la tuberculosis, brucelosis y leptospirosis se han deteriorado. Esta situación ha traído como consecuencia el incremento de casos de enfermedades en animales y humanos. En los actuales momentos es difícil ubicar estadísticas que permitan una cuantificación real del problema en la ganadería bovina, con el fin de recomendar los programas de erradicación y/o control necesarios, que en todo caso deben partir del conocimiento de la prevalencia por zonas para fijar prioridades.(Clavijo, 2004).

Porqué controlar la enfermedad

Hay tres razones claves para controlar y/o erradicar la TBC:

1. Porque se transmiten al hombre, principalmente a los que trabajan en contacto con animales infectados (veterinarios, trabajadores rurales y personal de frigoríficos), además por el consumo de leche cruda infectada.
2. Porque limitan el comercio internacional de productos cárnicos y lácteos, influyendo negativamente en la rentabilidad de las explotaciones.
3. Porque estas enfermedades generan importantes pérdidas económicas en la producción de carne y leche

3.5 TUBERCULOSIS EN COLOMBIA

Para ubicar el problema de la tuberculosis en Colombia, se parte de dos aspectos, el relacionado con la información que se reporta sobre la población humana afectada y la información que se ha recogido sobre las poblaciones animales tanto bovinas como otras especies que actúan como enfermas o como reservorios.

Estas informaciones se recogen en diferentes espacios y es poco lo que se encuentra en bases ciertas sobre el verdadero estado de nuestro país en estos dos aspectos. Con la información disponible se registra la siguiente situación de la Tuberculosis en diferentes países:

3.5.1 EPIDEMIOLOGIA DE LA TUBERCULOSIS

La Tuberculosis, una enfermedad infecciosa tan antigua como la humanidad, ha constituido y constituye hoy un gran problema debido a su crecida difusión, a la mortalidad que causa y a su carácter socioeconómico propio de una infección de curso crónico. Se le considera la enfermedad reemergente más importante en la actualidad.

La historia de esta enfermedad comienza a escribirse en 1648 cuando Keppler menciona la tuberculosis bovina pero es en 1831 cuando se asocia la tuberculosis

aparecida en humanos con la tuberculosis de origen bovina. El 24 de marzo de 1882, Robert Koch comunicó a la Sociedad de Fisiología de Berlín que, mediante coloración con derivados de anilina, había descubierto al bacilo que producía la tuberculosis, de material obtenido de lesiones humanas, y también de bovinos y suinos.

La tuberculosis bovina tiene alto impacto en las poblaciones de riesgo como son los trabajadores rurales, trabajadores de predios y personal de la industria frigorífica. La infección en el hombre se produce en forma indirecta, a través de la ingestión de leche o productos derivados crudos que se encuentren contaminados (vía digestiva) o por inhalación de las gotitas, en suspensión en el aire, que contienen bacilos, con localización broncopulmonar, al realizar tareas en contacto con animales enfermos o por aerosoles en los establecimientos, frigoríficos o mataderos (vía respiratoria o aerógena).

No se puede diferenciar clínicamente ni por rayos-x la infección por *M. bovis* de la infección causada por *M. tuberculosis*, principal agente causal de la tuberculosis humana, por lo que es necesaria la identificación bacteriana.

Rutas de transmisión de la Tuberculosis Bovina

Aerosol / Respiratoria: Los bacilos tuberculosos se encuentran en el núcleo de las gotas resultantes de la espiración de los animales infectados, las cuales pueden permanecer suspendidas en el aire por días. Es la ruta más importante de transmisión (90-95 % de los casos). En polvo contaminado con esputo seco infectado puede ser infectante por 8-10 días. Se necesitan muy pocos microorganismos para causar la infección.

Oral: Se presenta en un 10-20% de las veces por este medio. En hatos infectados se han encontrado animales con sólo lesiones mesentéricas, es una ruta menos

eficiente que la de aerosoles, porque se requiere de un gran número de microorganismos para penetrar la mucosa intestinal. La contaminación de agua, alimento y medio ambiente son factores determinantes de la transmisión; la bacteria sobrevive 18 días en agua estancada, de 20 a 30 días en el esputo expuesto a la luz solar directa, de 6 a 8 semanas en estiércol mantenido húmedo y protegido de luz ultravioleta directa. Sobrevive y permanece infectante al menos 105 días en estiércol de cerdos. Algunos autores mencionan tiempos de hasta 10 meses de sobrevivencia del *M. bovis* en heces, esputo y agua cuando están protegidos de la luz y la desecación. Investigaciones recientes en Irlanda indican que el estiércol de animales alimentados con dietas que contienen más silo que concentrado (en oposición a dietas altas en fibra) puede crear un medio ambiente anaerobio favorable, permitiendo al *M. bovis* sobrevivir mucho más tiempo fuera del huésped.

El bacilo puede permanecer viable en establos, pastos, estiércol, en lugares donde se entierren cadáveres por períodos de seis meses hasta por cuatro años. En ambientes ricos en materia orgánica, tales como almacenes de alimentos, particularmente vegetales ricos en almidones, es posible recuperar bacilos de estos alimentos a diferentes temperaturas, incluso a - 20° C después de 114 días.

En el agua estancada su viabilidad puede conservarse hasta por un año, en tanto que en cadáveres, la supervivencia de este bacilo dependerá de la velocidad de descomposición del cadáver y la vegetación presente, comprendiendo un período de dos semanas hasta dos meses.

Si bien los casos humanos debidos al bacilo tuberculoso bovino (*M. bovis*) no superarían el 4% del total, desde el advenimiento de la epidemia de VIH/SIDA se han informado, por vez primera en la historia de la tuberculosis, casos de esta enfermedad asociada al SIDA, producidos por cepas de *M. bovis* multirresistentes,

con elevadísima mortalidad. Estos casos ocurren en pacientes de SIDA internados en centros hospitalarios donde también concurren otros pacientes tuberculosos crónicos. Estos últimos son fuente de infección para los enfermos de SIDA, inmunosuprimidos y, por lo tanto, altamente susceptibles a la infección, en los que además, el pasaje de infección a enfermedad es muy rápido, manifestándose en ocasiones sólo algunas semanas después del contacto con la fuente de infección.

Se considera que el porcentaje de casos de tuberculosis pulmonar del adulto humano por *M. bovis* estaría, en la Argentina, alrededor de 2% y en 8% el de casos extrapulmonares. Ello significaría cerca de 1.000 casos de tuberculosis bovina en el adulto cada año asociadas al lugar de residencia rural y, sobre todo, relacionado con la práctica laboral. En México se presume que 8% de la tuberculosis humana es debida a *M. bovis*. De acuerdo con la OMS. (Organización Mundial de la Salud) en Latinoamérica y El Caribe hay 117 millones de humanos infectados, lo que alcanza 26% de la población total.

De los 34 países que comprenden Latinoamérica y el Caribe, 12 reportan la tuberculosis bovina como esporádica o de baja ocurrencia (Colombia entre ellos), siete como enzoóticas, y solo República Dominicana la describe como de alta ocurrencia; 12 países no reportan la tuberculosis bovina (*Kantor, 1994*).

Lo anterior cobra mayor importancia si se tiene en cuenta que el 76% de la población bovina de América Latina y el Caribe está en países donde se ejerce un buen control de la enfermedad. De tal manera que el 24% de animales se encuentra en naciones donde el control es insuficiente o no existe, países en los cuales, la población humana está en riesgo de contraer la enfermedad (*Kantor, 1994 -2008*).

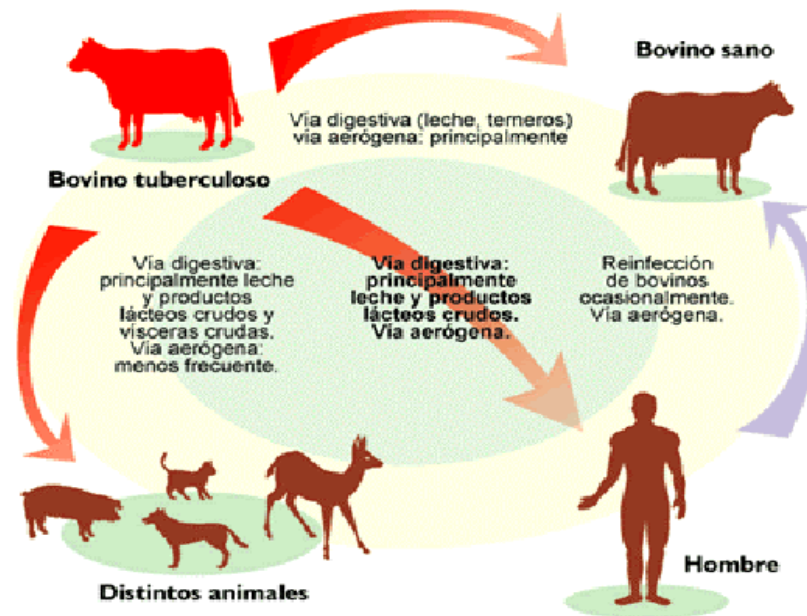


Figura 6. Fuentes de Infección y modo de transmisión

La Organización Mundial de la Salud -OMS- declaró en abril de 1993 que la Tuberculosis había adquirido carácter de urgencia mundial, debido principalmente a falta de atención a la enfermedad por parte de muchos gobiernos, con programas de control mal administrados, además del crecimiento demográfico y ahora último al vínculo entre la Tuberculosis y la infección con el VIH. Según ésta organización, cerca de la tercera parte de la población mundial está infectada con el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*. En el año 1995 se reportaron más de nueve millones de casos nuevos de Tuberculosis con más de 3 millones de muertes.

La prevalencia de la tuberculosis humana de origen animal ha disminuido mucho en los países donde se impuso la pasteurización obligatoria de la leche y donde se realizaron exitosas campañas de control y erradicación de la infección bovina (Acha y col, 1992).

En los países donde la leche se consume hervida, entre ellos los de América Latina, la incidencia de infección por *M. bovis* ha sido siempre más baja. Sin embargo, tanto las formas pulmonares como extrapulmonares de la tuberculosis humana de origen animal, no dejan de ser un problema en las áreas con alta prevalencia de infección en bovinos.

Esto se debe a que no toda la leche que se consume es hervida, muchos de los productos se preparan con leche sin pasteurizar y además hay casos de infección por vía aerógena. En el Perú (Fernández Salazar et al., 1.993) en un estudio de 853 cepas de tuberculosis pulmonares, se han identificado 38 (4.45%) aislamientos como *M. bovis*. En la Argentina, sobre todo en 1978-1981, en varios laboratorios se estudió un total de 7.195 cepas, en su mayoría aisladas de pacientes adultos pulmonares, y 82 (1.1%) de ellas se clasificaron como *M. bovis* (Comisión Nacional de Zoonosis, 1982).



Figura 7. Comparación de tuberculosos.

El *Mycobacterium tuberculosis* causa mayor mortalidad que cualquier otro agente infeccioso. Las muertes por Tuberculosis corresponden al 25% de la mortalidad evitable en países en desarrollo. Del 95% al 98% de las muertes por Tuberculosis ocurren en países en desarrollo. El 75% de los casos en países en desarrollo ocurren en la población económicamente productiva (15-50 años).

El hombre que sufre de Tuberculosis pulmonar debido al tipo bovino, puede, a su vez retransmitir la infección a los bovinos. Episodios de esta clase se han producido en los Estados Unidos y en varios países europeos. El hombre puede transmitir el bacilo tipo humano a varias especies animales principalmente monos y perros en los cuales puede producir una tuberculosis evolutiva.

Infección por *Mycobacterium bovis* en el hombre

El factor de exposición se da con mayor frecuencia por vía respiratoria o aerosoles, en personas que manejan animales como veterinarios, trabajadores de rastros, de plantas de rendimiento y empacadoras; la transmisión por vía oral se presenta debido a la ingestión de leche no pasteurizada y productos provenientes de animales tuberculosos.

3.5.2 INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS PULMONAR EN COLOMBIA

La morbilidad durante los últimos diez años ha presentado una tendencia hacia la disminución. Esta tendencia no es real, sino debido a que durante los últimos años se ha disminuido la búsqueda de casos mediante las baciloscopias.

Durante el año de 1998 se reportaron un total de 9.155 casos nuevos de Tuberculosis, que corresponde a una incidencia general de 22,5 por 100.000 habitantes, el 76,1% de estos casos eran bacilíferos y el 9,4% correspondían a formas extrapulmonares. A cada paciente sintomático respiratorio se le realizó 2.1

baciloscopias en promedio y la positividad de la baciloscopia para el año fue de 4,6%. La proporción de casos en los menores de 15 años fue de 7,2% del total.

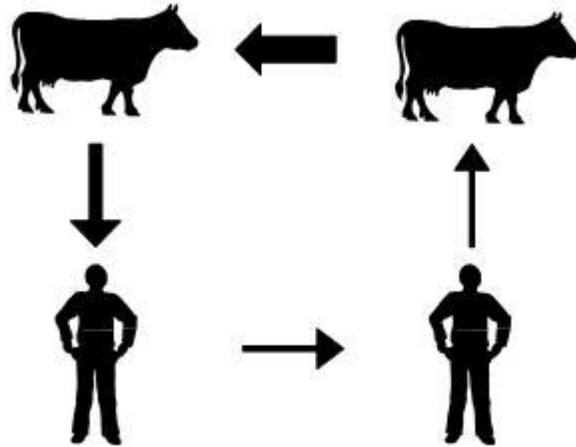


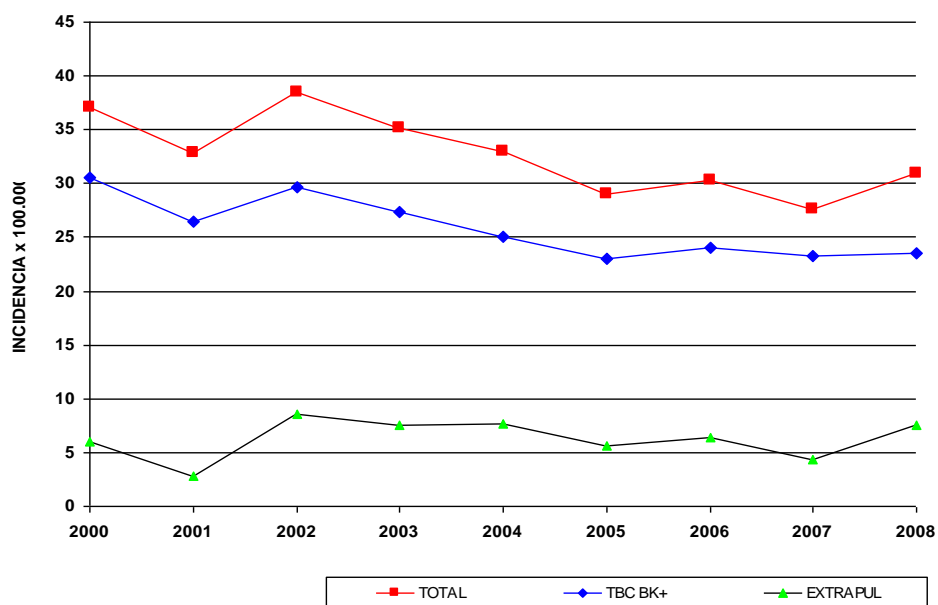
Figura 8. Ciclo de transmisión del Mycobacterium bovis entre Bovinos y Humanos.

El grosor de las flechas se asocia con la probabilidad de infección

Adaptado de Collins & Grang, 1987

La Meningitis Tuberculosa en menores de cinco años, mide indirectamente las coberturas por BCG alcanzadas en el país. En los últimos años se observa una tendencia a la disminución de esta patología en el Grupo de Menores de un año, asociada a un incremento en la cobertura de la vacunación BCG a este mismo grupo. En el grupo de niños de 1 a 4 años, se aprecia una leve tendencia al aumento de la Tuberculosis Meníngea hasta el año 1994, periodo en el cual la cobertura vacunal de BCG, permaneció estable y menor del 95%; después de este año, al incrementar la vacunación BCG a menores de un año, se observa una disminución progresiva de la enfermedad en los niños de 1 a 4 años. Sin embargo, el número de casos registrados en el país en este periodo y las tasas de incidencia son bastante bajos.

El control de la tuberculosis en salud pública se concentra en la TB Pulmonar, por ser esta la forma que mantiene la cadena de transmisión en la población, los pacientes con TB pulmonar bacilíferos es la población que se debe captar a tiempo y lograr la meta que el país se ha propuesto con la comunidad internacional con el Lema de FRENAR LA TUBERCULOSIS (Giraldo 2009).



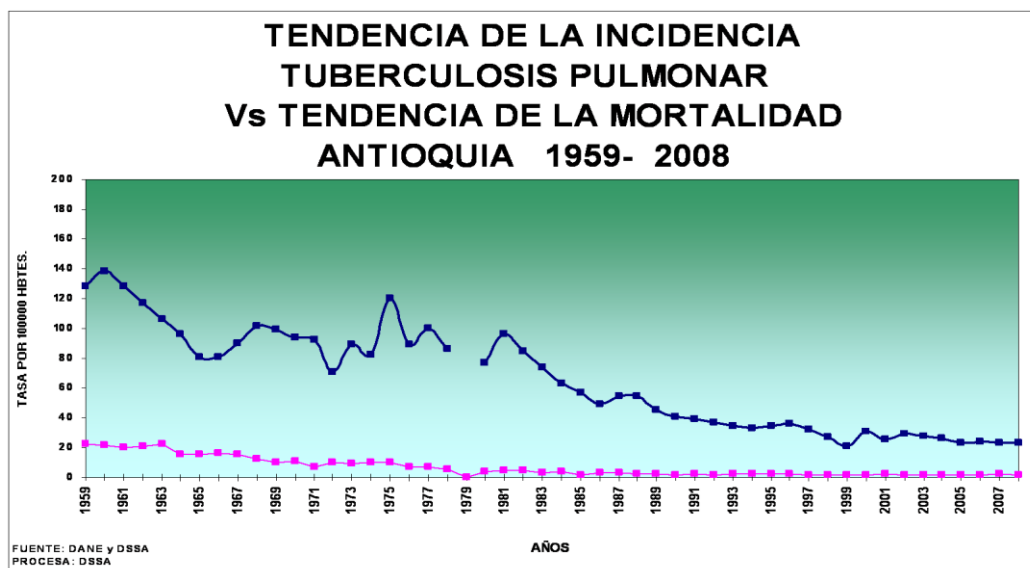
Gráfica 1. INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS
Departamento de Antioquia, Colombia 2000-2008

Antioquia sigue siendo uno de los departamentos del país que más casos de tuberculosis aporta. En la última década ha tenido un comportamiento estacionario, con una incidencia promedio de 30 casos por cada 100.000 habitantes, indicador que lo mantiene entre uno de los departamentos de alta incidencia en el país. (Giraldo 2009).

En el año 2008 se notificaron un total de **1.995 casos**, para una incidencia de 34 casos por 100.000 habitantes, de los cuales **1.537 son casos pulmonares**. (Giraldo 2009).

3.5.3 FACTORES DE RIESGO

La susceptibilidad es universal, para todas las edades y sexos. Sin embargo, la desnutrición, el hacinamiento, las malas condiciones higiénicas, la infección por el VIH, algunas enfermedades debilitantes y anergizantes, los inmuno suprimidos, la diabetes, el estrés, la silicosis, el alcoholismo, la drogadicción y la indigencia entre otros, aumentan la susceptibilidad de las personas a la enfermedad.



Gráfica 2

Es común y arraigado en las comunidades campesinas el tomar la leche cruda o sin hervir, la denominan “la postrera”, a la par que la fabricación y el consumo de derivados lácteos provenientes de leche sin hervir, costumbres ancestrales.. El manejo de los rebaños en zonas lecheras y en zonas de ganadería tropical, es otro factor de riesgo al no disponer de la más mínima precaución en el establecer contacto directo con los animales, tanto en las faenas diarias como en los procesos del ordeño y manipulación de alimentos sin las debidas normas de seguridad.

Otro riesgo que es habitual es el de la faena en plantas de beneficio animal, hasta tanto el animal sea diagnosticado positivo por el Médico Veterinario de turno, como Inspector del proceso ocurre con los operarios y aún con el mismo profesional, no es común y se entra en discusión el uso constante del tapabocas en estas plantas, aunque la norma lo exija hay momentos en los cuales por descuido de los operarios y del personal encargado de controlar la calidad se escapa este detalle, permitiendo el operar sin este elemento.

3.5.4 FACTORES DE PROTECCIÓN

La mejor forma de prevenir la enfermedad es cortar la cadena de transmisión de enfermo a sano mediante la búsqueda, localización precoz de las fuentes de infección y su tratamiento hasta obtener su curación. Para cortar la cadena de transmisión no basta con diagnosticar todas las fuentes de infección, es preciso diagnosticarlas oportunamente, de tal manera que al momento del inicio del tratamiento hayan infectado el menor número posible de contactos.

El bacilo de la tuberculosis se ha adaptado a vivir a la temperatura corporal del hombre y en la oscuridad. Se multiplica mejor cerca de los 37°C, la velocidad de desarrollo disminuye al alejarse de esa temperatura, muy difícilmente crece por debajo de los 34°C y puede morir por encima de los 40°C. La luz solar ultravioleta (UV) es perjudicial para su sobrevivencia (OPS, 2008)

Una vez ocurre la infección, solo el 10% de las personas desarrollan la enfermedad en alguna época de su vida. Sin embargo, en el 2006 el número de casos nuevos de tuberculosis notificados a la OMS, fue de 9,2 millones (139 por 100.000 habitantes) y, a pesar de que existen medicamentos para tratar

efectivamente la enfermedad, la cifra estimada de muertes correspondió a 1,7 millones (Rosero y col, 2008).

En Colombia, el perfil epidemiológico de la tuberculosis ubica la enfermedad como un problema prioritario para la salud pública del país: en el 2007, se reportaron 8.186 casos de tuberculosis y en el 2008, con corte a la semana epidemiológica 20, se habían reportado 2.322 casos nuevos de tuberculosis pulmonar.

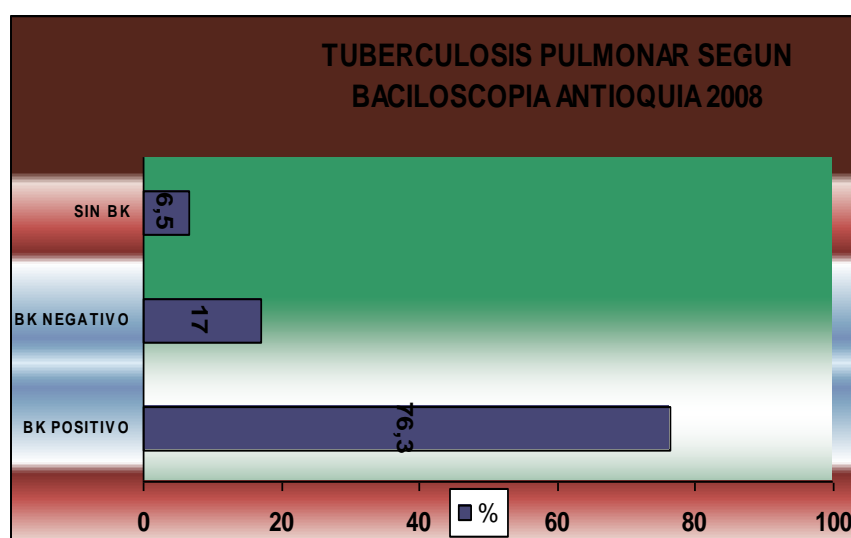
La tasa de incidencia estimada por la OMS es de 45 casos por 100.000 habitantes, cifra que difiere de las tasas reportadas por las secretarías departamentales de salud: 75,9 en la Guajira, 56,8 en el Quindío, 50 en el Meta, 42,5 en Risaralda y 40 en El Valle. Por otro lado, otras regiones en este país, presentan tasas de incidencia por debajo de la estimada por la OMS: 35 en Tolima, 30,8 en Norte de Santander, 30 en Antioquia, 25,9 en Santander, 19 en Caldas, 9,7 en Bolívar, 32 a 37 en Barranquilla, 25,7 en Santa Marta, 16 a 17 en Cartagena y 14,5 en Bogotá.(Giraldo, 2009)

Lo anterior indica que en Colombia, sigue transmitiéndose esta enfermedad y que, en realidad, las tasas reportadas serían mayores, teniendo en cuenta que en el país ha disminuido la búsqueda de los pacientes sintomáticos respiratorios y existen deficiencias en el seguimiento de los pacientes para la búsqueda de contactos.

Lo anterior agrava más el problema del retraso en el diagnóstico e inicio del tratamiento oportuno, situación que se está presentando debido a la descentralización de los programas de salud pública, que ha dificultado la instauración de los procesos técnicos para el control de la tuberculosis.

Además, la estructura del actual sistema general de seguridad en salud del país, ha conducido a una falta de coordinación entre los diferentes estamentos del sistema que han ido en deterioro del control efectivo de la tuberculosis.

En Colombia existen guías y esquemas de tratamiento para el control de la tuberculosis, pero su puesta en marcha es compleja y su eficacia real muy limitada para lograr una captación temprana de los casos bacilíferos y, por tanto, transmisores de *M. tuberculosis*.



Gráfica 3

Un individuo bacilífero infecta entre 10 y 15 personas por año; de ahí la importancia de detectarlos oportunamente para brindarles el tratamiento adecuado, cuyos objetivos son la curación del enfermo tuberculoso y cortar la cadena de transmisión de *M. tuberculosis*.

Teniendo en cuenta que la mortalidad por tuberculosis es uno de los eventos en vigilancia estricta y que la meta propuesta en el plan departamental en Antioquia, es disminuir la tasa en un 50%, se espera que en todos los municipios se continúe con esta vigilancia y se logre mantener la tasa hacia la disminución.

Para el año 2008, según el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, SIVIGILA, el 67% de los municipios del departamento de Antioquia, 84, registraron casos de tuberculosis, siendo las zonas de más alta incidencia, el Magdalena Medio, Valle de Aburrá, y la región de Urabá, zonas en las cuales se observaron incidencias por encima de 45 por 100.000 habitantes, Puerto Berrío (84.8), Apartadó (45.5) y Medellín (47.7) ubicándose entre los municipios de más alto riesgo del departamento

3.5.5 REPORTE DE CASOS EN HUMANOS POR CONSUMO DE LECHE CRUDA

'Consumo de leche cruda y carne en mal estado aumenta casos de tuberculosis'

Respecto de la aparición de casos de Tuberculosis Bovina en regiones de Colombia, en donde no se habían detectado la enfermedad, el Ministerio de la Protección Social, señaló que existen 11.128 casos de tuberculosis en el país; esta cifra no corresponde al consumo de leche cruda y carne en mal estado. Los departamentos más afectados por esta epidemia son Antioquia, Cundinamarca, Santander y Valle.

El Ministro de la Protección Social, Diego Palacio, el 26 de agosto del año de 2.008, hizo énfasis en que la tuberculosis había “vuelto a ganar campo en Colombia y por eso hacía un llamado a la población para no consumir leche sin pasteurizar”. Al respecto, el director de Salud Pública del mencionado Ministerio

indicó, que la tuberculosis no ha aumentado y que los registros del Ministerio pertenecen a la tuberculosis pulmonar y no bovina.

Así mismo, el Viceministro de la Protección Social, Carlos Ignacio Cuervo, advirtió a la ciudadanía que la carne vendida por algunos expendios, no se preserva de la manera correcta, puesto que proviene de mataderos que no cumplen las normas sanitarias y que por lo tanto la tuberculosis podría presentar un incremento.

Según el director de Salud Pública del Ministerio de Protección Social, Gilberto Álvarez, en Colombia no es frecuente la tuberculosis por este tipo de consumo, pues aunque sí existe la tuberculosis bovina, transmitida por animales enfermos, prevalecen más los casos respiratorios. Así mismo, indicó que esta enfermedad nunca ha dejado de existir y que en cuatro décadas se ha disminuido de 60 mil a 11 mil casos.

“Esta epidemia se asocia con la pobreza, con las limitaciones económicas de la población, una persona mal nutrida o desnutrida es mucho más susceptible a sufrir tuberculosis. Otro aspecto importante son las condiciones higiénico sanitarias de la vivienda, por ejemplo, el hacinamiento”, explicó Álvarez.

La tuberculosis pulmonar es una epidemia que se trasmite de persona a persona, generalmente por la tos. Los síntomas de este mal son: tos, expectoración, pérdida de peso y apetito, fiebre, decaimiento. Cuando no se trata a tiempo la persona puede tener flema con sangre y caer en un colapso respiratorio.

La tuberculosis bovina puede afectar las vías digestivas y presentar cuadros clínicos en los que se compromete la parte renal y cerebral.

M. bovis causa tuberculosis en el ganado bovino y en una gran variedad de animales salvajes y domésticos, eventualmente también en los que viven en

zoológicos. Desde el animal, normalmente del bovino, puede ser transmitido al hombre. A pesar de que todavía existe una cantidad no desdeñable de rebaños infectados por este microorganismo en Latinoamérica, las medidas de sanidad animal y las aplicadas a los alimentos han llevado al descenso la incidencia de la zoonosis. En áreas ganaderas se puede esperar que *M bovis* cause a lo sumo el 1-2% del total de casos de tuberculosis con cultivo positivo. Afecta muy indistintamente a quienes están en contacto con el ganado (trabajadores rurales, de establecimientos que procesan carne para consumo, habitantes de áreas ganaderas) (OPS, 2008).

3.6 CAMPAÑA PARA CONTRARRESTAR LA TUBERCULOSIS

La multidosis es el nuevo método con el que se tratan a los enfermos de tuberculosis, la mayoría de personas a las que les era identificada la enfermedad abandonaban el tratamiento porque tenían que tomar varias pastillas a la semana, ahora en una sola gragea vienen cuatro medicamentos.



Figura 9 Niños en Puerto Nare, predio infectado

El Gobierno transfiere recursos directamente a las entidades territoriales de salud para que realicen acciones de promoción, prevención y búsqueda. “Todos los colombianos, independientemente del régimen de afiliación a la seguridad social que presenten tuberculosis, tienen el tratamiento, diagnóstico y seguimiento gratuito”, asegura Álvarez.

El Ministerio de Protección Social invierte al año cerca de siete mil millones de pesos para contrarrestar la enfermedad. (Castillo, 2008)

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIALES Y METODOS

Para realizar el diagnóstico de la enfermedad desde sus inicios se ha utilizado la prueba de la Tuberculina, la cual es una respuesta inmunológica de la aplicación de un compuesto proteico lo cual desencadena reacciones en el organismo que se declara positivo; el negativo o el que no ha estado expuesto no reacciona.

Existen métodos directos e indirectos para diagnosticar la tuberculosis bovina. En los primeros se determina la presencia del agente en el huésped, y en los segundos se determina la respuesta del huésped al agente, ya sea esta de tipo celular o humoral. El método clásico es la prueba de la tuberculina, que consiste en medir la reacción inmunitaria tras la inyección intradérmica de una pequeña cantidad de antígeno.

El diagnóstico definitivo requiere el cultivo de bacterias en laboratorio, proceso que exige por lo menos ocho semanas. En el Manual de normas para las pruebas de diagnóstico y las vacunas para animales terrestres de la OIE (Capítulo 2.4.7;

2008) hay instrucciones detalladas sobre la elaboración de tuberculina y el cultivo de *M. bovis*. (OIE, 2008)(Clavijo y col. 2004).

4.1.1 MÉTODOS DIRECTOS

En las plantas de sacrificio la inspección de canales es una actividad básica en la vigilancia epidemiológica de la tuberculosis bovina, ya que es allí donde se detectan en estos animales las lesiones macroscópicas que se ven a simple vista como es la presencia de tumoraciones en los diferentes órganos. El foco de necrosis presenta una coloración amarillenta con apariencia caseificada (como queso) y es posible detectar la presencia de calcio; durante la necropsia se perciben como pequeñas granulaciones blancuecinas que crepitan al cortar con el cuchillo. También puede observarse exudado de apariencia purulenta en meninges.

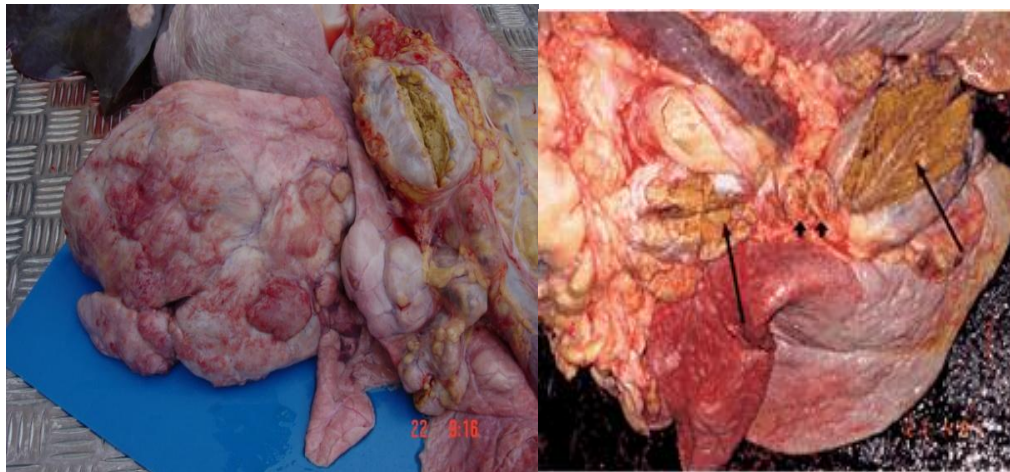


Figura 10. Caseificación en pulmón y ganglio linfático mediastínico (Puerto Nare)

A partir de estas muestras se aplican las siguientes técnicas microscópicas de diagnóstico:

COLORACIÓN DE ZIEHL NEELSEN: (ácido alcohol resistente).

Identifica la presencia de bacilos ácido alcohol resistentes, no formadores de esporas inmóviles y no encapsuladas, características del género *Mycobacterium*. Los bacilos se observan de color rojo brillante sobre un fondo azul, complementan un diagnóstico presuntivo clínico y/o lesional, pero que presenta una baja especificidad.

Las paredes celulares de ciertos parásitos y bacterias contienen ácidos grasos (ácidos micólicos) de cadena larga (50 a 90 átomos de carbono) que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la tinción con colorantes básicos. Por esto se denominan ácido-alcohol resistente. Las micobacterias como *M. tuberculosis*, *M. marinum* y los parásitos coccídeos como *Cryptosporidium*, se caracterizan por su propiedad de ácido-alcohol resistencia. La coloración clásica de Ziehl-Neelsen requiere calentamiento para que el colorante atraviese la pared bacteriana que contiene ceras.

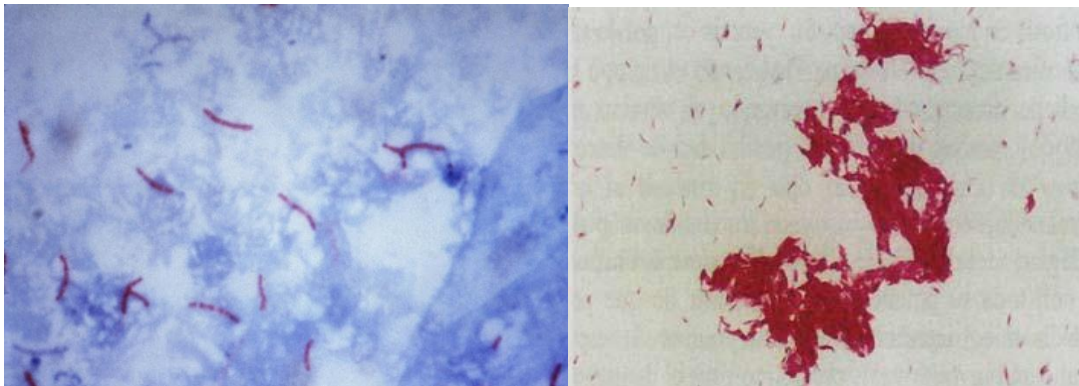


Figura 11. Cuerdas de *Mycobacterium tuberculosis* (OPS, 2008)

Se ha desarrollado una coloración de ácido-alcohol resistencia modificada que diferencia las especies de *Nocardias* (bacterias ramificadas filamentosas cuyas

paredes celulares contienen ácidos-grasos de unos 50 átomos de carbono), de los actinomicetos (muy semejantes pero no ácido-alcohol resistentes).

El procedimiento es el siguiente: El frotis en placa se tiñe durante unos 5 minutos con Carbolfucsina aplicando calor suave. Lavar con agua. Decolorar con alcohol etílico 95% con un 3% de CIH concentrado. Lavar y teñir durante 30-60 segundos con Azul de Metileno (color de contraste), por último, lavar y secar.

HISTOPATOLOGÍA,

La histopatología proporciona resultados presuntivos. En cualquiera de las formas en que se presenta la tuberculosis, esta se caracteriza por la formación de granulomas. Se pueden detectar bacilos ácido alcohol resistentes libres en el citoplasma de los macrófagos, histiocitos y células gigantes de la lesión granulomatosa (Células gigantes de Langerhans).

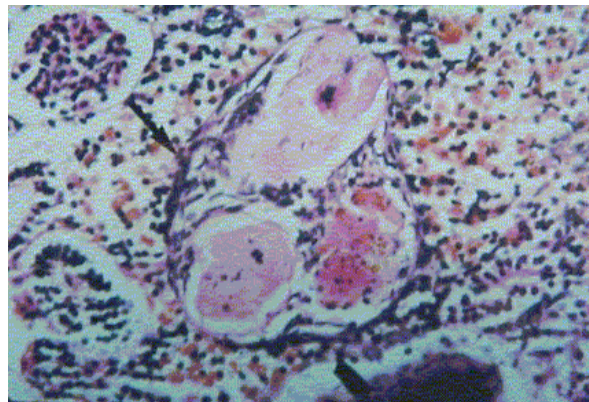


Figura 12. Granuloma tuberculoso

CULTIVO BACTERIOLÓGICO

El cultivo bacteriológico proporciona el diagnóstico definitivo de la enfermedad, aislando al *M. bovis* de biopsias provenientes de animales sacrificados. El material

requerido para aislar el *M. bovis* debe ser ganglios, pulmones, hígado, bazo, riñón, pleura o cualquier otro tejido donde se aprecien las lesiones características.

Las micobacterias son aerobios obligados que crecen en medios sintéticos simples, pero para el aislamiento primario a partir de muestras clínicas se requiere de un medio más complejo como el medio Löwestein-Jensen, o como el medio Middlebrook. El cultivo dura de 3 a 6 semanas en desarrollarse, las colonias son pequeñas, secas y con aspecto escamoso. El medio de Löwestein-Jensen con glicerol se utiliza para favorecer el crecimiento de *M. Tuberculosis*, mientras que el medio de Stonebrink con piruvato se utiliza para favorecer el crecimiento de *M. bovis*.

Si se considera el total de casos con diagnóstico de tuberculosis pulmonar confirmado bacteriológicamente, la baciloscopia detecta el 70-80% y el cultivo 20-30% el restante. Estas cifras están condicionadas por la situación epidemiológica

Sin embargo, esta prueba tiene el inconveniente de ser muy tardía, ya que el microorganismo demora entre 4 y 6 semanas para crecer en medios selectivos.

El cultivo bacteriológico es de importancia en las campañas de erradicación y debe ser practicado a muestras provenientes de animales reactivos positivos que hayan sido sacrificados, para así confirmar que en realidad estaban infectados con *M. bovis* y controlar de esta manera la especificidad de la prueba de tuberculina.

4.1.2 MÉTODOS INDIRECTOS

Evalúan la respuesta mediada por células. Contempla las pruebas de intradérmica reacción con PPD bovina que es el método más eficaz y que ha servido para erradicar la tuberculosis en numerosos países. El PPD bovino es un derivado

proteico purificado producido a partir de cultivos inactivados de *Mycobacterium bovis* en un medio sintético.

Se dispone de tres pruebas (Clavijo y col. 2004):

PRUEBA TUBERCULÍNICA CERVICAL SIMPLE:

Consiste en la inoculación intradérmica de 0,1 ml de PPD bovina, previa limpieza con un producto no-irritante, en el tercio medio del cuello, previo corte del pelo a máquina o tijera en el lugar de la inyección, en una superficie de 5 a 6 cm. La lectura se hace a las 72 horas (más o menos 6 horas). Las reacciones se consideran negativas cuando no se observa ni palpa ningún cambio en la piel del sitio de aplicación y rectoras cuando es visible y/o palpable un engrosamiento de 4-5 mm.

Cuadro 6 Tipo de prueba de Tuberculina (Sensibilidad y Especificidad)

PRUEBA	SENSIBILIDAD	RNF	ESPECIFICIDAD	RPF
PPC	85 - 90%	10 - 15%	95-98%	2 - 5%
PCC	74%	26%	98%	2%
PCS	90 - 95%	5 - 10%	90%	10%

PPC = Prueba del Pliegue Caudal
PCC = Prueba Cervical Comparativa
PCS = Prueba Cervical Simple
RNF = Reactor negativo Falso
RPF = Reactor Positivo Falso

PRUEBA TUBERCULÍNICA ANO-CAUDAL:

La prueba de tuberculina se basa en la respuesta inmunológica del animal a la inyección intradérmica de 0,1 ml de tuberculina en la dermis del pliegue caudal con un extracto proteínico purificado (PPD) de *M. bovis* cepa estándar (AN5) o Valleé. (Ward, 2005).

Esta prueba se realiza en el pliegue ano-caudal interno a unos 6 cm. de la base de la cola y en el tercio medio del pliegue ano-caudal interno o en la unión mucocutánea del pliegue vulvar. Esta zona es menos sensible a la tuberculina que la piel del cuello. La lectura se hace a las 72 horas (más o menos 6 horas). Las reacciones se consideran negativas cuando no se observa ni se palpa ningún cambio en la piel del sitio de aplicación y rectoras cuando es visible y/o palpable un engrosamiento de 4-5 mm (Ward, 2005). Esta prueba es poco específica, ya que no diferencia entre *M. bovis* y *M. avium*, por lo que se pueden presentar un gran número de falsos positivos.

PRUEBA TUBERCULÍNICA COMPARATIVA.

La prueba intradérmica comparativa se utiliza para la realización de un diagnóstico diferencial entre animales infectados por *Mycobacterium bovis* y aquellos sensibilizados a la tuberculina por exposición a otras micobacterias. Esta prueba consiste en la inyección de 0.1 ml de tuberculina bovina e igual cantidad de tuberculina aviar (Ward, 2005), midiendo previamente el grosor de la piel con un vernier o cutímetro antes y después de la aplicación en dos diferentes puntos.

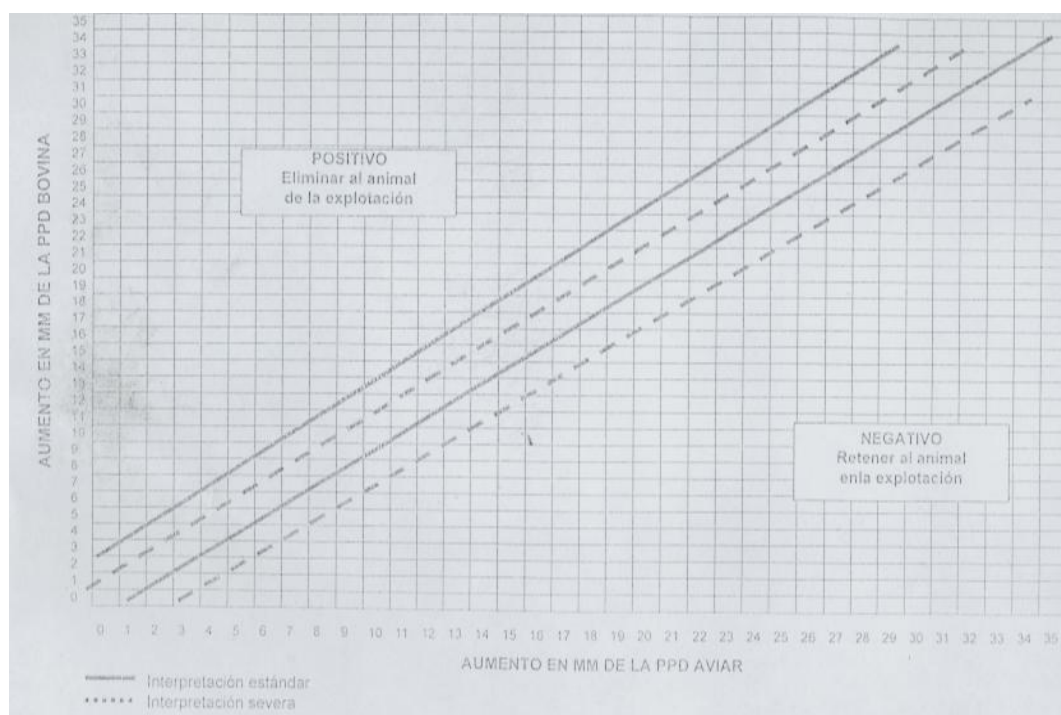
La finalidad de esta prueba es diferenciar la reacción inflamatoria con *M. bovis* y *M. avium*, previa limpieza con un producto no irritante, en diferentes puntos del cuello y en la subsiguiente evaluación de la respuesta transcurrida 72 horas. Para esta prueba comparativa la dosis de tuberculina no debe ser inferior a 20.000 UI

por ml de tuberculina bovina ni a 25000 UI por mililitro de tuberculina aviar. La distancia entre ambas inyecciones debe ser de aproximadamente 12 a 15 cm.

La interpretación se realizará restando la lectura final a la inicial, comparando el resultado con una tabla de interpretación como la que se muestra en la gráfica 4.

Para lo anterior, se establecen los siguientes resultados:

- Resultado negativo: reacción negativa a la tuberculina bovina o, aún siendo positiva, el engrosamiento es igual o menor al provocado por una reacción positiva a la tuberculina aviar.
- Resultado dudoso: reacción positiva a la tuberculina bovina pero el aumento del espesor es entre 1 y 4 mm superior al que produce la tuberculina aviar.
- Resultado positivo: reacción positiva a la tuberculina bovina y un engrosamiento provocado por ésta superior a 4 mm al que produce la tuberculina aviar.
- Falsos positivos: Animales sensibilizados a otras mycobacterias, nocardias o en animales inyectados con irritantes en el lugar de la aplicación de la tuberculina antes de leer el resultado.
- Falsos negativos: Casos avanzados de tuberculosis, animales con menos de 6 semanas de evolución, animales desensibilizados mediante la administración de tuberculina durante 8 a 60 días precedentes, tuberculina de baja intensidad o contaminada con otras bacterias, por aplicar dosis erróneas por usar jeringas inapropiadas. Falsos negativos ocurren también en animales viejos, animales que han parido recientemente, animales en el estado inicial o final de la misma enfermedad, animales infectados con otros agentes patógenos (infecciones virales) o en animales en estado caquético.



Gráfica 4. Interpretación de la Prueba Doble Comparativa

Si se presentan animales sospechosos debe repetírseles la prueba antes de que se cumplan 10 días de la prueba inicial o bien a los 60 días después de la primera prueba. Si un animal resulta sospechoso en las dos pruebas se considerará como positivo.

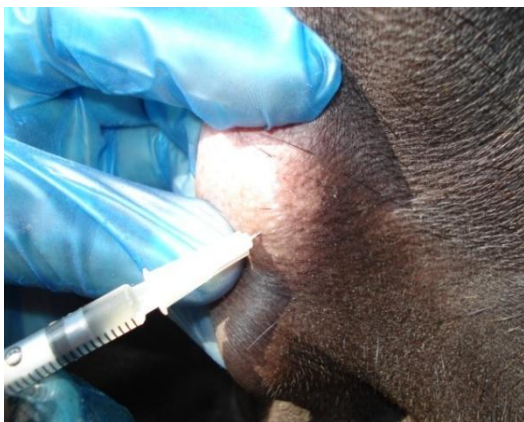


Figura 13 Prueba caudal de la tuberculina

En todas las pruebas de reacción intradérmica, la inyección se realiza introduciendo la aguja oblicuamente en la dermis e inyectando la dosis de tuberculina. Después se comprueba que la inyección ha sido bien realizada detectándose al tacto una elevación cutánea (habón) en el lugar de la misma.

Estas pruebas se realizan en forma directa sobre el animal, y se requiere movilizar dos veces a éstos (una para la aplicación y otra para la lectura), y no se pueden repetir antes de los 60 días debido a que el animal se sensibiliza a la PPD, mostrando resultados siempre negativos. Si se las aplica en una dosis de 1 mg/ml, la mayoría de estas tuberculinas no cumplen con el requisito de las 2000 UI por dosis. Si bien la potencia de estas tuberculinas puede incrementarse hasta un cierto límite aumentando la concentración proteica de la dosis, esto conduce a un defecto en la especificidad de las mismas.



Figura 14. Reacción positiva a la tuberculina

Debe considerarse que estas pruebas:

1. Detectan animales con formas tuberculoides. Es decir, pueden ser negativos a la misma, animales con lesiones generalizadas o con pequeños

nódulos pero exudativos y con elevado número de bacilos en los mismos. Estos animales, tradicionalmente llamados "anérgicos" (no reaccionan), son los menos numerosos en un rebaño de bovinos infectados, pero son los más peligrosos en cuanto a contagio y a difusión de la infección se refiere. Durante las primeras semanas de la infección, la prueba puede ser negativa. .

2. Animales con lesiones mínimas y únicas (tuberculoideas) son intensamente reaccionantes. En una explotación con niveles de positividad a la tuberculinización simple (PPD bovina) muy elevada (20% o más) y con reacciones intensas en el punto de inoculación, no se debe pensar en reacciones cruzadas con otras micobacterias del complejo *Mycobacterium avium* (*M. avium*, *M. avium paratuberculosis*, etc.) o ambientales (*M. phlei*, etc) sino en infección tuberculosa.
3. En explotaciones infectadas con estas últimas micobacterias (grupo *M. avium* y ambientales), por ejemplo con *M. avium paratuberculosis*, los reaccionantes a la PPD bovina son escasos y en general muestran reacciones débiles, inferiores a los 4 mm.

Por estos inconvenientes se vienen realizando esfuerzos a nivel mundial para obtener pruebas de diagnóstico alternativas, resultando en algunos casos muy costosas y de difícil ejecución. Esta técnica, que tiene más de 100 años de uso y que ha sufrido muchas variaciones a través del tiempo, es aún hoy la prueba oficial de muchos países desarrollados como los de la Comunidad Económica Europea y USA.

Algunas micobacterias ambientales prefieren temperaturas más bajas para desarrollarse, especialmente las que suelen afectar a la piel y tejidos superficiales.

Cuando el antígeno (PPD) se inocula en forma intradérmica en la piel de un animal sensibilizado, es decir expuesto al agente en un momento suficientemente anterior a la prueba, como para que el animal pueda haber desarrollado su respuesta inmunitaria, se produce una reacción inflamatoria en el lugar de la inoculación (Torres, 2007).

Esta respuesta inflamatoria tarda varias horas en desarrollarse y alcanzar su máxima expresión, variando según las especies. En los porcinos y aves, el punto máximo de la reacción en proceso se produce a las 48 horas, mientras que los bovinos y otros rumiantes a las 72 horas. Cualquier induración igual o mayor a 5mm se considera como una reacción positiva (PPD o tuberculina positiva).

Los Derivados Proteicos Purificados de tuberculinas que se producen son tres, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium avium*. De ellas sólo la tuberculina bovina y aviar tienen aplicación veterinaria (Torres, 2007).

De acuerdo con los diferentes métodos de elaboración, existían distintos tipos de tuberculina, incluyendo la tuberculina vieja de Koch (O.T y K.O.T) y la tuberculina de Medio Sintético concentrado por calor (H.C.S.M). En la actualidad solamente se usa el PPD por su mayor potencia y especificidad.

De otra manera, si se inoculara a animales infectados o enfermos, es decir ya anteriormente expuestos y sensibilizados al bacilo tuberculoso, aparecerá la reacción tuberculínica, siendo la misma un ejemplo destacado de una respuesta inmunológica específica de hipersensibilidad tardía de tipo IV, mediada por células.

Para la correcta interpretación de la prueba y sobre todo para que los resultados sean comparables, repetibles e igualmente interpretables por distintos profesionales, existen seis constantes que deben establecerse claramente con los resultados de cada prueba.

Estas constantes son:

1. Potencia de la PPD.
2. Dosificación del antígeno.
3. Sitio de la inoculación.
4. Tiempo de lectura.
5. Medición de las respuestas o reacciones para su interpretación.
6. Instrumental a utilizar.

No es suficiente clasificar a un animal o a un rodeo como reactor positivo, sospechoso o negativo, ya que la repetición del test por otro profesional que varíe cualquiera de las constantes, puede producir resultados dispares y ser motivo de situaciones conflictivas a veces importantes.

La potencia de una tuberculina, es la medida de su actividad biológica en animales previamente sensibilizados con un organismo específico, valorada de acuerdo con patrones y un estándar internacional establecido.

De acuerdo a lo establecido por la World Health Organization (WHO), el PPD bovino deberá contener 1 mg de proteínas por mililitro de antígeno para una potencia de 32,500U.I/mg/ml. La potencia estimada de tuberculina bovina deberá ser, no inferior al 66% ni mayor del 150% de la potencia indicada en el prospecto.

El PPD aviar con 0,5 mg de proteína por mililitro de antígeno deberá alcanzar 25,000 U.I./0.5mg/ml. La potencia estimada para las tuberculinas aviares no deberá ser inferior al 75% ni superior al 133% de la indicada en la etiqueta.

Las tuberculinas PPD deberán conservarse al abrigo de la luz y a una temperatura de 2 a 8°C, descartando el sobrante que quede en el frasco, sino se va a utilizar en el mismo día.

La prueba de tuberculina tiene como ventaja que es una prueba muy barata, pero posee algunas desventajas. Por ejemplo: a los animales que son inoculados no se les puede repetir la prueba hasta después de 60 días por anergia inmunológica inducida por la misma prueba; además, los animales se deberán movilizar dos veces; una vez para la inoculación y otra vez para la lectura de la prueba. La eficacia de la prueba de tuberculina depende de factores tales como la potencia del PPD utilizado, la correcta aplicación y la capacidad de respuesta del animal infectado. En diferentes estudios en el campo se ha determinado una sensibilidad de la prueba entre el 77-95%.

La especificidad de la prueba en general es alta, alrededor de 98%, sin embargo, se han reportado valores entre el 75-99,9%. Infecciones debidas a otras Micobacterias del ambiente (incluyendo al *M. paratuberculosis*) diferentes al *M. bovis* interfieren con la prueba, debido a la existencia de antígenos comunes entre ellos. Por esta razón, para evitar falsos positivos se aplican en algunos países la prueba comparativa (Torres, 2007).

REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).

Una importante alternativa es la identificación del genoma bacteriano, mediante la **REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)** para la amplificación de secuencias génicas, Su eficacia radica en la rápida identificación de patógenos de difícil cultivo. En ese contexto, el desarrollo de un procedimiento que identifica directamente *M. bovis* en muestras de tejido y secreción proveniente de animales tuberculosos debe ser el objetivo de todos los países.

La secuencia genómica de *M. bovis* tiene más de un 99,95% de coincidencia con la de *M. tuberculosis*. La supresión de información genética ha dado lugar a un tamaño genómico más reducido. No se han hallado genes únicos de *M. bovis*, hecho que implica que es la diferente expresión génica lo que condiciona el tropismo del bacilo humano y el bovino. (Prat Aymerich, C, 2005)

La incorporación de estos procedimientos para el diagnóstico de tuberculosis animal y la genotipificación es de importancia por cuanto países desarrollados ya aplican en forma rutinaria dichas metodologías como apoyo a las investigaciones diagnósticas y epidemiológicas, necesarias en programas de vigilancia y erradicación.

Sobre la técnica de PCR, cuyas siglas en inglés de Polymerase Chain Reaction o Reacción en Cadena de la Polimerasa, Laura Espinosa Asuar (2008) explica que la idea básica de la técnica es sintetizar muchas veces un pedazo o fragmento de ADN utilizando una polimerasa que puede trabajar a temperaturas muy elevadas, ya que proviene de la bacteria *Thermus aquaticus* (taq) la cual vive a altas temperaturas (79°C a 85°C), de ahí su nombre comercial más conocido: taq polimerasa.

Cuando hacemos una reacción de PCR simulamos lo que sucede en una célula cuando se sintetiza el ADN y en el tubo se mezclan todos los ingredientes necesarios para hacerlo: la polimerasa, el ADN del organismo que queremos estudiar –donde se encuentra el fragmento que queremos sintetizar–, los oligonucleótidos (llamados también primers, iniciadores, cebadores, “oligos”, etc.) necesarios para que se inicie la transcripción, dinucleótidos (dNTPs), y las condiciones para que la enzima trabaje adecuadamente (cierto pH, determinadas cantidades de magnesio en forma de MgCl₂, KCl, y pueden necesitarse otras sales o reactivos, dependiendo de cada polimerasa).

Esta técnica tan ingeniosa tiene muchísimas aplicaciones distintas y se ha convertido en una herramienta muy importante en la biología molecular; sus aplicaciones van desde la genética de poblaciones, evolución molecular y genómica hasta la medicina forense.

La secuencia blanco es IS6110

Es posible detectar genoma de *M. bovis* en un tanque donde se reúne la leche de 50 bovinos.

PCR detecta animales que no son detectados por cultivo

Este método “in vitro” basado en la síntesis enzimático de pequeñas cantidades de DNA o RNA que pueden provenir de diferentes orígenes (tejidos, fluidos corporales, huesos, etc.). La prueba de PCR anidada se basa en un gen específico MPB70 para reconocer la presencia de ADN de micobacterias del complejo *M. tuberculosis*, amplificando la región DR, como locus único y altamente polimórfico presente en el cromosoma de estas micobacterias. (Pérez G, L y col, 2008)

El método se basa en el uso de dos oligonucleótidos artificialmente sintetizados (primers) que hibridizan las hebras opuestas y flanquean la región de interés del

ADN blanco o templado. Una serie repetitiva de ciclos que involucran la desnaturalización del templado, la hibridización de los primers hibridizados, por la ADN polimerasa resulta en una acumulación exponencial de fragmentos específicos en pocas horas (Díaz, 2005).

Su desarrollo llevó a la automatización del PCR por simples cambios de temperatura. Es esencial aclarar que para el diseño de un ensayo de PCR debe conocerse la secuencia del fragmento de ADN que se desea amplificar. El PCR es una técnica aparentemente sencilla y fácil de hacer.

El problema es que no siempre es así. La reacción de PCR es muy sensible a cambios de iones, temperaturas, contaminantes que pueden estar en el ADN o en el agua... de un termociclador a otro puede haber variaciones “y a veces es difícil entender porque no sale nada”

Las temperaturas y los ciclos estándares que en general se recomiendan para empezar a probar son los siguientes:

- Desnaturalización inicial: 95°C por 5 a 10 minutos;
- 30 ciclos con desnaturalización a 95°C por 30 segundos, alineamiento a 50°C por 30 seg. y extensión a 72°C por tiempo variable; Extensión final a 72°C por 10 min (aunque no es estrictamente necesario este último paso, es solo para asegurar que los fragmentos incompletos se terminen de sintetizar);
- Al final se programa la máquina para que conserve los tubos a 4°C.

En cuanto al tiempo, existe una regla que puede aplicarse a casi todos los PCRs: la temperatura de desnaturalización y de alineamiento es suficiente de 30 a 60

segundos. Si es una buena máquina que llega rápidamente a la temperatura programada, con 30 segundos es suficiente (Espinosa, 2008).

La definición del genoma es basado en la fragmentación del ADN por una endonucleasa de restricción específica; el ADN después se separa electroforéticamente y se trata con una sonda que hibridiza con una secuencia repetitiva del ADN (IS 6110). Los aislamientos que muestren esta secuencia pueden ser identificados como *M. tuberculosis*. Esta técnica parte de cultivo puro. A diferencia de otras pruebas, PCR no necesita partir de cultivo puro pudiendo hacerlo directamente de la muestra clínica. En esta técnica se amplía una secuencia del genoma de *M. tuberculosis* para después ser reconocida.

El resultado de la PCR puede estar listo en 48 hs. Una muestra conteniendo 10 bacilos puede ser positiva por PCR (para la baciloscopia se necesitan 10.000). La técnica puede ser útil para la detección rápida de resistencia, si se conocen los genes responsables de la misma.

Las deficiencias de la técnica están en los riesgos de contaminación cruzada y que no resulta de utilidad en el control de tratamiento, ya que no distingue entre bacilos vivos y muertos.

El ADN de los microorganismos patogénicos en un espécimen debe ser validado con el ADN correspondiente al huésped. Además de la región IS6110, se encuentran en evaluación otros sitios del genoma de *M. tuberculosis* a fin de validar y caracterizar los microorganismos que causan TBC. Las cepas pueden identificarse como *M. tuberculosis* o *M. bovis* mediante genotipificación, amplificación de los sitios *oxyR* y *mtp40* y por espoligotipificación (tipificación de los espaciadores polimórficos de la región de repetición directa [DR]). La

amplificación de estos sitios cromosómicos de copia única es muy dependiente del estado de preservación del material y comúnmente sólo la secuencia IS6110 proporciona datos para la PCR.

Recientemente, los investigadores empezaron a usar el análisis de deleciones para caracterizar el ADN de *M. tuberculosis*, ya que hay deleciones frecuentes en su genoma que permiten diferenciar los miembros del complejo *M. tuberculosis* y distinguir entre las cepas. Parece que las deleciones están asociadas con pérdida de la virulencia, lo cual sugiere que el análisis de deleciones puede esclarecer la relación huésped-patógeno. (Donoghue HD, 2004)

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

La sensibilidad es la capacidad de una prueba de identificar a los casos positivos, lo que significa que la prueba debe ser positiva en enfermos (PE) y la especificidad de una prueba es la capacidad de discriminar los negativos o sea que la prueba debe ser negativa en sanos (NS). Sin perder de vista que en algunos casos la prueba puede tener sensibilidad y especificidad distinta de acuerdo a si la enfermedad es incipiente o avanzada. (González B, 1998)

Debemos recordar que sensibilidad y especificidad son medidas de discriminación inherentes a una prueba cuando esta se compara con un estándar de referencia (prueba de "oro") y no cambian aún si la enfermedad es de rara ocurrencia o es frecuente.

Uno de los usos que estas mediciones tienen es para someter a valoración y en su caso escoger pruebas o estudios sustitutivos nuevos o cuando el original o de referencia es: más caro, peligroso, no indispensable, molesto, etc., entonces

comparamos la prueba original en la que se tiene hasta el momento la mayor confianza técnica, científica, epidemiológica, etc., (prueba de oro) contra de esta se compara la prueba de usar: de esta forma se evalúa su comportamiento y su valor como ayuda diagnóstica.

La especificidad analítica del ensayo es el grado en el que el mismo, no produce reacción cruzada con otros componentes y la sensibilidad analítica es la cantidad más pequeña detectable del componente en cuestión.

La especificidad analítica se evalúa utilizando un panel de muestras obtenidas de animales que hayan estado expuestos a organismos genéticamente relacionados que puedan estimular la reacción cruzada de los anticuerpos, o los sueros de animales con presentaciones clínicas similares. Este “análisis cerca del vecino” es útil para determinar la probabilidad de reacciones positivas-falsas en el ensayo. También es apropiado para documentar el criterio de especificidad de grupo que incluye la detección del componente objeto de análisis en los sueros procedentes de animales que han experimentado infecciones/exposición a un grupo completo o serotipo de organismos que son de interés.

La sensibilidad analítica se evalúa mediante el análisis de dilución de punto final, que indica la dilución del suero a la que el componente ya no es detectable, o al menos, no es distinguible de la actividad o de los sueros negativos. El momento más temprano en el que se puede detectar el anticuerpo tras la exposición a un agente infeccioso afecta a la sensibilidad analítica (OIE, 2006).

a) Número de animales de referencia requerido

El número y la clase de muestras de referencia unida a las metodologías utilizadas para obtener las estimaciones de la sensibilidad y especificidad diagnósticas son

de la mayor importancia si se quiere validar adecuadamente el ensayo para su utilización con la población de animales objetivo del ensayo.

b) Estimaciones de la sensibilidad y especificidad diagnósticas basadas en animales de referencia con un estado de infección definido

Tomando como referencia la prueba de oro que es la tuberculina, la cual está dividida en dos columnas, la de los resultados positivos y la de los negativos al igual que la prueba de ensayo está dividida en dos renglones, la de los resultados positivos y la de los resultados negativos. El cruce de ambos produce cuatro celdas (a,b,c,d) más las sumas de columnas y renglones que tienen como contenidos los siguientes:

a= ambas pruebas son positivas (verdaderos positivos)

b= prueba en ensayo + prueba de oro - (falsos positivos)

c= prueba de ensayo – prueba de oro + (faltos negativos)

d= ambas pruebas son negativas (verdaderos negativos)

a+b= total de pruebas en ensayo positivas

c+d= total de pruebas en ensayo negativas

a+c= total de pruebas de oro positivas

b+d= total de pruebas de oro negativas

Luego con los valores obtenidos se calculan los valores derivados del contenido de la tabla (valores dados en porcentaje):

Sensibilidad: $a/(a+c)$

Especificidad: $d/(b+d)$

Valor predictivo de la prueba positiva: $a/(a+b)$

Valor predictivo de la prueba negativa: $d/(c+d)$

Prevalencia o probabilidad: $(a+c)/(a+b+c+d)$

Exactitud: $(a+d)/(a+b+c+d)$

Sensibilidad (S):

La sensibilidad (S) de una prueba diagnóstica es la probabilidad que tiene un enfermo de dar un resultado positivo en dicha prueba. (GPBE, 2007)

$$S = \frac{\text{Verdaderos positivos (vp)}}{\text{Verdaderos positivos (vp) + Falsos negativos (fn)}}$$

Significa: Proporción de enfermos detectados con esta prueba y compara, que tantos de los positivos a la prueba de ensayo (a) corresponden a los identificados (+) por la prueba de oro $(a+c) = (\%PE)$.

Especificidad (E):

La especificidad (E) de una prueba diagnóstica es la probabilidad que tiene un individuo sin la enfermedad de interés de dar un resultado negativo en dicha prueba.

$$E = \frac{\text{Verdaderos negativos (vn)}}{\text{Verdaderos negativos (vn) + Falsos positivos (fp)}}$$

Significa: Proporción de sanos (o no positivos) que son discriminados con esta prueba y compara qué tantos de los negativos a la prueba de ensayo (d) corresponden a los identificados (-) por la prueba de oro $(b+d) = (\%NS)$.

Valor Predictivo Positivo (VPP):

EL valor predictivo positivo (VPP) de una prueba diagnóstica es la probabilidad que tiene un individuo con la prueba diagnóstica positiva de tener la enfermedad.

$$VPP = \frac{\text{Verdaderos positivos (vp)}}{\text{Verdaderos positivos (vp) + Falsos positivos (fp)}}$$

Mide la proporción de los individuos con una prueba positiva y que realmente tienen la enfermedad.

Significa: ¿Con un resultado positivo qué tan posible es que verdaderamente no tenga la enfermedad o problema?, y compara los (+) a la prueba de ensayo y prueba de oro (a) contra el total de los señalados como (+) por la prueba de ensayo (a+b). Lo que valora es la verdadera proporción de verdaderos (+) que identifica la muestra.

Valor Predictivo Negativo (VPN):

El valor predictivo negativo (VPN) de una prueba diagnóstica es la probabilidad que tiene un individuo que ha resultado negativo en la prueba diagnóstica de no tener la enfermedad.

$$\text{VPN} = \frac{\text{Verdaderos negativos (vn)}}{\text{Verdaderos negativos (vn) + Falsos negativos (fn)}}$$

Mide la proporción de individuos con una prueba negativa que no tienen realmente la enfermedad.

Significa ¿con un resultado negativo, qué tan posible es que verdaderamente no tenga la enfermedad o problema?, y compara los (-) a la prueba de ensayo y prueba de oro (d) contra el total de los señalados como (-) por la prueba en ensayo (c+d). Lo que valora es la proporción de verdaderos negativos que identifica la prueba.

Se cuenta con el instrumento, la calculadora para estudios que valoran pruebas diagnósticas

Sólo se pueden introducir valores absolutos (no porcentajes).

No se puede dejar campos vacíos

Le añadimos datos como los siguientes y la calculadora realiza las operaciones:

La enfermedad puede sustituirse por los resultados del test que será patrón oro	Tuberculosis bovina		
	Enfermo	No Enfermo	Total

Test Diagnóstico	Anormal	a7 (vp)	c11 (fp)	18(vp+fp)
	Normal	b16 (fn)	d64(vn)	80(fn+vn)
	Total	23(vp+fn)	75(fp+vn)	98(vp+fp+fn+vn)
VP: Verdaderos positivos; FP: Falsos Positivos;	FN: Falsos Negativos; VN: Verdaderos negativos			
Sensibilidad	= VP/(VP + FN) = FVP (fracción de verdaderos positivos)			
Especificidad	= VN/(VN + FP) = FVN (fracción de verdaderos negativos) = 1 - FFP (fracción de falsos positivos)			

Sensibilidad = 30.43 (IC 95%: 11.63 a 49.23)

Especificidad = 85.33 (IC 95%: 77.32 a 93.34)

Valor predictivo positivo = 38.89 (IC 95%: 16.37 a 61.41)

Valor predictivo negativo = 80.00 (IC 95%: 71.23 a 88.77)

Probabilidad pretest = 23.47 (IC 95%: 15.08 a 31.86)

Cociente de probabilidad positivo = 2.07 (IC 95%: 0.51 a 7.39)

Cociente de probabilidad negativo = 1.23 (IC 95%: 0.87 a 1.84)

Al comparar la sensibilidad y especificidad de la prueba de anticuerpos contra la prueba de tuberculina como método de referencia para nuestro estudio con la sensibilidad y especificidad del método de Inmuno-Ensayo dada, se considera que es una prueba para la detección de anticuerpos tuberculinicos con una sensibilidad y especificidad aceptable.

Los únicos casos en los que se puede reconocer que hay infección reciente es cuando se cuenta con una PPD negativa y al repetirlo 6 a 12 meses después es positiva y a esto se le llama conversión. Hay que tener en cuenta y es conciso que una PPD positiva indica infección pero no siempre enfermedad y una prueba

negativa no excluye totalmente infección o enfermedad. Se deben conocer los factores que se asocian tanto a los resultados falsos positivos como los falsos negativos de la prueba de tuberculina. En el caso de los Falsos negativos si hay o han habido infecciones activas: la enfermedad tuberculosa, en especial la diseminada o con afección de las serosas (meníngea, pleural) y algunas enfermedades virales, pueden deprimir la reacción cutánea a la PPD. Entre un 10% a un 25% de los paciente con enfermedad tuberculosa no presentan hipersensibilidad tardía en la prueba cutánea. Otras infecciones que pueden producir falsos negativos son las bacterianas (brucelosis) y las infecciones parasitarias intestinales.

Es posible calcular el número necesario de muestras de referencia de los animales cuyo estado de infección/exposición se conoce para las determinaciones de la sensibilidad y especificidad diagnósticas que tendrán límites definidos estadísticamente.

Cuadro 7. Cálculos de la sensibilidad y especificidad diagnósticas mediante una tabla de 2 x 2 que asocia el estado de infección con los resultados de la prueba con 2.000 animales de referencia (OIE, 2006)

Animales de referencia cuyo estado infeccioso es conocido			
		INFECTADOS (n= 600)	NO INFECTADOS (n= 1400)
Resultados de la Prueba	Positivo	570	46
		PV	PF
		NF	NV
	Negativo	30	1354

Sensibilidad de Diagnóstico		Especificidad de diagnostico	
PV	= $\frac{570}{600}$ = 95%	NV	= $\frac{1354}{1400}$ = 96,7%
PV + NF	600	NV + PF	1400

Alternativamente, se pueden clasificar como positivos falsos (PF) o como negativos falsos (NF) si no concuerdan con el estándar. La sensibilidad de diagnóstico se calcula como $PV / (PV+NF)$ mientras que la especificidad de diagnóstico es $NV / (NV+PF)$; el resultado de ambos cálculos se expresa generalmente en porcentajes (cuadro 7).

c) Estimaciones de la sensibilidad y especificidad diagnósticas basadas en animales con estado infeccioso no definido

Tal como se mencionó, estos modelos estadísticos son complejos, lo que requieren el consejo de los expertos no sólo para el diseño del estudio de evaluación sino también para la interpretación de las estimaciones de la sensibilidad y especificidad diagnósticas. Se ha recomendado a la OIE formar un grupo de expertos para dirigir la aplicación de los modelos de clase latente y para elaborar las directrices de los modelos a utilizar en la validación y certificación de ensayos por la OIE.

REACCIÓN TÉRMICA BREVE

Consiste en detectar los cambios de temperatura corporal del animal, midiéndola cada 2 horas, iniciando 4 horas antes de aplicar 4ml subcutáneos de PPD bovina en el cuello y concluyendo 8 horas después de la misma. Se considerará como positivo el animal cuya temperatura corporal aumente 1.1°C.

PRUEBA DE STORMONT.

Se aplican 0.05ml de PPD bovina en la tabla del cuello, se repite una nueva inyección en el mismo sitio a los 7 días, si el espesor de la piel aumenta 5mm o

más a las 24 hrs de la segunda inyección, la prueba se considerará positiva. Esta prueba no mide reacciones cruzadas con *Mycobacterium avium*.

PRUEBA DEL INTERFERON GAMMA (IFN)

Debido a estos inconvenientes, se ha desarrollado una **prueba comercial** para medir el **INTERFERÓN GAMMA (IFN)** (Bovine Gamma Interferón Test-BOVIGAM).

La prueba consiste en incubar sangre completa de bovinos sospechosos de tuberculosis diagnosticados con PPD bovina y PPD aviar, bajo condiciones especiales. Si el animal ha estado en contacto con el microorganismo, sus linfocitos liberarán Interferón gamma, el cual será detectado a través de un sistema de ELISA sándwich, donde los anticuerpos anti-gamma Interferón unidos a una placa de 96 pozos capturan el gama Interferón bovino. La reacción se detecta por la adición de un anticuerpo específico anti-gama Interferón conjugado a una peroxidasa, la cual reacciona con un substrato produciendo color. Estudios muestran que esta prueba en general tiene una sensibilidad y especificidad más alta que la prueba de tuberculina.

La prueba del IFN posee una serie de ventajas adicionales para el diagnóstico de tuberculosis bovina:

- a) Se manipulan los animales una sola vez,
- b) Se puede repetir la prueba tantas veces cuando sea necesaria,
- c) La prueba es comparativa y excluye aquellos animales que puedan reaccionar por infecciones con micobacterias atípicas no patógenas,
- d) El plasma obtenido del animal para el diagnóstico de tuberculosis bovina puede ser utilizado para el diagnóstico de otras enfermedades como Leptospirosis, Brucelosis, etc.

Generalmente, se reconoce que la prueba de IFN-*gamma* presenta mayor sensibilidad y menor especificidad que la de la PTub comparativa. Es por eso que en los últimos años se ha intentado mejorar este último aspecto. Para ello se han utilizado los antígenos específicos del complejo de *M. tuberculosis* ESAT-6 y CFP-10, separadamente o en conjunto para la estimulación de linfocitos Th1, en lugar de las clásicas tuberculinas PPD bovina y aviar. En general, se ha observado que, si bien la inclusión de estos antígenos mejora la especificidad de la prueba de IFN-*gamma*, su sensibilidad se ve disminuida.

Las desventajas se deben básicamente a que la prueba es relativamente costosa y necesita un laboratorio para procesar las muestras. La prueba del IFN se utiliza como prueba de diagnóstico complementario o confirmativo en países como Australia, Nueva Zelanda y los EEUU.

El uso de las dos pruebas mejora la sensibilidad diagnóstica y la detección de animales infectados a eliminar si el objetivo es el saneamiento del rodeo, en especial cuando la primera prueba es la tuberculínica comparativa (OIE, 2008).

PRUEBA DE ELISA.

A nivel de laboratorio se han desarrollado algunos ensayos de **ELISA** para el diagnóstico de tuberculosis bovina. Sin embargo, todavía no existen pruebas comerciales en el mercado. La prueba de ELISA al igual que las anteriores es una prueba complementaria a la tuberculina y detecta anticuerpos circulantes contra algunos antígenos de *M. bovis*.

Es una prueba sencilla de realizar, pero tiene el inconveniente de tener baja sensibilidad (30-50%) y especificidad. (60-80%). Para aumentar la sensibilidad y la especificidad de esta prueba se están buscando nuevos antígenos. Hay

indicaciones que un alto título en un ELISA de esta naturaleza está vinculado con anergia por PPD y/o enfermedad activa y avanzada.

Sin embargo, existe una gran variedad de problemas, concernientes a esta prueba, uno de ellos es que la respuesta inmune en animales infectados, generalmente está dirigida hacia antígenos micobacterianos comunes no específicos y otro es que la respuesta inmune principalmente es de tipo celular, excepto en animales en estado avanzados de la enfermedad. Se ha observado que una proporción significativa del 40% de animales de una población infectada pueden no poseer anticuerpos específicos, indispensables para esta prueba (Díaz, 2005).

En fases avanzadas de la enfermedad con lesiones exudativas la sensibilidad decae ostensiblemente además de que son frecuentes las reacciones inmunitarias cruzadas (Martin, 1998)

En conclusión, no existe una prueba ideal para diagnosticar tuberculosis bovina.

Los resultados de las pruebas bioquímicas convencionales son a menudo ambiguos, difíciles de reproducir y, en cualquier caso, el tiempo requerido para su realización es largo, dado que se requiere un crecimiento abundante. Además, se han descrito cepas de *M. bovis* sensibles a la pirazinamida. En el cuadro 8 se describen las principales características de los miembros del complejo de *M. tuberculosis*. (Prat Aymerich, C, 2005).

La especificidad de una prueba es un parámetro especialmente importante para Programas de Erradicación de Tuberculosis Bovina. Una prueba de diagnóstico por definición nunca puede ser 100% específica, lo cual trae como consecuencia que un porcentaje de animales será sacrificado sin tener la enfermedad. Este

parámetro tiene mayor importancia en las etapas finales de la campaña de erradicación cuando la prevalencia de la tuberculosis bovina es baja. En este momento es recomendable el introducir pruebas confirmatorias para los animales tuberculina-positivos, además de seguir el animal positivo al matadero para confirmar bacteriológicamente la tuberculosis.

Cuadro 8. Principales características de los miembros del complejo *M. tuberculosis*.

	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. africanum</i>	<i>M. bovis</i>	<i>M. bovis BCG</i>
Niacina	+	+	–	–
Nitratasa	+	– ^b	–	–
Ureasa	+/-	+	+/-	+
Tipo respiratorio	Aerobio	Microaerófilo	Microaerófilo	Aerobio
TCH (5µ g/ml)	R	S ^c	S	S
Pirazinamida	S	S	R ^d	R
Cicloserina	S	S	S	R

^aAbreviaturas. TCH: hidracida del ácido tiofeno-2-carboxílico; S: sensible; R: resistente.

^b+ en la subespecie II.

^cR en la subespecie II.

^dS en la subespecie *caprae*.

Tras la muerte, se diagnostica mediante examen post-mortem y por técnicas histopatológicas y bacteriológicas. También se pueden utilizar técnicas con sondas de ADN y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Éstas son técnicas exigentes y sólo se deben utilizar procedimientos validados. El cultivo bacteriano tradicional continúa siendo el método rutinario de confirmación de la infección (OIE, 2008).

4.1.3 TOMA RECEPCIÓN, CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS

EXÁMENES BACTERIOLÓGICOS

El diagnóstico de enfermedades en los animales, es esencial para realizar medidas terapéuticas que mejoren la salud del hato, y de este modo se optimice y aumente la producción animal. Por ello es necesario la obtención y remisión de los diferentes tipos de muestras, a los centros y laboratorios de diagnóstico.

Para la correcta determinación de las enfermedades, es importante que las muestras sean representativas del o los padecimientos y lesiones que presenten los animales. Al obtener y manejar de forma correcta alguna muestra, se estará favoreciendo la calidad del diagnóstico y por ende la identificación certera, de la enfermedad problema.

En animales reactivos positivos a la tuberculina y en los que se encuentre una lesión sugestiva de tuberculosis en cualquier parte, se deben examinar los siguientes nódulos y órganos: Nódulos linfáticos, pulmón, bazo e hígado.

Si se sospecha de paratuberculosis se deben tomar nódulos linfáticos mesentéricos, y una porción de la válvula ileocecal del intestino para su aislamiento y estudio histopatológico.

Independientemente del tipo de muestra a tomar, es de suma importancia que se tomen en cuenta los siguientes factores:

- Las muestras deberán ser lo más frescas posibles
- Para análisis microbiológico, deberán el material y el manejo ser con estricta asepsia
- Cada muestra debe ser rotulada, de modo que sea fácil de identificar
- Se debe especificar detalladamente el análisis que se requiere

- Es necesario incluir los siguientes datos para cada muestra:
 - Nombre, dirección y teléfono del propietario y del Médico Veterinario
 - Especie animal, edad, raza, sexo
 - Tipo de muestra y conservador o fijador empleado
 - Número de animales afectados y número de animales en el hato
 - Tiempo de evolución de la enfermedad y signología clínica
 - Datos sobre morbilidad y mortalidad
 - Vacunaciones, tratamientos, casos similares en la zona.
 - Diagnóstico presuntivo, fecha y hora de muerte (en caso de necropsias).

Antes de decidir realizar algún estudio bacteriológico es indispensable saber si el animal ha recibido algún antibioterapia, ya que si esto sucede el estudio puede ser pobre o inútil, por ello es necesario que el animal al menos no esté medicado tres días previos a la toma de muestra. El equipo y recipientes que se usen para la obtención y transporte de la muestra deberán ser estériles. La esterilización se puede llevar a cabo en un autoclave u olla de presión casera (121°C, 15 lb, 15 min). Si los instrumentos se han sumergido en alguna solución antiséptica, cuídese de no usarlos mojados, ya que estos pueden inhibir el crecimiento de los microorganismos (Montesinos y col 2003).

Siempre que se quiera obtener muestras para su estudio microbiológico, es necesario trabajar frente a un mechero de gas o alcohol, cerca de la zona de muestreo, con el fin de mantener un ambiente lo más aséptico posible y evitar la contaminación por la microbiota ambiental.

Cuando se muestrean órganos para su análisis, deberán ser tomados de varias zonas con un grosor no mayor a 4 cm³, usualmente estos están libres de bacterias saprofitas, por lo que se deberá evitar la contaminación con contenido intestinal y

otros exudados. Las muestras de tejidos serán contenidas en frascos de vidrio estériles individuales con tapón de rosca, y cuando se trata de líquidos, exudados y secreciones, podrán ser aspiradas en jeringas estériles y vertidas en tubos y frascos estériles con cierre hermético.

Otro método para enviar muestras de líquidos, es a través de hisopos estériles, los cuales se sumergirán en medio de transporte microbiológico (Stuart). El Medio de Transporte de Stuart es utilizado para la recolección, transporte y preservación de muestras microbiológicas, es un medio cuya fórmula permite mantener la viabilidad de los microorganismos presentes en la muestra sin que exista un crecimiento significativo.

En 1948 Moffet, Young y Stuart describieron un medio para el transporte de gonococos en especímenes de laboratorio. Toshach y Patsula mejoraron la formulación obteniendo lo que hoy se conoce como el medio de transporte de Stuart. La capacidad del medio de mantener la viabilidad de los gonococos durante su transporte. Actualmente este medio es recomendado para exudados faríngeos, vaginales y muestras de heridas.

En este medio el cloruro de calcio proporciona iones esenciales para mantener el balance osmótico. El tioglicolato de sodio evita los cambios oxidativos y provee una atmósfera reducida. El glicerofosfato de sodio actúa como buffer. El azul de metileno es un colorante indicador del estado de óxido-reducción.

Cuadro 9. Componentes del medio de transporte Stuart.

sustancias	Concentración	Sustancias	Concentración
Tioglicolato de Sodio	1.0	Cloruro de Calcio	0.1
Glicerofosfato de Sodio	10.0	Azul de Metileno	0.002
Agar Bacteriológico	3.0		
PH	7.4+/- 02		

Las muestras no procesadas de inmediato se deben conservar en refrigeración a 4°C, y en el caso de ser de algún animal muerto, deberán ser tomadas en un lapso no mayor de 2 horas. Cuando se sospecha de alguna enfermedad septicémica, es recomendable tomar médula ósea, ya que este es el último tejido en ser contaminado post-mortem.

EXUDADOS

Si los animales presentan exudado nasal, ocular, cervicovaginal, prepucial, de heridas y saliva, lo más recomendable es utilizar hisopos estériles con palillo flexible; aunque hay muchas bacterias que son susceptibles a la desecación durante el transporte al laboratorio.

Esto se remedia al incluir el hisopo en un medio de transporte. La muestra se recogerá con el hisopo de algodón seco y si es posible se sembrará directamente en placas de agar sangre y agar McConkey; de no ser así, se introducirá en el medio de transporte y se enviará en refrigeración al laboratorio más cercano.

Para el diagnóstico de tuberculosis bovina, los exudados nasales son un material útil y de fácil recolección en el animal vivo. Luego de inmovilizar al animal, se realiza limpieza de la zona a muestrear, la que incluye lavado con detergente y luego aplicación de suficiente cantidad de agua para eliminar los restos de suciedades y del detergente aplicado, no realizar lavado profundo hacia las áreas respiratorias superiores para no complicar los cuadros respiratorios, solo en las partes externas de las mismas.

4.2 LEGISLACIÓN ICA SOBRE PROCEDIMIENTOS DE USO DEL LABORATORIO PARA TBC.

La resolución 1513 del 15 de julio del 2004 del Instituto Colombiano Agropecuario ICA, define los procedimientos para llevar a cabo en la toma de muestras y para la tuberculinización de los animales:

DIAGNÓSTICO

Artículo Cuarto.- Para el diagnóstico de la Tuberculosis Bovina en el país se utilizarán las siguientes metodologías:

- 1)** Tuberculinización;
- 2)** Análisis histopatológico,
- 3)** Análisis bacteriológico
- 4)** Prueba de Gamma Interferón, u otras que determine el ICA.

Artículo Quinto.- La prueba de la tuberculina se utiliza para la detección de animales infectados de Tuberculosis Bovina con o sin presentación de sintomatología clínica.

Las tuberculinas empleadas son:

- a)** Derivado Proteico Purificado PPD bovina: elaborado con extracto de proteínas de filtrados de cultivos de *Mycobacterium bovis*. Es utilizada para la prueba caudal, prueba cervical simple y prueba cervical comparativa. Su concentración debe ser entre 25000 y 50000 UI por ml.
- b)** Derivado Proteico Purificado PPD aviar: elaborado con extracto de proteínas de filtrados de cultivos de *Mycobacterium avium*. Es utilizada en la prueba cervical comparativa. Su concentración debe ser de 25000 UI por ml.

Parágrafo Primero.- Las pruebas de tuberculina deberán ser realizadas por Médicos Veterinarios del ICA, Médicos Veterinarios ó Médicos Veterinarios Zootecnistas autorizados por el Instituto. Los tipos de prueba son:

- a) Prueba en el pliegue caudal: Implica la inyección de Tuberculina PPD Bovina con una dosis de 0.1 ml.
- b) Prueba cervical simple: Implica la inyección de Tuberculina PPD Bovina con una dosis de 0.1 ml.
- c) Prueba cervical comparativa: Implica una inyección de PPD Bovina y una inyección de PPD Aviar administradas simultáneamente con una dosis de 0.1 ml respectivamente.....

PARÁGRAFO TERCERO.- Con la finalidad de detectar el mayor número de bovinos infectados o enfermos presentes en una explotación, además de la tuberculinización, el ICA podrá autorizar cuando lo considere pertinente el empleo de la prueba de gamma Interferón a que se refiere el capítulo 2.3.3 (Tuberculosis Bovina) de la cuarta edición (2000) del Manual de Normas para las Pruebas de Diagnóstico y las Vacunas de la Organización Mundial de Sanidad Animal

4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Respecto de las inferencias estadísticas relacionadas con el tamaño de la muestra, es importante citar la relevancia respecto de la sensibilidad y especificidad que tiene la utilización de la prueba de PCR en el diagnóstico de la Tuberculosis bovina.

4.3.1 ENSAYOS PREVIOS REPORTADOS.

Se detallan a continuación lo pertinente dentro las investigaciones realizadas al respecto dos ensayos aplicados:

A. En Ciudad de México, Romero, TA, y su equipo en 2006, describe un trabajo realizado en un hato de leche denominado “Confirmación de la excreción de

Mycobacterium bovis en exudados nasales mediante PCR anidada en un hato lechero”.

Para lo anterior, describen como el medio de transmisión más común es la respiratoria a través de la eliminación de micobacterias en aerosoles que pueden alcanzar la luz alveolar en pulmones. En algunos trabajos se ha descrito presencia intermitente de *M. bovis* en exudados nasales de bovinos infectados natural o experimentalmente. No obstante, a pesar de la persistencia de TB en hatos lecheros, la mayoría de animales infectados exhibe patología limitada y eliminación escasa de micobacterias. Los datos experimentales sugieren que una excesiva respuesta inmune o una alta virulencia del bacilo favorecen la transmisión de TB.

El cultivo de *M. bovis* constituye el procedimiento óptimo para el diagnóstico confirmativo de TB, pero requiere mucho tiempo, tiene poca sensibilidad y también se obtienen resultados falsos positivos. La prueba de tuberculina es útil para identificar ganado tuberculoso, pero para el control avanzado de la TB se han propuesto pruebas complementarias, como la de Interferón gamma (IFN- γ), que permite identificar animales infectados antes de que reaccionen a la tuberculina. Asimismo, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) confirma rápidamente el diagnóstico de TB sin cultivo previo. Mediante la PCR para la copia única del gen que codifica la proteína de secreción MPB70, se identifican micobacterias del complejo *M. tuberculosis*, incluyendo cepas de *M. bovis*. Con una técnica de PCR anidada para MPB70 descrita recientemente se pueden detectar hasta 5 fg de ADN (\approx 1 genoma) con buena concordancia tanto con histopatología como con cultivo de *M. bovis*.

Esta prueba puede ser utilizada como herramienta epidemiológica incluyendo testigos de especificidad e inhibición. Con base en lo anterior, en este trabajo se

planteó como objetivo estudiar la excreción de *M. bovis* vía respiratoria durante seis meses, utilizando como indicador el resultado positivo a PCR anidada con ADN de exudados nasales. Adicionalmente se comparó este indicador con pruebas de tuberculina e INF- γ . Bajo el control supervisado de la Campaña Nacional para la Erradicación de la Tuberculosis Bovina (CANETB) se tomó como muestra a 63% del hato de bovinos lecheros en confinamiento, de la Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán, con antecedentes de alta prevalencia de TB y aislamiento de *M. bovis*. Se incluyeron 69 hembras Holstein Friesian mayores de dos años, porque se reconoce que en esas condiciones aumentan tanto el riesgo relativo de transmisión de *M. bovis*, como la probabilidad de reacción a la tuberculina. A los días uno y 180 del estudio se realizó la prueba de tuberculina simple caudal, inoculando vía intradérmica en el pliegue ano-caudal 0.1 mL de derivado proteínico purificado (PPD) bovino, según el criterio de la CANETB. Un incremento del grosor de la piel 72 h después de la inoculación mayor a 4 mm se consideró como reacción positiva a la prueba.

La prueba de INF- γ se realizó en dos ocasiones 15 días después de la prueba de tuberculina, como se ha sugerido recientemente. Para medir el IFN- γ se tomaron muestras de sangre heparinizada (1.5 ml), se estimularon 24 horas con 100 μ L de PPD (300 μ g/ml) y se cosechó el plasma con el que se procedió a la cuantificación del INF- γ conforme indica el proveedor de la prueba inmunoenzimática. De la muestra del hato de estudio (n = 69), 43% de los animales reaccionó a la tuberculina (n = 30) y 35% al IFN- γ (n= 24). Con ambas pruebas se estimó una prevalencia e incidencia relativas de 45% (promedio) y 11% (nueve casos nuevos) en seis meses, respectivamente. Los exudados nasales de ambas cavidades se recolectaron de los animales mensualmente en seis ocasiones, utilizando hisopos estériles sumergidos en 5 ml de solución salina de fosfatos estéril.

Las muestras se mantuvieron a 4°C para su traslado, se centrifugaron a 3 500 g durante 20 min y los sedimentos nasales se congelaron a -20°C. Mediante un método descrito para micobacterias se extrajo el ADN de los sedimentos, se cuantificó por espectrometría (DO a 260/280 nm) y se evaluó por electroforesis en geles de agarosa al 1% con bromuro de etidio (0.005%).²² De acuerdo con lo descrito previamente, se realizó una PCR anidada para amplificar una región de 208 pb del gen MPB70 del complejo *M. tuberculosis*.

Para control de la técnica se incluyeron testigos positivos, negativos y de inhibición. Los programas se llevaron a cabo en el Gene Amp PCR system 2400 y los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 2%. El 26% de los animales reactivos a la tuberculina (8/30) excretó *M. bovis* en un periodo de seis meses, en una sola muestra mensual, con excepción de un solo animal con dos muestras positivas en un intervalo de tres meses (Cuadro 10, N. 3).

Este resultado supera lo descrito en otras investigaciones que mencionan de 8% a 20% los animales excretores en distintas poblaciones. Debido al intervalo mensual para la toma de muestra y a la duración total de este estudio, los animales reactivos a las pruebas inmunológicas, pero negativos a PCR anidada, no se descartan como fuentes de transmisión en el hato.

Además, se ha sugerido que el periodo de intermitencia varía de entre seis a 25 semanas debido a factores aún no descritos. Asimismo, la duración precisa del periodo de excreción de *M. bovis* se desconoce y los resultados del presente estudio sugieren que podría ser menor a 30 días, ya que ninguno de los ocho animales excretores era positivo a PCR anidada en dos muestras mensuales consecutivas.

Se sacrificaron 25 bovinos reactivos a la tuberculina, 22 de ellos positivos a IFN- γ y tres bovinos testigos, negativos a todas las pruebas (Cuadro 10, Ns. 10, 11 y 12). Se realizó la inspección *post-mortem* de bovinos reactivos para buscar lesiones sugestivas de TB, principalmente en nódulos linfáticos (NL) submandibulares, retrofaríngeos, traqueobronquiales, mediastínicos, preescapulares, precurales, supramamarios y tejido pulmonar. Las lesiones visibles se clasificaron por tamaño y cantidad (Cuadro 10) de acuerdo con parámetros ya establecidos. Las muestras de tejido se fijaron en solución de formaldehído al 10% en PBS, se incluyeron en parafina y se tiñeron con hematoxilina-eosina (HE) para caracterizar las lesiones histopatológicas y con Ziehl-Neelsen (ZN) para determinar lesiones compatibles a TB, con bacilos ácido-alcohol resistentes (Cuadro 10). La histopatología reveló lesiones compatibles con TB en 36% de los reactivos (nueve animales) con linfadenitis granulomatosa multifocal (HE) y bacilos ácido-alcohol resistentes (ZN), localizadas principalmente en NL mediastínicos, retrofaríngeos, traqueobronquiales, y en dos casos en la inserción caudal de los lóbulos pulmonares medio (derecho), y apical (Cuadro 10, Ns 1 y 2). Dos animales presentaron lesiones microscópicas sin presentar lesiones macroscópicas (Cuadro 10, Ns. 1 y 6).

La histopatología sugirió TB activa en NL del tracto respiratorio de la mayoría de reactivos con lesiones, ya que tenían un patrón mixto de lesiones: difusas (tipo I), en transición (II) y encapsuladas (III). El NL más afectado fue el retrofaríngeo y en pulmones las lesiones se caracterizaron por ser encapsuladas, posiblemente focos primarios. Las lesiones pulmonares abiertas (difusas) son señaladas como el origen de la transmisión de TB, pero sólo un bajo porcentaje de animales tuberculosos las presentan y no se descarta la posibilidad de lesiones desapercibidas, tal como se ha demostrado en éste y otros trabajos.

Mediante PCR anidada con ADN de muestras de exudado nasal se identificó a ocho animales, todos positivos a tuberculina e IFN- γ y seis con lesiones compatibles a la TB (Cuadro 10, N. 1-6). La ausencia de lesiones visibles en animales reactivos no indica incapacidad para la transmisión del bacilo, incluso se asocia a infecciones recientes, cuando se ha descrito que la excreción de bacterias podría ser mayor.

Cuadro 10. Características de los hallazgos a la Inspección post-mortem, Histopatología y PCR

N.	RF	TR	M	MS	HP	L	ZN	PCR
1			+++;I III	II		+++ III	+	+
2			+++;I III			+++; III	+	+
3			+++;I II III			+++ III	+	+
4	+++;II	+++;II					+	+
5	+++;I III						+	+
6			I II				+	+
7	+++;I III	+++;I III					+	-
8	+++; III			+++;I III			+	-
9	+++ III						+	-
10			+				-	-
11			+				-	-
12			+				-	-

LN: Nódulos Linfáticos; RF: Retrofaríngeos; TR: Traqueobronquiales; M: Mediastínicos; Ms: Mesentéricos; Hp: Hepáticos; L: pulmonares +: 1 o 2 lesiones visibles (VL) 5mm in diameter; ++: up to 5 VL between 6 and 10 mm; ***: multiple VL > 10mm.

Type I: Multifocal granulomatous lymphadenitis with exudates mainly made up of macrophages, epithelioid cells, giant cells and lymphocytes without fibrosis (capsule);

Type II: Similar to type 1 with necrosis, fibrosis capsule and central necrosis.

Type III: Granuloma with well defined fibrous capsule and central necrosis

1: Cow without visible lesions (macroscopic) in Mesenteric LN, but with type II lesion by histopathology.

6: Cow without visible lesions, but with type I and II lesions in mediastinal LN 10 to 12: Control animals

Se han demostrado lesiones microscópicas y bacilos en superficies mucosas de cavidad nasal, faringe y en tonsilas hasta en 15% de reactores, sitios que quizá también constituyen focos primarios de donde se libera la bacteria. En este estudio los animales infectados (reactores) originaron nueve casos nuevos en seis meses y se considera en primer término a los excretores con lesiones en pulmón como fuentes de infección, pero sin descartar al resto.

Para medir la concordancia entre PCR, tuberculina, IFN- γ e histopatología se usó el coeficiente k de Cohen's Kappa (95% IC). La concordancia entre los resultados de PCR anidada y las pruebas de tuberculina e IFN- γ fue insuficiente ($k = 0.3$) y buena ($k = 0.4$), respectivamente. Mientras que entre histopatología y PCR anidada fue buena ($k = 0.4$), pero insuficiente ($k < 0.4$) con las pruebas inmunológicas.

La concordancia encontrada entre IFN- γ y la presencia de lesiones con la PCR anidada de exudado nasal sugiere influencia de esta citocina en el proceso que conlleva a la excreción bacteriana. El IFN- γ induce necrosis tisular y licuefacción de lesiones encapsuladas (inmunopatología), debido a la activación excesiva de factores derivados de macrófagos, como enzimas proteolíticas, factor de necrosis tumoral- γ , radicales libres de oxígeno y nitrógeno.

En conclusión, mediante un método de PCR anidada se confirmó la excreción vía respiratoria de *M. bovis* en ganado lechero infectado naturalmente y se sugiere la influencia del IFN- γ en este suceso.

Estudios posteriores en mayor número de unidades de producción deberán acortar el periodo de la toma de muestras y aumentar la duración total del estudio, tanto para determinar la duración de los periodos de excreción e intermitencia con

mayor precisión, como para estudiar los posibles factores desencadenantes, que conllevan a la excreción de *M. bovis*.

B. Morales Loredo, Alberto en el 2008 reporta lo siguiente:

“Para determinar la utilidad de la PCR en el diagnóstico de TB en exudado nasal, los resultados de ésta se compararon con los resultados de la prueba de tuberculina, considerada como prueba oficial, ya que esta indica si los animales se van a sacrificio. Se determinó la sensibilidad y la especificidad de la PCR al considerar la prueba de tuberculina como prueba de oro. La sensibilidad es la relación porcentual de concordancia positiva, muestras del cuadrante (a) y la sumatoria de los cuadrantes (a) y (b). La especificidad de la prueba de PCR, es la relación porcentual de concordancia negativa, muestras del cuadrante (d) y la sumatoria de los cuadrantes (c) y (d), considerando los valores del cuadro 12 (Tabla II).

Cuadro 11. (Tabla I) Resultados de la pruebas de Tuberculina y PCR de ganado localizado en zonas de alta y baja prevalencia de Tuberculosis en el estado de Nuevo Leon, México.

TABLA I
RESULTADOS A LAS PRUEBAS DE TUBERCULINA Y PCR DE GANADO LOCALIZADO
EN ZONAS DE ALTA Y BAJA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS EN EL ESTADO
DE NUEVO LEÓN, MÉXICO/
TUBERCULIN TEST AND PCR RESULTS OF CATTLE LOCALIZED ON HIGH AND
LOW PREVALENCE ZONES OF TUBERCULOSIS IN NUEVO LEON STATE, MEXICO.

	Número de muestras	Tuberculina		PCR	
		Positivo	Porcentaje	Positivo	Porcentaje
Alta prevalencia Raza Holstein	25	25	100	25	100
Alta prevalencia Holstein y Jersey	31	0	0	7	22
Alta prevalencia Raza Beefmaster	271	38	14	155	57
Subtotal	327	63	19	187	57
Baja Prevalencia Raza Santa Gertrudis	93	0*	0	19	20
Subtotal	93	0	0	19	20
Total	420	63	15	206	49

*Datos reportados por el Médico Veterinario aprobado por la SAGARPA para realizar la inspección sanitaria.

Resultados y Discusión

Previo a la prueba de PCR, el ADN obtenido se visualizó en geles de agarosa al 0,8%. La cantidad y calidad de ADN obtenido en todas las muestras permitió amplificar la secuencia blanco en las reacciones de PCR anidado. Cabe mencionar que la primera reacción del PCR, con los iniciadores externos, no generó una amplificación con suficiente intensidad en las muestras de exudado de manera que se observará como una banda en un gel de agarosa. En la segunda reacción de PCR, con los iniciadores internos, se generó un fragmento de 200 pb correspondiente a la secuencia de inserción IS6110 del complejo *Mycobacterium tuberculosis*

En la zona de alta prevalencia 63 de 327 animales (19%), fueron reactivos a la prueba de la tuberculina; y 187 de los 327 (57%) fueron positivos a la PCR en exudado nasal. La mayoría de los positivos estuvo dada por un rebaño de raza de ganado Holstein, donde todos los animales probados fueron diagnosticados como positivos, tanto a tuberculina como a PCR, y por un rebaño de animales de la raza Beefmaster, donde el 14% de los muestreados fueron positivos a tuberculina y el 57% a PCR (Tabla I). El alto porcentaje de detección por PCR y tuberculina en la zona de alta prevalencia, concuerda con las medidas de bioseguridad tomadas en ese lugar por problemas de tuberculosis (comunicación personal del Veterinario aprobado por la SAGARPA). En el caso de la zona de baja prevalencia ningún animal resultó positivo a la prueba de la tuberculina (0%), pero si se tuvieron 19 (20%) muestras de exudado nasal positivas a PCR.

Se aplicó la fórmula reportada por Malorny y cols. y se estimaron los valores de sensibilidad y especificidad para la prueba de PCR. La sensibilidad es la relación porcentual de concordancia positiva muestras del cuadrante (a) y la sumatoria del cuadrante (a) y (b). Expresado de otra forma, la sensibilidad es un indicador de predictibilidad positiva (congruencia positiva/total de resultados positivos por

prueba estándar) $[(a)/(a+b)] \times 100$] (Tabla II). La prueba de PCR dio una sensibilidad del 90,5%, este valor es debido a que posiblemente no todos los animales enfermos de tuberculosis eliminan micobacterias o lo hacen de manera intermitente.

La explicación a lo anterior, es que cuando hay lesiones en los nódulos linfáticos del sistema respiratorio y en pulmones, los animales enfermos son considerados excretores, pero cuando las lesiones no están presentes, este animal aunque sea considerado enfermo, no elimina micobacterias, por lo que se considera no excretor. Se ha reportado que el porcentaje de animales reactivos que presentan lesiones en el tracto respiratorio es de 90%. Por lo tanto, en este estudio se considera que existe la posibilidad que en el 90% de los casos cuando se detecta a la micobacteria, podría tratarse de un animal con lesiones en nódulos linfáticos. Cuando la infección se localiza en otros órganos según el modo de transmisión de la enfermedad, la bacteria es eliminada en otras secreciones corporales como la orina. De tal manera que, cuando la infección es adquirida por vía digestiva, la eliminación de las micobacterias no sería por exudado nasal, por lo que no sería detectado por PCR a partir de exudado. Por lo tanto, la prueba de PCR tiene utilidad en las infecciones adquiridas por vía aerógena.

Cuadro 12. (Tabla II) Resultados de PCR y tuberculina para análisis de sensibilidad y especificidad

TABLA II
RESULTADOS DE PCR Y TUBERCULINA PARA ANÁLISIS
DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD/PCR AND TUBERCULIN
RESULTS TO SENSIBILITY AND SPECIFITY ANALYSIS

PCR	Tuberculina	
	Positivos	Negativos
Positivos	a (57)	c (149)
Negativos	b (6)	d (208)

Si se considera que la prueba de PCR sólo detecta el ADN del patógeno (vivo o muerto) a partir de exudado nasal, un resultado positivo por PCR no podría indicar que el animal esté enfermo. Al comparar los resultados de zonas de alta prevalencia con respecto a los de zonas de baja prevalencia, se encontró un porcentaje mayor de positivos por PCR en la zona de alta prevalencia (57,2%) de tal manera que se puede pensar que están relacionados con la infección de bacilos del complejo *M. tuberculosis*, y que por lo tanto, puedan desarrollar reacción a tuberculina en pruebas futuras.

La especificidad de la prueba de PCR, según los valores de la TABLA II y la aplicación de la fórmula $[d/(c+d)] \times 100$ de Malorny y cols. fue del 58,3%. Este valor probablemente se debió a que dentro de los 357 animales negativos a tuberculina se detectaron 149 casos positivos por PCR (Tabla II).

Lo anterior pudiera explicarse de dos formas, la primera es que pueda deberse a una falla en la prueba de tuberculina (animales anérgicos) lo cual está ampliamente reportado, sin saberse con exactitud este mecanismo de anergia a la tuberculina. La anergia se cree que es debido a una supresión de la respuesta inmune por los linfocitos T supresores en los casos de tuberculosis en etapa final o muy avanzada.

En los casos de infección por micobacterias en etapa inicial puede explicarse la anergia debido a que la prueba de tuberculina está basada en una reacción de hipersensibilidad retardada mediada por células y por lo tanto, en los primeros estadios de la infección, este tipo de inmunidad todavía no está desarrollada. La segunda explicación sería que pudiera deberse a falsos positivos por PCR

(detección de microorganismos del complejo *M. tuberculosis* muertos y sin riesgo para el rebaño), es decir, micobacterias muertas inhaladas del medio ambiente.

Sin embargo, está ampliamente reportada la alta resistencia de las bacterias del complejo *M. tuberculosis* al medio y a la desinfección con productos químicos, debido al alto contenido de lípidos de su pared celular y por lo tanto, permanecen viables por días e incluso meses. Se ha encontrado que *M. bovis* puede permanecer vivo en agua durante 37 días si se expone a los rayos solares directos y durante 71 a 84 días a la sombra.

Asimismo, el polvo contaminado con esputo seco infectado de bacilos, puede ser infectivo durante 8 a 10 días y sólo unos pocos microorganismos se requieren para causar la infección. Es importante resaltar, que ésta es la ruta más importante de transmisión y entre el 90-95% de los casos se transmiten por esta vía, debido a que los bacilos tuberculosos se encuentran en el núcleo de gotas resultantes de la expiración de los animales infectados y pueden permanecer suspendidas en el aire durante días.

Conclusiones de estos ensayos

Quedó demostrado que existe un mayor porcentaje de bovinos portadores de microorganismos del complejo *Mycobacterium tuberculosis* en las zonas de alta prevalencia.

La prueba de PCR en secreciones nasales puede utilizarse como apoyo a la prueba de tuberculina y realizarse únicamente a los animales negativos a esta prueba, lo que optimizaría los mecanismos de diagnóstico y control de la enfermedad

4.4 MÉTODOS Y MATERIALES UTILIZADOS:

En Colombia, la tuberculosis bovina ha ido tomando más espacio, tanto en las ganaderías lecheras como en las de carne y en las de doble propósito. En razón de lo anterior con el continuo sacrificio de animales positivos en plantas de beneficio, acceden animales sin ninguna sintomatología o signología aparente, efectuándose la faena sin la debida protección para el personal que tiene que ver con la misma, como son los operarios de corrales, los de proceso y los de inspección y vigilancia. Operación que bien programada con las autoridades externas se puede prevenir y evitar el afectar a una serie de personal que lo que hace es ejercer su trabajo habitual en beneficio de una comunidad.

Haciendo uso de la informática, se detectó que en otros países está muy avanzado el diagnóstico por otros métodos científicos y que en Colombia seguimos encauzados con la prueba de la tuberculina como única fuente confirmativa de la presencia en los animales de la Tuberculosis.

Se definen en este orden de ideas dos formas en la cual el ser humano adquiera la enfermedad, como una ETA o enfermedad transmitida por alimentos al consumir directamente los bacilos a través de la leche cruda en tanta población que tiene acceso libremente a este alimento de primera necesidad o a través de los procesos operativos para las personas que están en contacto con los animales.

Para adelantar el trabajo de la presente tesina se realizaron las siguientes actividades:

1. Establecer el contacto respectivo con el asesor de tesis de grado, lograr su aceptación e iniciar actividades. Proceso de recolección de la información necesaria,
2. Establecer contactos con las entidades gubernamentales encargadas del proceso de autorización para sacrificio especial como es el caso del Instituto Colombiano Agropecuario ICA y el Instituto Nacional de vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA.
3. Programar con el encargado de zoonosis del ICA en el departamento de Antioquia acerca de la posible toma de muestras en animales diagnosticados positivos por la prueba de tuberculina en eventos anteriores.
4. Establecer contacto con laboratorio específico para el procesamiento de las muestras tomadas a los diferentes animales.
5. Fijar fechas para la toma de muestras ante-mortem, su transporte y procesamiento acorde con la disponibilidad de los laboratorios gestionados.
6. Hacer gestión con gerentes de plantas de beneficio animal para adelantar el sacrificio especial programado a los animales diagnosticados positivos por el personal del ICA.
7. Definir sitio, fecha y procedimientos para realizar el beneficio especial de estos animales positivos y determinar su destino final hacia la desnaturalización o el uso industrial según se ajuste a la normatividad expresada en el presente documento según lo estipula el Ministerio de la Protección Social, según los hallazgos que se encuentren en el post-mortem de los animales.
8. Toma de muestras post-mortem, tanto de hisopado faríngeos como de ganglios para las diferentes pruebas planeadas con la entidad gubernamental encargada del diagnóstico de este tipo de entidades.

El departamento de Bacteriología del Centro de estudios superiores Colegio Mayor de Antioquia con sede en Medellín (Antioquia), tiene personal idóneo, con infraestructura y equipos, con quienes se adelantaron los contactos para la toma de muestras y su posterior procesamiento. A cargo de una profesional en esta materia, con maestría en el área Genética, quien gustosa se ofreció a prestar sus servicios para adelantar los procedimientos y evaluaciones pertinentes.

Cuadro 13. Resultados de la prueba de tuberculina a lote de búfalos, Puerto Nare, 29 de septiembre de 2008, realizado por el ICA.

IDENTIFICACION BUFALOS POSITIVOS PREDIO LA INDIA PUERTO NARE, CHEQUEO REALIZADO ENTRE EL 29 DE SEPTIEMBRE Y EL 07 DE OCTUBRE DE 2008. PRUEBA CAUDAL

N° ORDEN	IDENT. FINCA	IDENT. ICA	SEXO. EDAD	MEDIDA A 0 H (mm)	MEDIDA A 72 H (mm)	DIFERENCIA (mm)	RESULTADO
1	393	06	H- 12A	9.0	13.0	4.0	POSITIVA
2	138	14	H- 16A	12.0	19.0	7.0	POSITIVA
3	3092	18	H- 9A	8.5	12.0	3.5	POSITIVA
4	414	19	H- 10A	10.0	15.0	5.0	POSITIVA
5	1233	21	H- 10A	10.0	15.0	5.0	POSITIVA
6	140-3	22	H- 7A	10.0	17.0	7.0	POSITIVA
7	511-6	24	M-18M	8.0	12.0	4.0	POSITIVO
8	595-7	25	M-17M	7.0	10.0	3.0	POSITIVO
9	574-6	26	M-18M	10.0	14.0	4.0	POSITIVO
10	476	23	H- 14A	8.0	14.5	6.5	POSITIVA
11	587-2	27	H- 12A	10.0	13.5	3.5	POSITIVA
12	353 ✓	28 ✓	H- 10M	6.0	10.0	4.0	POSITIVA
13	587 ✓	29 ✓	H- 11M	6.0	14.0	8.0	POSITIVA
14	107-7	31	H- 10M	5.0	16.0	11.0	POSITIVA
15	449-7 ✓	32 ✓	H- 11M	5.0	20.0	15.0	POSITIVA
16	N.N ✓	33 ✓	H- 28M	10.9	13.2	2.3	POSITIVA
17	1022-8 ✓	34 ✓	M- 7M	7.5	10.0	2.5	POSITIVO
18	437-7 ✓	40	M-10M	8.0	14.0	6.0	POSITIVO
19	556-8 ✓	41 ✓	M-10M	7.0	12.0	5.0	POSITIVO
20	429-7 ✓	37 ✓	H-10M	7.0	11.0	4.0	POSITIVA
21	9178 ✓	35 ✓	H-10M	6.0	9.0	3.0	POSITIVA
22	645-7 ✓	36 ✓	H-10M	7.5	11.0	3.5	POSITIVA

OBSERVACIONES: Resultados revisados e interpretados por EL Médico veterinarios de la oficina Local Luis José Baena Sánchez, considerando que en hatos con diagnósticos positivos por laboratorio, toda reacción con una diferencia mayor a 2 milímetros entre las dos lecturas, debe ser considerada como positiva.

Responsable,

Luis Baena
LUIS JOSE BAENA SANCHEZ
 M.V. oficina Local Puerto Berrio.

Turbo de Macon: USB 856
Bufalos que han pasado.
 ✓ 2 M de 1 a 2 Años
 ✓ 7 M de 1 a 2 Años Total: 9
Luis Baena
 M.V. oficina Local Puerto Berrio

Luego de superar algunas dificultades tratando de localizar una planta de beneficio para adelantar el sacrificio de los animales, puesto que ninguna de las que se tenía previsto, accedieron a prestar sus instalaciones y del personal para realizar

el procedimiento, hecho que prolongó demasiado el proceso de sacrificio de los animales, en más de 4 meses. Se ubicó una planta que cumplía los parámetros que la normatividad exige para ello, la cual favorablemente aceptó realizar el sacrificio de los animales en sus instalaciones.

Cinco días antes del sacrificio de los animales positivos, se viajó a una de las ganaderías afectadas por esta zoonosis, programada para adelantar el control en algunos de sus animales, predio en el cual ya se tenía la experiencia de otro lote anteriormente sacrificado por ser positivo a la tuberculosis bovina. En este predio se tenía separado un lote inicialmente de 22 búfalos positivos, de los cuales murieron dos a causa de la enfermedad, siendo enterrados en el mismo sitio.

Se procedió a tomar las muestras de hisopados faríngeos a los 20 animales restantes para el procesamiento de la prueba PCR y realizar el procedimiento de conservación como se refiere a este proceso. El hisopo se introdujo en su totalidad en el ollar del animal. Una vez tomada la muestra, el hisopo se depositó en un tubo de ensayo con tapón de rosca con 5 ml de solución salina 0,9%. Las muestras se mantuvieron refrigeradas durante el transporte al laboratorio para su análisis y adecuadamente trasladadas y de inmediato al mismo, distante 6 horas del sitio de toma, para la evaluación respectiva.

Luego, los 20 animales búfalos fueron trasladados desde la finca La India en el municipio de Puerto Nare (Dpto. de Antioquia), por carreteras sin pavimentar y en muy mal estado, atravesando regiones ganaderas y poblados, a una distancia de 145 kilómetros del municipio de Rionegro, a la planta de beneficio denominada, Industria Cárnica de Rionegro S.A. (INCAROSA), lugar de sacrificio, con un tiempo de recorrido desde el embarque en los camiones de 12 horas.



Figura 15. Desinfección de vehículos

Se cumplió con los requisitos para el transporte de animales como es la presentación de su guía de movilización especial sanitaria expedida por la entidad correspondiente: el ICA. Llegaron a la planta de beneficio en dos vehículos con precinto de seguridad y además de un tercer vehículo procedente de otra ganadería ubicada en otro sector de este departamento transportando otros 9 animales búfalos adicionales también positivos a la prueba de tuberculina.



Figura 16 Corral de observación. Planta INCAROSA

Se toman todas las medidas de precaución, se asperjan los vehículos con desinfectante industrial autorizado, luego de descargados los animales, además de los alrededores de la planta y por la zona de correteo de los mismos. (Ver figura 15).

Los animales son trasladados al interior de la planta para ser procesados por los operarios de la misma.



Figura 17. Izado y sangría en planta de beneficio INCAROSA



Figura 18. Protección funcionarios y operarios. Planta INCAROSA

En la planta de beneficio se procede a encerrar a los animales en los corrales de observación, destinados para ello, hasta que se iniciara el sacrificio programado

Tanto el personal de la planta, los funcionarios del ICA, como los del INVIMA presentes, fueron equipados con los aditamentos requeridos y dotados con los elementos que la normatividad exige para este tipo de situaciones.



Figura 19 Revisión ganglios de la cabeza

Cada uno de los animales se procesan como el decreto 2278 de 1982 lo exige, insensibilizados con pistola neumática, al caer se les toma la muestra de las fosas nasales profundas, por medio de hisopos largos de 18 cmts, los que son colocados en el medio adecuado (solución salina al 0.9%) recomendado para este tipo de muestras, para la determinación del PCR, objeto de la toma.

- Se observan las canales, se van chequeando los diferentes ganglios (preescapular, prefemorales, poplíteo, sublumbar, isquiáticos, inguinales, ilíacos), y
- otro personal técnico va observando y evaluando los ganglios de la cabeza (Submaxilar, parotídeo, retrofaríngeo, cervical superior), luego de ser separada del cuerpo.

- además de las vísceras rojas (pulmones, hígado, bazo, corazón) (los ganglios mediastínicos craneal, medio y caudal, renal, hepático) y
- de las vísceras blancas los ganglios gástrico y mesentéricos, a la vez que a las hembras las glándulas mamarias (el ganglio supra mamario).

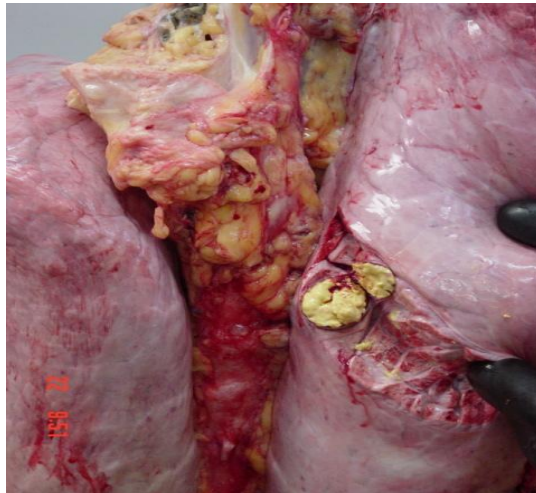


Figura 20 Ganglios afectados en vísceras rojas

Se separan los ganglios y se tomaron muestra de ellos, para cultivos bacteriológicos y para pruebas histopatológicas.

Las notas siguientes fueron acatadas en su totalidad, por lo que se anexan como tal se reportan:

Las normas concernientes a bioseguridad, envases, momento y forma de recolección y número de muestras a recolectar según la localización de la lesión, Son válidas todas las recomendaciones allí detalladas para facilitar y agilizar la recepción de muestras, para preservarlas, asegurar su correcta identificación, registro en el libro del laboratorio y la bioseguridad durante su manipulación y transporte (OPS, 2008).

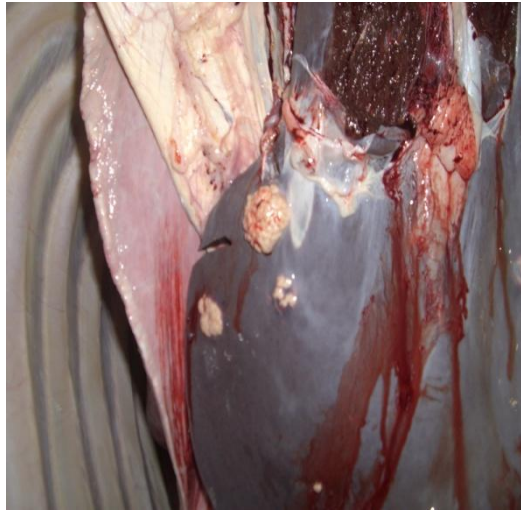


Figura 21. Hígado, Nódulos caseosos en Búfalos, Puerto Nare

Es importante acatar las normas de bioseguridad en los procesos de toma, recolección y envasado de muestras, tal como lo describe el manual para el diagnóstico bacteriológico de la TBC de la OPS.

En particular, es preciso tener presente que para el cultivo es fundamental observar las siguientes recomendaciones:

- Procesar las muestras con la menor demora posible. Para lograrlo es necesario establecer una organización conjunta entre el personal del laboratorio y el equipo Médico Veterinario que toma las muestras.
- Preservar las muestras de la luz solar, desecación y el calor, con la refrigeración a 4° C hasta el momento de su procesamiento si inevitablemente debe transcurrir más de 24 horas desde la recolección hasta la siembra.
- Cuando la muestra de exudado debe ser transportada y queda inevitablemente expuesta a temperatura ambiente durante más de 48 horas después de recolectada, se le debe agregar igual volumen de cloruro o

bromuro de cetilpiridinio 1% disuelto en una solución de cloruro de sodio al 2%. Estos reactivos homogenizan el mucus y restos orgánicos y descontaminan la muestra durante el transporte.

- En este caso, la muestra no debe ser refrigerada porque estos descontaminantes cristalizan a baja temperatura y, una vez cristalizados, no protegen e inhiben el desarrollo del bacilo de la tuberculosis. Se ha descrito que estas soluciones pueden inhibir el desarrollo del bacilo en medios líquidos y por eso se ha recomendado no utilizarlos cuando se emplean estos caldos.
- Nunca agregar a las muestras fenol, formol o solución de formaldehído. Algunos anestésicos tienen actividad antimicrobiana y por lo tanto también deben ser evitados.

4.4.1 RECUPERACIÓN DE MATERIAL TOMADO POR HISOPADO

Para adelantar el procedimiento de recuperar la muestra tomada, proceder de la siguiente forma (OPS, 2008):

- Abrir el tubo de centrífuga identificado con el número correspondiente a la muestra, colocar en él, con una pipeta estéril, agua destilada en cantidad suficiente para sumergir todo el algodón del hisopo (2 o 3 ml).
- Transferir el hisopo a este tubo de centrífuga. Moverlo suavemente tratando de que se desprenda el material en el agua. Quebrar el palillo de hisopo en su parte superior para poder cerrar el tubo de centrifuga con su tapa. Tapar el tubo que originalmente tenía el hisopo.

- Agitar en vortex. Dejar el hisopo sumergido al menos 15 minutos para permitir que se desprenda la mayor cantidad posible de material.
- Destapar el tubo enroscado y con una pinza estéril, tomar el palillo del hisopo, presionar el algodón sobre la pared del tubo para escurrirlo, retornar el hisopo dentro del tubo donde fue recibido y apartarlo para descartarlo al finalizar del procesamiento de las muestras. Descartar la pinza en el recipiente destinado para desechos de vidrio, o dentro de una bolsa autoclavable.

La sensibilidad y especificidad diagnósticas son características de la realización de una prueba para una población estudiada. Ambas características determinan –en conjunción con la prevalencia de la enfermedad en la población- la probabilidad de que un resultado concreto de una prueba refleje el verdadero estado del animal. Puede aceptarse como validada una prueba si se dispone de estimaciones fiables de la sensibilidad y la especificidad diagnósticas para la población estudiada. Esto no implica la exigencia de unos determinados valores-umbral de esos dos parámetros. En aplicaciones prácticas, unos valores de sensibilidad o especificidad bajos o problemas de diagnóstico debidos a una prevalencia baja de la enfermedad se compensan con el diseño de muestreo o combinando muchas pruebas de diagnóstico ya sea en paralelo, ya sea secuenciada.

La selección de las pruebas, el proceso de muestreo, la combinación de múltiples pruebas en un determinado régimen de ensayo y la regla de interpretación de resultados hacen posible una definición del proceso de diagnóstico

Para la evaluación de los resultados y la obtención de la Sensibilidad y especificidad resultante de los hallazgos obtenidos se tiene la aplicación de la

tabla de 2x2. Tomando como referencia la prueba de oro que es la tuberculina, la cual está dividida en dos columnas, la de los resultados positivos y la de los negativos al igual que la prueba de ensayo está dividida en dos renglones, la de los resultados positivos y la de los resultados negativos. El cruce de ambos produce cuatro celdas (a,b,c,d) más las sumas de columnas y renglones que tienen como contenidos los siguientes:

El hallazgo de estos valores es lo que determina la validez de la prueba en investigación. En el caso en cuestión, los valores de los hallazgos de la prueba PCR en ensayo fueron negativos por contaminación hallada en las muestras, datos dados por el laboratorio procesador.

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 LIMITACIONES

Si bien en Colombia existe normatividad respecto de la tuberculosis bovina, los resultados obtenidos se vieron afectados entre otros por los siguientes factores:

- Los intrínquilos administrativos de la complicada tramitomanía que desafortunadamente aún persiste en Colombia.
- La dificultad para que las plantas de beneficio faciliten sus instalaciones (son entes particulares, no oficiales), circunstancias que dificulta el llegar a establecer controles efectivos para reducir el riesgo de la infección en los consumidores.
- El precario control en zonas de frontera, por donde en los extensos kilómetros de las mismas (particularmente con Brasil, Ecuador y Venezuela), es fácil introducir lotes de animales sin control, y aunque lo realicen por las líneas permitidas, la expedición de los documentos legales confirmatorios de libres de esta zoonosis, es dudosa su precedencia o lo

realizan personas de turno, sin mayores conocimientos y sin elementos probatorios de su validez.

- Existe normatividad como quedó ya detallado, legislaciones claras, pero el sentido de pertenencia de los ejecutores, ante lo complicado de la tramitomanía en Colombia.

5.2 RESULTADOS

Todos los animales (29 búfalos en total) diagnosticados por prueba de tuberculina como positivos y luego de ser sacrificados en planta de beneficio aprobada por la entidad encargada de este procedimiento el INVIMA, con el apoyo del ICA, entidad encargada de verificar la positividad de estos animales, presentaron hallazgos anatomopatológicos positivos concomitantes con la enfermedad, cuadros miliares completos en cavidad torácica, ganglios mesentéricos, mediastínicos, en los ganglios cervicales y mandibulares con signos característicos de la enfermedad.

Para la evaluación de laboratorio, se procesan muestras tanto para el laboratorio confirmativo institucional como es el ICA, y se procesan muestras para el PCR, en laboratorio universitario, como es el del Colegio Mayor de Antioquia, entidad con amplia experiencia y reconocido a nivel nacional por su calidad en docencia.

5.2.1 RESULTADOS DEL LABORATORIO INSTITUCIONAL PARA MICROBIOLÓGICO E HISTOPATOLOGÍA.

De los animales muestreados para tuberculina en la fecha en mención (Septiembre 29 y octubre 7 de 2008), con los reportes asignados de positividad, al programar su sacrificio para el 14 de diciembre del 2009, nos encontramos con la noticia que dos (2) animales habían fallecido, presumiblemente por la tuberculosis según el administrador, quien los abrió y observó muchas tumoraciones en

diferentes órganos (no evaluación Médico Veterinaria) y procedieron a enterrarlos en el mismo predio.

Cuadro 14. Resultados Microbiológicos por Ziehl Nielsen, de muestras de animales sacrificados del municipio de Puerto Nare, Antioquia

BICENTENARIO
de la independencia de Colombia
1910-2010

ica		Forma 3-039		Versión 01	
LABORATORIO NACIONAL DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO Teléfono: 3686826/27620. FAX: 3686630/36 Indv@ica.gov.co					
ENTREGA DE RESULTADOS TUBERCULOSIS					
LABORATORIO BACTERIOLOGIA					
No. de Caso: 13447-06			Fecha de Recepción: 18 diciembre 2009		
Solicitante: ICA BELLO		Propietario: INVERSIONES LA FE		Predio: HACIENDA LA INDIA	
Municipio: PUERTO NARE		Departamento: ANTIOQUIA		Especie: BUFALINA	
Tipo de muestra: TEJIDO	N° muestras: 09	Caso local: 7905-1209	Pruebas solicitadas: DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS		
RESULTADO			RESULTADO		
N°	IDENTIFICACION	RESULTADO			
1.	46	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
2.	29	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
3.	23	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
4.	25	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
6.	37	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
8.	21	SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
7.	36	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
8.	32	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
9.	23	SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
OBSERVACIONES					
> Página 1 de 2					
			Fecha de emisión: 23 diciembre 2009		
Copias: Dra. Digna Lucia Diaz, Coordinadora Grupo de Epidemiología-Of. Nels Dr. Francisco Osorio, Líder Nacional Proyecto TBC Bovina Dr. Edgar Serrato, Epidemiólogo Jurisdicción Cundinamarca Dra. Riba Patricia Belizcar O. Subdirectora Vigilancia y control de Salud Pùb. Inst. Nal. de Salud					
<u>Andrés Arevalo Romero</u> Responsable laboratorio					

En los cuadros 14 y cuadro 14a, se reportan las 20 muestras evaluadas procedentes de los animales sacrificados del municipio de Puerto Nare, mediante la coloración Ziehl Nielsen, de las cuales 5 muestras resultaron positivas con la observación de la presencia de bacilos (BAAR, bacilos ácido alcohol resistentes)

en la muestras. Y en las muestras del municipio de Tarazá, (cuadro 16) se observan positivos 3 de las 9 muestras presentadas.

5.2.2 RESULTADOS DEL LABORATORIO UNIVERSITARIO PARA EXUDADOS, CULTIVOS Y PCR.

Los resultados de todos los procedimientos efectuados con las diferentes muestras determinan la positividad de los animales sacrificados (ver cuadro 18 anexo).

Cuadro 14a. Resultados Microbiológicos por Ziehl Nielsen, de muestras de animales sacrificados del municipio de Puerto Nare, Antioquia

BICENTENARIO
1810-2010

ica		Forma 3-938		Versión 01	
LABORATORIO NACIONAL DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO Teléfono: 3666202/729, FAX: 366630/35 Indv@ica.gov.co					
ENTREGA DE RESULTADOS TUBERCULOSES LABORATORIO BACTERIOLOGÍA					
No. de Caso		13447-06		Fecha de Recepción: 16 diciembre 2009	
Solicitante: ICA SELLO		Propietario: INVERSIONES LA FE		Predio: HACIENDA LA INDIA	
Municipio: PUERTO NARE		Departamento: ANTIOQUIA		Espacie: BUFALINA	
Tipo de muestra: TEJIDO		N° muestras: 09		Caso local: 7006-1209	
Pruebas solicitadas: DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS					
RESULTADO					
N°	IDENTIFICACIÓN		RESULTADO		
10.	23		NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
11.	14		NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
12.	41		SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
13.	25		NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
14.	34		NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
15.	18		NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
16.	26		NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
17.	26		NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
18.	27		NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
19.	31		NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
20.	19		SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA		
OBSERVACIONES					
» Pagina 2 de 2					
				Fecha de emisión: 23 diciembre 2009	
Copias: Dr. Olga Lucia Diaz, Coordinadora Grupo de Epidemiología-OI, Nels Dr. Francisco Osorio, Líder Nacional Proyecto TBC Bovina Dr. Edgar Serrato, Epidemiólogo Jurisdicción CUC, Quindío Dra. Elba Patricia Beltrazar O, Subdirectora Vigilancia y control de Salud Púb., Inst. Nat. de Salud					
Andrés Arcadio Romero Responsable laboratorio					
23 DIC 2009 E. P. Beltrazar					

Cuadro 15. Resultados Microbiológicos por Ziehl Nielsen, de muestras de animales sacrificados del municipio de Tarazá, Antioquia

BICENTENARIO
de la Independencia de Colombia
1810-2010

-7905-1209

Ica		Forma 3-938		Versión 01	
LABORATORIO NACIONAL DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO Teléfono: 3666828/27/29. FAX: 3666830/36. Indv@icg.gov.co ENTREGA DE RESULTADOS TUBERCULOSIS LABORATORIO BACTERIOLOGÍA					
No. de Caso: 13546-06		Fecha de Recepción: 18 diciembre 2009			
Solicitante: ICA BELLO		Propietario: JOSE OCTAVIO GALLÓN LOPEZ		Predio: EL AMPARO BAJO	
Municipio: TARAZA		Departamento: ANTIOQUIA		Especie: BUFALINA	
Tipo de muestra: TEJIDO	Nº muestras: 09	Caso local: 7905-1209	Pruebas solicitadas: DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS		
RESULTADO					
Nº	IDENTIFICACIÓN	RESULTADO			
1.	04699	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
2.	04895	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
3.	04893	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
4.	04698	SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
5.	04896	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
6.	04894	SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
7.	04700	SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
8.	04891	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
9.	04892	NO SE OBSERVAN BAAR EN LA MUESTRA			
OBSERVACIONES					
Fecha de emisión: 23 diciembre 2009					
Copias: Dra. Olga Lucía Díaz, Coordinadora Grupo de Epidemiología-Of. Nels Dr. Francisco Osorio, Líder Nacional Proyecto TBC Bovina Dr. Edgar Serrato, Epidemiólogo Jurisdicción Cundinamarca Dra. Eiba Patricia Belalcázar O. Subdirectora Vigilancia y control de Salud Pú. Inst. Nal. de Salud					

Andrea Arcecho Romero
 Responsable laboratorio

Para evaluar la positividad de los animales diagnosticados con la tuberculina, se tomaron dos muestras de las fosas nasales por medio de los hisopados, una con los animales vivos en el predio 5 días antes del sacrificio programado y la otra en el momento del sacrificio en la planta de beneficio animal. Los resultados para todos los procedimientos a efectuar fueron negativos, tanto para las baciloscopias, como para los cultivos y para la prueba de PCR.

Al parecer y dado que era la primera ocasión en que se tomaba la muestra, esta resultó contaminada con producto de la regurgitación en los dos casos, evidencia que se apreció en el momento de la toma de la muestra en todos los animales. Esto es reportado en la literatura de las fallas en las evaluaciones dadas para PCR por contaminación del ADN.

A los animales sacrificados se les tomó también muestras de los diferentes nódulos linfáticos que se reportaron positivos por observación directa. Estas muestras se evaluaron para baciloscopia, cultivo y PCR. A diferencia de las muestras de exudados nasales, estas dieron positivos para las 29 muestras 4 en baciloscopias, 13 positivas en cultivos y 15 positivas para PCR. Estos resultados son alentadores, si bien no hubo positividad en los exudados acompaña los mismos los positivos hallados en el cultivo de Ziehl Neelsen, confirmando la positividad de los animales.

6. CONCLUSIONES

La inocuidad de los alimentos es tema de interés mundial, por el cual todos los países pretenden lograrlo y sus administraciones colocan los mejores propósitos por alcanzar los mínimos niveles de afectación a sus poblaciones.

Cada sector productivo adelanta y desarrolla normatividades tendientes a alcanzar ese grado de satisfacción social que se requiere. Es la conjunción clara de cada uno de los objetivos que se pretende alcanzar.

En este orden de ideas, tenemos en la presente tesina, variadas normas legales y de adelantos tecnológicos desarrollados para controlar un evento de salud como es la TB bovina, situación que ha afectado, que afecta y que seguirá afectando a la población de no brindarle la debida atención. No es solamente el desarrollar un método de control, es llegar a tomar decisiones al disponer de las normas legales

y los insumos tecnológicos para controlar patologías que han afectado a la humanidad por siglos.

Cuadro 16. Relación de eventos presentados de Tuberculosis en el Dpto. de Antioquia en ganado bovino y bufalino. ICA Medellín 2010

Pre-dio	Evento	Municipio de origen	Total animales	Positivos Tuberculina	Planta de sacrificio	Fecha del diagnóstico	Fecha sacrificio
1	1	P. Nare	427	32	Sogamoso	2007	2007
1	2	P. Nare	300	29	Central Ganad	2008	2008
1	3	P. Nare	951	22	Rionegro	26 sept 08	14 dic 09
2	4	Tarazá Amparo bajo	18	9	Rionegro	30 oct 08	14 dic 09
3	5	Yondó-los caños	5	3	pendientes	9 abril 08	
4	6	Yondó Cabañas	527	18	Frigocolanta		2008
5	7	Cáceres la Siberia	245	7	Frigocaucasia	Octubre 08	Octubre 08
6	8	La Unión Buena vista	160	3	Frigocolanta	15 may 09	2009
7	9	La Unión La Playa	97	3	Frigocolanta		2008
7	10	La Unión la playa Buena vista	186	16	Pendientes		
8	11	La Ceja Macumba s.a	45	1	Enterrado	24 oct 08	2008
9	12	Santa Rosa O la fortuna	109	9	Frigocolanta		2008
9	13	Santa Rosa O la fortuna	86	26	pendientes		
Totales			3156	178	45		133

Una enfermedad alimentaria o una enfermedad transmitida por alimentos es controlable en la medida en que se ajusten los controles definidos para ello. Estamos al frente de una de ellas, una zoonosis directa e indirecta de transmisión por lo que la mayoría de los países luchan por su erradicación. Los controles que se establecen a través de la OMS, de la OIE, de la intervención racional de la OMC, son precisas. La tuberculosis es una de ellas y se tiene definido el grado de

incidencia hacia las comunidades. Como la controlaremos, como la reduciremos, como aplicaremos métodos de erradicación en nuestro país?.

Continúan siendo válidos los resultados de las pruebas que se vienen adelantando en Colombia y en el mundo con la Tuberculina, toda vez que actualmente es la única prueba oficial y válida para determinar la tuberculosis bovina.

El empleo de la prueba PCR para diagnóstico de TBC bovina constituye en Colombia el primer intento que se tenga como antecedente, no es lo mismo realizar una prueba PCR en humanos, en donde todo es controlable o en tejidos, en comparación con unos animales prácticamente salvajes como los evaluados, animales indómitos, los que durante un año después de diagnosticados positivos, no se habían llegado a coger o a encerrar para realizarles algún procedimiento normal o práctica diaria que sucede normalmente en una ganadería o animales tan nobles y sumisos como es el ganado lechero con razas de origen europeo, explotaciones tan invadidas según lo reportado.

Quedan varios lotes de animales de las razas lecheras y bufalinas sin sacrificar diagnosticados positivos por las pruebas de la tuberculina, (cuadro 15), además, posiblemente de los animales que aparecerán positivos luego de realizar pruebas de control en estos predios y en los nuevos que posiblemente resulten.

Los costos de realizar estas pruebas no son significativos, se tiene la diferencia es en el doble traslado de los funcionarios a realizar la lectura definitiva como es el caso de la Tuberculina, la cual tiene un costo de US 6.5 y para la prueba de PCR se alcanzan los US 7, reportando que es en el tiempo de procesamiento en donde es significativamente diferente. El PCR puede dar sus resultados en el término de 24 – 48 horas, mientras que el de la Tuberculina se puede tardar varios días, además del inconveniente de tener que volver a recoger los animales, introducirlos

en los bretes, sujetarlos, hacer las mediciones debidas y procesar los resultados. Y en el mejor de los casos, no esperar los 60 días entre las diferentes pruebas para no propiciar resultados falsos negativos.

La presencia de la TBC es indicativa de la difusión de la misma y de la necesidad de evaluar todos los predios para determinar la prevalencia. Los sectores oficiales y privados deberán trabajar juntos. Habrá numerosas dificultades que deberán enfrentarse debido a las características de la tuberculosis, pero es la única forma de alcanzar un estatus sanitario aceptable para que la enfermedad no se transforme en una nueva barrera que impida la exportación de nuestros productos alimentarios de origen pecuario.

Los resultados de la PCR en otros países son alentadores lo que nos confirma que hay que continuar aprovechando este método de diagnóstico por su versatilidad y tomar las medidas de precaución debidas.

En el tema de inocuidad de alimentos es de nuestra competencia el luchar por proveer al consumidor de sus elementos nutricionales completamente liberados de agentes contaminantes, más aun cuando se tiene la incertidumbre de si es un positivo o si es un negativo. La ley 09 de 1979 así lo presenta como una exigencia a cumplir.

En el predio en particular en donde se hizo el trabajo previo al de sacrificio, nos encontramos con una familia que lleva dos meses y desconocen completamente que los animales que les están proveyendo sus alimentos están infectados con Tuberculosis y consumen libremente leche cruda y quesos. Esta es nuestra cultura en los campos.

Los animales positivos que se presenten en cualquier ganadería deben ser retirados o aislados y limitar su contacto hasta tanto se les defina su futuro. Más aún el gobierno y las autoridades encargadas de ello, con las herramientas que disponen deben tomar medidas inmediatas y no dejar que el problema se postergue en su solución y se amplíe en su magnitud.

Resumiendo podemos sintetizar las conclusiones así:

1. Análogamente, de acuerdo con las directrices del *Códex Alimentarius*, se considera que el estatus sanitario en términos de inocuidad para la leche, la carne y sus derivados es desconocido, en razón a la carencia de una línea base de los factores de riesgo asociados que están determinados por la incidencia de peligros biológicos para la leche, la carne y sus derivados y la presencia de peligros químicos y contaminantes como residuos de medicamentos veterinarios, plaguicidas, hormonas, toxinas, aditivos y metales pesados.

2. La operación de la prueba tuberculínica y el sacrificio de los reactores han dado excelentes resultados en donde se han emprendido campañas de erradicación. La mejor manera de prevenir la transmisión entre los bovinos a otras especies animales incluido el hombre es realizar el control de la tuberculosis por *M. bovis* en su reservorio natural (OPS, 2001).

3. La Ley 09 de 1979 en el **Artículo 592º**.- En caso de sospecha de zoonosis, la autoridad sanitaria competente, podrá ordenar capturas individuales o masivas de animales sospechosos, para someterlos a observación en sitio adecuado, para su eliminación sanitaria o para su tratamiento, lo mismo que podrá ordenar y efectuar vacunaciones de animales cuando lo estime necesario.

7. RECOMENDACIONES

1. El país está siendo afectado por un problema sanitario que es controlable en la medida en que se apliquen y se hagan cumplir las normas sanitarias establecidas para ello.
2. El problema sanitario en mención es de carácter infectocontagioso y se transmite a través de la ingestión de productos alimenticios contaminados directamente de los animales productores y a través de la manipulación y el contacto con los animales positivos.
3. El hallazgo de animales positivos en predios ganaderos genera la imperiosa necesidad del sacrificio inmediato, son fuente potencial para irrigar el problema en los animales vecinos como está reportado en hallazgo de animales sacrificados.
4. Existen otros métodos para diagnosticar la enfermedad, aplicables como es el Interferón gamma y el PCR, ambos ayudan y facilitan la detección, con una sola visita al predio. Avalado en otros países, y los resultados en ellos así lo demuestran, nos precisa que hay que continuar con la fijación de un método de muestreo con la técnica de PCR, aunque dio negativa en los muestreos de los hisopados nasales por mala toma de la misma, por contaminación de la muestra, hay que darle continuidad a este procedimiento investigativo.
5. Estudiar la posibilidad de eliminar los animales positivos directamente en el predio, favorece varias condiciones:
 - No esparce el flagelo por otros territorios,
 - Reduce costos en proceso final
 - Reduce la posibilidad de infectar a operarios en plantas de beneficio
 - Reduce la posibilidad de infección de hatos vecinos.
 - Favorece la producción de alimentos (lácteos y cárnicos) inocuos.

6. La normatividad es laxa en el tema de la leche y en zonas de alta prevalencia de las enfermedades, no se aplica con el rigor para la cual fue redactada. La cultura campesina la lleva a su consumo, factor de alto riesgo para esta población objeto de atención inmediata de todos los organismos estatales a los cuales les corresponde aplicar las normas debidas.

7. Las campañas de control de la TBC per se no constituye la medida mas efectiva. Se requiere del esfuerzo sostenido que implica identificar y curar a los enfermos, asegurando la administración regular del tratamiento terapéutico para cada caso en particular. Por la cronicidad de la enfermedad, este esfuerzo debe ser mantenido en el tiempo, hasta eliminar las fuentes de infección a partir de las cuales se transmite el agente en la población.

En los países en vía de desarrollo como el nuestro, los informes oficiales son comunes en indicar porcentajes de la leche producida, cómo es comercializada en forma de leche cruda y muy buena parte de la cual se destina a la producción de queso fresco, el cual es expendido en mercados populares. Esto conduce a la presencia de M.bovis por la ingestión de leche cruda y queso fresco como los factores causantes.

Los resultados de este documento aunado a los informes acopiados son una clara indicación del elevado riesgo que la tuberculosis bovina representa para la salud pública, por lo que es necesario que se destinen mayores recursos y que se realizan todos los esfuerzos necesarios para que se erradique la tuberculosis del ganado en Colombia. Este país es un centro de aprovisionamiento de recursos proteínicos de origen animal para un gran sector de países demandantes del mismo del mundo, tenemos la mirada de ellos puesta sobre nuestra economía agropecuaria y este sector en particular con la normatividad mundial en manos de

la OMC tiene deficiencias crasas en temas de enfermedades zoonóticas graves que merecen toda la atención del sector correspondiente en nuestro país.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Acha, PN; Szyfres, Boris, 1992, Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales, Publicación científica OPS, Segunda Ed, 989 pgs.(174-185)
2. Cano C, PJ; Camacho G, LA, 2.003, TUBERCULOSIS BOVINA, Documento de Microsoft office Word 97, consultado 23 Agosto de 2009, 4:36 am, disponible en [www.fmvz.unam.mx/fmvz/.../TUBERCULOSIS BOVINA.doc](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/.../TUBERCULOSIS%20BOVINA.doc)
3. Castillo Lenis, P, 2008 Elespectador.com 26 Agosto 2008, Nota de prensa, Bogotá, Colombia.
4. Clavijo, A.M.; M. de Rolo; C. Alfaro y M. Corso. 2004. TODO LO QUE USTED DEBE SABER SOBRE LA TUBERCULOSIS BOVINA. Revista Digital CENIAP HOY Número Especial Maracay, Aragua, Venezuela. URL: Disponible en www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/ne/arti/clavijo_a/arti/clavijo_a.htm
Visitado en fecha: ABRIL 27/2009
5. Díaz Otero, F, 2005, *Nuevas Alternativas para el Diagnostico de Tuberculosis Bovina, México, Visitado 23 de Agosto de 2009, disponible en, [www.conasamexico.org/mesa9NUEVAS ALTERNATIVAS PARA EL Diagnóstico de Tuberculosis Bovina](http://www.conasamexico.org/mesa9NUEVAS%20ALTERNATIVAS%20PARA%20EL%20Diagnóstico%20de%20Tuberculosis%20Bovina)*

6. Donoghue HD, Spigelman M, Greenblatt CL y colaboradores, 2004, From Prehistory to Robert Koch, as Revealed by Ancient DNA, *Lancet Infectious Diseases* 4(9):584-592, Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC)
7. Espinosa Asuar, L, 2008, Las herramientas moleculares, Capítulo 17 Guía práctica sobre la técnica de PCR, México pgs 517, disponible en www2.ine.gob.mx/publicaciones/libros/530/cap17.pdf.
8. FAO, 1999, Manual sobre la preparación de los planes nacionales de preparación para emergencias de enfermedades de los animales, Título de la serie: FAO Animal Health Manual, 83 p, consultado 15 noviembre 2009, disponible www.fao.org/docrep/U2200S/u2200s0b.htm
9. Giraldo R, 2009, Perfil del Programa de Tuberculosis y Lepra en el Departamento de Antioquia, Colombia, AÑO 2008, 49p.
10. González B, F.E., 1998, Sensibilidad y Especificidad, Universidad de Guanajuato, Maestría de Epidemiología y Administración, México, Calimed 134-135 consultado el 28/03/2010, disponible en www.imbiomed.com.mx.
11. Guía de Atención de la Tuberculosis pulmonar y extrapulmonar (Hace parte de la Resolución número 00412 DE 2000), Col, Disponible en gerencia@medicosgeneralescolombianos.com, Revisión 22 Noviembre de 2009 Última modificación: 25 de Mayo de 2009.
12. GPEB, 2007, Conceptos básicos para *interpretar* los resultados de un estudio sobre pruebas diagnósticas. *Sensibilidad; Especificidad; Valor*

predictivo positivo. Revisado el 28/03/2010, Disponible en www.aepap.org/evidencias/conceptos.htm

13. Herrera, L. B. 2009. Comparación de histopatología, aislamiento bacteriológico y reacción en cadena de polimerasa simple en el diagnóstico de tuberculosis bovina. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Autónoma de Chiapas, México. Visitado Noviembre 20 de 2009, disponible en <http://espadajin.blogspot.com/2009/03/tuberculosis-bovina->
14. Kantor, I., 1998. Situación de la TBC Bovina en América Latina y el Caribe. CEPANZO. Buenos Aires
15. Kantor I.N. 2006. La tuberculosis bovina en el mundo. Avances y dificultades para su erradicación. En: Temas de Zoonosis III. Cacchione, R., Durlach, R., Larghi., (Ed), Asociación Argentina de Zoonosis, Buenos Aires., 115-116
16. Martin P, L. L, 1998, Tuberculosis, introducción a la enfermedad. Galemys 10(2); p 36-46.
17. Montesinos R, LI; Salas G, G; Ramírez L, J, Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C. Memorias del "Curso Precongreso de Necropsias, Toma y envío de Muestras en Bovinos" 14 de Febrero de 2003 Editores Universidad Nacional Autónoma de México, disponible en E-mail: gerardito@lycos.com
18. Morales Loredó, A.; Penuelas Urquides, Katia, Álvarez Ojeda, G. 2008, et al. Correlación entre PCR en Exudado Nasal y la Reacción de Tuberculina para la detección de organismos del complejo *Mycobacterium tuberculosis*

en bovinos. Revista Científica (Maracaibo, Venezuela), vol.18, no.1, [citado 08 Diciembre 2009], p.17-21. Disponible en la World Wide Web: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592008000100004&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0798-2259.

- 19.OIE, 2004 Manual de la OIE sobre animales terrestres P 489
- 20.OIE, 2006, Manual de pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos, Capítulo 1.1.2. — Principios de validación de las pruebas de diagnóstico para las enfermedades infecciosas. p 11-24
- 21.OIE, 2007, Código Sanitario de la OIE para los Animales Terrestres, Code/Edition 2007/ capitulo_2_3_prn.pdf. Fecha modificación 27/04/2009 7:52 pm, Consultado el 15 de septiembre de 2.009 disponible en www.oie.int/esp/normes/mcode/e_summry.htm
22. OIE, 2008, La Tuberculosis Bovina en América Latina. Situación actual y recomendaciones. Taller patrocinado por OIE, III Congreso Latino Americano de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina, Consultado el 8 de diciembre 2009 www.rr-americas.oie.int/.../es_tuberculosis_recomendaciones_ago.html
- 23.OIE, 2008 Manual de normas para las pruebas de diagnóstico y las vacunas para animales terrestres, Capítulo 2.4.7. <http://www.oie.int/eng/normes/>
- 24.OIE, 2009, *Código Sanitario para los Animales Terrestres 2009*. Índice analítico · Criterios de inscripción de enfermedades en la lista de la OIE , disponible en www.oie.int/esp/normes/mcode/e_summry.htm, consultado Diciembre de 2009.

25. OMC, 2002, Los acuerdos de la OMC y la Salud pública, un estudio conjunto de la OMS y la Secretaría de la OMC. OMS ISBN 92 4 356214 2 OMC ISBN 92-870-3223-1 Impreso par la Secretaría de la OMC VII-2002-2,000 © Organización Mundial del Comercio / Organización Mundial de la Salud, 199 P. Disponible en: www.wto.org/spanish/res_s/booksp_s/who_wto_s.pdf
26. OMC, 2006, Ginebra. POLITICA COMERCIAL DE COLOMBIA ANTE LA OMC, 185 p. Disponible en: portal.araujoibarra.com/.../Colombia-
27. OPS, 2001 Publicación científica y Técnica N° 580 Organización Panamericana de la Salud. P 279-280 Volumen 1. Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales
28. OPS, 2008, Manual para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, Normas y guía Técnica Parte II Cultivo.
29. Perez G, L y col, 2008, Epidemiología Molecular de la tuberculosis bovina y humana en una zona endémica de Querétaro, México, Salud pública de México, ISSN 0036-3634, Vol. 50, N°. 4, pags. 286-291 Consultado el 25 marzo 2010, disponible en dialnet.unirioja.es/servlet/
30. Prat Aymerich, C, Domínguez B, J, Ausina R, V,, 2005, Servei de Microbiologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona. Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, consultado el 30 de Marzo de 2010, disponible en www.seimc.org/control/revi.../Mbovis.htm

31. Rochinotti, D.; Gastón Caspe, S., Muestreo para Necropsia, Argentina, Estación Experimental Agropecuaria Mercedes, Centro Regional INTA Corrientes, Consultado el 12 de 01/2010, disponible en www.inta.gov.ar/mercedes/info/SeriesTecnicas/38/Necropsia.pdf
rochinotti@correo.inta.gov.ar, gcaspe@correo.inta.gov.ar
32. Romero, TA; Arriaga, C; Guevara, VJ; García, SJA; Torres, LRA; Estrada-Chávez, C; 2006 Confirmación de la excreción de Mycobacterium bovis en exudados nasales mediante PCR anidada en un hato lechero, Veterinaria México, enero marzo, Volumen 37 número 001, Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 137-143 México , consultado Noviembre de 2009, disponible en: redalyc.uaemex.mx/pdf/423/42337110.pdf, www.ciatej.net.mx/biotechnology/l_BF_Estrada_Ciro.html
33. Rosero, DA; Corral, H del, 2008, Contribución del análisis RFLP del IS6110 de Mycobacterium tuberculosis al diseño y refinamiento de estrategias para el control de la tuberculosis en Colombia, Asociación Colombiana de Infectología, Volumen 12 No 3 PAGES 175- 191, Revisado el 25 de Noviembre de 2009, disponible en www.revistainfectio.org/site/LinkClick.aspx?fileticket...tabid=36
34. Torres, P.M. 2007, Las Pruebas Tuberculínicas en el Ganado Bovino, Jefe Programa Control de Tuberculosis, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Av.Paseo Colon 367-4° piso (C1063ACD) Buenos Aires Argentina, Consultado 28 diciembre 2009, disponible en tuberculosis@senasa.gov.ar

35. Vargas Terán, M; del Barrio Reyna, L., 2005, Salud Pública Veterinaria e Inocuidad de los Alimentos en América Latina y el Caribe, Sao Paulo, Brasil, Consultado el 25 de noviembre de 2009, disponible en www.rlc.fao.org/es/prensa/activi/codex/pdf/global.pdf
36. Ward, JH de, 2005 Tuberculosis Bovina, Manual de Ganadería Doble Propósito, Laboratorio de Tuberculosis, Instituto de Biomedicina. Caracas, Venezuela, consultado 30 de Agosto de 2009, disponible en www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual.../seccion5.pdf
37. Leyes, Decretos y Resoluciones consultadas:
- 1) Ley 9 de 1979, Congreso de la República de Colombia, 1979, Colombia, 82 p www.minproteccionsocial.gov.co/.../newsdetail.asp?...
 - 2) Decreto 2278 de 1982, Ministerio de Salud, Colombia, 47 p
 - 3) Decreto 1500 de 2007, Ministerio de la protección social, Colombia, 60 p
 - 4) Resolución 2905 de 2007, Ministerio de la protección social, Colombia, 64 p
 - 5) Resolución ICA 1315 de 2004, Colombia, 8 p
 - 6) CONPES 3375, 2005, (Consejo Nacional de Política Económica y Social). Política Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad de Alimentos para el Sistema de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias. No 3375. Bogotá, D.C., Colombia: DNP, 39p
 - 7) CONPES 3376, 2005, (Consejo Nacional de Política Económica y Social). Política Sanitaria y de Inocuidad para las cadenas de la carne bovina y de la leche. Bogotá, D.C., Colombia: DNP, 38p.
 - 8) Decreto 616 *DE 2006 del 28 de febrero, Ministerio de la protección Social, Colombia, 32p*
 - 9) Decreto 2838 de 2006 *Leche /Agosto 24), Colombia, 4p*

- 10) Decreto 2964 del 12 de agosto de 2008, Colombia, 3p
- 11) Resolución No. 2008032689 del 14 de Noviembre de 2008 Por la cual se establecen los requisitos para la presentación y los lineamientos para la aprobación de los planes de reconversión para comercializadores de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo y se adoptan los formatos oficiales. 3 p. Disponible en. Web [http:// www.invima.gov.co](http://www.invima.gov.co)
Bogotá – Colombia
- 12) FAO, OMS, 2008, Códex Alimentarius, Manual de Procedimiento, Comisión del Códex Alimentarius, Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, Decimoctava edición, 198 P.
<http://www.codexalimentarius.net>.

ARTICULO CIENTIFICO PARA PUBLICACION

DETERMINAR LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA METODOLOGÍA DE DIAGNÓSTICO PARA LA TUBERCULOSIS BOVINA MEDIANTE LA PRUEBA DE PCR EN HISOPADOS FARÍNGEOS

RESUMEN

La determinación de la Tuberculosis bovina mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa, prueba del PCR, utilizando los exudados nasales, es un componente del presente trabajo.

La prueba del PCR tiene la propiedad de determinar el ADN del Mycoplasma específico en un término rápido en relación con el tiempo que tarda la prueba de tuberculina en obtener resultados.

Los métodos moleculares que permiten detectar secuencias de ADN, en este caso específicas de *M. bovis*, puede ser una forma más rápida y sensible para el diagnóstico. La prueba de PCR aplicada para el diagnóstico de *M. bovis*, exhibe una sensibilidad entre el 65% y el 99% y una especificidad del 99%. Sin embargo, el éxito de las metodologías que se aplican para la búsqueda de ADN depende de la secuencia blanco que se elija.

En el presente trabajo se integra toda la normatividad actual en el tema de la presencia, control y prevención de la Tuberculosis, su incidencia en los seres humanos y las repercusiones que se están dando en las zonas ganaderas del país y del departamento de Antioquia (Colombia) en particular.

PALABRAS CLAVES: Polimerasa, Mycoplasma, Tuberculosis, Tuberculina, Normatividad.

ABSTRACT

DETERMINING THE SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF DIAGNOSTIC METHODS FOR BOVINE TUBERCULOSIS TESTING BY PCR THROAT SWABS

The determination of bovine TB through Chain Reaction Polymerase, PCR test, using nasal swabs is a component of this work. The PCR test has the property to determine the specific Mycoplasma DNA in a quick word regarding the time it takes the tuberculin test results. Molecular methods to detect DNA sequences, in this specific case of *M. bovis* be a more rapid and sensitive for diagnosis. The applied

PCR for the diagnosis of *M. bovis*, exhibits a sensitivity between 65% and 99% and a specificity of 99%. However, the success of the methodologies applied for the search of DNA depends on the chosen target sequence.

In the present work integrates all the current regulations on the issue of the presence, control and prevention of TB, its impact on humans and the impacts that are occurring in pastoral areas of the country and the department of Antioquia (Colombia) in particular.

KEY WORDS: Polymerase, Mycoplasma, Tuberculosis, Tuberculin, Standardization

INTRODUCCION

Hace ya cerca de 130 años que fue descubierto el bacilo de la Tuberculosis, paso vital en la prevención y el control de esta enfermedad. A los 100 años la Organización Mundial de la Salud patrocina el Día Mundial de la Tuberculosis para conmemorar el descubrimiento del Señor Koch, para que se tome conciencia acerca de esta enfermedad, una de las principales amenazas de la salud pública, la que es responsable de casi dos millones de defunciones al año.

El consumo de leche cruda proveniente de ganaderías extensivas, cultura de nuestros campesinos es difícil de desarraigar, es allí en donde se tiene la mayor probabilidad de la alta incidencia de la presentación de esta enfermedad zoonótica.

Controlar la Tuberculosis es una de las metas de desarrollo del Milenio. Compromiso asumido por todos los países. En nuestro país (Colombia), se han ido multiplicando los casos de Tuberculosis en ganado bovino y bufalino y el control al consumo de leche cruda en poblaciones rurales ha sido mínima, por tanto, se ha llevado a cabo este documento para presentar alternativas de utilización de pruebas confirmatorias y decisorias en la aplicación de la normativa exigida para el control de la problemática establecida por este bacilo para la comunidad demandante de productos pecuarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se han diagnosticado 9 lotes de animales positivos a Tuberculosis en diferentes regiones del departamento de Antioquia (Ver Cuadro 16), en una población evaluada de 3156 animales se hallan 176 positivos (5.57%), de los cuales se han

sacrificado 133 (75.57%) entre bovinos y bufalinos. Colombia ha realizado en el pasado control de esta enfermedad en el ganado mediante el fusil sanitario inicialmente en el municipio de San Miguel de Sema en el departamento de Boyacá en el año de 1976.

IncurSIONa el país mediante la resolución 001513 de 2004 el Instituto Colombiano Agropecuario ICA, en la presentación de predios libres de Tuberculosis, diagnosticando animales con la aplicación de la prueba de la Tuberculina Caudal realizada por Médicos Veterinarios avalados por este Instituto. Arroja resultados positivos con la declaratoria del Departamento del Quindío de zona libre de Tuberculosis en el país, región que alberga alrededor de 100 mil bovinos.

Cuadro 16. Relación de eventos presentados de Tuberculosis en el Dpto. de Antioquia en ganado bovino y bufalino. ICA Medellín 2010

Pre-dio	Even-to	Origen	Total anima-les	Positivos Tuberculi-na	Planta de sacrificio	Fecha del diagnósti-co	Fecha sacrificio
1	1	P. Nare	427	32	Sogamoso	2007	2007
1	2	P. Nare	300	29	Central Ganad	2008	2008
1	3	P. Nare	951	22	Rionegro	26 sept 08	14 dic 09
2	4	Tarazá Amparo bajo	18	9	Rionegro	30 oct 08	14 dic 09
3	5	Yondó-los caños	5	3	pendientes	9 abril 08	
4	6	Yondó Cabañas	527	18	Frigocolanta		2008
5	7	Cáceres la Siberia	245	7	Frigocaucasia	Octubre 08	Octubre 08
6	8	La Unión Buena vista	160	3	Frigocolanta	15 may 09	2009
7	9	La Unión La Playa	97	3	Frigocolanta		2008
7	10	La Unión la playa Buena vista	186	16	Pendientes		
8	11	La Ceja Macumba s.a	45	1	Enterrado	24 oct 08	2008
9	12	Santa Rosa O la fortuna	109	9	Frigocolanta		2008
9	13	Santa Rosa O la fortuna	86	26	pendientes		
9	13	Totales	3156	178	45		133

Al Gobierno Nacional le corresponde adoptar medidas para proteger la sanidad agropecuaria con el fin de evitar pérdidas económicas, perjuicios a la salud humana y restricción en la comercialización de animales o sus productos.

Con el diagnóstico efectuado mediante la prueba de la tuberculina en el predio La India del municipio de Puerto Nare desde el mes de Septiembre del año 2008, y el sacrificio de los últimos reactores positivos en el mes de Diciembre del año 2009, queda la incertidumbre de este tipo de medidas, por cuanto el contagio directo con el resto de búfalos presentes en el predio fue constante además de la presencia en la misma región de humanos positivos a Tuberculosis desde el año de 1992.

El país cuenta con normatividad clara desde el origen de la Ley 09 de 1979, el control establecido en las plantas de beneficio es puntual y el destino de los productos de los animales diagnosticados positivos se orienta hacia lo que determinan los decretos respectivos en vigencia hasta la fecha. Dicha normativa en el artículo 375 de la ley en mención dice textualmente: “Para consumo humano, la leche deberá ser obtenida higiénicamente; ésta y sus derivados deberán proceder de animales sanos y libres de zoonosis”.

En el año de 2008 se redacta el decreto 3411 y la resolución 2008032689 del Ministerio de la Protección Social señalando el futuro cercano de la comercialización de leches crudas y leches enfriadas en los municipios y áreas rurales de una población de habitantes definida, hasta tanto el proceso de la reconversión sea estructurada. Este documento flexibiliza la norma y fija como libre la producción, comercialización y distribución de la leche cruda en el territorio colombiano, con términos en tiempo definidos para poblaciones según su número de habitantes.

Colombia como país ganadero con más de 25 millones de cabezas de ganado, país libre de fiebre Aftosa, en proceso de certificación para Brucelosis y con intenciones de figurar en la lista de países libres de Tuberculosis, se enfrenta al flagelo de la zoonosis.

Dispone de todas las herramientas a su alcance como son una normatividad clara desde los orígenes de la Ley 09 de 1979 a la actualidad, en donde se dan los factores para erradicar la enfermedad, pero se tropieza con elementos de decisión administrativa para ejecutarlos, tanto en el sacrificio de los animales positivos como en el de la distribución y consumo de la leche cruda y leche crudas enfriada.

Se sacrificaron 29 animales diagnosticados positivos por medio de la prueba de la tuberculina caudal, con verificación de la tuberculina con la prueba doble comparativa. A estos animales se les toma muestra de exudados nasales ante

mortem y en el momento del sacrificio. Estas muestras se conservan en solución salina al 0.9% y son llevadas al laboratorio de la institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia para evaluación de PCR, cultivo y baciloscopia, y muestras post mortem para el laboratorio del ICA, para evaluación de PCR en tejidos y cultivo microbiológico.

RESULTADOS

Los resultados son negativos para la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) ocasionado por la contaminación efectuada a la muestra desde el momento de la toma. La confirmación de la positividad se da con la tinción de Ziehl Neelsen al identificar BAAR en las muestras institucionales del ICA, e identificar en el laboratorio universitario 13 muestras positivas en cultivo microbiológico y 15 PCR en tejidos de nódulos linfáticos afectados.

CONCLUSIONES

- No es de descartar por la falla en este proceso de toma de muestras la confirmación de la Tuberculosis por la prueba de la Reacción en cadena de la Polimerasa, hay que continuar con este proceso y delimitar claramente la metodología a aplicar para una confirmación de la aplicabilidad de la misma.
- Recomendar a la autoridad gubernamental la eliminación inmediata de animales reactivos positivos para minimizar los riesgos que se pueden presentar al continuar estos animales dispersando el bacilo en la zona de influencia y el riesgo de que sus productos sean consumidos por la población circundante.

10. APÉNDICES: GLOSARIO, ESCANEOS DE RESULTADOS DE TUBERCULINAS, CHARTER

GLOSARIO

Agente antimicrobiano: Designa una sustancia natural, semisintética o sintética, que da muestras de actividad antimicrobiana (mata o inhibe el desarrollo de microorganismos). Se excluyen de esta definición los antihelmínticos y las sustancias clasificadas en la categoría de los desinfectantes o los antisépticos.

Análisis del riesgo: Designa el proceso que comprende la identificación del peligro, la evaluación del riesgo, la gestión del riesgo y la información sobre el riesgo.

Animal: Designa cualquier mamífero, ave o las abejas. Se designa con el término de animal a todos aquellos seres vivos que sienten y se mueven por su propio impulso, pero que se diferencian de los seres humanos lisa y llanamente por la falta de razón

Animal infectado: Animal en que se ha aislado *M. bovis* de tejidos o fluidos.

Animales negativos: Bovino que no evidencia respuesta a pruebas de tuberculina o que son clasificados como tales por pruebas complementarias de laboratorio, exámenes de canales, o exámenes histopatológicos y cultivos de tejidos.

Animal reaccionante: Bovino que evidencia respuesta positivas a las pruebas oficiales de tuberculosis según los criterios de interpretación oficiales. o cualquier bovino sospechoso clasificado como reactor.

Animal Sospechoso: Bovino que evidencia respuesta positivas a nivel de inspección de matadero o necropsias.

Animal de reproducción o de cría: Designa cualquier animal que esté en condiciones fisiológicas aptas para la reproducción, domesticado o en cautiverio que no está destinado a ser sacrificado en breve plazo.

Animal para sacrificio: Designa cualquier animal destinado a ser sacrificado en breve plazo, bajo control de la Autoridad Veterinaria competente.

Aturdimiento: Designa todo procedimiento mecánico, eléctrico, químico o de otra índole que provoque la pérdida inmediata de conocimiento; cuando se aplique antes del sacrificio, la pérdida de conocimiento se prolongará hasta que el sacrificio cause la muerte; cuando no se proceda al sacrificio, el procedimiento permitirá que el animal recobre el conocimiento.

Autoridad Competente: Designa la Autoridad Veterinaria o cualquier otra Autoridad de un Miembro de la OIE que tiene la responsabilidad y la capacidad de aplicar o de supervisar la aplicación de las medidas de protección de la salud y el bienestar de los animales, los procedimientos internacionales de certificación veterinaria y las demás normas y recomendaciones del Código Terrestre en todo el territorio del país.

Autoridad Veterinaria: Designa la Autoridad de un Miembro de la OIE que incluye a los veterinarios y demás profesionales y para profesionales y que tiene la responsabilidad y la capacidad de aplicar o de supervisar la aplicación de las medidas de protección de la salud y el bienestar de los animales, los procedimientos internacionales de certificación veterinaria y las demás normas y recomendaciones del Código Terrestre en todo el territorio del país.

Autorizado: Significa autorizado, acreditado o registrado oficialmente por la Autoridad Veterinaria.

Bienestar animal: Designa el modo en que un animal afronta las condiciones de su entorno. Un animal está en buenas condiciones de bienestar si (según indican pruebas científicas) está sano, cómodo, bien alimentado, en seguridad, puede expresar formas innatas de comportamiento y si no padece sensaciones desagradables de dolor, miedo o desasosiego. Las buenas condiciones de bienestar de los animales exigen que se prevengan sus enfermedades y se les administren tratamientos veterinarios; que se les proteja, maneje y alimente correctamente y que se les manipule y sacrifique de manera compasiva. El concepto de bienestar animal se refiere al estado del animal. La forma de tratar a un animal se designa con otros términos como cuidado de los animales, cría de animales o trato compasivo.

Brote: Designa la presencia de uno o más casos en una unidad epidemiológica.

Calidad: Su definición por la norma internacional ISO 8402 es la siguiente: «conjunto de características de una entidad que le confieren la aptitud para satisfacer las necesidades establecidas y las implícitas».

Carga/descarga: Carga designa el procedimiento por el que se embarca a los animales en un vehículo, un buque o un contenedor para transportarlos mientras descarga designa el procedimiento por el que se desembarca a los animales de un vehículo, un buque o un contenedor.

Carnes: Designa todas las partes comestibles de un animal.

Carnes frescas: Designa las carnes que no han sido sometidas a ningún tratamiento que modifique de modo irreversible sus características organolépticas

y físico-químicas. Esto incluye las carnes refrigeradas o congeladas, las carnes picadas y las carnes preparadas por procedimientos mecánicos.

Caso: Designa un animal infectado por un agente patógeno, con o sin signos clínicos manifiestos.

Centro de inseminación artificial: Designa una instalación autorizada por la Autoridad Veterinaria y que reúne las condiciones estipuladas en el Código Terrestre para la toma, el tratamiento y/o el almacenamiento de semen.

Centro de recolección: Designa las instalaciones autorizadas por la Autoridad Veterinaria para la recolección de óvulos/embriones y utilizadas exclusivamente para animales donantes que reúnen las condiciones establecidas en el Código Terrestre.

Certificado veterinario internacional: Designa un certificado expedido conforme a lo dispuesto en el Capítulo 5.2., en el cual se describen los requisitos de sanidad animal y/o de salud pública que satisfacen las mercancías exportadas.

Código Terrestre: Designa el Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE.

Comercialización de leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano directo: Es la venta, distribución u otra forma de transferencia, a título oneroso o gratuito de leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano directo. El proceso de comercialización incluye las actividades de transporte y distribución de la misma en forma móvil o estacionaria.

Comercio internacional: Designa la importación, la exportación y el tránsito de mercancías.

Compartimento: Designa una Subpoblación animal mantenida en una o varias explotaciones bajo un mismo sistema de gestión de la bioseguridad y con un estatus sanitario particular respecto de una enfermedad determinada o enfermedades determinadas contra la o las que se han aplicado las medidas de vigilancia, control y bioseguridad requeridas para el comercio internacional.

Compartimento libre: Designa un compartimento en el que la ausencia del agente patógeno de origen animal que provoca la enfermedad considerada ha sido demostrada por el respeto de todas las condiciones prescritas por el Código Terrestre para el reconocimiento de compartimentos libres de enfermedad.

Contenedor: Designa un receptáculo no motorizado o estructura rígida destinada a contener animales durante un viaje para el que se utiliza uno o varios medios de transporte.

Control veterinario oficial: Designa las operaciones por las que los Servicios Veterinarios, sabiendo dónde residen los animales y tras tomar las medidas pertinentes para identificar a su propietario o a la persona encargada de cuidarlos, pueden aplicar las medidas apropiadas de sanidad animal cuando es necesario. Esto no excluye otras responsabilidades de los Servicios Veterinarios, como, por ejemplo, la inocuidad de los alimentos.

Densidad de carga: Designa el número o el peso corporal de los animales por superficie de un vehículo, buque o contenedor.

Delección: Pérdida de material genético de un cromosoma que puede ir desde la pérdida de un solo nucleótido (delección puntual) hasta la pérdida de grandes

regiones visibles citogenéticamente. Esta pérdida origina un desequilibrio, por lo que las deleciones están incluidas dentro de las reordenaciones estructurales desequilibradas. El portador de una deleción es monosómico respecto a la información génica del segmento correspondiente del homólogo normal. Una deleción puede producirse en el extremo de un cromosoma (deleción terminal) o a lo largo de uno de sus brazos (deleción intersticial).

Desinfección: Designa la aplicación, después de una limpieza completa, de procedimientos destinados a destruir los agentes infecciosos o parasitarios responsables de enfermedades animales, incluidas las zoonosis; se aplica a los locales, vehículos y objetos diversos que puedan haber sido directa o indirectamente contaminados.

Desinfestación: Designa la aplicación de procedimientos destinados a eliminar los artrópodos que pueden provocar enfermedades o ser vectores potenciales de agentes infecciosos responsables de enfermedades animales, incluidas las zoonosis.

Enfermedad: Designa la manifestación clínica y/o patológica de una infección.

Enfermedad de declaración obligatoria: Designa una enfermedad inscrita en una lista por la Autoridad Veterinaria y cuya presencia debe ser señalada a esta última en cuanto se detecta o se sospecha, de conformidad con la reglamentación nacional.

Enfermedad emergente: Designa una infección nueva consecutiva a la evolución o la modificación de un agente patógeno existente, una infección conocida que se extiende a una zona geográfica o a una población de la que antes estaba ausente,

un agente patógeno no identificado anteriormente o una enfermedad diagnosticada por primera vez y que tiene repercusiones importantes en la salud de los animales o de las personas.

Enfermedades de la Lista de la OIE: Designa la lista de enfermedades transmisibles aprobada por el Comité Internacional de la OIE y presentada en el Capítulo 1.2. del Código Terrestre.

Equivalencia de medidas sanitarias: Designa la situación en la que la(s) medida(s) sanitaria(s) propuesta(s) por el país exportador para sustituir las del país importador, ofrece(n) el mismo nivel de protección.

Erradicación: Designa la eliminación de un agente patógeno en un país o una zona.

Espacio disponible: Designa la superficie y la altura que se adjudica por animal o por peso corporal de los animales.

Estabulación: Designa las jaulas o compartimentos, corrales y demás recintos de espera utilizados para alojar a los animales y dispensarles los cuidados necesarios (agua, forraje, descanso, etc.) antes de desplazarlos o utilizarlos para determinados fines, incluido el sacrificio.

Estación de cuarentena: Designa un local bajo control de la Autoridad Veterinaria, en el que se mantiene a los animales aislados, sin ningún contacto directo ni indirecto con otros animales, para evitar la transmisión de determinados agentes patógenos mientras los animales son sometidos a observación durante un período de tiempo determinado y, si es preciso, a pruebas de diagnóstico o a tratamientos.

Estatus zoonosanitario: Designa el estatus de un país o de una zona respecto de una enfermedad, según los criterios enunciados en el capítulo del Código Terrestre correspondiente a esa enfermedad.

Evaluación cualitativa del riesgo: Designa la evaluación en la que los resultados sobre la probabilidad del incidente y la magnitud de sus consecuencias se expresan en términos cualitativos como «alta», «mediana», «baja» o «insignificante».

Evaluación cuantitativa del riesgo: Designa la evaluación en la que los resultados se expresan en cifras.

Evaluación del riesgo: Designa el proceso que consiste en estimar la probabilidad y las consecuencias biológicas y económicas de la entrada, radicación y propagación de un peligro en el territorio de un país importador.

Explotación: Designa un local o lugar de mantenimiento de animales.

Diagnóstico de Tuberculosis bovina: Procedimiento mediante el cual con el uso de pruebas se determina el estatus sanitario del rebaño.

Gestión del riesgo: Designa el proceso de identificación, selección y aplicación de las medidas que permiten reducir el nivel de riesgo.

HATO: Sitio destinado principalmente a la explotación y ordeño de animales destinados a la producción lechera.

Identificación del peligro: Designa el proceso de identificación de los agentes patógenos que puede contener la mercancía que se prevé importar.

Identificación de los animales: Designa las operaciones de identificación y registro de los animales, sea individualmente, con un identificador del animal en

particular, sea colectivamente, por la unidad epidemiológica o el grupo a que pertenecen, con un identificador del grupo en particular.

Incertidumbre: Designa la falta de un conocimiento preciso de los parámetros iniciales que hay que introducir al construir el modelo de la situación que se somete a evaluación y que se debe a un error de medición o al desconocimiento de las etapas indispensables y de los caminos que conducen del peligro al riesgo.

Incidencia: Designa el número de casos o brotes nuevos de una enfermedad que se producen en una población animal en riesgo, en una zona geográfica determinada y durante un intervalo de tiempo definido.

Infeción: Designa la penetración y el desarrollo o la multiplicación de un agente infeccioso en el cuerpo de una persona o de un animal.

Información sobre el riesgo: Designa la transmisión y el intercambio interactivos de información y opiniones a lo largo del proceso de análisis del riesgo acerca del riesgo en sí, los factores de riesgo y la percepción del riesgo entre las personas encargadas de evaluar el riesgo, las encargadas de la gestión del riesgo, las encargadas de informar sobre el riesgo, el público en general y las demás partes interesadas.

Laboratorio: Designa una institución debidamente equipada y dotada de personal técnico competente que trabaja bajo el control de un especialista en métodos de diagnóstico veterinario, el cual es responsable de la validez de los resultados. La Autoridad Veterinaria autoriza y supervisa la realización por estos laboratorios de las pruebas de diagnóstico requeridas para el comercio internacional.

La sensibilidad: Es la probabilidad de que una prueba identifique correctamente aquellos animales infectados y enfermos.

La especificidad: Es la probabilidad de que una prueba identifique correctamente aquellos animales no infectados o sanos.

Leche: Designa la secreción mamaria normal de los animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños y sin ninguna adición o remoción.

Leche cruda: Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de termización ni higienización.

Leche cruda enfriada: Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de termización ni de higienización y que se conserva a una temperatura de 4°C +/- 2°C para su comercialización.

Leche termizada: Producto obtenido al someter la leche cruda a un tratamiento térmico con el objeto de reducir el número de microorganismos presentes y permitir un almacenamiento más prolongado antes de someterla a elaboración ulterior. Las condiciones del tratamiento térmico son de mínimo 62°C durante 15 a 20 segundos, seguido de enfriamiento inmediato hasta temperatura de refrigeración.

La leche termizada debe reaccionar positivamente a la prueba de fosfatasa alcalina, siendo prohibida su comercialización para consumo humano directo.

Lugar de carga: Designa el lugar donde las mercancías son cargadas en el vehículo o entregadas a la agencia que las transportará a otro país.

Lugar de descanso: Designa un lugar en el que se interrumpe el viaje para dejar descansar, alimentar o abreviar a los animales; los animales pueden permanecer en el vehículo, el buque o el contenedor o ser descargados a tales efectos.

Manada: Designa varios animales de la misma especie que se crían juntos bajo control humano o un grupo de animales salvajes de instinto gregario. A efectos del presente Código Terrestre, se considera que una manada constituye una unidad epidemiológica.

Manual terrestre: Designa el Manual de Pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres de la OIE.

Matadero: Designa el establecimiento dotado de instalaciones para desplazar o estabular animales, utilizado para el sacrificio de animales cuyos productos se destinan al consumo y aprobado por los Servicios Veterinarios o por otra Autoridad Competente.

Matanza: Designa todo procedimiento que provoca la muerte de un animal.

Material patológico: Designa las muestras tomadas de animales vivos o muertos, que contienen o pueden contener agentes infecciosos o parasitarios y que se envían a un laboratorio.

Medida sanitaria: Designa una medida como las que se describen en diversos capítulos del Código Terrestre, destinada a proteger la salud o la vida de los animales o de las personas en el territorio de un Miembro de la OIE contra los riesgos asociados a la entrada, la radicación y/o la propagación de un peligro.

Mercado: Designa un lugar donde se concentra a animales o sus productos destinados al comercio o a la venta.

Mercancía: Designa los animales vivos, los productos de origen animal, el material genético de animales, los productos biológicos y el material patológico.

Muerte: Designa la pérdida irreversible de actividad cerebral demostrada por la pérdida de reflejos del tronco encefálico.

Nivel adecuado de protección sanitaria: Designa el nivel de protección considerado adecuado por el país que establece una medida sanitaria para proteger la vida o la salud de los animales y de las personas en su territorio.

Notificación: Designa el procedimiento por el que:

1. la Autoridad Veterinaria comunica a la Oficina Central,
2. la Oficina Central comunica a las Autoridades Veterinarias

Un brote de enfermedad o de infección, según lo dispuesto en el Capítulo 1.1. del Código Terrestre.

Oficina Central: Designa la Secretaría permanente de la Organización Mundial de Sanidad Animal, cuya sede está situada en:

12, rue de Prony, 75017 París, FRANCIA
Teléfono: 33-(0)1 44 15 18 8
Fax: 33-(0)1 42 67 09 87
Correo electrónico: oie@oie.int
WWW: <http://www.oie.int>

Operario cuidador de animales: Designa una persona que conoce el comportamiento y las necesidades de los animales y que, gracias a su experiencia, profesionalidad y buena disposición para atenderles logra manejarlos con eficacia y preservar su bienestar. La persona puede haber adquirido su competencia por medio de una formación oficial o por experiencia práctica.

Organismo veterinario estatutario: Designa una autoridad autónoma que establece las reglas relativas a las funciones de los veterinarios y para profesionales de veterinaria.

País de tránsito: Designa un país por el que pasan, o en el que hacen escala en un puesto fronterizo, las mercancías destinadas a un país importador.

País exportador: Designa un país desde el que se envían a otro país mercancías.

País importador: Designa el país de destino final de un envío de mercancías.

Para-profesional de Veterinaria: Designa, a los efectos del Código Terrestre, una persona que está habilitada por el organismo veterinario estatutario para realizar determinadas tareas que se le designan (las cuales dependen de la categoría de para-profesionales de veterinaria a la que pertenece), y que las ejecuta bajo la responsabilidad y supervisión de un veterinario. Las tareas que puede realizar cada categoría de para-profesionales de veterinaria deben ser definidas por el organismo veterinario estatutario en función de las calificaciones y la formación de las personas y según las necesidades.

Peligro: Designa la presencia de un agente biológico, químico o físico en un animal o en un producto de origen animal, o estado de un animal o de un producto de origen animal que puede provocar efectos adversos en la salud.

Período anterior al viaje: Designa el período durante el cual se procede a la identificación de los animales y, a menudo, a su concentración para cargarlos.

Período de incubación: Designa el período más largo entre la penetración del agente patógeno en el animal y la aparición de los primeros signos clínicos de la enfermedad.

Período de infecciosidad: Designa el período más largo durante el cual un animal infectado puede ser fuente de infección.

Período posterior al viaje: Designa el período comprendido entre la descarga y la recuperación de los efectos del viaje o el sacrificio (si se efectúa antes de que los animales se hayan recuperado).

Plan de bioseguridad: Designa un plan en el que se identifican las vías posibles de introducción y propagación de una enfermedad en una zona o un compartimento y se describen las medidas que se aplican o se aplicarán, siempre que proceda, para reducir los riesgos asociados a dicha enfermedad, de conformidad con las recomendaciones del Código Terrestre.

Plan de Reconversión: Es el plan de trabajo elaborado por los interesados en la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo, con el propósito de sustituir esta actividad económica que conlleve al cumplimiento de los requisitos establecidos en el Decreto 616 de 2006 o las normas que lo complementen, modifiquen, adicionen o sustituyan.

Población: Designa un grupo de unidades que comparten una característica definida.

Prevalencia: Designa el número total de casos o de brotes de una enfermedad en una población animal en situación de riesgo, en una zona geográfica determinada y en un momento determinado.

Productos cárnicos: Designa las carnes que han sido sometidas a un tratamiento que modifica de modo irreversible sus características organolépticas y fisicoquímicas.

Productos lácteos: Designa el producto obtenido mediante cualquier procesamiento de la leche.

Programa oficial de control: Designa un programa que ha sido aprobado, y gestionado o supervisado, por la Autoridad Veterinaria de un país con el fin de controlar un vector, un agente patógeno o una enfermedad mediante la aplicación de medidas específicas en todo el país o en una zona o un compartimento del mismo.

Pruebas oficiales de campo: Pruebas utilizadas el diagnostico de tuberculosis bovina utilizando la tuberculina.

Prueba de Tuberculina Pliegue Ano-Caudal (PAC): Prueba diagnóstica de campo que es utilizada con fines de clasificación de rebaños, saneamiento y certificación. Debe ser ejecutada por un MVA o MVO según la Norma Técnica.

Prueba de Tuberculina Cervical Comparada (PCC): Prueba diagnóstica usada solo para clasificación de rebaños. Puede ser ejecutada por un Médico Veterinario Auxiliar (MVA) o Médico Veterinario Oficial (MVO) de acuerdo a la Norma Técnica; sin embargo la interpretación de resultados será efectuada por un MVO.

Prueba Cervical Simple (PCS): Prueba diagnóstica que debe ser usada solamente en el saneamiento de rebaños infectados por *M. bovis*. Debe ser ejecutada por un MVA o MVO según la Norma Técnica.

Pruebas complementarias: Pruebas diagnósticas usadas para confirmación de la infección por el *Mycobacterium bovis*.

Puesto fronterizo: Designa los aeropuertos, puertos, estaciones ferroviarias o puestos de control de carreteras abiertos al comercio internacional de mercancías, en los cuales se pueden realizar inspecciones veterinarias de importaciones.

Rastreabilidad de los animales: Designa la posibilidad de seguir el rastro de un animal o de un grupo de animales durante todas las etapas de su vida.

Rebaño: Designa varios animales de la misma especie que se crían juntos bajo control humano o un grupo de animales salvajes de instinto gregario. A efectos del presente Código Terrestre, se considera que un rebaño constituye una unidad epidemiológica.

Registro: Designa el proceso que consiste en recopilar, consignar y conservar de forma segura datos relativos a los animales (identificación, estado de salud, desplazamientos, certificación, epidemiología, explotaciones, etc.) y en facilitar su consulta y utilización por la Autoridad Competente.

Riesgo: Designa la probabilidad de que se produzca un incidente perjudicial para la salud de las personas o la sanidad de los animales y la magnitud probable de sus consecuencias biológicas y económicas.

Riesgo aceptable: Designa el nivel de riesgo que un Miembro de la OIE juzga compatible con la protección de la salud pública y de la salud animal en su territorio.

Rutina de pruebas: Pruebas oficiales de campo conducidas como parte del Programa de control de tuberculosis

Sacrificio: Designa todo procedimiento que provoca la muerte de un animal por sangrado.

Sacrificio sanitario: Designa la operación efectuada bajo la autoridad de la Autoridad Veterinaria en cuanto se confirma una enfermedad y que consiste en sacrificar todos los animales del rebaño o enfermos y contaminados y, si es

preciso, cuantos, en otros rebaños, han estado expuestos al contagio por contacto directo o indirecto con el agente patógeno incriminado. Todos los animales susceptibles, vacunados o no, deben ser sacrificados y sus canales deben ser destruidas por incineración o enterramiento o destruidas por cualquier medio que impida la propagación de la infección por las canales o los productos de los animales sacrificados.

Estas medidas deben ir acompañadas de las medidas de limpieza y desinfección definidas en el Código Terrestre.

En las informaciones transmitidas a la OIE, deberá emplearse el término sacrificio sanitario parcial siempre que no se apliquen íntegramente las medidas zoonosanitarias arriba mencionadas y deben pormenorizarse las diferencias con relación a esas medidas.

Sacrificio sanitario parcial: Véase sacrificio sanitario.

Seguimiento: Designa las mediciones de rutina y el análisis intermitente de las mismas y observaciones para detectar cambios en el entorno o el estado de salud de una población.

Servicios Veterinarios: Designa las organizaciones, gubernamentales o no, que aplican las medidas de protección de la salud y el bienestar de los animales y las demás normas y recomendaciones del Código Terrestre en el territorio de un país. Los Servicios Veterinarios actúan bajo control y tutela de la Autoridad Veterinaria. Normalmente, las organizaciones del sector privado, los veterinarios o los paraprofesionales de veterinaria necesitan obtener la acreditación o aprobación de la Autoridad Veterinaria para ejercer estas funciones.

Sistema de detección precoz: Designa un sistema que permite detectar e identificar a tiempo la introducción o emergencia de enfermedades o infecciones en un país, una zona o un compartimento. El sistema de detección precoz debe estar bajo el control de los Servicios Veterinarios y reunir las siguientes características:

1. cobertura representativa de poblaciones animales específicas por los servicios de terreno;
2. capacidad para efectuar investigaciones sobre las enfermedades y notificarlas de manera eficaz;
3. acceso a laboratorios capaces de diagnosticar y diferenciar las enfermedades consideradas;
4. programa de formación de veterinarios, para-profesionales de veterinaria y demás personas encargadas del cuidado de animales para la detección y notificación de incidentes zoonosológicos;
5. obligación legal de los veterinarios del sector privado de informar a la Autoridad Veterinaria;
6. cadena de mando a nivel nacional.

Sistema de identificación de los animales: Designa una serie de componentes, como la identificación de las explotaciones/los propietarios, la(s) persona(s) responsable(s) del animal o los animales, los desplazamientos de animales y otros registros, que integran y se articulan con la identificación de los animales.

Subpoblación: Designa una fracción particular de una población, identificable por sus características zoonosológicas específicas.

Sujeción: Designa la aplicación a un animal de todo procedimiento concebido para limitar sus movimientos.

Transparencia: Designa la documentación detallada que contiene todos los datos, información, hipótesis, métodos, resultados, discusiones y conclusiones utilizados en el análisis del riesgo. Las conclusiones deben basarse en una discusión objetiva y lógica, y el documento debe contener todas las referencias necesarias.

Transporte: Designa los procedimientos asociados al traslado de animales con fines comerciales de un lugar a otro utilizando cualquier medio de transporte.

Transportista. Designa la persona autorizada por la Autoridad Competente para transportar animales.

Tuberculina: Extracto o derivado proteico purificado obtenido del crecimiento de una micobacteria en un medio de cultivo líquido (PPD).

Unidad: Designa un elemento con identidad propia que se utiliza para describir, por ejemplo, los miembros de una población o los elementos seleccionados en un muestreo; son también ejemplos de unidades los animales considerados individualmente, los rebaños, las manadas y las colmenares.

Unidad epidemiológica: Designa un grupo de animales con determinada relación epidemiológica y aproximadamente la misma probabilidad de exposición a un agente patógeno, sea porque comparten el mismo espacio (un corral, por ejemplo), sea porque pertenecen a la misma explotación. Se trata generalmente de un rebaño o de una manada, aunque también pueden constituir una unidad epidemiológica grupos de animales, como aquellos que pertenecen a los habitantes de un pueblo o aquellos que comparten instalaciones zootécnicas. La relación epidemiológica puede variar de una enfermedad a otra, e incluso de una cepa de agente patógeno a otra.

Vacunación: Designa la inmunización efectiva de animales susceptibles mediante la administración, según las instrucciones del fabricante y, si procede, conforme a lo estipulado por el Manual Terrestre, de una vacuna que contiene antígenos apropiados contra la enfermedad que se desea controlar.

Variabilidad: Designa la complejidad del mundo real en función de la cual los parámetros iniciales son distintos en cada caso debido a la diversidad natural de una población determinada.

Vector: Designa un insecto o portador vivo que transporta un agente infeccioso de un individuo infectado a un individuo susceptible, a sus alimentos o al entorno inmediato. El organismo puede pasar por un ciclo de desarrollo dentro del vector o no.

Vehículo/buque: Designa todo medio de transporte (tren, camión, avión o buque) que se utilice para el traslado de uno o varios animales.

Veterinario: Designa una persona registrada o autorizada por el organismo veterinario estatutario de un país para ejercer la medicina o la ciencia veterinaria en dicho país.

Veterinario Oficial: Designa un veterinario facultado por la Autoridad Veterinaria de su país para realizar determinadas tareas oficiales que se le designan y que están relacionadas con la sanidad animal y/o la salud pública y las inspecciones de mercancías y, si es preciso, para certificar según lo dispuesto en el Capítulo 5.1. y el Capítulo 5.2. del Código Terrestre.

Viajar: Designa el desplazamiento de un vehículo, un buque o un contenedor en que se trasladan animales de un lugar a otro.

Viaje: Un viaje de transporte de animales comienza cuando se carga el primer animal en un vehículo, un buque o un contenedor y termina cuando se descarga el último animal, e incluye los períodos de descanso o de espera. Los mismos animales no emprenden otro viaje hasta que no se haya dejado pasar un período de tiempo conveniente para que descansen y se recuperen, y para suministrarles los alimentos y el agua necesarios.

Vigilancia: Designa las operaciones sistemáticas y continuas de recolección, comparación y análisis de datos zoonosológicos y la difusión de información en tiempo oportuno a quienes la necesiten para tomar medidas.

Vigilancia específica: Designa una vigilancia concentrada en una enfermedad o una infección determinada.

Zona de contención: Designa una zona definida en torno a explotaciones infectadas o supuestamente infectadas, cuya extensión se ha determinado teniendo en cuenta los factores epidemiológicos y los resultados de investigaciones y en la que se aplican medidas de control para impedir la propagación de la infección.

Zona de protección: Designa una zona establecida para proteger el estatus sanitario de los animales de un país o una zona libre de una enfermedad frente a los animales de un país o una zona con un estatus sanitario distinto mediante la aplicación de medidas basadas en la epidemiología de la enfermedad considerada y destinadas a impedir la propagación del agente patógeno que la provoca a un país o una zona libre de ella. Dichas medidas pueden incluir la vacunación, el control del movimiento de animales y la intensificación de la vigilancia pero no exclusivamente.

Zona infectada: Designa una zona en la que la ausencia de la enfermedad considerada no ha sido demostrada por el respeto de las condiciones prescritas por el Código Terrestre.

Zona libre: Designa una zona en la que la ausencia de la enfermedad considerada ha sido demostrada por el respeto de las condiciones prescritas por el Código Terrestre para el reconocimiento de zonas libres de la misma. En el interior y en los límites de la zona libre, los animales y productos de origen animal, así como el transporte de los mismos, son objeto de un control veterinario oficial.

Zona/región: Designa una parte de un país claramente delimitada, que contiene una Subpoblación animal con un estatus sanitario particular respecto de una enfermedad determinada contra la cual se han aplicado las medidas de vigilancia, control y bioseguridad requeridas para el comercio internacional.

Zonas especiales para la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo: Son las zonas geográficas autorizadas excepcionalmente por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA, y el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, para la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo.

Zoonosis: Designa cualquier enfermedad o infección que puede ser transmitida naturalmente por los animales a las personas.

Cuadro 17. Relación de resultados de laboratorio.

167

Búfalos sacrificados el 14 de Diciembre de 2009 Rionegro INCAROSA S.A.

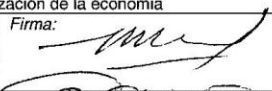
Nº ORDEN	ID. FINCA	ID. ICA	SEXO / EDAD	MEDIA A O. H (mm)	MEDIA A 72 H (mm)	DIFERENCIA (mm)	RESULTADO Tuberculina caudal	Resultado Ziehl Neelsen de la muestra	Resultado Ziehl Neelsen del cultivo	Baciloscopia de exudado	Cultivo de exudado	Resultados de PCR con primers ET1, ET2 y ET3	Bcilos copia en tejido	Cultivo en tejido	PCR en tejido
1	393	6	H 12A	9.0	13.0	4.0	POSITIVA	Murió	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
2	138	14	H 16 A	12.0	19.0	7.0	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat
3	3092	18	H 9 A	8.5	12.0	3.5	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat
4	414	19	H 10 A	10.0	15.0	5.0	POSITIVA	POSITIVA	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	posit	Posit	Posit
5	1233	21	H 10 A	10.0	15.0	5.0	POSITIVA	POSITIVA	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Posit	Posit	Posit
6	140-3	22	H 7 A	10.0	17.0	7.0	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat
7	511-6	24	M 18M	8.0	12.0	4.0	POSITIVO	Murió	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	xxx	xxx	xxx
8	595-7	25	M 17 M	7.0	10.0	3.0	POSITIVO	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat
9	574-6	26	M- 18 M	10.0	14.0	4.0	POSITIVO	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat
10	476	23	H 14 A	8.0	14.5	6.5	POSITIVA	POSITIVA	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Posit	Posit
11	587-2	27	H-	10.0	13.5	3.5	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat

			12 A													
12	353	28	H-10 A	6.0	10.0	4.0	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat	
13	587	29	H-11M	6.0	14.0	8.0	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	posit	
14	107-7	31	H-10 M	5.0	16.0	11.0	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	posit	posit	Negat	
15	449-7	32	H-11M	5.0	20.0	15.0	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	posit	posit	posit	
16	N.N	33	H-28 M	10.9	13.2	2.3	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat	
17	1022-8	34	M-7 M	7.5	10.0	2.5	POSITIVO	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	posit	
18	437-7	40	M-10 M	8.0	14.0	6.0	POSITIVO	negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat	
19	556-8	41	M-10 M	7.0	12.0	5.0	POSITIVO	POSITIVA	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	posit	posit	
20	429-7	37	H-10 M	7.0	11.0	4.0	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat	
21	9178	35	H-10M	6.0	9.0	3.0	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat	
22	645-7	36	H-10 M	7.5	11.0	3.5	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat	
23	096-5		H-32 m	12.7	18.2	5.5	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	posit	
24	097-5		H-37 m	10.7	18.9	8.2	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	posit	posit	
25	071-5		H-45m	11.8	18.6	6.5	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	Negat	Negat	
26	025-5		H-36m	10.7	19.3	8.6	POSITIVA	POSITIVA	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	posit	posit	

27	055-5		H 33m	10.3	25.0	14.7	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	posit	posit
28	094-5		h- 37m	10.5	18.1	7.6	POSITIVA	POSITIVA	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	posit	posit
29	301		H 57 m	11.5	25.1	13.6	POSITIVA	POSITIVA	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	posit	posit
30	087-5		H 35 m	14.1	39.6	25.5	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	posit	posit
31	021-5		H 37 m	6.3	20.3	14.0	POSITIVA	Negativo	En proceso	Negativo	Negativo	Negativo	Negat	posit	posit

Los SUBRAYADOS son los 9 animales provenientes del municipio de Tarazá (Ant).

CHARTER (ACTA) DEL PROYECTO

Información principal y autorización de proyecto	
Fecha: Agosto 19 de 2009	Nombre de Proyecto: Determinar la sensibilidad y especificidad de la metodología de diagnóstico para tuberculosis bovina por la prueba de PCR de hisopados faríngeos.
Áreas de conocimiento: Inocuidad de alimentos, salud pública	Área de aplicación: Producción de la industria cárnica en Colombia
Fecha de inicio del proyecto: Abril de 2.009	Fecha tentativa de finalización del proyecto: Noviembre de 2009
Objetivos del proyecto: Determinar la sensibilidad de la metodología de diagnóstico actual de la tuberculosis bovina. Introducir un nuevo elemento de diagnóstico para definir el destino de animales positivos a tuberculosis bovina.	
Descripción del producto: Desde 1970 cuando apareció el primer caso de TUBERCULOSIS bovina en Colombia, se inicia la era de la dispersión de este flagelo por todo el país. Se inició el control con fusil sanitario en unas regiones, pero el problema se diseminó aun en condiciones insospechadas. Solo en el año de 2008 en nuestro departamento de Antioquia se realizaron 8 sacrificios controlados de lotes positivos a la tuberculina en plantas de sacrificio autorizadas por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) con el riesgo consabido en lo concerniente al tráfico de animales de un sitio a otro y en plantas de beneficio de animales, plantas que sacrifican un número significativo de animales para una gran población de habitantes y en donde laboran un número también significativo de operarios y de inspectores oficiales. Mi propuesta es la de aportar elementos para entrar a modificar el actual protocolo que tiene un apoyo reglamentario de mas de 25 años y contribuir en la elaboración de un protocolo con el apoyo científico en donde se pueda definir que los animales no salgan de predios originarios y sean procesados en el mismo sitio bajo condiciones especiales por la gran posibilidad que tienen de diseminarse en grandes extensiones el bacilo causante de esta enfermedad.	
Necesidad del proyecto: <i>Disminuir la carga biológica nociva en productos alimenticios de alto riesgo</i>	
Justificación de impacto: Enfermedad zoonótica de amplia diseminación y riesgo en la población tanto humana como bovina Reducir el movimiento de animales de abasto de predios diagnosticados positivos a zonas libres. Reducir el movimiento de animales de abasto con diagnósticos positivos a tuberculosis a plantas de beneficio de animales. Impedir la diseminación del bacilo productor de la TBC de animales de abasto mediante el sacrificio en el sitio origen de los mismos. Impedir la diseminación del bacilo productor de la TBC de animales de abasto en empleados y productos que se benefician en plantas de sacrificio	
Restricciones: Para la elaboración del presente trabajo no se disponen de restricciones, salvo que sean económicas. Hay decretos que tienen artículos que autorizan el tránsito de los animales positivos y decretos y resoluciones que avalan el consumo de los productos de animales diagnosticados positivos.	
Entregables:	
Identificación de grupos de interés (stakeholders): Cliente(s) directo(s): La población humana colombiana Clientes indirectos: Población bovina colombiana y mundial por la globalización de la economía	
Aprobado por: Jorge Anibal Bolívar Mejía Médico Veterinario Zootecnista, Magister en salud Pública	Firma: 
Autor: José Darío Giraldo Arango, Med. Veterinario	