



UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y AGRONOMÍA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

**Prevalencia de Tuberculosis Bovina, en
parcela N°31 sector el Ajial ubicado en la
comuna de Curacaví.**

Trabajo de título para ser
presentado como requisito para
optar al título de Médico Veterinario

Profesores responsables

Profesor guía: Roberto Muñoz Álvarez

Profesor corrector: Vicente Aljaro Merino

MARÍA ABARCA VALDERRAMA

SANTIAGO- CHILE

2016

Agradecimientos

A mis padres, Gloria Valderrama y Carlos Abarca lo cual les agradezco a ellos lo que soy ahora, su apoyo incondicional siempre, y además me entregaron las herramientas para terminar la carrera.

A mi única hermana Carla Abarca que sin su gran ayuda ésta meta no sería posible.

A mis dos bendiciones que son mi hijo Dante Arcken y mi sobrino Francisco Blanco que alegran mis días.

A mi pareja y compañero de vida Esteban Alarcón que me acompaña y apoya siempre y le da un mejor enfoque a éste nuevo camino y etapa.

Agradezco a mi profesor guía Roberto Muñoz y profesor corrector Vicente Aljaro que compartieron más que sus conocimientos en éstos últimos años, me han inspirado a superarme cada día y apoyado en este proceso.

Resumen

La Tuberculosis Bovina es una de las enfermedades infectocontagiosa más importantes que afecta al ganado bovino, la cual provoca un impacto económico debido a que disminuye la producción de leche y también de carne por los decomisos en matadero. Además es un problema de salud pública debido a su potencial zoonótico, por la inhalación e ingesta de leche sin pasteurizar.

Este trabajo tiene como objetivo determinar la prevalencia de Tuberculosis Bovina en la parcela N°31 sector el Ajial en la comuna de Curacaví, Región Metropolitana. Y este predio perteneciente al programa de desarrollo local PRODESAL.

Para realizar esta investigación, sé visito un predio con animales mayores de 6 meses, los cuales fueron sometidos a la prueba ano caudal. Para determinar esta enfermedad.

Se determinó que la prevalencia de tuberculosis bovina en el predio fue de un 6,06%, siendo reaccionantes 2 animales de un total de 33 animales.

Índice

| | |
|--|----|
| Introducción..... | 1 |
| Revisión bibliográfica..... | 2 |
| Descripción de la bacteria..... | 2 |
| Transmisión de la enfermedad..... | 5 |
| Patogénesis..... | 7 |
| Manifestaciones clínicas..... | 10 |
| Lesiones post mortem..... | 13 |
| Diagnóstico de la enfermedad..... | 16 |
| Tratamiento..... | 23 |
| Control y erradicación..... | 24 |
| Situación en Chile..... | 28 |
| Situación mundial..... | 30 |
| Salud pública..... | 33 |
| Estudios de CALS sobre prevalencia de TB 2008..... | 35 |
| Hipótesis..... | 37 |
| Objetivos..... | 38 |
| Materiales..... | 39 |
| Métodos..... | 40 |
| Técnica de diagnóstico de TB por método PAC..... | 41 |
| Fórmula de Prevalencia (P)..... | 45 |
| Presentación de los resultados..... | 46 |
| Discusión de los resultados..... | 49 |
| Conclusiones..... | 51 |

| | |
|-------------------|----|
| Bibliografía..... | 52 |
| Anexos..... | 55 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Imagen de bacteria Mycobacterium Bovis..... | 4 |
| Figura 2. Vías de contagio de TB..... | 6 |
| Figura 3. Signos clínicos y lesiones de TB..... | 12 |
| Figura 4. Lesión de un pulmón bovino..... | 15 |
| Figura 5. Lesión de un útero bovino..... | 15 |
| Figura 6. Zonas de control y erradicación de TB..... | 27 |
| Figura 7. Zonas de ocurrencia de TB en Chile..... | 29 |
| Figura 8. Distribución mundial de TB..... | 31 |
| Figura 9. Epidemiología en Latinoamérica y el Caribe de TB..... | 32 |
| Figura 10. Prevalencia TB Predios de RM..... | 35 |
| Figura 11. Comparación estudio CALS con estudios SAG en RM de TB..... | 36 |
| Figura 12. Principales Elementos para Prueba Tuberculínica..... | 44 |
| Figura 13. Prevalencia de TB 2008-2013 en Chile..... | 55 |
| Figura 14. Esquema de Certificación de Libre de TB..... | 57 |

Índice de tablas

| | |
|----------------------|----|
| Tabla 1 | 46 |
| Tabla 1 | 47 |

Índice de gráficos

| | |
|--|----|
| Gráfico 1. Prevalencia de TB en RM por CALS 2008..... | 35 |
| Gráfico 2. Prevalencia de TB en el predio..... | 47 |
| Gráfico 3. Prevalencia de TB en el predio..... | 48 |

Introducción

La tuberculosis bovina es una enfermedad infectocontagiosa que afecta al ganado bovino produciendo un cuadro crónico, que genera pérdidas económicas por muerte de los animales, decomisos a nivel de mataderos, menor productividad y valoración de la leche. Tiene además carácter zoonótico, por lo que adquiere gran importancia en salud pública. (Retamal, 2000).

Es una enfermedad que afecta tanto al bovino, al hombre y otras especies, la cual es producida por una bacteria de nombre *Mycobacterium bovis* que se manifiesta por el desarrollo progresivo de lesiones llamadas tubérculos o granulomas, en cualquier órgano del cuerpo. (Berríos, 2012).

La tuberculosis bovina (TB) es una enfermedad zoonótica (se puede transmitir al ser humano), causada por la bacteria *Mycobacterium bovis*. Presenta un impacto directo en la eficiencia de los sistemas productivos y en la industria del sector pecuario, porque provoca importantes pérdidas en la producción de carne y de leche; además, constituye una restricción a la exportación de los alimentos de origen pecuario. (SAG 2011).

Mycobacterium bovis, conocido como bacilo tuberculoso bovino, es la causa más común de tuberculosis en el ganado bovino. La bacteria pertenece al complejo de organismos *M. tuberculosis* (MTB), que incluye *M. tuberculosis*, *M. africanum*, y *Mycobacterium microti*. *Mycobacterium bovis* tiene la gama de anfitriones más amplia entre las especies incluidas en el complejo. Todas las especies de mamíferos, entre ellas la especie humana, son susceptibles a la infección por *Mycobacterium bovis*, aunque la susceptibilidad de las diferentes especies es variable. La importancia de este germen como un patógeno zoonótico ha conducido a la institución de programas a largo plazo para erradicación de la enfermedad, sobre todo en los países desarrollados. La ocurrencia de *Mycobacterium bovis* como enfermedad epidémica en las poblaciones silvestres de especies mamíferas en numerosos países ha creado nuevas dificultades para control de la enfermedad en el ganado doméstico. El germen puede afectar a animales de cualquier edad. Las especies infectadas con frecuencia incluyen vacas, cabras, cerdos y cérvidos. Los caballos han sido considerados relativamente resistentes, pero informes de Nueva Zelanda indican la posibilidad de afectación de gran número de ovejas. (Vanderklok, 2010).

La tuberculosis bovina es una enfermedad bacteriana crónica que, en ocasiones, afecta a otras especies de mamíferos. Es una zoonosis importante que puede afectar

a los humanos en general, por inhalación de aerosoles o ingestión de leche no pasteurizada. En países desarrollados, los programas de erradicación han reducido o eliminado la tuberculosis en el ganado bovino y la enfermedad en humanos es poco frecuente en la actualidad; sin embargo, los reservorios existentes, en la fauna silvestre pueden dificultar su completa erradicación. La tuberculosis bovina aún es frecuente en países subdesarrollados y pueden ocurrir pérdidas económicas graves por la muerte del ganado bovino, enfermedad crónica y restricciones en la comercialización. En algunos casos, esta enfermedad también puede representar una grave amenaza para las especies en peligro de extinción. (CFSPH, 2009).

La tuberculosis bovina suscita una atención creciente en la comunidad internacional. La enfermedad sigue ocasionando considerables pérdidas en el sector ganadero, con graves consecuencias para la salud pública, especialmente en países con programas de vigilancia deficientes o que carecen completamente de ellos. La amenaza permanente de la infección a partir de reservorios en animales representa un peligro y una fuente de infección constantes para el ganado y dificulta la erradicación total en muchos países desarrollados. En respuesta a la importancia mundial de la tuberculosis bovina, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) ha reconocido que se trata de una grave enfermedad infecciosa que debe controlarse en la interfaz entre ecosistema, animales y seres humanos en interés de la industria ganadera, la salud pública y los medios de vida de los seres humanos. (FAO, 2012).

Revisión bibliográfica

Descripción de la bacteria

Mycobacterium bovis pertenece a la familia *Mycobacteriaceae*. Junto con *M. tuberculosis*, *M. africanum* y *M. microti* constituyen el complejo de bacterias causantes de la tuberculosis (TB). Son bacilos Gram positivo, ácido-alcohol resistentes, con tamaño entre 0,2-0,7 x 1-10 micras, ligeramente curvados, aerobios estrictos, inmóviles, no formadores de esporas ni cápsulas y de crecimiento lento. Es capaz de sobrevivir durante meses en el ambiente, sobre todo en lugares fríos, oscuros y húmedos. Se encuentra formando parte del polvo o contaminando la superficie de los objetos. Es muy sensible al calor, a la luz solar y a la luz ultravioleta, pero es resistente al frío, a la congelación y a la desecación. Muere a temperaturas superiores a 65°C durante 30 minutos. Se inactiva con luz ultravioleta y con calor húmedo a 121°C durante al menos 15 minutos. (INSHT España, 2012).

Mycobacterium bovis es resistente a influencias externas

- Sobrevive en la mucosidad traqueal 30-40 días
- En expectoración desecada hasta 100 días
- En heces bovinas:
 - a. El agente sucumbe en menos de 2 días con fuerte radiación solar
 - b. Menos de 2 semanas con clima cálido húmedo
 - c. En invierno puede vivir hasta 5 meses
 - d. En desagües se mantiene vivo hasta 15 meses

En leche estas bacterias mueren por calentamiento a 65°C. Tiene importancia epidemiológica la infecciosidad de *M. bovis* en la leche cruda, la que se mantiene en leche agria utilizada en yogurt, ricota donde dura hasta alrededor de 14 días, en manteca hasta 10 días, en quesos blandos y semiduros hasta 300 días. En quesos duros cuya maduración fue de 4 a 5 meses no se comprobó *M. bovis* (Trautwein, 2005).

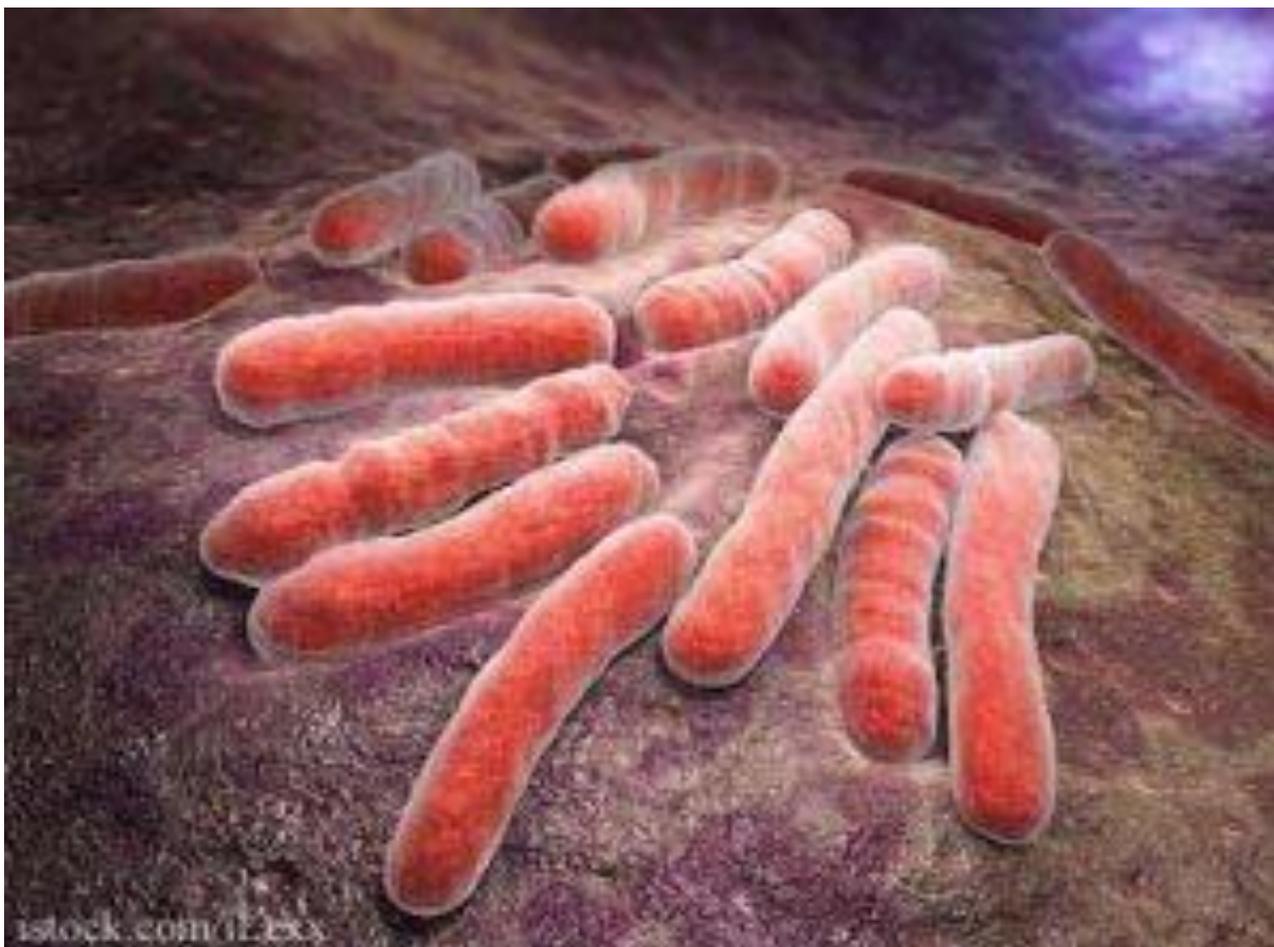


Figura 1: *Mycobacterium Bovis* por Linda Larsen, 2016.

Transmisión de la enfermedad

Las vías de infección más importantes en el bovino son la aérea, con un 95 a 99% de los casos, y la vía digestiva con el porcentaje complementario. Con menor importancia se describen las vías congénita, genital y cutánea. La fuente infecciosa corresponde generalmente a secreciones respiratorias provenientes de animales portadores y diseminadores de la infección. Al interior del organismo, la micobacteria genera una pequeña lesión granulomatosa en el lugar de la infección, generalmente a nivel pulmonar, y se denomina afección primaria. La bacteria es fagocitada por macrófagos, donde puede sobrevivir y ser llevada al linfonódulo regional, donde se genera otra lesión granulomatosa y una respuesta inmune protectora que elimina o encapsula al patógeno. La afección primaria más la lesión en el linfonódulo se denomina foco primario de la infección. (Berríos, 2012).

Si el individuo es inmunocompetente será capaz de vivir normalmente con este cuadro que además, le inducirá una respuesta inmune protectora por el resto de su vida. En cambio, si el individuo presenta inmunodepresión, es sometido a factores estresantes o cursa con otras enfermedades debilitantes se hace incapaz de contener a la micobacteria, la que puede multiplicarse, generalizarse al resto del organismo, producir la enfermedad y diseminarse al medio ambiente para continuar su ciclo en otros individuos susceptibles. (Berríos, 2012).

El microorganismo suele entrar en los rumiantes a través de la ruta respiratoria y en ocasiones por ingestión. La dosis infecciosa tiene un efecto significativo sobre la gravedad y la progresión de la enfermedad. Los animales expuestos a dosis altas del microorganismo desarrollan lesiones más graves y experimentan un período más temprano y más consistente de siembra bacteriana que los expuestos a dosis bajas. Se ha comunicado que una dosis tan pequeña como una unidad formadora de colonias (UFC) puede causar enfermedad. La inhalación del microorganismo, el método de infección más común, suele originar una pequeña lesión granulomatosa necrótica en los pulmones. La formación de granulomas es menos común cuando se afecta el aparato digestivo. La infección del aparato respiratorio superior o el área faríngea puede ser causada también por la ingestión de alimentos infectados. Desde el sitio de entrada inicial el microorganismo invade los linfonódulos locales (retrofaríngeos, traqueobronquiales, mediastínicos, mesentéricos), donde causa necrosis rodeada por un granuloma que contiene células mononucleares. Las lesiones localizadas estimulan el desarrollo de una cápsula fibrosa que varía de intensidad dependiendo de la velocidad de progresión. Esa combinación de lesiones en el sitio de

entrada y en los linfonódulos locales forma el complejo primario. Desde el complejo primario se produce una diseminación posprimaria a varios órganos que puede conducir a tuberculosis miliar difusa, lesiones nodulares discretas en varios órganos o tuberculosis de órganos crónica. La enfermedad del ganado vacuno es progresiva y acaba por producir deterioro del estado general, debilidad y muerte. Las hipótesis basadas en el conocimiento de la tuberculosis humana han sugerido que la mayoría de las vacas expuestas a *Mycobacterium bovis* son capaces de eliminar la enfermedad o de entrar en un período de latencia. Si se demuestra que eso es cierto, podría tener un impacto significativo sobre los programas de erradicación. (Vanderklok, 2010).

La Tuberculosis Bovina es producida por una bacteria de nombre mycobacterium bovis, que se manifiesta por el desarrollo progresivo de lesiones llamadas tubérculos o granulomas, en cualquier órgano del cuerpo.

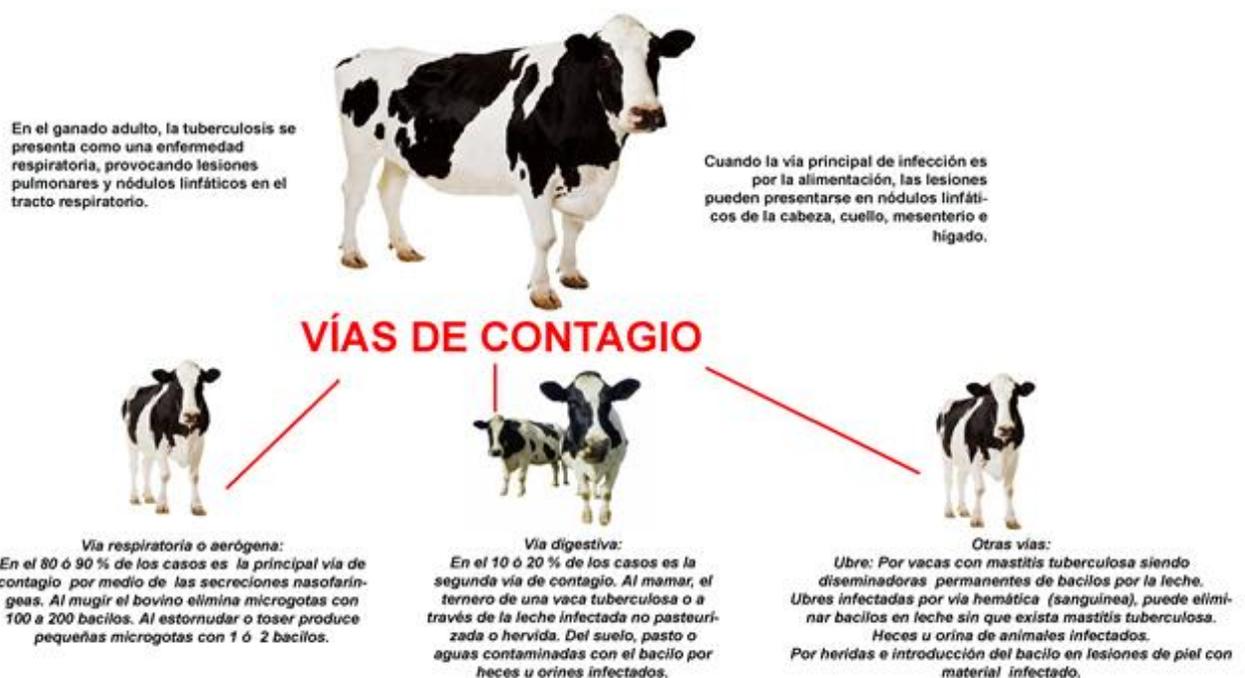


Figura 2: Vías de contagio de Tuberculosis Bovina por Colegio Médico Veterinario Provincia de la Pampa, Argentina, 2012.

Patogénesis

Los mecanismos de patogenicidad más importantes de las micobacterias tuberculosas son (Ehlers y Daffé, 1998; Rook y Hernández-Pando, 1996):

a) Su capacidad de unión a receptores específicos en la superficie de macrófagos. Aunque se describen varios, el receptor del complemento tipo 3 (CR3) tendría un rol preponderante en la patogenia de la infección, ya que permite el ingreso directo de la micobacteria al interior del macrófago. Además, induce en esta última célula una disminución de su capacidad funcional, que se refleja en una menor liberación de radicales libres y de IL-12 en respuesta al patógeno fagocitado.

b) Una vez que la bacteria ingresa a la célula fagocítica, es capaz de alterar el recambio normal de glicoproteínas en la membrana del fagosoma, impidiendo su maduración y evitando la fusión de los lisosomas.

c) El macrófago infectado sufre una inactivación funcional, perdiendo su integración con el resto de las células del sistema inmune. Disminuye su capacidad de activarse en presencia de IFN γ y de presentar antígenos, facilitando la evasión de la bacteria a la respuesta celular protectora.

d) La micobacteria es capaz de sensibilizar células del sistema inmune al efecto tóxico del TFN α , citoquina que actúa como un potente inductor de apoptosis en células que han sufrido daño morfológico o funcional.

La respuesta inmune protectora es de tipo celular, donde participan células macrófagicas, linfocitos T 'helper I' (LTh1), células NK ('natural killer') y LT CD4-CD8 principalmente. Todas estas poblaciones celulares generan un ambiente inflamatorio característico, donde predominan las citoquinas interleuquina 2 (IL-2), IL-12, interferón gamma (TFN γ) y el factor de necrosis tumoral alfa (TFN α). En la infección por micobacterias tuberculosas, el tipo celular que se constituye en el efector más importante de la respuesta inmune es el macrófago, ya que es el principal encargado de fagocitar al patógeno y presentar sus antígenos a las otras poblaciones participantes de la respuesta celular. En el macrófago, el óxido nítrico parece ser una molécula de gran trascendencia, ya que participa en las cascadas de señales intracelulares como así mismo en forma citotóxica directa sobre la micobacteria fagocitada (Rook y Hernández-Pando, 1996).

La tuberculosis se extiende por el organismo en dos estadios, el complejo primario y la diseminación secundaria (Radostits, 2002).

- El complejo primario: Incluye la lesión en el lugar de entrada del germen y un ganglio linfático local. Cuando la infección se produce por inhalación es frecuente una lesión en el punto de entrada. Cuando se produce por vía digestiva, es infrecuente que haya una lesión en el lugar de entrada. Aunque pueden presentarse úlceras amigdalinas o intestinales. Lo más frecuente es que la única lesión observable se encuentre en los ganglios linfáticos faríngeos o mesentéricos (Radostits, 2002).

A los 8 días de la penetración de las bacterias aparece un foco primario visible, y unas 2 semanas más tarde comienza la calcificación de la lesión. El foco necrótico inicial queda pronto rodeado por tejido de granulación, con monocitos y células plasmáticas, quedando establecido el “tubérculo” patognomónico de la enfermedad. Las bacterias pasan este foco primario, que en el ganado vacuno el 90 al 95% de los casos se encuentra en las vías respiratorias, a un ganglio linfático regional, donde causan una lesión similar (Radostits, 2002).

En el ganado vacuno en el 90% de los casos las lesiones pulmonares se encuentran en los lóbulos caudales. En las terneras que toman leche contaminada, lo más probable que el foco primario aparezca en los ganglios linfáticos faríngeos o mesentéricos, y que las lesiones secundarias se presenten sobre todo en hígado (Radostits, 2002).

La localización del complejo primario depende de la vía de ingreso del agente; siendo la principal vía la respiratoria, lo que ocurre generalmente con la llegada de bacilos contenidos en aerosoles, a los alveolos, la segunda vía es la digestiva, más frecuente en animales lactantes y una tercera es la vía oro-nasal, la que comprometería fundamentalmente los nódulos de la oro-faringe en la cabeza (Frazer, 2007).

- Diseminación secundaria: A partir del complejo primario puede adoptar la forma de una tuberculosis miliar aguda, de lesiones nodulares aisladas en diversos órganos o de tuberculosis orgánica crónica, causada por una reinfección endógena o exógena de tejidos que se han hecho alérgicos a las proteínas del bacilo tuberculoso. En este último caso puede no haber afección de los ganglios linfáticos locales. (Radostits, 2002).

Según la localización de la infección los signos varían, pero como la enfermedad es siempre progresiva, la toxemia de base es constante, lo que causa debilidad y languidez, y, finalmente la muerte del animal. (Radostits, 2002).

El ganado bovino constituye el huésped definitivo para *M. bovis*, pero también pueden infectarse otros mamíferos domésticos y silvestres. Los huéspedes que mantienen la infección conocidos incluyen, los oposums de cola de escoba (y posiblemente los hurones) en Nueva Zelanda, los tejones en el Reino Unido e Irlanda y los alces en Canadá, y el kudu y el búfalo cafre al sur de África. Los ciervos de cola blanca de los Estados Unidos (Michigan) también se incluyen, aunque algunos autores actualmente consideran que esta especie puede constituir un huésped accidental, que mantiene al organismo únicamente cuando la densidad de la población es elevada. Las especies que se informaron como huéspedes accidentales incluyen: ovejas, cabras, caballos, cerdos, perros, gatos, hurones, camellos, llamas, muchas especies de rumiantes silvestres, incluido el ciervo y el alce; elefantes, rinocerontes, zorros, coyotes, visones, primates, zarigüeyas, nutrias, focas, leones marinos, liebres, mapaches, osos, jabalíes verrugosos, felinos mayores (incluidos leones, tigres, leopardos, guepardos y lince) y varias especies de roedores. La mayoría de los mamíferos pueden ser susceptibles. Poco se sabe respecto de la susceptibilidad de las aves a *M. bovis*, aunque en general se piensa que son resistentes. Recientemente se informaron infecciones experimentales en palomas después de la inoculación oral o intratraqueal y en cuervos, después de la inoculación intraperitoneal. Algunas especies de aves, incluido los patos reales, parecen ser resistentes a la infección experimental. (CFSPH, 2009).

Manifestaciones clínicas

Los signos de infección por *Mycobacterium bovis* pueden resultar muy inespecíficos y en las fases tempranas de la enfermedad son inaparentes. Los animales infectados pueden no mostrar anomalías clínicas y sin embargo imponer riesgos sanitarios a otros animales y a los humanos. Los pacientes pueden presentar pérdida de peso crónica, apetito variable y fiebre fluctuante, que se puede intensificar después del parto. Otros signos dependen de los órganos afectados. La ruta de invasión en los rumiantes suelen ser respiratoria a través de la inhalación; sin embargo, investigaciones y casos recientes han demostrado la posibilidad de ingestión de alimentos contaminados y otras formas de contacto indirecto para transmitir la enfermedad. Los signos relacionados con el aparato respiratorio son relativamente comunes y en general leves, aunque las infecciones crónicas graves pueden conducir a debilitamiento. Se puede producir emaciación progresiva no asociada a otros signos clínicos y tales casos deben conducir a la investigación de una posible infección por *Mycobacterium bovis*. (Vanderklok, 2010).

Los signos clínicos específicos de la enfermedad están determinados por la localización inicial de las bacterias introducidas en el cuerpo. Los signos respiratorios en los rumiantes incluyen tos crónica, húmeda y blanda debida a bronconeumonía. La disnea obvia, la taquipnea, la hiperpnea y los sonidos pulmonares adventicios sólo ocurren en las fases terminales. Los sonidos pulmonares anormales comprenden estertores, sibilancias y zonas silentes ocupadas por granulomas; en raras ocasiones se oyen roces pleurales. Los linfonódulos mediastínicos agrandados pueden causar meteorismo. Son posibles la ulceración intestinal y la diarrea, y los linfonódulos mesentéricos agrandados pueden inducir fracaso del transporte u obstrucción intestinal. La afectación de los linfonódulos retrofaríngeos puede originar disfagia, estridor y salivación. Rara vez se producen lesiones en los linfonódulos periféricos, el aparato reproductor (con infertilidad, aborto, metritis y vaginitis) y las glándulas mamarias. La tuberculosis producida por *Mycobacterium bovis* puede causar lesiones granulomatosas en el ojo del vacuno afectado. El tracto uveal (iris, cuerpo ciliar o coroides) se ve afectado inicialmente, con la posterior expansión de los granulomas a otras estructuras oculares. Clínicamente, se observan uveítis, queratitis y coriorretinitis con desprendimiento de retina. (Vanderklok, 2010).

La tuberculosis suele ser de curso crónico, y los síntomas pueden tardar meses o años en aparecer. Generalmente, se manifiestan signos inespecíficos (caída de la producción lechera y deterioro del estado general de salud). Los signos clínicos que

pueden manifestarse durante la enfermedad son muy variados, al igual que la gran variedad de lesiones, pudiendo observarse:

- Debilidad progresiva.
- Pérdida de apetito.
- Pérdida de peso.
- Fiebre fluctuante.
- Tos seca intermitente y dolorosa.
- Aceleración de la respiración (taquipnea), dificultad de respirar (disnea).
- Sonidos anormales en la auscultación y percusión.
- Diarrea.
- Linfonódulos grandes y prominentes.
- Muerte.

A veces, sin embargo, la bacteria permanece en estado latente en el organismo hospedador sin desencadenar la enfermedad. La necrosis por caseificación de las lesiones tuberculosas es frecuente, precoz y abundante. Muestra una consistencia pastosa y un color amarillento, variables dependiendo del grado de calcificación de la lesión. (Livingstone, 2009).

La lesión tuberculosa corresponde a una inflamación crónica de tipo granulomatosa, donde se observa la aparición de granulomas con células macrofágicas modificadas o epiteloideas. Estos granulomas dan origen a pequeños nódulos de entre 0,1 a 2 mm según la cantidad en que se encuentren. Existe en ellos una disposición celular concéntrica alrededor del agente patógeno. Predominan desde adentro hacia fuera: macrófagos activados y modificados (células epitelioides y de Langhans), linfocitos T y fibroblastos. Pasado algunos días, se observa al centro del granuloma un proceso de necrosis de caseificación determinado por la muerte sucesiva de células inflamatorias. Al cabo de algunas semanas, la lesión es encapsulada por tejido conectivo que más tarde se calcifica. La diseminación de la bacteria por sangre al resto del organismo, genera múltiples granulomas en el parénquima de órganos tales como pulmón, hígado, riñón, testículo, glándula mamaria, médula ósea y meninges, cuadro que se denomina tuberculosis miliar. Si la diseminación es por la linfa y en forma retrógrada,

se afectan las serosas como pericardio, pleuras y peritoneo, dando origen al cuadro conocido como tuberculosis perlada. Si el sistema inmune no detiene la multiplicación de la bacteria a este nivel, la infección se propaga por los canalículos de los órganos y puede llegar a formar cavidades en ellos, llegándose al cuadro conocido como tuberculosis cavitaria, donde la micobacteria además puede ser eliminada al medio ambiente (Gázquez, 1991).

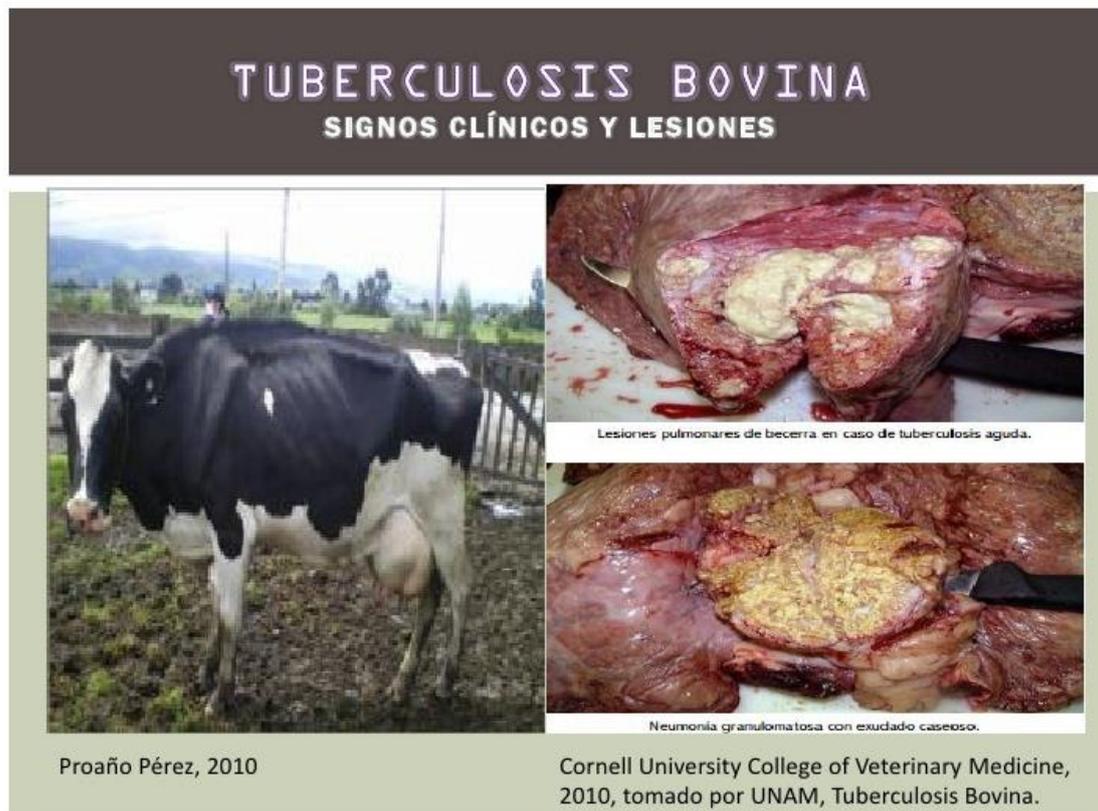


Figura 3: Signos clínicos y lesiones de Tuberculosis Bovina. Por Cornell University College of Veterinary Medicine, 2010.

Lesiones post mortem

La tuberculosis bovina se caracteriza por la formación de granulomas (tubérculos) donde se localizan las bacterias. Los que generalmente son amarillentos y caseosos, calcáreos o calcificados y están encapsulados. En algunas especies como los ciervos, las lesiones suelen tener el aspecto de abscesos en lugar de los típicos tubérculos; algunos tubérculos son lo suficientemente pequeños para pasar desapercibidos a la vista, a menos que se seccione el tejido. En el ganado bovino, los tubérculos se encuentran en los ganglios linfáticos, particularmente los que se encuentran en la cabeza y el tórax. También son frecuentes en los pulmones, bazo, hígado y las superficies de las cavidades corporales. En casos aislados, se pueden hallar múltiples granulomas pequeños en diversos órganos. Las lesiones a veces aparecen en los genitales de la hembra, pero son poco frecuentes en los genitales del macho. En países con buenos programas de control, el ganado bovino infectado generalmente presenta pocas lesiones a la necropsia. La mayoría de estas lesiones aparecen en los ganglios linfáticos asociados con el sistema respiratorio. Sin embargo, las lesiones pequeñas habitualmente se pueden descubrir en los pulmones de estos animales si se seccionan los tejidos. Los tubérculos de *M. bovis* en general no son calcificados en gatos y perros. En los primeros, estos se pueden encontrar en los ganglios linfáticos, pulmones y otros órganos; también puede observarse pleuritis, peritonitis y pericarditis. En el caso de los perros, los tubérculos son frecuentes en los ganglios linfáticos, pulmones, hígado, riñones, pleura y el peritoneo; y se puede encontrar líquido de color pajizo en el tórax. Si bien algunos tejones infectados han propagado la enfermedad, muchos otros pueden presentar lesiones mínimas localizadas. Los tubérculos son más frecuentes en los pulmones y en los ganglios linfáticos asociados, pero también pueden aparecer en otros ganglios linfáticos y órganos viscerales. Por el contrario, los opósoms de cola de escoba tienden a presentar caseificación y necrosis extensiva en los pulmones. (CFSPH, 2009).

La lesión patognomónica de la infección por *Mycobacterium bovis* es el granuloma, que se considera resultado de la estimulación antigénica crónica y el intento de inmovilizar el germen invasor. Las lesiones tuberculosas ocurren de forma primaria en el aparato respiratorio y el tejido linfático de la cabeza y el tórax, pero pueden existir en otras áreas dependiendo de la puerta de entrada inicial del microorganismo. Es frecuente que el ganado vacuno infectado no muestre lesiones visibles macroscópicas o sólo tenga una lesión apreciable en un linfonódulo. Las lesiones macroscópicas aparecen como nódulos encapsulados con pus espeso, amarillo a naranja, entre

cremoso y caseoso, y pueden estar calcificadas. Pueden ocurrir en cualquier linfonódulo, pero lo hacen sobre todo en los linfonódulos bronquiales, mediastínicos y mesentéricos, y en una variedad de órganos, en particular en los pulmones y el hígado. Los órganos pueden estar sembrados de nódulos miliares pequeños, que en el caso de los pulmones pueden confluir para dar lugar a una bronconeumonía supurada. Las lesiones crónicas están caracterizadas por una cápsula fibrosa gruesa y discreta que contiene material caseoso espeso. (Vanderklok, 2010).

En el estudio hispatológico, las lesiones de los linfonódulos o de los órganos son granulomatosas con un área central de mineralización y necrosis. Los macrófagos tienen un aspecto claramente alargado y pueden confluir en células gigantes multinucleadas (células de Langerhans). Esas células fundidas forman el centro de los nódulos tuberculosos en desarrollo. El hallazgo de bacterias ácido-resistentes dentro de esas lesiones sugiere con fuerza la presencia de *Mycobacterium bovis*, aunque quizás sólo exista un pequeño número de microorganismos ampliamente distribuidos. El desarrollo de la lesión se puede dividir en cuatro etapas diferentes: fase 1 (sin necrosis), fase 2 (necrosis central mínima), fase 3 (necrosis caseosa central de intensidad mínima) y fase 4 (necrosis caseosa multicéntrica extensa con mineralización). La diferencia entre el grosor de la cápsula fibrosa y la fase histopatológica de la evolución puede ayudar a determinar la cronicidad de la infección. (Vanderklok, 2010).

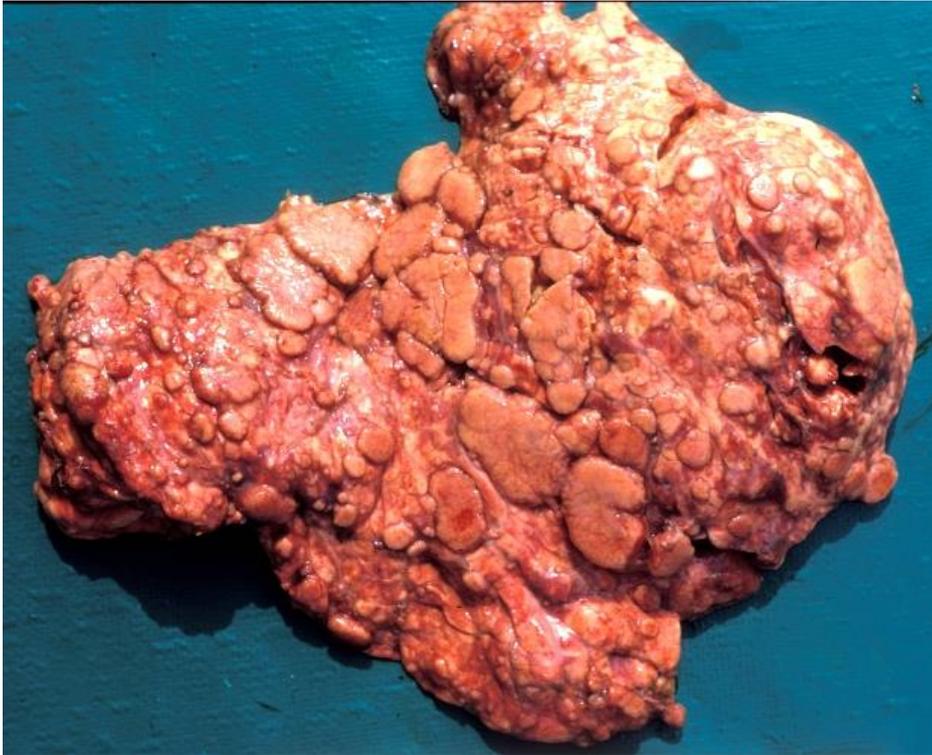


Figura 4: Bovino, Pulmón. El parénquima del pulmón ha sido casi enteramente remplazado por nódulos pálidos sobre elevados de varios tamaños que se unen. Por The Center for Food Security and Public Health, 2009

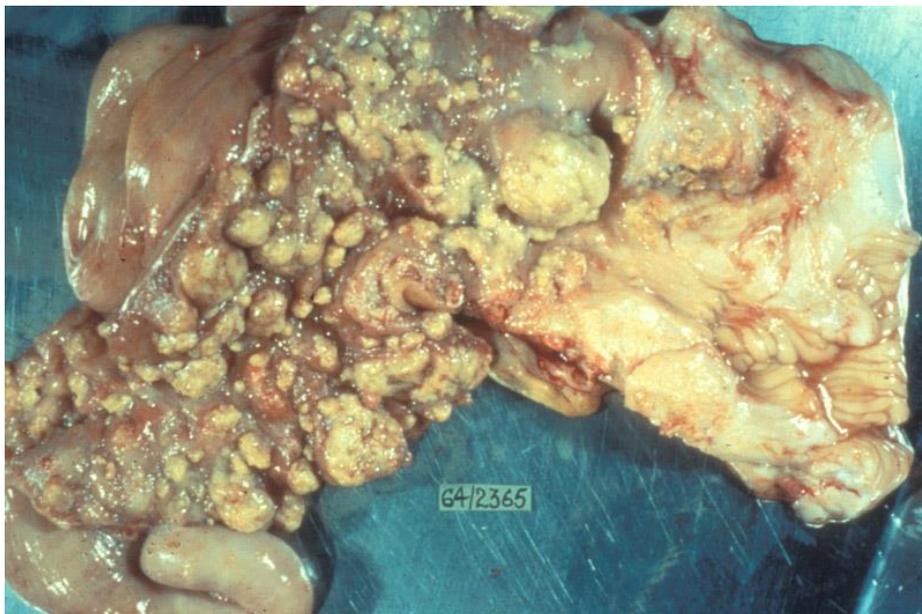


Figura 5: Bovino, útero. El endometrio contiene varios tubérculos elevados. Por The Center for Food Security and Public Health, 2009

Diagnóstico de la enfermedad

Clínico: La tuberculosis puede ser difícil de diagnosticar basándose sólo en los signos clínicos. En los países desarrollados, pocas infecciones presentan síntomas; la mayoría se diagnostica mediante análisis o se detecta en frigoríficos. En el caso de los ciervos, la tuberculosis se debe considerar en el diagnóstico diferencial, cuando se encuentran abscesos de etiología desconocida. (CFSPH, 2009).

Diagnóstico diferencial: El diagnóstico diferencial incluye pleuroneumonía contagiosa bovina, neumonía por *Pasteurella* o *Corynebacterium pyogenes*, neumonía por aspiración (que en general es secundaria a la enfermedad devastadora crónica en ciervos), pericarditis traumática, linfadenitis caseosa o melioidosis en rumiantes pequeños e infección crónica atípica por fasciola hepática. (CFSPH, 2009).

Análisis de laboratorio: En el ganado bovino vivo, la tuberculosis generalmente se diagnostica a campo con la prueba cutánea de la tuberculina; la que se inyecta por vía intradérmica; Esta es positiva cuando se produce una reacción de hipersensibilidad retardada (inflamación). La prueba se puede realizar utilizando tuberculina bovina solamente, o como prueba comparativa para distinguir reacciones del *M. bovis*, de reacciones por mycobacterias ambientales. EE .UU emplea la prueba en el pliegue caudal (tuberculina bovina) para la detección preliminar en el ganado bovino. Se realiza una prueba de confirmación en los reactores, la prueba comparativa cervical; ésta se emplea también para la detección preliminar en ciervos. En Europa se utiliza la prueba comparativa cervical para la detección preliminar. Algunas veces se observan falsos negativos poco tiempo después de la infección, en las fases tardías de la enfermedad, en animales con respuestas inmunológicas deficientes y en terneros recién nacidos. Se puede realizar un diagnóstico presuntivo por histopatología y/o demostración microscópica de bacilos ácido-alcohol resistentes. Los frotis provenientes de muestras clínicas o tejidos se pueden teñir con colorante de Ziehl/Neelsen, fluorescente ácido-resistente o técnicas de inmunoperoxidasa. El diagnóstico se confirma mediante aislamiento de *M. bovis* en medios de cultivo selectivos. Las mycobacterias crecen lentamente y los cultivos se incuban durante 8 semanas; el crecimiento generalmente se puede observar en 3 a 6 semanas. La identidad del microorganismo se puede confirmar mediante pruebas bioquímicas y características de cultivo, o PCR. Esta última también puede detectar *M. bovis* de forma directa en las muestras clínicas. Las técnicas genéticas de impresiones digitales (por ejemplo spoligotyping) pueden distinguir distintas cepas de *M. bovis*. Es poco frecuente la inoculación del animal, pero es posible que esto sea necesario si la histopatología

indica tuberculosis y el resultado de los cultivos es negativo. Todos los procedimientos para el cultivo de bacterias se deben realizar en una cabina de seguridad biológica, puesto que las bacterias pueden sobrevivir en frotis fijados con calor o se pueden aerosolizar durante la preparación de la muestra. En general, se utilizan otras pruebas auxiliares a la prueba de la tuberculina. Las pruebas de proliferación de linfocitos y gamma-interferón son análisis de sangre que miden la inmunidad celular. Esta última, resulta particularmente útil en el caso de animales difíciles de capturar o manipular, pues se deben capturar una sola vez y no dos veces como en la prueba de la tuberculina. La prueba de proliferación de linfocitos no se usa con frecuencia en el ganado bovino, pero puede resultar útil en el caso de animales silvestres o en zoológicos. Las pruebas de ELISA miden los títulos de anticuerpos para *M. bovis*. Estas pueden ser complementarias a las pruebas de inmunidad celular en el ganado bovino que presenta anergia. Sin embargo, las pruebas de inmunidad humoral generalmente tienen utilidad limitada en el ganado bovino, porque los títulos son imprecisos y aumentan solamente en los últimos estadios de la infección. En los ciervos, los títulos pueden aumentar al principio de la enfermedad y puede ser más predecible. ELISA también puede resultar útil en otros animales de la fauna silvestre y en zoológicos. (CFSPH, 2009).

El diagnóstico se puede dividir en tradicional y no tradicional. Este último abarca aquellas técnicas moleculares dirigidas a identificar biomarcadores de infección, entre las que destacan la prueba de interferón gamma bovino (TFN γ) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con todas sus variantes.

Diagnóstico Tradicional

a) Prueba de hipersensibilidad retardada: Es el método estándar para la detección de tuberculosis bovina. Esta técnica implica la inoculación intradérmica del derivado proteico purificado (PPD) de *M. bovis* y la subsiguiente detección de inflamación en el sitio de inyección, 72 hrs. más tarde (OIE, 1996). La prueba comparada involucra la inoculación de tuberculina bovina y aviar en diferentes sitios del cuello. Se usa para diferenciar entre animales infectados con *M. bovis* de aquellos expuestos a otras micobacterias, ya que existe gran reactividad cruzada entre antígenos de las distintas especies del género. Según diversos estudios, la prueba de hipersensibilidad retardada posee una especificidad generalmente alta (96-98%) y una sensibilidad regular (70-88%), (Francis, 1978; Cousins, 1998; González, 1999). Sin embargo, se debe considerar la probable existencia de micobacterias no tuberculosas (atípicas) en

el ambiente, lo cual puede modificar y disminuir en forma importante la gran especificidad descrita para la técnica.

b) Examen macroscópico post-mortem: Desarrollado a nivel de mataderos, se define como la visualización, palpación e incisión de órganos y tejidos que lo requieran para la localización de anomalías que impidan la comercialización y consumo del alimento. (SAG, 2009).

Se encuentra debidamente normado en la circular N°3G del Departamento de Programas Sobre el Ambiente del Ministerio de Salud (1983), y se realiza por profesionales Médicos Veterinarios de este mismo ministerio. El análisis se centra en la inspección de aquellas zonas y órganos más afectados por las lesiones tuberculosas: cavidad torácica, y linfonódulos retrofaríngeos. Sin embargo, la diseminación de la infección se puede afectar a otros órganos y linfonódulos en cualquier parte del cuerpo. Según las normas sanitarias, la canal infectada debe ser decomisada en forma parcial o total según la ubicación y amplitud de las lesiones tuberculosas. Es importante considerar que estas lesiones pueden variar entre tamaños que van desde 1 mm a 50 y 60 cm de diámetro, por lo que el examen de matadero no es una herramienta diagnóstica infalible (Cousins, 1998).

c) Tinción de Ziehl-Neelsen: Esta tinción permite la identificación directa del agente, ya que las bacterias se observan de una coloración rojiza al teñirse con fucsina básica y resistir luego la decoloración con alcohol ácido. Debido a la baja cantidad de micobacterias que normalmente se pueden encontrar en el tejido lesionado, constituye una técnica complementaria que debe ser acompañada por otros análisis de diagnóstico (OIE, 1996; Cousins, 1998).

d) Análisis histopatológico: Mediante este examen se intenta visualizar la lesión granulomatosa característica de la infección por micobacterias, y se realiza generalmente en aquellos tejidos u órganos que al examen macroscópico presentan lesiones sospechosas. Es un análisis rápido y relativamente simple, que permite una aproximación bastante exacta al estado infeccioso del animal respecto de esta enfermedad. (Cousins, 1998).

e) Cultivo microbiológico: Esta es la técnica confirmatoria por excelencia frente a la sospecha de infección tuberculosa. Sin embargo, *M. bovis* presenta bastantes dificultades para su aislamiento, ya que además de ser una bacteria escasa a nivel de lesiones, requiere de medios de cultivo especiales, crece muy lentamente en ellos y se ve rápidamente afectada por la contaminación con otros microorganismos (OIE, 1996; Cousins, 1998).

Diagnóstico no Tradicional

La experiencia extranjera demuestra que cuando la prevalencia de la infección se va haciendo escasa en un plantel o región, se han requerido otras alternativas diagnósticas que permitan a través de una mejor sensibilidad, la detección eficaz de todos aquellos animales infectados. Además, la existencia de predios con difíciles vías de acceso ha motivado también la aplicación de técnicas que requieran un solo muestreo, a diferencia de la tuberculina que necesariamente impone una segunda visita al plantel. En este sentido, las técnicas moleculares han probado ser una excelente alternativa complementaria al diagnóstico tradicional de la infección por *M. bovis*.

a) Ensayo de Interferón Gamma (TFN γ) Bovino: En esta prueba se cultiva la sangre entera con PBS (control), PPD bovino y PPD aviar durante un periodo de 16 a 24 horas. Posteriormente se extrae el plasma y se somete a un ensayo inmunoenzimático (ELISA) de captura para TFN γ bovino utilizando anticuerpos monoclonales contra esta citoquina. La infección se determina cuando el pocillo con PPD bovino estimula más TFN γ que el pocillo control y que el pocillo con PPD aviar. En Australia esta técnica se adoptó oficialmente en las etapas finales del programa de erradicación, ya que además de una mejor sensibilidad (94%) y excelente especificidad (96,3%), es económica, rápida y simple (Cousins, 1998).

b) Reacción en Cadena de la Polimerasa: Quizás sea esta la técnica que ha demostrado los mejores resultados en el diagnóstico y tipificación de las cepas de *M. bovis* que afectan al ganado bovino en diversos países del mundo. Su alto costo es el único obstáculo actual para su incorporación definitiva en el control e investigación de un gran número de enfermedades, incluyendo la tuberculosis bovina. Sin embargo, a medida que la técnica se perfecciona y masifica en el ambiente científico, se observa una clara tendencia a la disminución en los costos de los reactivos necesarios para su desarrollo. Esta situación, junto a esfuerzos de científicos nacionales y extranjeros para la obtención de una técnica efectiva y económica, permite vislumbrar su aplicación como prueba confirmatoria de la infección tuberculosa en unos pocos años más. El PCR es una técnica de biología molecular que permite la detección y captura de mínimas cantidades de ácidos nucleicos. En ella se amplifican segmentos cortos (100-500 bp) de una molécula de DNA más extensa. Los componentes de la reacción (DNA blanco, DNA polimerasa, partidores oligonucleótidos, desoxinucleátidos trifosfatos, soluciones buffer, magnesio y aditivos opcionales) son mezclados y sometidos a una serie consecutiva de distintas temperaturas y tiempos variables, o también conocidos como ciclos de amplificación. Cada ciclo teóricamente duplica la cantidad de secuencia molde objetivo en la reacción, por lo que después de unos 40 ciclos se pueden obtener 1000 millones de copias de la secuencia original. Esta situación le entrega a la prueba una alta sensibilidad y especificidad potencial, permitiendo además la realización de otros procedimientos experimentales complementarios con el ácido nucleico amplificado (Promega Corp., 1996). En los últimos años, la identificación de patrones genómicos de DNA en aislados de *M. bovis* ha probado ser de utilidad en investigaciones epidemiológicas de tuberculosis en distintas especies animales. Dentro de estas, los análisis de polimorfismo en fragmentos de restricción (RFLP) con sondas derivadas del elemento de inserción IS6110, las secuencias de repetición directa (DR), las secuencias polimórficas ricas en

guanina y citosina (PGRS) y la tipificación de espaciadores de oligonucleótidos (ST) han sido los métodos más útiles para la identificación de las cepas de *M. bovis* prevalentes en las zonas estudiadas (Cousins, 1998; Eamon, 1999). Por otra parte, se han probado diversas secuencias del DNA bacteriano, llegando a determinarse que las secuencias de inserción IS6110 e IS1081 entregan los mejores niveles de sensibilidad y especificidad. Ambas secuencias se encuentran en todas las micobacterias del complejo tuberculosis, por lo que su identificación implica la presencia de cualquier especie de este grupo. IS6110 presenta generalmente una o dos copias en el genoma de las cepas de *M. bovis* a diferencia de IS1081 que se ha encontrado con 5 ó 6 copias. Por este motivo, al realizarse trabajos de PCR en tejidos frescos de bovinos, se prefiere utilizar IS1081. En cambio, cuando la detección se realiza sobre tejidos fijados en formalina o embebidos en parafina, la secuencia más útil es IS6110 por ser un segmento más corto y preservarse mejor en estas condiciones (Miller, 1997 Wards, 1995).

Diagnóstico de Tuberculosis Bovina mediante pruebas serológicas según SAG 2015

1. Objetivos y alcance:

El objetivo de este instructivo es dar a conocer los requisitos específicos que el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) requiere para autorizar a laboratorios de análisis/ensayo para la ejecución de análisis serológicos para el diagnóstico de *Mycobacterium bovis*, en el marco del Plan Nacional de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina. Además, este documento entrega las directrices para que los Laboratorios una vez autorizados por el Servicio, realicen el diagnóstico serológico de Tuberculosis Bovina a partir de muestras de sangre de bovinos, utilizando los kits comerciales Kit Bovigam 2G® y Kit ELISA IDEXX *Mycobacterium bovis*. (SAG, 2015).

2. Equipos, instrumentos y materiales: (SAG, 2015).

- Incubadora húmeda 37°C.
- Lector ELISA con filtro de lectura según corresponda.
- Lavador de placas (opcional).
- Refrigerador (4-8°C).
- Centrífuga de placa (opcional).
- Sistema de calefacción o enfriamiento para mantener temperatura ambiental entre 18-25 °C.
- Micropipeta monocanal ajustable 10-100 µl.
- Micropipeta monocanal ajustable 1-10 µl.

- Micropipeta multicanal de 8 y 12 canales (50 a 300 μ l).
- Reloj Control.
- Termómetro para refrigerador.
- Termómetro para medir temperatura ambiental.
- Tubos para dilución.
- Probetas.
- Puntas para micropipetas desechables.

3. Reactivos:

Los reactivos autorizados por el Servicio Agrícola y Ganadero, que son reconocidos dentro de las pruebas oficiales para el Programa de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina son: (SAG, 2015).

- Kit Bovigam 2G, Prionics®
- Kit ELISA para detección de anticuerpos contra *Mycobacterium bovis*, IDEXX®

4. Análisis serológico de anticuerpos IDEXX *Mycobacterium bovis*:

El analista determinará la aptitud de las muestras, considerando que se cumpla lo siguiente: (SAG, 2015)

- Las muestras de suero deben ser recibidas a temperatura de refrigeración (4-6°C \pm 2°C) en una cantidad mínima de 2 ml y no deben estar hemolizadas.
- El envase debe estar íntegro y debidamente identificado.
- Comprobar la hora de toma de muestra y hora de recepción, ya que las muestras deben ser enviadas dentro de las 24 horas desde su recolección más 1 o 2 días de transporte.
- El laboratorio debe guardar contramuestras de todas las muestras recibidas. Las cuales deben ser mantenidas a -20°C por un período de 3 meses.

La expresión de resultados se realizará según punto de corte o cut off indicado por el fabricante. La muestra será reaccionante cuando la razón S/P es ≥ 0.3 y no reaccionante cuando la razón S/P es < 0.3 .

5. Detección de IFN- γ mediante kit BOVIGAM®: (SAG, 2015).

El analista determinará la aptitud de las muestras, considerando:

- Las muestras de sangre deben ser recibidas a temperatura ambiente ($22 \pm 3^{\circ}\text{C}$) contenidas en tubos con heparina de litio y en una cantidad mínima de 5 ml. Mezclar por inversión sin que sufran fluctuación de temperatura, por lo anterior, en zona con temperatura ambiental menor a 18°C , deben guardarse en cajas térmicas que aseguren este rango de temperatura.
- El envase debe estar íntegro y debidamente identificado.
- El tiempo entre la toma de muestra y el comienzo del análisis no debe exceder las 30 horas. Una vez obtenido el plasma, post estimulación con los antígenos, éste puede ser almacenado (según inserto del kit), pero la ejecución del análisis y obtención del resultado no debe exceder los siete (7) días corridos.
- El laboratorio debe guardar contramuestras en microtubos, de todas las muestras recibidas. Que corresponden al plasma obtenido, después del cultivo de las muestras de sangre entera con los derivados proteicos purificados bovino y aviar. Las contramuestras deben ser mantenidas a -20°C por un período de 3 meses.

Para la validación del análisis se deben considerar los valores de densidad óptica (DO) de control pokeewed, DO de control NIL e hiperreactores la interpretación de estos se debe realizar según el inserto del kit. El Punto de corte o Cut-off fue validado mediante estudio realizado por la Universidad Austral de Chile y validado por la Unidad de Análisis de Riesgo del SAG. Este se debe expresar de la siguiente manera:

- Reaccionante: DO PPD bovino-antígeno NIL ≥ 0.05 ; y DO PPD bovino-DO PPD aviar ≥ 0.05
- No reaccionante: DO PPD bovino-antígeno NIL < 0.05 ; y DO PPD bovino-DO PPD aviar < 0.05

Tratamiento

El tratamiento del ganado afectado por la tuberculosis con medicamentos no ha dado muy buenos resultados y se ha prohibido en la mayoría de los países, especialmente debido a la posibilidad de que aumente la resistencia de la micobacteria a los medicamentos. Unas cuantas especies de animales en cautividad han sido tratadas con medicamentos, pero en realidad no se trata de una opción viable para una cabaña de animales en régimen de libre apacentamiento (Michel, 2006). Actualmente, el control o la erradicación mediante tratamiento no es viable ni está permitida en la mayoría de los países. La única vacuna disponible en la actualidad contra la infección por *M. bovis* es el bacilo de Calmette-Guerin (BCG), que es una cepa viva atenuada de *M. bovis*. Además de su eficacia limitada en el ganado, la vacuna BCG también puede comprometer la prueba de tuberculina en los animales. En animales silvestres, la vacunación con BCG se ha ensayado mediante pruebas experimentales y de campo con resultados prometedores (Buddle, 2011). Sin embargo, hasta ahora no se ha elaborado ningún enfoque de vacunación práctico o eficaz para ninguna especie. Gracias a las investigaciones avanzadas sobre las secuencias del genoma del *M. bovis* y la vacuna BCG, y al desarrollo de otros tipos de vacunas, como las vacunas subunitarias (en la forma de vacunas de ácido desoxirribonucleico [ADN]) o las vacunas subunitarias proteicas con adyuvante, junto con la mejora del conocimiento de la respuesta inmunoprotectora, puede que sea viable concebir y elaborar vacunas micobacterias y estrategias de vacunación eficaces para prevenir o controlar la tuberculosis bovina en el ganado o la fauna silvestre (Buddle, 2011).

Control y erradicación

Debido a las implicancias sanitarias y económicas de la tuberculosis bovina, se han generado programas para su control y erradicación en diversos países del mundo. Las claves para el éxito de tales experiencias se basan en un enfoque integrador de la enfermedad, donde se coordinan estrechamente los servicios de salud tanto humanos como animales. Además, se aprecia una evolución dinámica de las estrategias utilizadas, donde se va complementando el diagnóstico tradicional con otras técnicas de mejor eficiencia, aplicadas en el contexto de estándares rigurosos, sistemas de identificación y registro de animales, vigilancia e investigación epidemiológica, indemnizaciones, laboratorios de referencia, etc. En nuestro país, la experiencia en el control centralizado de la enfermedad data desde 1982, cuando el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) inicia un programa de certificación de predios libres de brucelosis, leucosis y tuberculosis bovina en las regiones VIII, IX y X. Sin embargo, el énfasis institucional se orientó en el objetivo brucelosis bovina, dejando a las otras enfermedades como prioridad alternativa y sin avances claros en sus objetivos de control. La realidad chilena en tuberculosis bovina se ha caracterizado por: (Berríos, 2012).

- a) Ausencia de un programa nacional eficiente y dinámico, capaz de incorporar estrategias complementarias según el productor, la zona y/o la región que se controla.
- b) Falta de incentivos para los propios beneficiarios del sistema, donde los actores del sector público (estado) y privado (empresas lecheras y de la carne) no han sabido valorar la importancia y las consecuencias de la enfermedad o bien, de su erradicación.

El SAG, las empresas lecheras y los productores están trabajando para sentar las bases de un nuevo programa de control y erradicación de tuberculosis bovina, que responde a la urgente necesidad de mejorar la calidad y competitividad en un mercado cada vez más exigente y globalizado. Países con experiencia en el tema (Australia, Reino Unido, Nueva Zelandia, Estados Unidos) debieran constituirse en un modelo a seguir para aprender de sus logros y no repetir sus errores. Una característica que los identifica, es el gran apoyo a la investigación de la enfermedad como factor decisivo en sus respectivos programas de control, puesto que aspectos tan básicos como las cepas prevalentes, su virulencia, las formas de transmisión y los cuadros clínicos entre otros, hacen variar la estrategia ideal en cada escenario epidemiológico distinto (Cousins, 1998; Miller, 1997; Bourne, 2000).

El desafío en Chile es generar ese conocimiento y transformarlo en una herramienta indispensable para que la autoridad sanitaria, los profesionales, los productores, la empresa privada y las universidades podamos focalizar eficientemente todos nuestros esfuerzos en la prevención, control y erradicación de la tuberculosis bovina. (Berríos, 2012).

El Plan Nacional de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina en Chile donde este proyecto nacional se oficializó mediante la Resolución N° 2.762, del 21 de abril de 2011. (SAG, 2011).

Con el objetivo de eliminar la infección por *M. bovis* de aquellos rebaños clasificados infectados de tuberculosis bovina mediante las siguientes acciones: (Berríos, 2012).

- Clasificación de predio infectado por tuberculosis bovina: Comprende la decisión del MVO de clasificar un rebaño bovino como infectado por *M. bovis* de acuerdo a los instructivos establecidos y, por lo tanto, se establece el inicio de un proceso obligatorio de saneamiento de la enfermedad con envío de animales reactivos a matadero. En los predios ubicados desde la región de la Araucanía al sur se aplicará además la medida sanitaria de cuarentena.

- Definición de un plan de saneamiento de predio: En cada predio o rebaño infectado, y de acuerdo a su condición epidemiológica y productiva, el productor en conjunto con su MVA y el MVO definirán un plan de saneamiento predial específico, que considerará las medidas sanitarias de manejo y bioseguridad que se aplicarán, y que el ganadero se compromete a dar cumplimiento.

- Cuarentena y restricción de movimiento: Los rebaños infectados ubicados desde la región de la Araucanía al sur serán puestos bajo la medida sanitaria de cuarentena y se mantendrán en dicha situación hasta que obtengan la condición de negativo. Se aplicarán restricciones a la movilización de animales susceptibles y estos tendrán como única salida destino a matadero.

- Ejecución de pruebas tuberculínicas: De acuerdo a lo comprometido en el plan de saneamiento, en un predio infectado se realizarán pruebas tuberculínicas periódicas a todos los animales susceptibles.

- Eliminación de bovinos reactivos y seguimiento a matadero: Los animales clasificados como reactivos cuando se eliminan del predio infectado, deben hacerlo directamente a mataderos o Centros de Faenamiento de Autoconsumo que cuenten con inspección SAG. Los animales reactivos tendrán una identificación oficial y un

arete distintivo que asegurará su seguimiento y verificación en el matadero. Esta misma medida se aplicará a los animales expuestos de predios infectados cuarentenados.

- Ejecución de pruebas post-cuarentena: Todos los rebaños infectados o cuarentenados una vez liberados de la infección, quedarán obligados a una vigilancia por un período de tres años consecutivos, en los cuales se efectuarán pruebas tuberculínicas aplicadas a todos los animales susceptibles mayores de 18 meses según lo establece el instructivo respectivo. (SAG 2011).

Zonas de control y erradicación de tuberculosis bovina:

- Zona I de erradicación

Conformada por el territorio que va desde la provincia de Arauco (Región del Biobío) hasta la Región de Magallanes. Aquí se encuentra el 72% aproximado de los bovinos del país, por lo tanto, implica un mayor impacto en la actividad pecuaria. Por ello, el objetivo en esta zona consiste en la erradicación de la enfermedad. (SAG, 2011).

- Zona II de control

Comprende el territorio que va desde la Región de Arica y Parinacota hasta la del Biobío (excepto la provincia de Arauco). En esta zona se encuentra alrededor del 28% de los bovinos, lo que implica un impacto menor en la actividad pecuaria nacional. El objetivo del proyecto en esta zona consiste en disminuir la presentación de la enfermedad a menos del 1,3% de los rebaños afectados. (SAG, 2011).



Figura 6: Zonas de control y erradicación de tuberculosis bovina por SAG, 2011

Situación en Chile

En función de los resultados observados en los distintos estudios realizados relativos a la ocurrencia de la enfermedad en el país, se distinguen cuatro zonas: (SAG 2011)

- **Zona I:** de presentación esporádica. Incluye desde la Región de Tarapacá a la de Coquimbo donde, según el censo de 1997, existen 4.144 explotaciones y 50.540 bovinos. El último estudio realizado en la zona data de 1994.
- **Zona II:** de presentación endémica con prevalencia inter rebaño media a alta y niveles de infección intra rebaño altos. Incluye desde la Región de Valparaíso hasta la del Biobío. El censo de 1997 señala la existencia de 65.755 explotaciones, con 1.369.561 bovinos.
- **Zona III:** de presentación endémica con prevalencia predial baja y prevalencias intra rebaño bajas aunque algunos rebaños presenten tasas altas. Incluye las regiones de la Araucanía y de los Lagos, exceptuando las provincias de Chiloé y Palena. Esta zona (según el censo de 1997) cuenta con 73.675 explotaciones y 2.236.906 bovinos.
- **Zona IV:** de presentación esporádica con muy baja prevalencia, tanto inter como intra rebaños; existen áreas sin infección. Corresponde a las provincias de Chiloé y Palena de la Región de los Lagos y las regiones de Aisén y de Magallanes. El número de explotaciones según el censo de 1997 es de 16.513 y 439.142 bovinos.

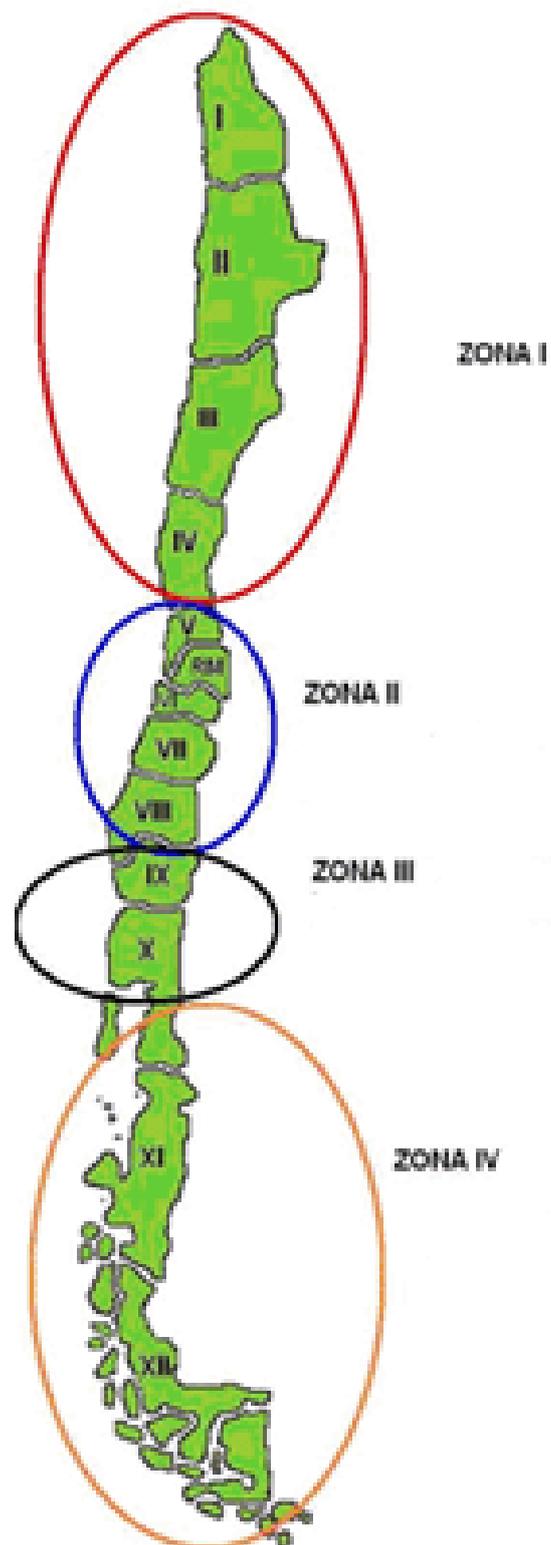


Figura 7: Zonas de ocurrencia de tuberculosis bovina en Chile por SAG, 2011

Situación mundial

La distribución geográfica de la tuberculosis bovina ha cambiado considerablemente en las últimas décadas. Antes de la introducción de medidas de control y la pasteurización de la leche en los países desarrollados, la tuberculosis estaba ampliamente distribuida en todo el mundo. Los programas de erradicación basados en políticas de vigilancia y de pruebas de detección y sacrificio de los animales infectados, destinadas a depurar las cabañas, prácticamente eliminaron la tuberculosis del ganado en muchos países desarrollados. Hoy, muchos países de Europa y América del Norte, así como Australia, están libres de la enfermedad o a punto de erradicarla totalmente del ganado. Sin embargo, el mantenimiento de la infección de *M. bovis* en especies silvestres ha comprometido considerablemente los intentos de erradicación en países como Irlanda, Nueva Zelanda, el Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte y en partes de los Estados Unidos de América (Thoen, 2009). En los países en desarrollo, los datos sobre la prevalencia de la tuberculosis bovina son mínimos y puede que la información disponible no represente la verdadera situación epidemiológica de la enfermedad. Aunque la tuberculosis bovina es una enfermedad de declaración obligatoria, a menudo no se notifica lo suficiente, especialmente en países que carecen de sistemas eficaces de vigilancia y notificación de enfermedades. El carácter insidioso de la enfermedad, que no provoca brotes fulminantes con elevadas tasas de mortalidad, probablemente disminuya el reconocimiento y notificación, lo que se traduce en una falta de medidas de control. Sin embargo, a pesar de la subnotificación de la enfermedad en los países en desarrollo, existen pruebas suficientes que indican que la prevalencia de la enfermedad es mayor en las naciones en desarrollo y que, además, a falta de programas nacionales de control y erradicación, la enfermedad va en aumento en el mundo entero, especialmente en África, Asia y América Latina (Thoen, 2009). Según la base de datos del sistema mundial de información zoonosológica (WAHID) de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), 70 países notificaron casos de tuberculosis bovina en sus poblaciones vacunas en 2010, y 49 países en 2011. Es muy difícil determinar con precisión el impacto económico de la tuberculosis bovina en la producción ganadera. La enfermedad reduce la productividad del ganado y puede tener efectos económicos devastadores en la industria ganadera, especialmente en el sector lechero. Los rendimientos lecheros y la tracción animal pueden disminuir considerablemente, con consecuencias directas para los medios de vida de los ganaderos de escasos recursos. Más importante es el impacto de la infección en los seres humanos, particularmente en las mujeres y los niños, que parecen ser más susceptibles a la

enfermedad en países con condiciones socioeconómicas deficientes y servicios veterinarios y de salud pública inadecuada. Aunque las estimaciones de los costos asociados a la tuberculosis bovina y el control de ésta no se refieren más que a determinados países, todos los datos sugieren que las pérdidas económicas mundiales ocasionadas por la enfermedad son cuantiosas. Tales pérdidas comprenden aquellas relacionadas con la producción, los mercados y el comercio de animales, así como los costos de aplicación de programas de vigilancia y control. Las pérdidas ocasionadas por la tuberculosis también son muy significativas cuando las especies de animales silvestres resultan afectadas. (FAO, 2012).

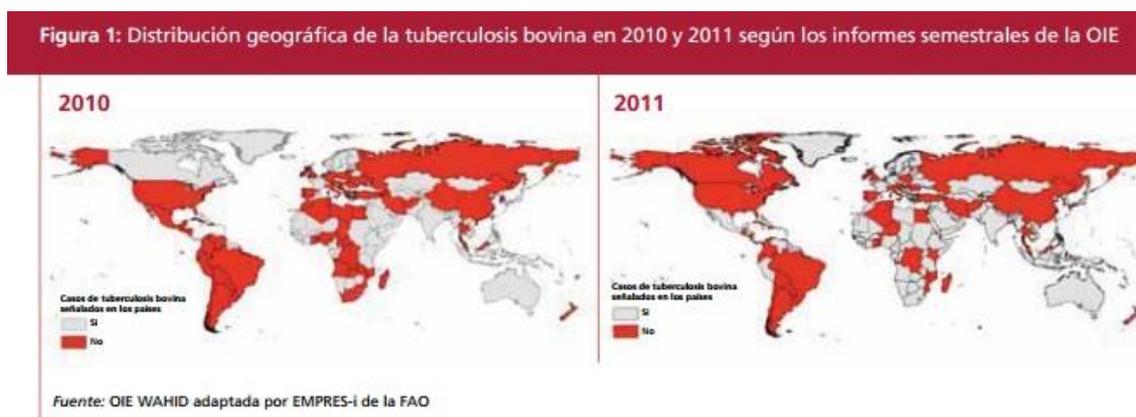


Figura 8: Distribución mundial de tuberculosis bovina según la OIE por FAO, 2012

Si bien la tuberculosis bovina alguna vez estuvo presente en el mundo entero, los programas de control prácticamente eliminaron esta enfermedad de los animales domésticos, en muchos países. Los países que actualmente se clasifican como libres de tuberculosis son Australia, Islandia, Dinamarca, Suecia, Noruega, Finlandia, Austria, Suiza, Luxemburgo, Letonia, Eslovaquia, Lituania, Estonia, República Checa, Canadá, Singapur, Jamaica, Barbados e Israel. Se están implementando programas de erradicación en otros países europeos, Japón, Nueva Zelanda, EE. UU, México y algunos países de América Central y del Sur. Aunque la tuberculosis bovina se erradicó de la mayoría de los estados de EE. UU; se continúan detectando algunos rodeos infectados y es por eso que algunos estados periódicamente pierden la categoría de “libres de la enfermedad”. Particularmente, un foco de infección en ciervos de cola blanca complicó la tarea de erradicación en Michigan. Canadá se considera libre de tuberculosis bovina desde 2006. Esta categoría incluye al Parque Nacional Riding Mountain de Manitoba, que anteriormente había sido la única parte de Canadá no incluida en la categoría “libre de tuberculosis”. Sin embargo, de tanto en tanto se detectan casos positivos, como en el 2008, cuando se confirmó un resultado positivo mediante el programa de vigilancia de la CFIA en la zona del Parque Nacional

Riding Mountain. Este hallazgo no afectó la categoría de “libre de tuberculosis bovina” de Manitoba, según las regulaciones de sanidad animal vigentes; tampoco se vio afectado por este hallazgo, el estatus de Canadá para la comercialización de animales y productos de origen animal al exterior. Existen problemas semejantes con tejones infectados en el Reino Unido e Irlanda y con las zarigüeyas infectadas en Nueva Zelanda. La tuberculosis bovina aún está diseminada en África, partes de Asia y en algunos países del Medio Oriente. (CFSPH, 2009).

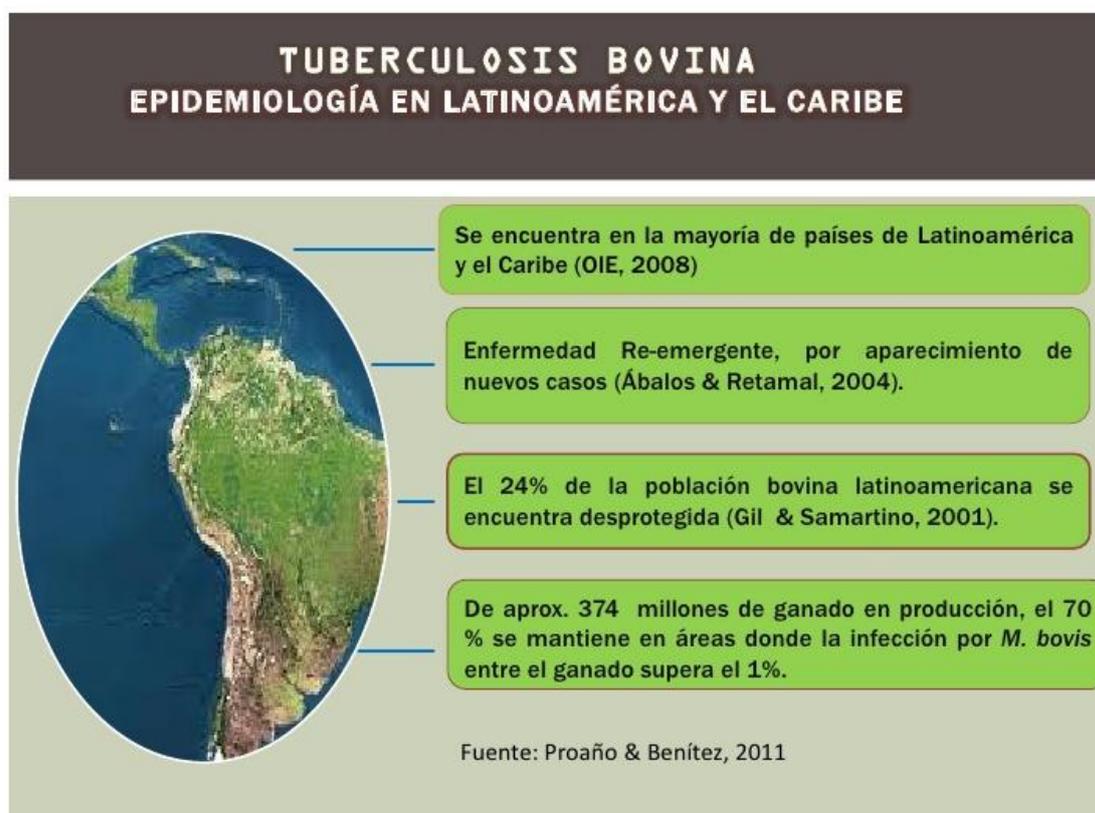


Figura 9: Epidemiología en Latinoamérica y el Caribe de tuberculosis Bovina por Proaño y Benítez, 2011

Salud pública

La tuberculosis bovina es una enfermedad zoonótica que puede tener graves consecuencias en la salud pública. La transmisión de *M. bovis* del ganado a los seres humanos era frecuente en los países desarrollados, pero la infección humana se ha eliminado prácticamente en los países que cuentan con programas eficaces de erradicación de la enfermedad en el ganado y niveles elevados de inocuidad alimentaria, especialmente gracias a la pasteurización de la leche. La incidencia de la tuberculosis humana debida a *M. bovis* varía considerablemente de un país a otro según la prevalencia de la enfermedad en el ganado, las condiciones socioeconómicas, los hábitos de consumo y las prácticas de higiene de los alimentos. En los países desarrollados, *M. bovis* generalmente representa una parte insignificante del número total de casos de tuberculosis en los seres humanos. Causa menos del 2 % de todos los casos de tuberculosis en los Estados Unidos de América (CDC, 2011), y se ha estimado que ocasiona menos del 1,5 % de los casos humanos confirmados en el Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte (de la Rúa-Domenech, 2006). En los Países Bajos, la infección por *M. bovis* representó alrededor del 1,4 % de todos los casos de tuberculosis de 1993 a 2007 (Majoor, 2011).

En los países en desarrollo, la incidencia de la tuberculosis humana debida al *M. bovis* es difícil de determinar con precisión, y probablemente permanezca subnotificada debido a las limitaciones de muchos laboratorios de diagnóstico para aislar el microorganismo y distinguir el *M. bovis* del *M. tuberculosis*. La prevalencia de la enfermedad es probablemente mayor en los países en que la infección por *M. bovis* es endémica en el ganado y la leche normalmente no se pasteuriza. Algunos informes han considerado que el *M. bovis* representa del 10 al 15 % de los casos de tuberculosis humana (Cosivi, 1998), mientras que otras estimaciones varían del 0,4 al 8 %, lo que demuestra que el *M. bovis* es un factor importante en la tuberculosis humana (Grange, 2001). El consumo de productos lácteos no tratados procedentes de vacas infectadas es la forma habitual de transmisión de la tuberculosis de animales a personas. Esta forma es particularmente peligrosa para los niños en las zonas rurales, que parecen ser más susceptibles a la enfermedad. La infección también puede transmitirse a través del aire, especialmente cuando los seres humanos trabajan en proximidad al ganado o a canales infectados y/o comparten alojamiento con los animales. Aunque no ocurre con frecuencia, las personas que padecen de tuberculosis por *M. bovis* pueden retransmitir la infección al ganado. Existen pruebas cada vez más concluyentes que confirman la probabilidad de transmisión por aire del *M. bovis* entre

seres humanos a partir de pacientes con enfermedad pulmonares, pero no se conoce la contribución relativa de esta forma a las nuevas infecciones en seres humanos (LoBue, LeClair et al, 2004).

Al igual que en el caso de la infección por *M. tuberculosis*, el riesgo de infección por *M. bovis* en los seres humanos es probable que aumente en los lugares con una elevada prevalencia del VIH/sida, debido a la mayor susceptibilidad de los pacientes inmunodeficientes a causa del sida. En muchos países desarrollados se han notificado casos de tuberculosis humana relacionada con el VIH debidos a *M. bovis* (OMS, 1994). El impacto potencial de una pandemia del sida o de infecciones por el VIH en la transmisión de *M. bovis* a seres humanos y entre ellos, constituye una gran preocupación y requiere una cuidadosa atención allí donde la tuberculosis bovina sigue siendo un problema importante (OMS, 1994; Grange, 2001).

Prevalencia de tuberculosis en predios de la Región Metropolitana, estudio de CALS en el año 2008

En los predios que participaron a través de Diagnóstico CALS, se realizó la prueba de Tuberculina simple en pliegue anocaudal con lectura a las 72 horas post inoculación con 0,1 ml de PPD Bovino.

La inoculación se realizó en tercio medio del pliegue anocaudal interno, previa desinfección de la zona con alcohol 70°. Para esto se utilizó pistola dosificadora de tuberculina Henke-Ject TBC® de Henke Sass Wolf y una aguja nueva por animal de 25 G x 5/8.

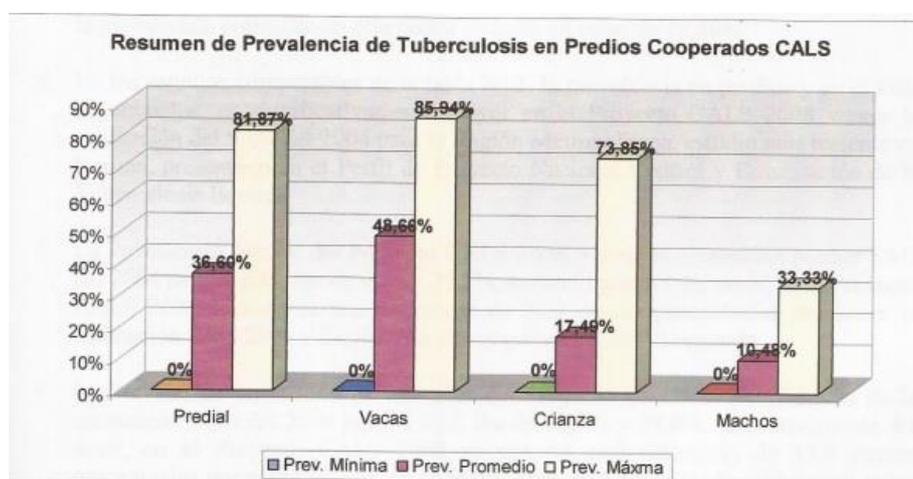
Con los resultados de los predios que participaron por medio de diagnóstico CALS y de aquellos que participaron a través de encuesta epidemiológica, se determinó la Prevalencia Predial, Prevalencia en Vacas y Prevalencia en Crianza y Machos.

Resumen Prevalencia Tuberculosis Predios Diagnóstico CALS y Encuesta Epidemiológica:

| Tabla N° 2: Prevalencia Tuberculosis DC y EE | | | |
|--|--------------|----------------|--------------|
| Tipo Prev. | Prev. Mínima | Prev. Promedio | Prev. Máxima |
| Predial | 0% | 36,60% | 81,87% |
| Vacas | 0% | 48,66% | 85,94% |
| Crianza | 0% | 17,49% | 73,85% |
| Machos | 0% | 10,48% | 33,33% |

Figura 10: Prevalencia TB Predios de RM por CALS, 2008.

Gráfico 1: Gráfico de barras sobre prevalencia de TB en RM por CALS, 2008.



| Tabla N° 3: Comparación Estudio CALS con Estudios SAG en RM | | | | | | |
|---|--------------------------|-------------------------|-------------|---------------------------|--------------------------|-------------|
| Estudio | N° de Predios Chequeados | N° de Predios Reactores | Prevalencia | N° de animales Chequeados | N° de animales Reactores | Prevalencia |
| SAG 94' | 45 | 41 | 91,1% | 1.035 | 559 | 54,0% |
| SAG 04' | 71 | 51 | 71,8% | 2656 | 791 | 29,8% |
| DC y EE 08' | 26 | 25 | 96,2% | 14099 | 5009 | 35,5% |
| DC y EE vacas 08' | 25 | 24 | 96,0% | 9561 | 4369 | 45,7% |
| DC y EE crianza 08' | 26 | 22 | 84,6% | 4473 | 632 | 14,1% |
| DC y EE machos 08' | 7 | 4 | 57,1% | 55 | 7 | 12,7% |

En la tabla N° 3 se observan marcados en amarillo, los estudios comparables, es decir, la estimación SAG del año 2004 y la evaluación del sector vacas del Proyecto CALS 2008. Lo anterior, debido a que en la estimación SAG se chequearon principalmente animales del sector productivo para el análisis.

Figura 11: Comparación estudio CALS con estudios SAG en RM de Tuberculosis por CALS, 2008.

Conclusiones CALS 2008

1. La prevalencia promedio en los predios evaluados fue de 36,6 %, con valores que van entre el 0 y 81,87%
2. Como se esperaba, la mayor proporción de animales Reaccionantes se encuentra en el sector productivo (vacas) versus el sector crianza, promediando 48,66% y 17,49% para ambos sectores, respectivamente. Esta situación se observó en la mayoría de los predios evaluados, excepto en un predio donde existe mayor prevalencia en el sector crianza que en vacas.
3. En aquellos predios donde se evaluó los machos de la explotación (terneros o toros), la prevalencia promedio en este sector alcanzó un valor de 10,48%.
4. En los estudios comparables de la Figura 12, la prevalencia en predios y en el total de animales, es significativamente mayor en el proyecto CALS 2008 versus la estimación del SAG del 2004 para la Región Metropolitana, estudio más reciente en la zona, presentado en el Perfil de Proyecto Nacional Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina.
5. La prevalencia predial del proyecto CALS 2008, versus la estimación predial SAG del 2004 para la RM, fue de 96% y 71,8%, respectivamente

Hipótesis

La seroprevalencia de la parcela N° 31 sector el Ajial, de la comuna de Curacaví debe ser igual o superior al 36,6 %, de la Región Metropolitana, según estudio del CALS realizado en el año 2008 a nivel Región Metropolitana.

Objetivos

Objetivo General:

Determinar la seroprevalencia de Tuberculosis bovina en la parcela N° 31 sector el Ajial de 33 bovinos, ubicado en la comuna de Curacaví.

Objetivo Específico:

Determinar el número de Bovinos mayores a 6 meses de edad positivos a Tuberculosis Bovina.

Determinar cuantitativamente reacción del pliegue inoculado de los bovinos afectados con Tuberculosis Bovina, mediante prueba de diagnóstico Prueba de Tuberculina (PAC) para calcular la prevalencia de la enfermedad en ese predio.

Materiales

- 33 bovinos
- Manga de sujeción
- Reactivo de tuberculosis PPD 1 frasco de 50 ml
- 33 jeringas de 1 ml
- 33 agujas de tuberculina
- Guantes
- Algodón
- Alcohol
- Contenedor de residuos
- Planilla de protocolo de tuberculosis

Métodos

1. Se visitó la parcela N° 31 sector el Ajial ubicado en la comuna de Curacaví, donde obtuvieron las muestras de 33 bovinos mayores a los 6 meses.
2. Para la detección de la enfermedad mediante PAC se tomaron inocularon los reactivos de tuberculosis PPD en el pliegue ano caudal a 33 bovinos del predio, que representan el 100% de los bovinos mayores a 6 meses de vida.
3. Se procedió a introducir a los animales a la manga de sujeción para luego observar y limpiar la zona a inocular con algodón y alcohol.
4. Posteriormente se cargó jeringa de 1 ml con 0,1 ml de PPD bovino para ser inoculado de forma intradérmica en el tercio medio del pliegue ano caudal, provocando la formación de una pápula con el tamaño de una lenteja.
5. Una vez que estén tuberculinizados, se procedió a la lectura, después de 72 horas de forma unitaria para cada animal, para verificar si eran reaccionantes (R) a la prueba de tuberculina. Aquellos que presenten la aparición de rubor, calor o cualquier otro signo de inflamación se registrarán como reaccionantes (R) y los que no presenten cambios serán registrados como no reaccionantes (NR) a la prueba de tuberculina.
6. Finalmente los resultados fueron comunicados al PRODESAL de Curacaví, para que sea informado al Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), para continuar con el conducto regular.

Técnica de diagnóstico de TB por método PAC según SAG

1. Materiales:

- Jeringa con graduación de 0,1 ml, automática o desechable.
- Agujas de tuberculina de calibre 26 Gx3/8 o en su defecto de 26 Gx1/2.
- Tuberculina PPD Mamífero o PPD bovino.
- Papel absorbente o algodón hidrófilo.
- Protocolo de Resultados de Pruebas Tuberculínicas PAC/PCS, foliado con el nombre o número región seguido de un N° correlativo.
- Protocolos de Resultados de Pruebas Tuberculínicas con Medición PAC/PCS/PCC (prueba cervical comparada), en caso interpretación cuantitativa de la PAC.
- Contenedor aislante y material refrigerante.
- Guantes quirúrgicos.
- Cutímetro o pie de metro.

2. Punto de inoculación:

1. El MVA o el MVO deberán asegurarse que el animal se encuentre suficientemente inmovilizado, con el fin de asegurar una correcta aplicación de la tuberculina.
2. El sitio de inoculación se debe limpiar en seco, sin la utilización de desinfectantes.
3. Se inyecta 0,1 ml de PPD Mamífero en forma intradérmica, aproximadamente a 6 cm de la base de la cola y en la parte central del pliegue externo.
4. Una vez inoculada la tuberculina, en el sitio de la inyección se debe observar o detectar a la palpación una pequeña pápula del tamaño de una lenteja. La ausencia de esta pápula indicará que la inoculación fue subcutánea, por lo cual la operación deberá repetirse en el pliegue opuesto debiendo quedar registrado este evento en el Protocolo de Resultados de Pruebas Tuberculínicas PAC/PCS.
5. Si existiera alguna anomalía en el pliegue elegido, se deberá inocular en el pliegue del lado opuesto, dejando constancia de este hecho en el Protocolo de Resultados de Pruebas Tuberculínicas PAC/PCS.

6. En el Protocolo de Resultados de Pruebas Tuberculínicas PAC/PCS se anotarán por cada animal: número del autocrotal, categoría, edad y el resultado de la prueba.

3. Lectura cualitativa:

La lectura de la prueba tuberculínica se realizará en el pliegue inoculado, a las 72 horas (+/- 6 horas) post aplicación y en ella se podrá encontrar lo siguiente:

- No existe reacción, pliegue se mantiene similar al opuesto.
- Existe reacción en forma de engrosamiento circunscrito
- Existe reacción en forma de edema difuso del pliegue.

4. Interpretación cualitativa:

Una vez efectuada la lectura de la prueba de tuberculínica, la interpretación será:

- Animal negativo: Cuando no se observe, ni se palpe ningún cambio en la piel del sitio de aplicación de la tuberculina. Anotar en la casilla correspondiente del Protocolo de Resultados de Pruebas Tuberculínicas PAC/PCS frente a la identificación del animal y en la misma fila, el resultado con una letra N, (negativo a la prueba).

- Animal reactor: se puede distinguir dos situaciones:

a. En un predio sin chequeo previos, negativo o libre, cuando sea visible y/o palpable cualquier engrosamiento o edema que pueden ir acompañados de: rubor, calor, dolor o necrosis en el sitio de aplicación, anotar en la casilla correspondiente del Protocolo de Resultados de Pruebas Tuberculínicas PAC/PCS frente a la identificación del animal y en la misma fila, el resultado con una letra R (reacción a la tuberculina).

b. En caso de predios cuarentenados y que tengan animales reactores, anotar en la casilla correspondiente del Protocolo de Resultados de Pruebas Tuberculínicas PAC/PCS frente a la identificación del animal y en la misma fila, el resultado con una letra P (animal positivo).

5. Lectura cuantitativa:

La lectura en el pliegue inoculado con tuberculina se realizará de la misma manera que para la forma cualitativa, sin embargo si se detecta un aumento de volumen, se mide con el cutímetro o pie de metro el pliegue inoculado y posteriormente el pliegue contrario. Las dos lecturas se registrarán expresadas en mm. en las columnas señaladas como lectura PPD bovino del Protocolo de Resultados de Pruebas

Tuberculínicas con Medición PAC/PCS/PCC (prueba cervical comparada). Se debe encerrar en un círculo la prueba que se está registrando. En la columna mm. final se anotará la medida del pliegue inoculado en mm. con un decimal, y en la columna mm. inicial se anotará la medida del pliegue contrario en mm con un decimal. En la columna mm diferencia se anota el resultado de mm final – mm inicial. La interpretación de la prueba se anotará en el extremo derecho bajo la columna resultado.

6. Interpretación cuantitativa:

Una vez efectuada la lectura de la prueba tendremos:

- Animal negativo: Si la diferencia de medida entre el pliegue inoculado y el opuesto es menor a 3 mm, se considerará animal negativo. Anotar en la casilla correspondiente del Protocolo de Resultados de Pruebas Tuberculínicas con Medición PAC/PCS/PCC (prueba cervical comparada) frente a la identificación del animal y en el extremo derecho de la misma fila, el resultado con una letra N (negativo a la prueba)

- Animal reactor: Si la diferencia medida entre el pliegue inoculado y el opuesto es de 3 mm o mayor se considerará animal reactor. Anotar en la casilla correspondiente del Protocolo de Resultados de Pruebas Tuberculínicas con Medición PAC/PCS/PCC (prueba cervical comparada) frente a la identificación del animal y en el extremo derecho de la misma fila, el resultado con una letra R (de reacción a la tuberculina). Estos animales deberán pasar a la prueba cervical comparada o enviarse a matadero para su seguimiento.



Figura 12: Principales Elementos para Prueba Tuberculínica por SAG, 2009

Nota: de izquierda a derecha: 1. Rasuradora 2. Frasco tuberculina PPD M . avium (arriba) 3. Frasco Tuberculina PPD M. bovis 4. Aguja tuberculina calibre 26 G x 3/8 5. Jeringa de tuberculina de 1 ml, con calibración de 0,1 ml (plástica – desechable) 6. Cutímetro tipo pie de metro (plástico) 7. Cutímetro tipo reloj (metálico).

Fórmula de Prevalencia (P):

Para determinar la prevalencia de la TB presente en la parcela N° 31 sector el Ajial de la comuna de Curacaví, se calculará con la siguiente formula epidemiológica. (Quinn, 2004).

$$P = \frac{\text{Número de bovinos enfermos en un momento en el tiempo}}{\text{Número total de animales en riesgos en ese momento en el tiempo}} \times 100$$

Presentación de resultados

De un total de 33 bovinos que fueron sometidos a la prueba para detectar Tuberculosis Bovina, resultaron como reaccionantes a la prueba x ejemplares, lo cual nos da una prevalencia del x % en la parcela N°31 sector el Ajial de la comuna de Curacaví.

Tabla 1: Resultados de la prueba PAC

| | (DIO) | Edad | (R) | (NR) |
|----------|------------|----------|-----|------|
| Vaquilla | 012368972 | 1 año | + | |
| Vaquilla | 012367751 | 1 año | | - |
| Vaquilla | 010576161 | 1 año | | - |
| Vaquilla | 012368862 | 1 año | | - |
| Vaquilla | 011256852 | 1 año ½ | | - |
| Novillo | 012368981 | 1 año ½ | | - |
| Vaca | 012368982 | 1 año | | - |
| Vaca | 005341637 | 1 año ½ | | - |
| Vaca | 0112368864 | 1 año ½ | | - |
| Vaca | 012368955 | 2 años | | - |
| Vaca | 012368866 | 2 años | | - |
| Vaca | 005341630 | 2 años | | - |
| Vaca | 012368869 | 2 años | | - |
| Vaca | 012368961 | 3 años | | - |
| Vaca | 006616393 | 3 años | | - |
| Vaca | 006711551 | 3 años | | - |
| Vaca | 005341640 | 3 años | | - |
| Vaca | 006711429 | 3 años ½ | | - |
| Vaca | 004063254 | 3 años ½ | | - |
| Vaca | 004063238 | 3 años ½ | | - |
| Vaca | 008766681 | 4 años | | - |
| Vaca | 008766689 | 4 años | | - |
| Vaca | 004063235 | 4 años | | - |
| Vaca | 004063232 | 4 años | | - |
| Vaca | 004063247 | 4 años | | - |
| Vaca | 004063231 | 4 años ½ | | - |
| Vaca | 008766688 | 5 años | | - |
| Vaca | 008766682 | 5 años | | - |

| | | | | |
|------|-----------|---------|---|---|
| Vaca | 004063240 | 5 años | | - |
| Vaca | 004063237 | 5 años | | - |
| Vaca | 004527529 | 6 años | | - |
| Vaca | 008766687 | 6 años | + | |
| Toro | 012368859 | 1 año ½ | | - |

Calculo de prevalencia:

$$\text{Prevalencia} = \frac{2 \text{ casos positivos}}{33 \text{ animales muestreados}} \times 100 = 6,06 \%$$

Gráfico 2: Gráfico de torta sobre prevalencia de Tuberculosis Bovina en el predio

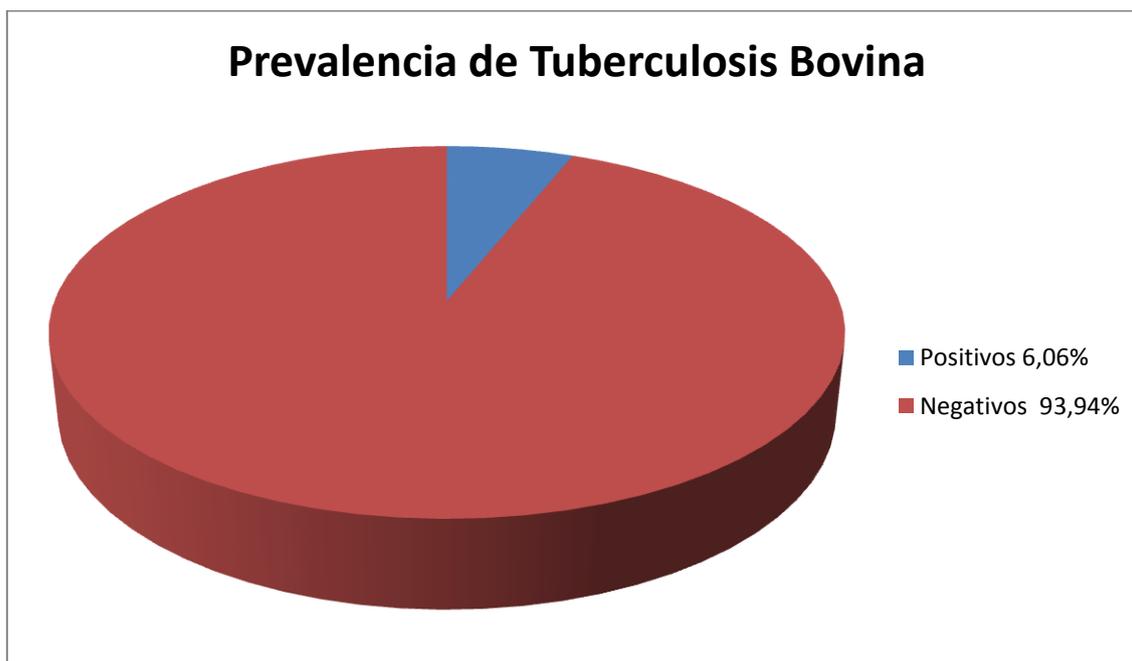
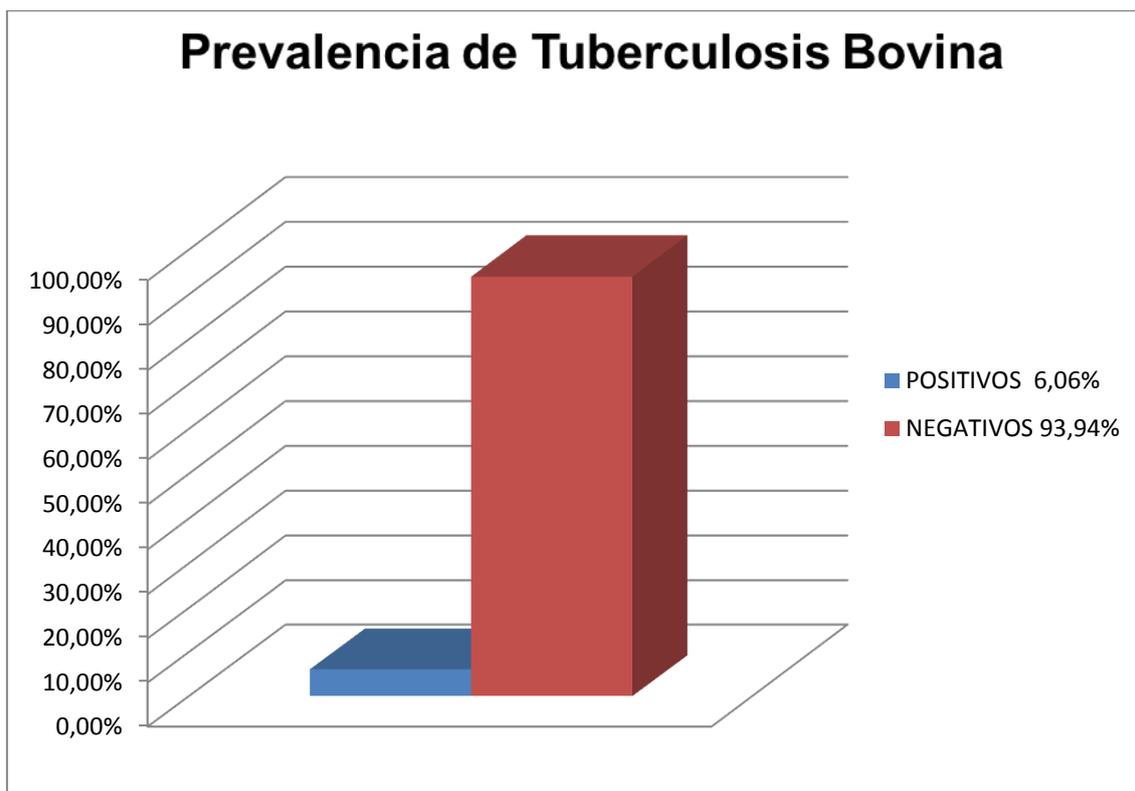


Gráfico 3: Gráfico de barras sobre prevalencia de Tuberculosis Bovina en el predio

Discusión

De los 33 animales del siguiente estudio, 2 resultaron reaccionantes a la prueba ano caudal representando el 6,06% de prevalencia en el predio. Este resultado no se compara al estudio hecho por CALS en el año 2008 lo cual resulta ser una cifra menor a nivel de Región Metropolitana donde su prevalencia era para ese año un 36,6%.

Esa diferencia se puede deber a que hoy en día existen menos cantidad de predios de lecherías en ésta zona, la mayoría ha cerrado por factores netamente climáticos (ejemplo la sequía) y la competencia de grandes empresas más hacia el sector sur del país.

Otro factor a considerar podría ser el tipo de diagnóstico realizado, ya que hoy en día existen otros métodos de diagnóstico más rápidos, con una mayor especificidad y sensibilidad como son las pruebas serológicas para el diagnóstico de Tuberculosis Bovina. Por ejemplo el Kit Bovigam 2G® y Kit ELISA IDEXX.

Según las 4 zonas epidemiológicas de Tuberculosis Bovina en Chile, que elaboro el SAG, Curacaví de la Región Metropolitana se encuentra en la Zona II en la cual la enfermedad es endémica, con un 23,6 % de prevalencia siendo esta zona la prevalencia más alta del país. Teniendo en cuenta estas referencias y comparando con la prevalencia obtenida en el predio en estudio, se puede afirmar que es una prevalencia baja ya que la prevalencia del predio fue de 6,06%. Sin embargo el resultado de la muestra utilizada para éste estudio, no es comparable con el resultado obtenido por el SAG, ya que el total de la población utilizada es una cantidad de animales menor a la que realizan ellos. Para una mayor asertividad en los resultados, se sugiere realizar varias muestras de diferentes predios a nivel nacional, cada cierto tiempo para así obtener un resultado más certero, ya que en cada predio se distintas formas de manejo y control para distintas enfermedades.

En los resultados de la prueba realizada reaccionaron 2 animales de distintas edades, una vaquilla de 1 año y una vaca de 6 años, por lo tanto, se puede inferir que la edad no es un factor determinante para esta enfermedad. Pero según el estudio realizado por CALS el sector de vacas adultas es más prevalente que la etapa de crianza en la Región Metropolitana.

Cabe destacar que ésta es una de las enfermedades con mayor porcentaje de prevalencia, por lo que el SAG ya está en vías de un control y erradicación para la enfermedad estudiada con programas dentro de la institución donde se aplica a todos

los establecimientos pecuarios bovinos del país en el desarrollo del Proyecto Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis bovina, el cual incluye los procesos y actividades relacionadas a la detección, vigilancia, clasificación, saneamiento, cuarentena, control de movimiento y certificación oficial de predios libres y unidades colectivas libres de Tuberculosis bovina y a la creación de compartimentos. Todo certificado mediante un Médico Veterinario acreditado (MVA) y el Médico Veterinario oficial (MVO).

Además ya está vigente la norma técnica 2016-2017 para el control y erradicación de la enfermedad lo cual tiene como objetivo establecer las directrices técnicas para el año 2017, en el marco del Plan de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina (TBb). Esto cuenta con un marco de regulación e instructivos técnicos que permiten que el SAG verifique la implementación de las acciones dirigidas al control de la enfermedad. El control de la tuberculosis, primero en los 90's en la zona lechera y desde 2011 con alcance nacional, ha avanzado junto a los ganaderos, Médico Veterinario Autorizados MVA y SAG, decididos a trabajar en conjunto en la difícil tarea de controlar y sanear rebaños infectados por TBb.

Finalmente, a nivel predial para mantener la infección bajo control es importante considerar el realizar medidas preventivas para evitar que la enfermedad se propague, esto se puede lograr mediante un programa de diagnóstico periódico, eliminación de los positivos y mayor preocupación por realizar prácticas higiénicas y manejos adecuados.

Conclusiones

Se determinó la prevalencia de la Tuberculosis Bovina en un predio en el sector el Ajial en la comuna de Curacaví, mediante la prueba oficial de Tuberculina ano caudal.

Se identificaron los animales reactivos, mediante la PAC, realizada con inoculación del derivado purificado de la proteína de la tuberculina (PPD).

Se determinó que la prevalencia general de Tuberculosis Bovina en dicho predio es del 6,06%. Donde reaccionaron 2 animales de un total de 33 animales.

Bibliografía

- Abalos P; Retamal P. Tuberculosis: ¿una zoonosis reemergente? Revisión científica y técnica de la oficina internacional de epizootias, 2004. <http://www.oie.int/doc/ged/D1041.PDF>.
- Bourne, J.; C. Donnelly; D. Cox; G. Gettinby; J. McInerney; I. Morrison; R. Woodroffe. (2000) Bovine Tuberculosis: towards a future control strategy. The Veterinary Record, 146: 207-210.
- Bradford P. Smith. (2010). Medicina interna de grandes animales, Cuarta edición, 661-664 pp.
- Buddle, Bovine tuberculosis in Europe from the perspective of an officially tuberculosis free country: trade, surveillance and diagnostics, 2011. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21439740>
- Castillo R. P. Departamento de Servicios CALS (Cooperativa Agrícola Lechera Santiago Ltda.), Área Sanidad Animal. Fecha de consulta noviembre/2016.
- CFSPH, The Center for Food Security and Public Health, 2009, Tuberculosis Bovina. Disponible en: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/bovine_tuberculosis-es.pdf
- Cousin, Evaluation of four DNA typing techniques in epidemiological investigations of bovine tuberculosis, 1998. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9431942>
- Cosivi, Zoonotic tuberculosis due to Mycobacterium bovis in developing countries, 1998. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9452399>
- De la Rua-Domenech, Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques, 2006. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16513150>
- Dirksen, Gerrit. 2005 Medicina Interna y Cirugía del Bovino, volumen 1 y 2 / Gerrit Dirksen: Hans- Dieter Grunder, G. Trautwein y Matthaeus, Stober.- 4ª ed.- Buenos Aires: Inter-Medica
- FAO, 2012, Boletín de enfermedades transfronterizas de los animales. Disponible en: <http://www.fao.org/>

- LoBue, LeClair et al, FAO, La tuberculosis bovina en la interfaz entre animales, seres humano y ecosistema, 2004. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i2811s/i2811s01.pdf>
- Merck & CO., (2005) Manual Merck de Veterinaria (II tomos), Sexta edición, 537-539 pp.
- Miller, Detection of Mycobacterium bovis in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues of cattle and elk by PCR amplification of an IS6110 sequence specific for Mycobacterium tuberculosis complex organisms, 1997. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9249162>
- OIE (2008). Manual de la OIE (Oficina Internacional de Epizootias) sobre animales terrestres. Tuberculosis Bovina. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/BOVINE-TB-ES.pdf
- OMS, Organización Mundial de la Salud, Informe mundial sobre tuberculosis. Disponible en: http://www.who.int/tb/publications/global_report/es/
- Patricio Berríos Etchegaray, 2012, Tuberculosis bovina. Disponible en: <http://virusberriostechegaray.blogspot.com/>
- P.J. Quinn, B.K. Markey, M.E. Carter, W.J. Donnelly, F.C. Leonard, 2004. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias, Zaragoza: Editorial Acribia.
- Radostits, Blood, O, Gay, C, Hinchcliff, K, 2002. Medicina veterinaria: tratado de enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino, equino 9ª edición. España.
- Retamal y Quezada, 2010. La tuberculosis bovina: el desafío sanitario de Chile. Revista de extensión TECNOMET, facultad de ciencias veterinarias y pecuarias de la universidad de Chile. 16 (1), 26-27-28.
- SAG. Servicio Agrícola y Ganadero, Chile. (2016). Norma técnica 2016-2017, Plan Nacional de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina. Disponible en: http://www.sag.cl/sites/default/files/nt_tb-dic2016.pdf
- SAG. Servicio Agrícola y Ganadero, Chile. (2013). Ficha técnica de Tuberculosis Bovina. Disponible en: <http://www.sag.cl/ambitos-de-accion/tuberculosis-bovina-tb>
- SAG. Servicio Agrícola y Ganadero, Chile. (2014). Ocurrencia de la Tuberculosis Bovina en Chile (2000-2014). Disponible en: http://www.sag.gob.cl/sites/default/files/ocurrencia_tb_2000_2014_ar-mv.pdf

- SAG. Servicio Agrícola y Ganadero, Chile. (2015). Instructivo técnico para el diagnóstico de Tuberculosis Bovina mediante pruebas serológicas. Disponible en: <http://www.sag.cl/sites/default/files/it-pruebas-serologicas-diagnostico-tuberculosis-bovina-v01.pdf>
- SAG, Servicio agrícola y ganadero, Chile. 2009 Instructivo, uso e interpretación de pruebas diagnósticas de campo para tuberculosis bovina: Disponible en: http://www.sag.cl/sites/default/files/i-pp-ve009_pruebas_diagnosticas_tbc.pdf
- SOPROLE. Pauta de precios. <http://www.aproleche.cl7sorpole.php>
- Thoen, Tuberculosis: a re-emerging disease in animals and humans, 2009. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20391396>
- William C. Rebhun, 1999. Enfermedades del ganado vacuno lechero, Zaragoza: Editorial Acribia.

Anexos

Anexo 1: Estudio de prevalencia de Tuberculosis Bovina en Chile año 2013

La prevalencia y la incidencia fueron calculadas en base a los predios confirmados como infectados, por lo tanto, se consideró el registro de cada Oficina sectorial de los predios clasificados infectados.

Para el cálculo de prevalencia, se tomó en cuenta el total de predios clasificados infectados (con y sin cuarentena) durante el periodo 2008 al 1er semestre del 2013 (el denominador lo conformó el universo censal del 2007). La prevalencia observada durante este periodo fue de 6,76 por mil bovinos, mayor a la observada el año pasado, mismo periodo, 5,5 por mil.

Prevalencia de Tuberculosis bovina Observada en el periodo 2008 al primer semestre del 2013 a nivel nacional.

| Zona Epidemiológica | Nº Predios, censo 2007* | Predios clasificados infectados 2008- 2013 | Prevalencia Observada 2013 (por mil) |
|---------------------|-------------------------|--|--------------------------------------|
| Control | 26.760 | 353 | 13,19 |
| Erradicación | 56.103 | 207 | 3,69 |
| Total País | 82.863 | 560 | 6,76 |

*Nº Predios c/más de 10 bov, censo 2007

Figura 13: Prevalencia de TB observada en el periodo 2008 al primer semestre del 2013 a nivel nacional. Por SAG, 2013.

Anexo 2: Esquema de certificación predio libre de Tuberculosis Bovina

Para certificar un rebaño libre de tuberculosis bovina el MVO deberá constatar administrativamente que el predio ha dado cumplimiento a una secuencia de chequeos a los bovinos elegibles en los plazos y frecuencia como se indica en el diagrama 2, y que depende si se trata de:

Predios sin infección: entendiéndose como tales aquellos de los que el Servicio no tiene antecedentes de que han tenido infección. En este caso los predios deberán:

- Contar con dos (2) pruebas ano caudal (PAC) realizadas a todos los bovinos mayores de 18 meses de edad con un intervalo entre pruebas de 180 a 240 días.

Predios con antecedentes de infección: son aquellos predios que por haber estado infectados, han tenido previamente un proceso de saneamiento. En este caso los predios deberán:

- Contar con tres (3) chequeos consecutivos negativos.
- Los intervalos entre chequeos negativos para obtener la condición de predio saneado será de 180 días como mínimo y 240 días como máximo entre cada prueba.

Para el caso de predios PABCO A anexo lechero UE, la tuberculinización se hará a los animales desde las 6 semanas de edad.

Para ambos tipos de predios, si las pruebas exigidas han sido clasificadas como negativas, el predio será sometido a una evaluación epidemiológica del médico veterinario oficial que considere al menos:

√ Análisis, entregado por el MVA, de las dotaciones animales tuberculinizadas en los dos últimos chequeos.

√ Antecedentes de muestras obtenidas de la vigilancia en mataderos.

√ En caso de predios que estuvieron en proceso de cuarentena, se deberá constatar en SIPEC que los animales reactivos se encuentren dados de baja.

√ Informe del MVA en que indica que el predio mantiene cercos y deslindes en buen estado que garanticen la contención de los animales del rebaño, e impidan el ingreso de animales que no pertenecen al predio.

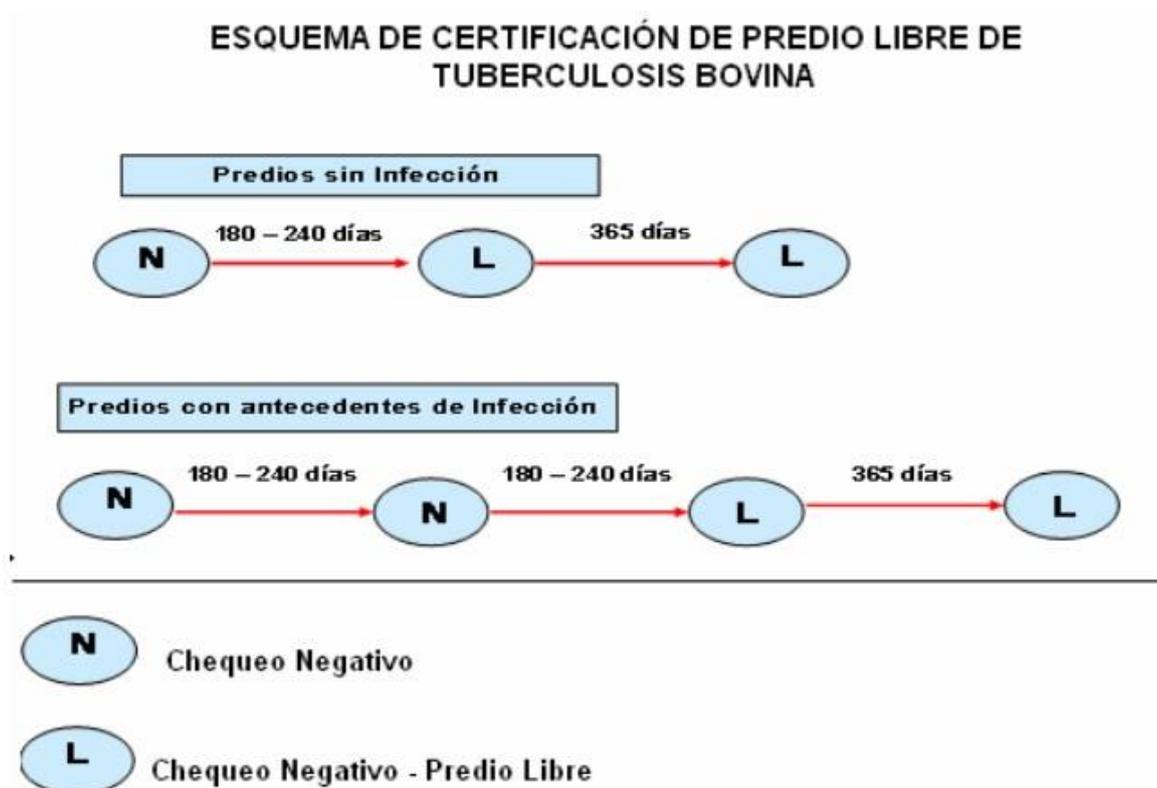


Figura 14: Esquema de Certificación de Libre de TB

Anexo 3: Aportes al control de la Tuberculosis Bovina en Chile, estudio de Consorcio lechero año 2012

Programas de control y erradicación de la TBB

De acuerdo a datos de la OIE, 128 de los 155 países miembros reportaron la presencia de infección por *M. bovis* y/o enfermedad clínica en el ganado, durante el período comprendido entre 2005 y 2008. De esta manera, el control de la TBB es un problema de preocupación mundial (Michel et al., 2010).

Existen varias razones de importancia para implementar un programa de control y erradicación de la tuberculosis bovina, las principales son el riesgo de infección para la población humana; la pérdida de la productividad en los animales infectados y las restricciones en el comercio internacional (Cousins, 2001).

El control y la erradicación de la TBB en países desarrollados como Suiza, la mayoría de los países miembros de la Unión Europea, Canadá y algunos Estados de EE.UU; ha sido llevado a cabo exitosamente, a través de programas nacionales de carácter

obligatorio. Estos programas consideran la vigilancia activa, eliminación de los infectados, restricción del movimiento y vigilancia en matadero (Cousins, 2001).

En relación a la vacunación del rebaño, durante muchos años se ha puesto en tela de juicio la efectividad del BCG (Bacillus Calmette-Guerin) para reducir la TBB y su interferencia con la prueba de la tuberculina, lo cual condiciona la venta y exportación de animales y sus productos (Marín et al., 2006). No obstante, se ha avanzado mucho por desarrollar antígenos específicos que permitan la diferenciación entre los vacunados con BCG de los infectados con *M. bovis* (Vordermeier et al., 2011).

Prevalencia en Chile

En Chile la TBB ha estado presente por más de cien años. En 1994 el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), realizó el estudio de prevalencia más significativo por su cobertura nacional, incluyó 437 rebaños lecheros con más de 40 hembras de todas las regiones del país. Los resultados observados indicaron una prevalencia predial de 38,2% y una prevalencia animal de 24,4%. En la Región de Arica y Parinacota y en la de Tarapacá no se encontró infección, mientras que las regiones de Antofagasta y Atacama los rebaños estuvieron infectados en un 25 y 33% respectivamente. Entre las regiones de Coquimbo y de los Lagos se evidenció una condición de endemismo con una prevalencia predial del 46,8% y superó la mitad de los rebaños infectados en las regiones comprendidas entre Valparaíso y Bío Bío. La región Metropolitana fue la más afectada con el 91,1% de sus rebaños infectados. Las regiones australes no presentaron evidencias de infección por *M. bovis* en proporción superior al 1% (Paredes, 2008).

Estudios posteriores realizados en el año 2004 en bovinos lecheros, muestran prevalencias prediales y animales respectivamente de 63,8% y 30% en la V Región, 48% y 17,3% en la VI región, 40,4% y 15,5% en la VII Región, y 71,8% y 29,8% en la Región Metropolitana. Entre los años 2002- 2004 en la VIII región, se chequearon 1382 rebaños, encontrándose el 21% de los rebaños infectados. En la XI Región desde el año 2004 se han chequeado rebaños, encontrándose el 7,65% de los rebaños reactores y en la XII región entre el año 2005-2006 no se han encontrado animales reactores (Paredes, 2008).

Vigilancia en mataderos en Chile

En mataderos la tasa anual de decomisos en el año 1996 fue de 3,2 casos por cada 1000 animales beneficiados, aumentando continuamente hasta el año 2005, alcanzando un valor de 19 casos/1000 (Paredes, 2008). La mayor frecuencia de

decomisos sería reflejo de diferentes sistemas de inspección sanitaria, el bono que la industria lechera comenzó a pagar por los rebaños certificados libres y la puesta en marcha en el 2009 del programa nacional de control y erradicación (Max, 2011). A partir de ese año, se comenzaron a implementar actividades de vigilancia en los mataderos más importantes del país. Las muestras de tejido se examinan en laboratorios estatales usando como prueba la RT-PCR, dependiendo del resultado se realiza histología y cultivo para *M. bovis*. Todas las muestras positivas a la RT-PCR son cultivadas para estudios de tipificación que permitan identificar las cepas a nivel nacional (Max et al., 2011). Retamal et al., demostró la existencia en bovinos beneficiados en la Región Metropolitana de cepas de *M. bovis* sin la secuencia IS6110, sin embargo todas las cepas presentaban IS1081, sugiriendo su potencial para ser usada como técnica de tipificación adicional de este microorganismo. En Chile existe información epidemiológica limitada, la aplicación de técnicas moleculares para el diagnóstico y tipificación, más sensibles, específicas y rápidas que las pruebas tradicionales, permitirán mejorar el conocimiento de la epidemiología de la infección y facilitar las decisiones para su control (Retamal et al., 2003).

Animales silvestres en Chile

En Chile, no existe evidencia que la fauna silvestre actúe como reservorio capaz de mantener la infección y que sea una amenaza para los rebaños (Max et al., 2008). Hasta la fecha, no existen publicaciones al respecto, debido a la importancia de los animales silvestres en la transmisión de la enfermedad en otros países, es necesario considerar la creación de bases de datos y redes que apoyen la investigación en tuberculosis en otras especies en el país.

Humanos en Chile

La incidencia de tuberculosis humana en Chile en el año 2010 fue de 19 casos por 100.000 habitantes, de acuerdo a la OMS (Who, 2010). Sin embargo, no se han registrado casos de zoonosis en el país por *M. bovis*. Debido a la alta prevalencia de la enfermedad en los rebaños del país es necesario mantener una vigilancia permanente de esta zoonosis (Mancilla et al., 2006).