



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

**“DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA EN LA
HACIENDA PUCATE DEL CANTÓN CHAMBO PROVINCIA DE CHIMBORAZO”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

**Previa a la obtención del título de
INGENIERA ZOOTECNISTA**

AUTORA

SILVIA MARIELA VINUEZA COBA

RIOBAMBA- ECUADOR

2015

El trabajo de titulación fue aprobado por el siguiente tribunal

Ing. M.C. Hermenegildo Díaz Berrones.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. M.C. José Vicente Trujillo Villacís.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Dr. Cesar Antonio Camacho León.

ASESOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Riobamba, 14 de Diciembre del 2015.

AGRADECIMIENTO

Agradezco al Ing. Vicente Trujillo, Dr. Cesar Camacho por su apoyo incondicional en la realización del presente trabajo de titulación,

A mi madre que me supo apoyar en todas las etapas más importantes de mi vida.

DEDICATORIA

A Dios y a mi madre Anita Coba por darme la vida, apoyo y fuerza para seguir adelante porque me han enseñado a ser una mujer de bien y no a desmayar en la lucha para seguir mis sueños e ideales.

A mi hija Sofía por ser mi motivo más grande de superación.

A mis hermanas y hermano por su apoyo incondicional en mi vida.

CONTENIDO

	Pág.
Resumen	v
Abstract	vi
Lista de Cuadros	vii
Lista de Gráficos	viii
Lista de Anexos	ix
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	4
A. TUBERCULOSIS BOVINA	4
1. <u>Definición</u>	4
2. <u>Síntomas y lesiones</u>	5
3. <u>Efectos de la tuberculosis</u>	5
4. <u>Patogenia</u>	6
5. <u>Fases de la tuberculosis bovina</u>	6
a. Tuberculosis primaria o período del complejo primario.	7
b. Tuberculosis secundaria o período de diseminación post primaria	7
6. <u>Formas de contagio de la tuberculosis</u>	9
7. <u>Técnicas de diagnóstico de tuberculosis bovina</u>	9
8. <u>Prueba de la tuberculina</u>	10
9. <u>Prueba tuberculínica simple</u>	11
a. Prueba tuberculínica ano-caudal	12
10. <u>Control de la tuberculosis bovina</u>	13
11. <u>Tratamiento de la tuberculosis bovina</u>	15
12. <u>Prevención</u>	15
13. <u>Producción de Tueberculina</u>	16
a. Manejo del inóculo	16
(1) <u>Características del inóculo</u>	16
(2) <u>Método de cultivo</u>	16
(3) <u>Validación</u>	16
b. Método de fabricación	17
c. Control durante el proceso	17
14. <u>Tuberculina aviar</u>	18
a. Descripción	18

b. Tipo de cepa	18
c. Pureza, especificidad	18
d. Inocuidad	19
e. Esterilidad	19
f. Potencia o eficacia inmunológica	19
15. <u>Decomiso de animales positivos</u>	20
16. <u>Perdidas económicas</u>	20
III. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	25
A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	25
B. UNIDADES EXPERIMENTALES	25
C. MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS	26
1. <u>Materiales</u>	26
2. <u>Equipos</u>	26
3. <u>Insumos</u>	26
D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL	27
E. MEDICIONES EXPERIMENTALES	27
F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	27
G. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN	28
1. <u>Identificación de la zona de estudio</u>	28
2. <u>Categorización de los bovinos</u>	28
3. <u>Procedimiento de la inoculación de PPD</u>	28
4. <u>Procedimiento para la lectura</u>	29
5. <u>Interpretación de resultados</u>	29
IV. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	30
A. DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS DE ACUERDO A LA CATEGORIZACIÓN ZOOTÉCNICA	30
B. GRADO DE INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS EN VACONAS.	32
C. GRADO DE INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS EN VACAS SECAS	33
D. GRADO DE INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS DE VACAS EN PRODUCCION	35
E. PRODUCCION DE LECHE	37
F. PESOS DE BOVINOS MUESTREADOS	37
G. ANÁLISIS ECÓNOMICO	39
V. <u>CONCLUSIONES</u>	41

VI. RECOMENDACIONES

42

VII. LITERATURACITADA

43

ANEXOS

RESUMEN

En las instalaciones de la hacienda "Pucate" en el Cantón Chambo de la provincia de Chimborazo, se evaluó la reacción de la sensibilidad retardada al Derivado P0roteíco Purificado de Tuberculosis Bovina a un total de 136 Bovinos categorizados de acuerdo a la etapa fisiológica que son: 26 vaconas con un peso promedio de 172.65 Kg, 33 vacas secas con 281,76 Kg, y 75 vacas en producción con un peso de 413,65 Kg. Al realizar el análisis de los resultados se encontró que hay una vaca en producción positiva con un total de 0,73 % de prevalencia en el total del hato lo cual indica que hay mayor incidencia de Tuberculosis en la categoría de vacas en producción, la producción de leche de los 75 bovinos es de 1140 litros, con una media de 15,20 litros vaca/día, se indica que teniendo en cuenta que hay una vaca prevalente posiblemente si afecta en la producción de leche y hay una influencia negativa en el aspecto económico, productivo y reproductivo.

ABSTRACT

Delayed-sensitivity reaction to purified protein derivative of bovine tuberculosis was evaluated at "Pucate" farm facilities belonging to Chambo Canton, Chimborazo province. A total of 136 bovines categorized according to the physiological stage were elected for this study: 26 calves with weight of 172.65 Kg, 33 dry cows with 281.76 Kg, and 75 cows in production with weight of 413.65 kg. By analyzing the results, a dairy cow from the total of herd was found with a total of 0.73 % of prevalence that means that there is a greater incidence of tuberculosis in the category of dairy cows. /day. It is concluded that if there a cow with prevalence milk production might be affected and therefore there will be a negative influence in the economy, production and reproduction.

LISTA DE CUADROS

Nº		Pág.
1.	CONDICIONES METEOROLOGICAS DEL CANTÓN CHAMBO.	19
2.	RESULTADOS Y PORCENTAJES DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS (<i>MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS</i>), EN BOVINOS DE ACUERDO A LAS CATEGORÍAS ZOOTÉCNICA.	24
3.	RESULTADOS Y PORCENTAJES DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>), EN VACONAS.	26
4.	RESULTADOS Y PORCENTAJES DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>), EN VACAS SECAS.	28
5.	RESULTADOS Y PORCENTAJES DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>), EN VACAS EN PRODUCCIÓN.	29
6.	RESULTADOS Y PORCENTAJES DE LOS PESOS DE BOVINOS MUSTREADOS.	32
7.	PERDIDAS DIRECTAS ANUALES POR LA PRESENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA.	34

Nº

LISTA DE GRÁFICOS

Pág.

1. Prevalencia de Tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*), en bovinos de acuerdo a las categorías zootécnicas. 25
2. Resultados y porcentajes de la prevalencia de tuberculosis (*mycobacterium tuberculosis*), en vaconas. 27
3. Resultados y porcentajes de la prevalencia de tuberculosis (*mycobacterium tuberculosis*), en vacas secas. 28
4. Resultados y porcentajes de la prevalencia de tuberculosis (*mycobacterium tuberculosis*), en vacas en producción. 30
5. Pesos de bovinos muestreados. 32

LISTA DE ANEXOS

1. Reconocimiento y clasificación de los animales (de acuerdo a la categoría zootécnica).
2. Se coloca a los bovinos en la manga.
3. Sujeción del animal, levanta la cola del bovino.
4. Utilizando el calibrador se mide el pliegue ano caudal derecho, 6 cm de la base de la cola.
5. Inoculación del antígeno PPD (0.1ml por animal).
6. Esperar de 72 horas para la lectura pos inoculación.

I. INTRODUCCIÓN

La Tuberculosis bovina (TBB) es una importante zoonosis, causada por *Mycobacterium bovis* que afecta principalmente al bovino; el hombre, animales domésticos y silvestres también pueden ser afectados ocasionalmente. Se estima que en Latinoamérica y el Caribe, el 2% de las infecciones tuberculosas en el hombre son causadas por *Mycobacterium bovis*.

El perjuicio ocasionado por la TB en el país sería de 63 millones de dólares por año, siendo las pérdidas de peso, producción láctea y decomiso en matadero los componentes más importantes. Las pérdidas en producción de leche de un rodeo infectado pueden alcanzar el 18,2 %. Los animales infectados necesitan más tiempo para alcanzar la primera lactancia y tienen una vida útil más corta.

La presencia de esta enfermedad en el rodeo nacional no sólo afecta su potencial productivo, sino que también puede limitar el comercio exterior de sus productos (carne y lácteos principalmente). Mejorado el estatus sanitario del país con respecto a la fiebre aftosa, la TB y brucelosis bovina pueden transformarse en barreras para-arancelarias, ocasionando dificultades en la colocación de productos pecuarios en el mercado regional (MERCOSUR) e internacional.

El (*Mycobacterium bovis*) afecta principalmente a los bovinos aunque el cerdo se infecta fácilmente por el contacto con ganado enfermo. Al caballo, la oveja y las aves se los considera resistentes mientras que los perros y gatos pueden infectarse ocasionalmente. La patogenicidad del *M. bovis* para el hombre hizo de la TB uno de los grandes males de la humanidad, permaneciendo como un problema importante para la salud pública actual.

El bovino es el reservorio principal del (*Mycobacterium bovis*). El bacilo ingresa al animal generalmente por vía aerógena a través de aerosoles y en menor frecuencia por vía digestiva. Este última es importante en temeros debido al consumo de leche de vacas tuberculosas. El hombre puede enfermarse por vía digestiva (carnes, leche y productos lácteos sin pasteurizar). La vía aerógena es menos frecuente y se da cuando existe estrecho contacto con bovinos infectados.

Es necesario realizar un estudio de la incidencia de tuberculosis bovina en la hacienda "PUCATE" del cantón Chambo y la sociabilización con los ganaderos de la zona, teniendo en cuenta que el riesgo de contagio por *Mycobacterium Bovis* al hombre, se ha centrado en el consumo de leche cruda y a la presencia de microorganismos en el ambiente en donde están los animales enfermos, por lo tanto hay la necesidad de evaluar en forma completa el hato con el objetivo de: identificar todas las posibles fuentes de exposición a los humanos. El trabajo de investigación constituye un aporte a la sanidad animal en relación al conocimiento y manejo de animales afectados por esta enfermedad causada por *Mycobacterium bovis* en la hacienda "PUCATE" del Cantón Chambo, Provincia de Chimborazo y del Ecuador transformando en un instrumento útil para los productores de la zona, como material de investigación promoviendo el uso de calendarios sanitarios.

La actividad ganadera constituye una alternativa financiera muy importante, que contribuye a solucionar los problemas socio-económicos, culturales, migratorios, de género, entre otros; que son originados a causa de un acelerado crecimiento poblacional, especialmente en el sector rural, al igual que otras actividades pecuarias, esta se encuentra sujeta a factores limitantes tales como la baja eficiencia productiva, provocada principalmente por la presencia en el medio de enfermedades infecto contagiosas como es el caso de la tuberculosis.

En la actualidad, el Ecuador mantiene un programa de erradicación de Tuberculosis Bovina por medio de la certificación de predios mediante el cual, es muy difícil encontrar animales con evidencias clínicas de la enfermedad, ya que las pruebas intradérmicas de tuberculina permiten diagnosticar tempranamente a los animales infectados y eliminarlos oportunamente del hato.

En base a lo expuesto se plantearon los siguientes objetivos.

- Determinar el grado de prevalencia de la Tuberculosis bovina en la hacienda "Pucate" en el Cantón Chambo.
- Evaluar la reacción de la Tuberculina (PPD) en los Bovinos de la hacienda "Pucate."

- Determinar la presencia de Tuberculosis Bovina mediante la prueba de Tuberculina en el pliegue ano caudal en la hacienda "Pucate".

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. TUBERCULOSIS BOVINA

1. Definición

Torres, P. (2006), indica que, en los últimos años los casos de tuberculosis humana debido a *M. bovis* son menos frecuentes que los casos debidos a *M. tuberculosis*, se estima que el 2% de la tuberculosis pulmonar y el 8% de la tuberculosis extra pulmonar humana en Latino América son debidas a *M. bovis* y cada año se presenta 7000 nuevos casos de TBC humana debido a este bacilo.

Acha, N. y Szyfres, B. (2007), indican que la tuberculosis bovina es una enfermedad de distribución mundial, producido por el bacilo del *M. bovis*, se presenta con mayor incidencia en los países en vías de desarrollo, en los que crea problemas de Salud Pública y de tipo económico, por la capacidad del agente causal de producir enfermedad en los humanos (zoonosis) y en los animales. Un tercio de la población mundial está infectada con tuberculosis, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta que en el año 2004 surgieron 8.9 millones de nuevos casos de tuberculosis en el mundo y murieron 1.7 millones personas como consecuencia de esta enfermedad, 98% de los casos pertenecen a los países no industrializados, la incidencia de la TBC en América es de 27/100,000 habitantes.

Osorio, M. (2010), añade que la enfermedad en los bovinos se caracteriza por su larga duración y sus efectos repercuten en la capacidad productiva de los animales. Se estima que los bovinos infectados pierden de 10 a 25 % de su capacidad productiva, disminuyen su fertilidad hasta en un 6%; las vacas en ordeño disminuyen la producción total de leche en un 10%, la duración del período de lactancias se reduce a la mitad, los animales pierden en promedio el 15% del peso normal, se afecta la inmunidad de los animales infectados y aumenta la susceptibilidad a la presentación de otras enfermedades, hay pérdidas de terneros en hembras tuberculosas y decomiso de las carcasas de animales

afectados en los camales o centros de faenamiento; además, comercialmente en el mercado mundial los productos agropecuarios de los países con tuberculosis bovina son castigados arancelariamente o simplemente no son aceptados.

2. Síntomas y lesiones

Benito, A. (2007), señala que la tuberculosis suele ser de curso crónico, y los síntomas pueden tardarse 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 (taquipneas), dificultad de respirar (disnea).
- Sonidos anormales en la auscultación y percusión.
- Ganglios linfáticos grandes y prominentes a la larga, muerte.

Camacho, C. (2008), señala que a veces, 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, color amarillento variables dependiendo del grado de calcificación de la lesión. Con el tiempo, pueden seguir distintos caminos.

3. Efectos de la tuberculosis

Chiodini, R. (2006), manifiesta que la tuberculosis tiene importantes repercusiones económicas, debido a la pérdida en la producción de leche, los decomisos de animales en mataderos, la prohibición del movimiento de los animales por las

campañas de control y erradicación. Aunque *M. bovis* no es el principal causante de la tuberculosis en el hombre (es *M. tuberculosis*), las personas pueden contraer la tuberculosis bovina al beber leche cruda de vacas enfermas o al inhalar gotículas infectivas. Se calcula que en ciertos países hasta un 10 % de los casos de tuberculosis humana son debidos a la tuberculosis bovina. Hoy en día, en muchos países desarrollados se ha reducido o eliminado la tuberculosis bovina, pero en países subdesarrollados sigue siendo una importante enfermedad del ganado vacuno y la fauna salvaje.

4. Patogenia

Para que la infección tuberculosa y su propagación sea exitosa, depende de factores como: el número de micobacterias en la dosis infectante, la ruta de entrada, la capacidad del bacilo de esquivar los mecanismos inmunológicos del animal infectado. (SENASA. 2007).

Al ingresar las micobacterias a los alveolos pulmonares, son atrapadas por los macrófagos y pueden seguir diferentes fases; pueden ser destruidas dentro de los macrófagos, o pueden sobrevivir y multiplicarse formando una lesión necrótica de tipo caseosa eliminándose en el esputo, exudado nasal y leche. Las micobacterias que detuvieron su crecimiento, pueden reactivarse cuando el animal está inmunodeprimido y desarrollar la enfermedad, produciendo una necrosis licuefactiva, diseminando las micobacterias por vía hematogena a otros órganos. (Gil, A. 2012).

5. Fases de la tuberculosis bovina

Camacho, C. (2008), manifiesta que en países con programas de erradicación de la tuberculosis, raramente se observa evidencia clínica de tuberculosis en el ganado, porque la prueba intradérmica de la tuberculina posibilita el diagnóstico y la eliminación de los animales infectados antes de que aparezcan los síntomas. Sin embargo, antes de las campañas nacionales de la erradicación de la

tuberculosis, se observaban con frecuencia los síntomas asociados con la tuberculosis. El bacilo tuberculoso una vez dentro del animal, puede diseminarse en dos etapas.

- Tuberculosis primaria (Período del Complejo Primario).
- Tuberculosis secundaria (Período de diseminación Post - Primaria).

a. Tuberculosis primaria o período del complejo primario.

Thoen, C. y Ebel, E. (2006), indican que la lesión se inicia en el órgano que actúa como puerta de entrada, en este lugar se establece el primer contacto fértil entre el *Mycobacterium* y el organismo, el cual se conoce como foco primario, en este punto de anidamiento del bacilo se desencadenan una serie de reacciones histológicas locales y una reacción general orgánica. Posteriormente o en algunos casos simultáneamente los bacilos drenan por vía linfática a los nódulos linfáticos regionales, produciéndose una adenopatía, originando una lesión similar a la del foco primario, generalmente son vehiculizados por los macrófagos. La combinación de lesiones en el órgano de entrada y en el nódulo linfático regional constituye el complejo primario. Al producirse el complejo primario pulmonar, el bacilo penetra en los pulmones, se multiplica y se disemina en el mismo órgano, produciendo lesiones en forma de tubérculo que se traducen en signos clínicos, infectando al mismo tiempo los nódulos linfáticos bronquiales.

b. Tuberculosis secundaria o período de diseminación post primaria

Thoen, C. y Ebel, E. (2006), aducen que la infección se desarrolla a partir de la reactivación de una lesión antigua, al disminuir los mecanismos de defensa del animal (reinfeksi3n end3gena) o por una nueva infecci3n externa (reinfeksi3n ex3gena), tambi3n denominada tuberculosis extra primaria. Los bacilos, dan origen a granulomas en los 3rganos donde se detienen; la extensi3n o diseminaci3n de las lesiones se puede realizar por v3a linfática, sangu3nea o por contacto seroso. En el caso de diseminaci3n por v3a sangu3nea los focos de infecci3n se producen sobre todo en los pulmones, riñones, h3gado y bazo;

pudiendo llegar a los huesos, articulaciones, peritoneo, meninges. La tuberculosis extra pulmonar es menos común que la pulmonar.

Los bacilos al ser inhalados por el animal, en el tracto respiratorio son fagocitados por los macrófagos alveolares a nivel de las paredes de los alvéolos; éstos, bien pueden eliminar la infección o permitir la proliferación del *Mycobacterium* dentro de ellos; de darse el último caso, se puede formar un foco primario, el cual es provocado por la acción de las citoquinas y se caracteriza por una reacción de hipersensibilidad tipo IV, lesión que está constituido por macrófagos muertos y degenerados, rodeados por células epitelioides, granulocitos, linfocitos y posteriormente por células gigantes.

La primera reacción pulmonar ante la presencia bacilar en los alvéolos, es la aparición de un exudado inflamatorio inespecífico, de tipo neumónico, formado por grupo de alvéolos totalmente llenos de un exudado plasmático y sanguíneo, extravasado a causa de la alteración de la pared capilar, los elementos celulares por orden cronológico de aparición son: las células alveolares adultas, los leucocitos, y algunos hematíes; luego aparecen células macrofágicas mononucleares de diversas procedencias: monocitos, histiocitos locales, células alveolares jóvenes, células endoteliales vasculares, etc., en estos momentos, aparecen los linfocitos en el exudado y en las zonas vecinas.

En esta etapa hay un predominio de los macrófagos, se constituye en una alveolitis macrofágica de tipo inespecífico desde el punto de vista histológico, pese a que se hallan los *Mycobacterium*. Este periodo se hace específico con la aparición de las células gigantes multinucleadas o de Langhans, en estos momentos el tamaño del foco oscila entre 1 y 2 cm de extensión inflamatoria inespecífica de color blanco grisáceo.

6. Formas de contagio de la tuberculosis

Según Proaño, F. (2005), considera que el ganado se infecta principalmente por vía respiratoria (aerógena) a través de tos de animales infectados y permanecen asintomáticos durante los primeros meses después de la infección, pero los síntomas pueden aparecer cuando el delicado equilibrio entre el huésped y el agente infeccioso se pierde a causa de factores de estrés tales como inmunosupresión o malnutrición.

La transmisión de la tuberculosis de los bovinos a los seres humanos se presenta directamente por la vía aerógena, mediante la inhalación del *M. bovis* e indirectamente por el consumo de leche y de productos lácteos no hervidos o pasteurizados, así como la ingestión de carne poco cocida para consumo humano y de cadáveres para animales carnívoros.

Las vías de transmisión cutánea, congénita y genital son inusuales. La vía congénita puede ocurrir hasta el 1% de las vacas con poca importancia relativa al igual de la transmisión por monta natural. En el caso de realizar inseminación artificial puede ser importante si el semen está contaminado con el *M. bovis*.

7. Técnicas de diagnóstico de tuberculosis bovina

Collins, J. (2007), señala que en el ganado vacuno no hay evidencia clínica de la tuberculosis hasta que se han desarrollado lesiones muy extensas. Por esta razón, no fueron posibles ni su diagnóstico en animales individuales ni un programa de erradicación antes del desarrollo de la tuberculina por Koch en 1890.

Collins, J. (2007), menciona que, la tuberculina, que representa un medio de detectar la enfermedad, es un concentrado estéril de filtrados de cultivo del bacilo tuberculoso cultivados en caldo de carne, y más recientemente en medios sintéticos. Se están estudiando las respuestas inmunológicas a las infecciones del

ganado *M. bovis* para desarrollar métodos de diagnósticos mejorados o alternativos, ya que a veces las pruebas cutáneas presentan inconvenientes prácticos. Sin embargo, no existe una prueba sanguínea para la tuberculosis en el ganado u otros animales que sea de aceptación universal.

a. Prueba de la tuberculina

Collins, J. (2007), explica que es una prueba preescrita para el comercio internacional antes se utilizaba tuberculina de medio sintético concentrada por calor (HCSM), pero en la mayoría de los países la tuberculina HCSM se ha reemplazado por tuberculina derivada de proteínas purificadas (PPD). La tuberculina HCSM puede tener una buena potencia si se estandariza de modo correcto en cuanto a actividad biológica, pero su especificidad es inferior a las tuberculinas PPD. Además, se ha visto que las PPDs bovinas preparadas de la cepa AN5 de producción de *M. bovis* son más específicas para detectar la tuberculosis bovina que las PPDs humanas preparadas con *M. tuberculosis*.

El método estándar para la detección de la tuberculosis bovina es la prueba de la tuberculina, que comprende la inyección intradérmica de tuberculina PPD bovina y la consiguiente detección de hinchazón (hipersensibilidad retardada) en el sitio de la inoculación 3 días después. Esto se puede llevar a cabo utilizando sólo tuberculina bovina o, en una prueba comparativa, con tuberculina aviar y bovina.

La prueba de la tuberculina se realiza en el medio del cuello, pero también se puede realizar en el pliegue caudal de la cola. La piel del cuello es más sensible a la tuberculina que la de la cola. Para compensar esta diferencia, se pueden utilizar mayores dosis de tuberculina en la cola. No se recomienda utilizar esta prueba cuando la epidemiología sugiere que la población o el animal han estado en contacto con animales infectados, pues puede originar respuestas negativas falsas y un descenso en la sensibilidad de la prueba. (Henderson, B. 2003).

Si sólo se utiliza una prueba de tuberculina, la erradicación completa resulta difícil ya que puede haber respuestas falsas negativas en la fase inicial de la enfermedad y en animales con infección grave. La prueba intradérmica comparativa de la tuberculina se utiliza para diferenciar entre animales infectados con *M. bovis* y aquellos sensibilizados a la tuberculina bovina por exposición a otras micobacterias. Esta sensibilización se debe a la gran reactividad cruzada existente entre especies de micobacterias y géneros relacionados. La prueba consta de la inyección intradérmica de tuberculina bovina y de tuberculina aviar en sitios diferentes, por lo general, en el mismo lado del cuello, y la medida de la respuesta 3 días después. (García, J. 2007).

Henderson, B. (2003), reporta que la potencia de las tuberculinas debe estimarse por métodos biológicos mediante comparación con tuberculinas estándar y debe expresarse en unidades internacionales (UI). En varios países se considera que la tuberculina tiene una potencia adecuada si garantiza al menos 2000 UI (+ 25%) por dosis en el ganado bovino. En los animales con una sensibilidad alérgica reducida se necesita una dosis mayor de tuberculina, y en campañas nacionales de erradicación se recomiendan dosis de hasta 5.000 UI. El volumen de cada inyección no debe superar los 0,2 ml.

b. Prueba tuberculínica simple

O.I.E. (2008), explica que en esta prueba el lugar de inoculación es el tercio medio del cuello. Esta zona se debe depilar con máquina o tijera a 5 cm. de diámetro aproximadamente. Se mide con un calibre el espesor de la piel previamente y se inyectan 0.1 ml de tuberculina PPD bovina de un miligramo por mililitro. La lectura se hace mediante un calibre a las 72 horas (más o menos 6 horas). Cuando la lecturase ve impedida por razones climáticas u otras causas, esta puede hacerse hasta 24 horas más tarde. Si la lectura se realiza más tarde de esto la prueba no tiene validez por lo que el diagnóstico no será confiable y debe repetirse la prueba a los 60 días.

- Positivo: 3mm o mayor.
- Negativo: menos de 3mm.

c. Prueba tuberculínica ano-caudal

Cicuta, M. (2005), menciona que esta prueba se realiza en el pliegue ano-caudal interno a unos 6 cm. de la base de la cola y en el centro del pliegue. Esta zona es menos sensible a la tuberculina que la piel del cuello. Se inyectan 0.1 ml de PPD bovina de un miligramo por mililitro. La lectura se hace mediante un calibre a las 72 horas (más o menos 6 horas).

- Positivo: 5mm o mayor.
- Sospechoso: 3mm/ más o menos de 5mm.
- Negativo: menos de 3mm.

Según Verdón, A. (2006), explica que hay que tener en cuenta que todo animal sospechoso en un establecimiento donde se hayan detectado animales reacción antes positivos en pruebas anteriores o en la que se está realizando se le debe considerar positivo.

d. Prueba de reacción en cadena de polimerasa (PCR)

Según, Biomédica (2005), la prueba de PCR se realiza en muestras de sangre a las cueles se procede hacer los siguientes análisis.

Se realiza la hibridación del amplificado usando una solución de 10 µl del producto de la PCR y 150 µl de solución amortiguadora SSPE 2X y SDS al 0,1%. Esta se lleva a cabo con secuencias mutadas y secuencias silvestres complementarias a la región determinante de resistencia a la rifampicina, adheridas a una membrana de nylon (Biodyne-C). Esta membrana incluye 5 Oligonucleótidos sin mutación denominados Rif 1 a Rif 5 y seis oligos con las mutaciones m-s frecuentemente asociadas con resistencia a rifampicina, denominadas: Rif 2a, Rif 2b, Rif 4a, Rif 4b, Rif 5a, Rif 5b y Rif 6 (28).

La detección de la hibridación se evidencia por la incorporación inicial de conjugado de estreptavidina marcado con peroxidasa de Roche; luego, los reactivos de detección Eco (peróxido de hidrógeno y luminol) (Amersham Pharmacia Biotech) y, finalmente, la señal de quimioluminiscencia se detecta por impresión de la misma en una película fotosensible de rayos X (FujiMedical).

8. Falsos positivos

Perulactea, (2014), nos manifiesta que se realizó estudios en un predio de vacas en producción que nunca se presentaron positivas, las positivas siempre eran únicamente vaquillonas preñadas, incluso algunas de estas podían dar positivo habiendo dado negativo 2 veces previas. Se recomendó buscar el foco de contagio en el predio. A estas positivas se les inyectó TBC aviar en el pliegue opuesto y salieron negativas. Se hizo necropsias a animales silvestres como cuyes y armadillos y también todo negativo. Se volvió a tuberculinizar y siempre aparecían positivos entre las vaquillonas en valores de hasta 16%. Se decidió tuberculinizar a los toros del corral del costado de las vaquillonas (pese a que la ley no lo exigía) y resultaron 7 positivos, aunque no se encontraron lesiones compatibles con tuberculosis.

Se hicieron necropsias a vaquillonas positivas y dieron resultados macroscópicos y microscópicos negativos (mediante cultivos e histopatología), nunca se encontraron ganglios alterados, por lo que se decidió pedir un permiso a la autoridad oficial para no volver a vender estas positivas, solo se les repitió la PPD Bovina a los 60 días y en todos los casos salieron negativas.

En la investigación se concluyó que estas Micobacterias no tuberculosas pueden estar presentes en muchos lugares, preferentemente en suelos bajos y anegables, siendo capaces de inducir “Falsas Positivas” a la prueba intradérmica con PPD bovina. Esta reacción se dio en este caso, solo en vaquillonas preñadas según el Dr. Perusia no existe una explicación aún muy clara de este hecho, aunque comentó que los veterinarios de la zona refieren que en este grupo de animales se pueden presentar falsos positivos. No ocurrió en hembras jóvenes ni en vacas secas que compartían el predio

9. Falsos negativos

Según: Centro de Vigilancia Veterinaria (2012), La existencia de Falsos negativos puede ser debida a factores relacionados con:

- Tuberculinas (uso deficiente).
- Realización de la prueba.
- El estado inmunitario del animal analizado.

Los animales que muestran falsos negativos:

Mantienen la infección en el rebaño.

Ralentizan la erradicación, implicaciones económicas.

Varias posibles causas, las más comunes y conocidas.

Infección con (Mico) bacterias ambientales, eje (complejo M Avium).

Demasiado pronto (pre-alérgico) / demasiado tarde (anérgico).

10. Control de la tuberculosis bovina

O.I.E. (2008), Indica que se debe detectar a los bovinos infectados con la prueba ano-caudal simple, en el caso de existir reacciones positivas, se debe eliminar al animal; en animales sospechosos y negativos, se debe repetir la tuberculinización después de 60 días. Los animales positivos se los eliminan y a los negativos se les realiza dos pruebas consecutivas con 60 días de intervalo y se lo considerara rodeo libre. Para obtener el certificado oficial y ser declarado rodeo oficialmente libre de tuberculosis bovina, deberá realizar dos tuberculizaciones más con intervalo de 60 días.

B. Tratamiento de la tuberculosis bovina

O.I.E. (2008), manifiesta que no existe tratamiento medicamentoso o clínico. La única forma efectiva para el control de la TBB en los animales, es el sacrificio y eliminación de las carcasas, para evitar el contagio de los demás animales susceptibles del hato y decomisos de las canales.

C. Prevención

CRESA. (2011), nos menciona que el método habitual para controlar la tuberculosis consiste en una prueba individual de detección seguida del sacrificio de los animales infectados. También han resultado muy útiles para contener o eliminar la enfermedad los programas de erradicación consistentes en:

- Examen postmortem de la carne.
- Medidas intensivas de vigilancia (incluida la inspección de explotaciones).
- Realización sistemática de pruebas individuales en los bovinos y eliminación de los animales infectados o que hayan estado en contacto con la infección.
- Minimización del tiempo de permanencia de los animales positivos en las explotaciones afectadas.
- Control de los desplazamientos de los animales.

En los exámenes postmortem se buscan tubérculos en los pulmones y ganglios linfáticos. La detección de los animales infectados impide que su carne entre en la cadena alimentaria. Los animales no se vacunan, ya que las vacunas existentes presentan una eficacia variable e interfieren en la realización de pruebas destinadas a erradicar la enfermedad. En humanos, sí se practica la vacunación.

D. Producción de Tueberculina

a. Manejo del inóculo

(1) Características del inóculo

O.I.E (2012) indica que las cepas de *M. bovis* que se utilizan para preparar cultivos de inóculo deben identificarse hasta el nivel de especie mediante las pruebas adecuadas. Debe mantenerse un registro de sus orígenes y del historial posterior. Los cultivos de inóculo no deben pasarse más de cinco veces. Las cepas de producción *M. bovis* AN5 o Vallee son las más utilizadas.

(2) Método de cultivo

O.I.E (2012), menciona que si el cultivo original se ha realizado en medio sólido, es necesario adaptar el microorganismo a crecer como cultivo flotante (por ejemplo, añadiendo un trozo estéril de patata en los frascos de cultivo de medios líquidos, como el medio de Watson Reid).

Cuando el cultivo se ha adaptado a un medio líquido, puede utilizarse para producir el lote de inóculo primario, que se conserva en forma liofilizada. Este se utiliza para inocular medios para la producción de lotes de inóculo secundarios, que no deben someterse a más de cuatro pases desde el inóculo primario. El inóculo secundario se utiliza para inocular cultivos de producción (1, 32).

(3) Validación

O.I.E (2012), indica que debe demostrarse que las cepas de *M. bovis* que se utilizan como cultivos de inóculo están libres de microorganismos contaminantes. Debe demostrarse que los lotes de inóculo son eficaces produciendo tuberculina con la suficiente potencia.

b. Método de fabricación

O.I.E (2012), manifiesta que el microorganismo se cultiva en un medio sintético, la proteína del filtrado se precipita químicamente (se utiliza sulfato de amonio o ácido tricloroacético [TCA]), a continuación se lava y se resuspende. La tuberculina PPD se recomienda porque puede estandarizarse con mayor precisión. Podría añadirse un conservante antimicrobiano que no dé lugar a falsos negativos, como el fenol (no más del 0,5% [p/v]). Puede añadirse glicerol (no más de un 10% [p/v]) o glucosa (2,2% [p/v]) como estabilizadores deben utilizarse derivados mercuriales. El producto se distribuye de forma aséptica en recipientes estériles de cristal neutro, y se tapan de forma que se impida la contaminación.

c. Control durante el proceso

O.I.E (2012), indica que todo frasco que presente contaminación o crecimiento macroscópico anómalo deberá desecharse tras la esterilización en autoclave. A medida que avanza la incubación, el crecimiento en la superficie de muchos cultivos se humedece y puede hundirse adentrándose en el medio y llegando al fondo del frasco. En las tuberculinas PPD, el pH del precipitado disuelto (tuberculina concentrada) debe ser de entre 6,6 y 6,7. El nivel de proteína del concentrado PPD se determina mediante el método Kjeldahl u otro método. Suelen compararse el nitrógeno total y el nitrógeno precipitable por TCA. El producto final debe someterse a bioanálisis en cobayas. Se llevan a cabo pruebas de potencia y de especificidad en comparación con una tuberculina de referencia (PPD). Se realizan posteriores diluciones con un tampón según el contenido en proteína y la concentración final necesaria, normalmente de 1,0 mg/ml.

14. Tuberculina aviar

a. Descripción

O.I.E. Américas (s.a.), nos indica que la tuberculina PPD (Derivado Proteico Purificado) aviar, es un extracto de proteínas obtenido de filtrados de cultivos de *Mycobacterium avium* cepa D4 ER previamente inactivados por calor, que al aplicarse en animales sensibilizados por microorganismos de la misma especie, revelan un reacción de hipersensibilidad retardada.

- Contenido proteico: debe ser de 0.500 mg/ml.
- Determinación de pH: 7.0 +/- 0.3.

b. Tipo de cepa

O.I.E. Américas (s.a.), manifiesta, *Mycobacterium avium*, CEPA D4 ER.

c. Pureza, especificidad:

O.I.E. Américas (s.a.), indica que es satisfactorio cuando en cobayos sensibilizados con células inactivadas de *Mycobacterium bovis*, a los que se les aplica el PPD aviar en prueba en la misma forma que se inocula el PPD bovino de referencia, la respuesta al PPD bovino, no es mayor al 5.0%. El resultado de la especificidad es el Recíproco de esta evaluación quedando como: mayor al 95.0%. Identidad:

El PPD aviar inyectado en un rango gradual de dosis, por vía intradérmica, en diferentes sitios de un cobayo sensibilizado con células inactivadas de *Mycobacterium avium*, estimula una respuesta específica de tipo celular, retardada a las 24 horas, caracterizada por una inflamación de forma edematosa, con eritema (enrojecimiento), en el sitio de la aplicación, con o

sin necrosis. El tamaño y severidad de la respuesta inflamatoria varía de acuerdo a la dosis. Cuando se repite la prueba empleando cobayos no sensibilizados, no aparece la respuesta inflamatoria característica.

d. Inocuidad

O.I.E. Américas (s.a.), indica que el filtrado inactivado de *Mycobacterium avium*, cepa D4 ER, no debe desarrollar en medios específicos, como Löwenstein-Jensen, Stonebrink, 7H10 y/o M51 (medio sintético de Reid's).

e. Esterilidad

O.I.E. Américas (s.a.), manifiesta que es satisfactoria, cuando no se observa el desarrollo de bacterias y hongos en los medios de cultivo: caldo soya tripticaseína (tsb), caldo tioglicolato y caldo Sabouraud dextrosa, incubados a temperatura ambiente, 30°C y 37°C, durante por lo menos 14 días.

f. Potencia o eficacia inmunológica

O.I.E. Américas (s.a.), menciona que es satisfactoria cuando la potencia relativa, no es menor a 75 %, ni mayor a 133%, y es evaluada por comparación con el estándar internacional de referencia, proporcionado por : International Laboratory for Biological Standard-Statens Serum Institut-DK-2300-Copenhagen-Denmak. Se establece según el Patrón internacional de la farmacopea europea, aceptado por OMS, el título de 25.000 U.I./ml o sea 2.500 U.I. por dosis de 0.1 ml.

La evaluación se realiza en cobayos sensibilizados con células inactivadas de *Mycobacterium avium*, a los que se les aplica el P.P.D. aviar en prueba en la misma forma que se inocula el de referencia, en un rango gradual de dosis, por vía intradérmica en diferentes sitios de los animales. A las 24 horas se lee la respuesta inflamatoria en el sitio de la aplicación, esta varía de acuerdo a la dosis,

midiendo el tamaño de la lesión y comparar las dos tuberculinas, empleando el método de regresión lineal, trazando dos rectas y determinando los límites de confianza de la prueba. Lesiones se aprueban para consumo humano; reactores positivos con lesiones, decomiso total.

15. Decomiso de animales positivos

OIE. (2012), manifiesta de las causas de decomiso en el Artículo 147. Tuberculosis: lesiones en más de un órgano o lesiones miliares, decomiso total. Animales reactores positivos, sin lesiones se aprueban para consumo humano; reactores positivos con lesiones, decomiso total, la misma que está incluida en la ley de canales y mataderos en Ecuador.

16. Programa de erradicación de Tuberculosis Bovina

AGROCALIDAD, (2008), menciona que el Programa Nacional de Brucelosis y Tuberculosis Bovina fue aprobado con Resolución Sanitaria No. 025 de 18 de junio de 2008 y publicado en Registro Oficial No. 376 de 8 de julio de 2008.

Actualmente, la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro – AGROCALIDAD, adscrita al Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), con sede en Quito y jurisdicción en el ámbito nacional, es la entidad responsable, entre otros aspectos, de la prevención, control y erradicación de las principales enfermedades animales que afectan a la salud pública y a la economía nacional.

17. Certificación de predios libres de Tuberculosis

El objetivo de este componente es lograr la disminución progresiva de bovinos infectados de Tuberculosis en las ganaderías que manifiesten por escrito su interés de participar en el programa, hasta conseguir niveles de ocurrencia de la enfermedad y condiciones operativas compatibles con su erradicación, mediante la Certificación de Predios Libres, en el marco del Programa Nacional ejecutado

por AGROCALIDAD. A pesar de ser una decisión voluntaria, para participar en el Programa, los ganaderos deben cumplir algunos requisitos orientados a regular, tanto su ingreso como su permanencia, a fin de alcanzar los beneficios que el Programa promueve.

Agrocalidad, (2009), manifiesta que se está realizando un proyecto de Control de Enfermedades de Bovinos Brucelosis y Tuberculosis.

Los programas de control buscan disminuir la prevalencia de brucelosis y Tuberculosis bovina en el Ecuador mediante socialización a ganaderos, vigilancia epidemiológica y compartimentación, hasta disminuir los niveles de ocurrencia de las enfermedades y su riesgo para la salud humana, con el apoyo de los gobiernos seccionales a nivel nacional.

Actividades

Capacitación a personal de campo de laboratorios de la Red Capacitación “Sacrificio Sanitario de Animales Positivos”-Gestión de planes de contingencia

Inicio de la certificación de predios descentralizada
Procesos de certificación de predios libres de brucelosis y tuberculosis
Supervisión de sacrificios sanitarios de animales positivos
Capacitación a funcionarios en “Toma de muestras para estudio epidemiológico”
Entrega de manual de procedimientos de los programas de control
Instructivo de trabajo con Ministerio de Salud y Gobiernos seccionales para coordinación de actividades.

Un predio será considerado como positivo brucelósico cuando a través de las pruebas diagnósticas se haya encontrado la presencia de uno o más casos positivos de brucelosis. En estos casos, los animales positivos se identificarán a través de la marca en el músculo masetero (cachete). Luego de ser identificado y marcado, el animal reactor positivo será enviado al camal para ser eliminado inmediatamente en sacrificio sanitario, en un tiempo máximo de 30 días.

18. Rebaño libre de Tuberculosis Bovina.

OIE, (2007), nos manifiesta que para ser reconocido libre de Tuberculosis bovina, un rebaño de bovinos deberá reunir las siguientes condiciones:

Debe estar bajo control veterinario oficial.

Debe estar sometido o no a la vacunación.

En caso de vacunación de las hembras con una vacuna viva, ésta debe ser administrada entre los tres y seis meses de edad y las hembras vacunadas deben ser identificadas con una marca permanente.

Todos los bovinos mayores de un año (con excepción de los machos castrados) deben haber resultado negativos a dos pruebas serológicas efectuadas con un intervalo de doce meses. Esta condición se mantendrá aunque todo el rebaño sea sistemáticamente sometido a pruebas una vez al año o según los requisitos fijados por la Autoridad Sanitaria del país interesado.

Todos los bovinos introducidos en la UPA deben proceder de un rebaño libre o de un país o zona libres de brucelosis bovina. Esta condición podrá no exigirse para los animales que hayan sido aislados y que antes de ser introducidos en el rebaño hayan resultado negativos a dos pruebas serológicas efectuadas con 30 días de intervalo. Estas pruebas no se consideran válidas en las hembras que han parido antes de los 14 días

19. Ventajas de tener predios libres de Tuberculosis.

AGROCALIDAD, (2008), nos indica que para mantener las condiciones óptimas para una mejor comercialización, obtener la bonificación establecida en el esquema de precios de la leche.

- a. mejores precios en la venta de animales, carne y subproductos pecuarios libres de las enfermedades, con otros predios de la zona, del país o del exterior.
- b. Disminuir el riesgo de contagio de estas enfermedades a los trabajadores del predio y el grupo familiar.

- c. Reducir los costos operativos para mantener la producción del predio (tratamientos veterinarios por concepto de metritis y otros problemas reproductivos).
- d. Reducir el número de abortos y la mortalidad perinatal, aumentando los porcentajes de parición.
- e. Aumentar la eficiencia productiva del predio en la obtención de productos cárnicos y lácteos de alta calidad e inocuidad, logrando mejorar la calidad de vida de los consumidores, de los profesionales veterinarios, de los trabajadores rurales, de los operarios de la industria y de todos aquellos grupos de trabajadores, relacionados con la actividad pecuaria, que pueden infectarse de brucelosis.

20. Pérdidas económicas

INIA, (2004), Manifiesta que la presencia de la enfermedad ocasiona serias pérdidas al sector productivo, pudiéndose analizar desde tres aspectos diferentes:

- 1. Pérdidas Directas de Producción: específicamente en los aspectos siguientes:
 - a. Se reduce la eficiencia productiva de los animales que alcanzan el 10 %, ya sea en ganancia de kilos de carne como así también en producción de leche.
 - b. Disminuye la fertilidad hasta un 6%.
 - c. La duración de las lactancias disminuye a la mitad en la séptima lactancia. El promedio de 270 días en la 1ª lactancia se reduce a la mitad en la séptima lactancia (131 días).
 - d. Se produce una disminución gradual del peso, perdiendo un promedio de 15% del peso normal.
 - e. Causa predisposición a otras enfermedades, como efecto secundario, pues hay reducción de la inmunidad.
 - f. La esterilidad en vacas tuberculosas aumenta entre 5 y 10%.
 - g. Pérdida de parición de terneros en hembras tuberculosas.

2. Comercio interior y exterior: el diferencial de precios percibido por el productor por la venta de sus productos provenientes de animales enfermos, y las regulaciones sanitarias que influyen en mercados internacionales.

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

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

El trabajo experimental se llevó a cabo en las instalaciones de la hacienda “PUCATE” que está ubicada en la provincia de Chimborazo, cantón Chambo.

Con un tiempo de duración de 126 días. Las condiciones meteorológicas del cantón Chambo se describen en el (cuadro 1).

Cuadro 1. CONDICIONES METEOROLOGICAS DEL CANTÓN CHAMBO.

CONDICIÓN	PROMEDIO
Altitud, msnm.	3240
Topografía	Irregular
Temperatura promedio , °C	12
Suelo	Humífero
Precipitación, mm. anuales	1000-2000

Fuente: Ilustre Municipio de Chambo. (2014).

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

El número de unidades experimentales que conformaron el trabajo experimental fue de 136 bovinos mayores a 6 meses, los cuales se categorizados de acuerdo a la categoría Zootécnica como son: Vaconas: (Vaconas de media y Vaconas fierro), Vacas secas y Vacas en producción.

C. MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS

1. Materiales

- Botas de caucho.
- Overol.
- Jeringuillas.
- Guantes.
- Identificadores.
- Libreta.
- Esferográfico.
- Registros de producción de leche.
- Cinta bovinométrica.

2. Equipos

- Computadora.
- Cámara fotográfica.
- Calibrador.

3. Insumos

- Solución salina.
- Toalla de papel.
- Antígeno. 13 Dosis de tuberculina derivado proteico purificado bovino DPP.

D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

En la investigación se evaluó la prevalencia de la tuberculosis bovina utilizando Tuberculina bovina, Derivado Proteico Purificado (PPD) en los bovinos de la hacienda Pucate, a todos los bovinos mayores a 6 meses de edad, en donde se determinó una muestra de 136 animales.

Además al ser un estudio tipo diagnóstico, no se utilizó un diseño experimental estricto puesto que no hay tratamientos como factores de generación de respuesta únicamente se realizaron el cálculo de medidas descriptivas tales como media y frecuencias.

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Prevalencia de tuberculosis bovina de acuerdo a:

- Prueba de hipersensibilidad retardada, de acuerdo a la etapa fisiológica.
- La prueba comparativa de la tuberculina intradérmica con tuberculina bovina y aviar.
- Peso de los bovinos muestreados.
- Producción de leche/día.
- Impacto económico que produce la enfermedad.

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los resultados experimentales fueron evaluados de acuerdo a:
Estadística descriptiva (media y frecuencia)

G. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN

1. Identificación de la zona de estudio

El trabajo de investigación se llevó a cabo en la hacienda “PUCATE” del cantón Chambo en la Provincia de Chimborazo, a un total de 136 bovinos mayores a 6 meses.

2. Categorización de los bovinos

Los bovinos fueron mayores a 6 meses los mismos que se categorizaron de acuerdo a las categorías Zootécnicas.

- Vaconas de media, (6 a 12 meses de edad).
- Vaconas fierro, (12 a 18 meses de edad).
- Vacas vientre, (18 a 24 meses de edad).
- Vacas Secas, (mayores a 24 meses).
- Vacas en producción, (mayores a 24 meses).
- Producción de leche.
- Pesos de los bovinos muestreados.

3. Procedimiento de la inoculación de PPD

- Reconocimiento y clasificación de los animales (de acuerdo a la etapa fisiológica).
- Se coloca a los bovinos en la manga.
- Sujeción del animal, levanta la cola del bovino.
- Utilizando el calibrador se mide el pliegue ano caudal derecho, 6 cm de la base de la cola.
- Inoculación del antígeno PPD (0.1ml por animal).
- Aplicación de la tuberculina PPD.
- Soltar al animal.
- Esperar de 72 horas para la lectura.

4. Procedimiento para la lectura

Luego de las 72 horas de la inoculación de la Tuberculina se realizó la lectura del pliegue ano caudal en donde se aplicó el antígeno, se hace utilizando el calibrador pie de rey y teniendo en cuenta los parámetros referenciales de lectura que ya están establecidos.

Positivo: 5 mm o mayor.

Sospechoso: 3 mm hasta 5 mm.

Negativo: menos de 3 mm.

5. Interpretación de resultados

En la interpretación de los resultados se tomó en cuenta las medidas referenciales si en la lectura las medidas son mayores de 3 mm y pueden llegar hasta 5 mm. Es un resultado sospechoso y si es mayor a 5 mm es positivo, en el caso de ser supuesto sospechoso se realiza el examen de prueba de tuberculina comparativa y en esta prueba se utiliza tuberculina bovina y tuberculina aviar que se aplica en la tabla del cuello del bovino acogiéndose a estas medidas de referencia:

Positivo: 4 mm mayor que la tuberculina aviar.

Dudoso: entre 1 y 4mm mayor que la tuberculina aviar.

Negativo: cuando no hay reacción o cuando la reacción es igual o menor que la tuberculina aviar.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la presencia de (*Mycobacterium Bovis*) en la hacienda Pucate de acuerdo al análisis se realizó la prueba de Tuberculina ano caudal en la que se utilizó Derivado Proteico Purificado (PPD).

A. DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS DE ACUERDO A LA CATEGORIZACIÓN ZOOTÉCNICA

De un total de 136 bovinos muestreados, 26 vaconas, 33 vacas secas y 75 vacas en producción en donde se determinó el 0,73 % de prevalencia en todas las categorías zootécnicas respectivamente, las mismas que se ilustran a continuación, en el (cuadro 2 y gráfico 1).

De un total de 136 bovinos el 99,27% de la población es negativa a la prevalencia de tuberculosis.

Cuadro 2. RESULTADOS Y PORCENTAJES DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS (*Mycobacterium tuberculosis*), EN BOVINOS DE ACUERDO A LAS CATEGORÍAS ZOOTÉCNICAS

CATEGORÍAS ZOOTÉCNICAS	No. Muestreados	No. Casos Positivos	(%) de Prevalencia
Vaconas	26	0	0,00
Vacas Secas	33	0	0,00
Vacas en producción	75	1	1,00
TOTAL	136	0	0,73

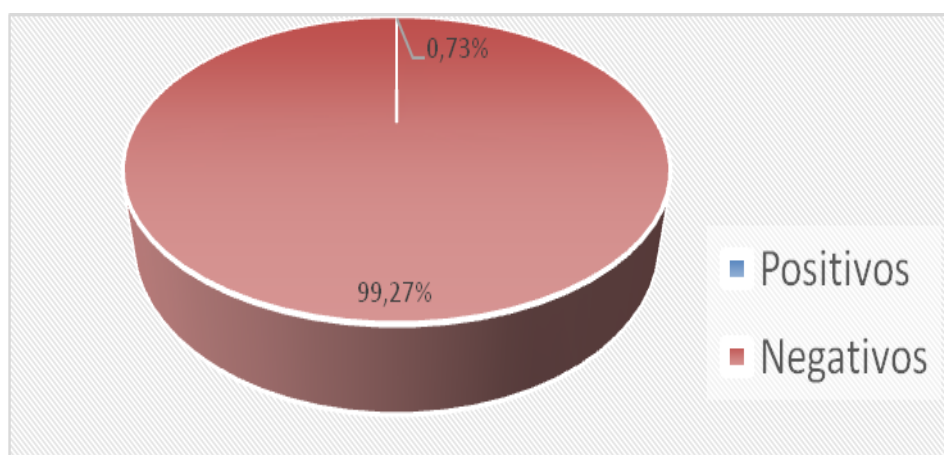


Gráfico 1. Prevalencia de Tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*), en bovinos de acuerdo a las categorías zootécnicas.

Se encontró una respuesta positiva de 0,73% de la tuberculosis bovina de acuerdo a las categorías zootécnicas. Este resultado es inferior al encontrado en la investigación realizada por López, D. (2009), quien al realizar el diagnóstico y control de la tuberculosis bovina encontró 1,48%, siendo este resultado superior a la investigación realizada, de reactores positivos del total de la población; una vaca en producción (2,70%) y dos hembras fierro (1,96%), además manifiesta que el *Mycobacterium tuberculosis* en los bovinos es difícil de diagnosticar por su apareamiento esporádico en determinados períodos de tiempo (invierno), por lo tanto se concluye que la mayor incidencia de *Mycobacterium tuberculosis* se da en vacas en producción y vaconas fierro, lo cual concuerda con el argumento de Millán, D. (2007), quien señala que estas categorías son más sensibles a contraer diversos tipos de *Mycobacterium tuberculosis*; por el sistema de manejo que están sujetas en las explotaciones, ya que de estas obtenemos uno de los alimentos indispensables en la dieta de los humanos, como es la leche que puede ser foco de infección a los seres humanos.

Estos datos se compararon con la investigación de Herrera, E. (2011), realizado en la Universidad de las Américas, donde el mayor porcentaje de animales positivos se presentan en el grupo de animales mayores a 5-7 años (40,60%) y de 3-5 años presentó una positividad de 36,66%, luego los mayores de 7 años con el 15,15% y finalmente los menores a 3 años con el 7,57%, lo que confirma que esta enfermedad está presente en todas las edades.

La menor incidencia se debió a que en la hacienda Pucate se hizo un previo diagnóstico de Tuberculosis y se eliminaron a los animales que dieron positivo a la reacción de la Tuberculina, y se demostró que hay mayor prevalencia en la investigación realizada en la universidad de las Américas.

B. GRADO DE INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS EN VACONAS.

De un total de 26 bovinos mayores a seis meses de edad de los cuales el 100 % resultaron ser negativo a la reacción de la tuberculina, por motivos de manejo de la hacienda los bovinos no se pudieron categorizar y están mezclados vaconas fierro y vaconas de media, como se indica en el (cuadro 3 y gráfico 2).

Cuadro 3. RESULTADOS Y PORCENTAJES DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS (*Mycobacterium tuberculosis*), EN VACONAS.

CATEGORÍA	No. Muestreados	No. Casos Positivos	(%) de Prevalencia
Vaconas	26	0	0,00
TOTAL	26	0	0,00

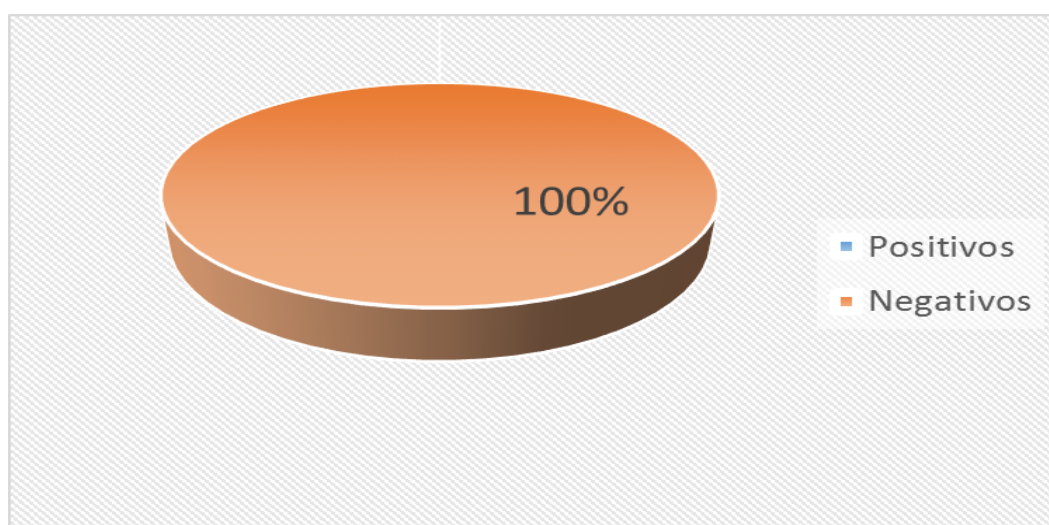


Gráfico 2. Resultados y porcentajes de la prevalencia de tuberculosis (*mycobacterium tuberculosis*), en vacas.

Es muy importante tomar en cuenta que cuando se alimentan a los terneros con leche cruda proveniente de las vacas enfermas, debido a que 1 a 2% de las vacas infectadas elimina el microorganismo en la leche. Cuando la vía principal de infección es por la alimentación, las lesiones pueden presentarse en nódulos linfáticos de la cabeza, cuello, mesenterio e hígado. Esta fue una de las principales vías de contagio al humano (especialmente niños), hasta que se adoptó la pasteurización obligatoria de la leche y sus subproductos en la década del 60. Otras vías no usuales pero probables son: La vía cutánea, congénita y genital. Por la vía cutánea se introduce el bacilo en las lesiones de piel con material infectado. Los resultados de la infestación de la tuberculosis de acuerdo a la edad del animal.

C. GRADO DE INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS EN VACAS SECAS

En el análisis de la incidencia de Tuberculosis en bovinos de acuerdo a la etapa fisiológica en vacas secas, como se describe en el (cuadro 4, gráfico 3).

Los resultados obtenidos de la reacción a la post inoculación de Tuberculina fueron negativos para un total de 33 bovinos. Eso quiere decir que el 100 % de la población de vacas secas es negativo, por lo cual no se puede hacer un análisis económico ya que no se muestra afectada esta parte de la población.

Cuadro 4. RESULTADOS Y PORCENTAJES DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS (*Mycobacterium tuberculosis*), EN VACAS SECAS.

CATEGORÍA	No. Muestreados	No. Casos Positivos	(%) de Prevalencia
Vacas secas	33	0	0,00
TOTAL	33	0	0,00

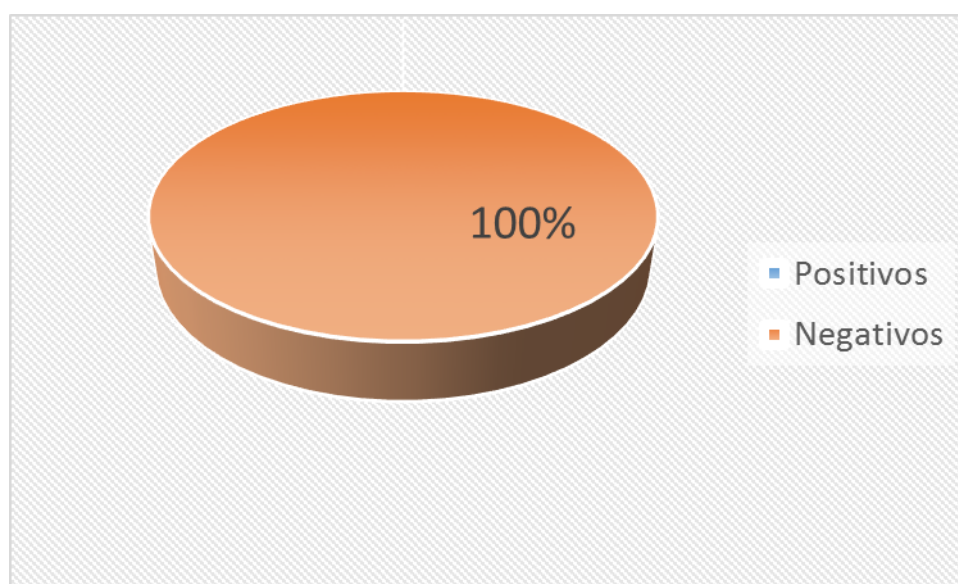


Gráfico 3. Resultados y porcentajes de la prevalencia de tuberculosis (*mycobacterium tuberculosis*), en vacas secas.

Inia, (2004), manifiesta que, la vía de ingreso del *Mycobacterium bovis* y el sitio de localización de las lesiones están íntimamente ligados en esta enfermedad. La vía más frecuente (80 a 90%) de infección es por la inhalación de la bacteria (vía aerógena), presente en aerosoles, toses y secreciones de animales enfermos que expelen gran cantidad de microgotitas que contienen la bacteria, que al ser inhaladas por otro bovino llegan al sistema respiratorio y dan comienzo a una nueva infección. Esto se ve favorecido por el contacto directo diariamente de los bovinos en el pastoreo, comederos, corrales y salas de ordeño. En el ganado

adulto la tuberculosis, cuando la infección es por vía aerógena, se presenta como una enfermedad respiratoria, provocando lesiones pulmonares y nódulos linfáticos en el tracto respiratorio, es por eso que en el hato mientras más adulto es el bovino más probabilidad de infección hay en el hato.

D. GRADO DE INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS DE VACAS EN PRODUCCIÓN.

Se muestrearon a un total de 75 vacas mayores a 24 meses o por su categorización son vacas en producción, de los cuales dio como resultado 1 vaca positiva eso quiere decir que en total de una población el 1 % es positiva y el 99 % es negativa.

Encontrándose que en la población de vacas en producción si hay Tuberculosis como se indica a continuación en el (cuadro 5, gráfico 4).

Posiblemente se deba a que este animal fue adquirido en otra explotación y no se realizó cuarentena para su respectiva observación durante este periodo.

Cuadro 5. RESULTADOS Y PORCENTAJES DE LA PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS (*Mycobacterium tuberculosis*), EN VACAS EN PRODUCCIÓN.

CATEGORÍA	No. Muestreados	No. Casos Positivos	(%) de Prevalencia
Vacas en producción	75	1	1,33
TOTAL	75	1	1,33

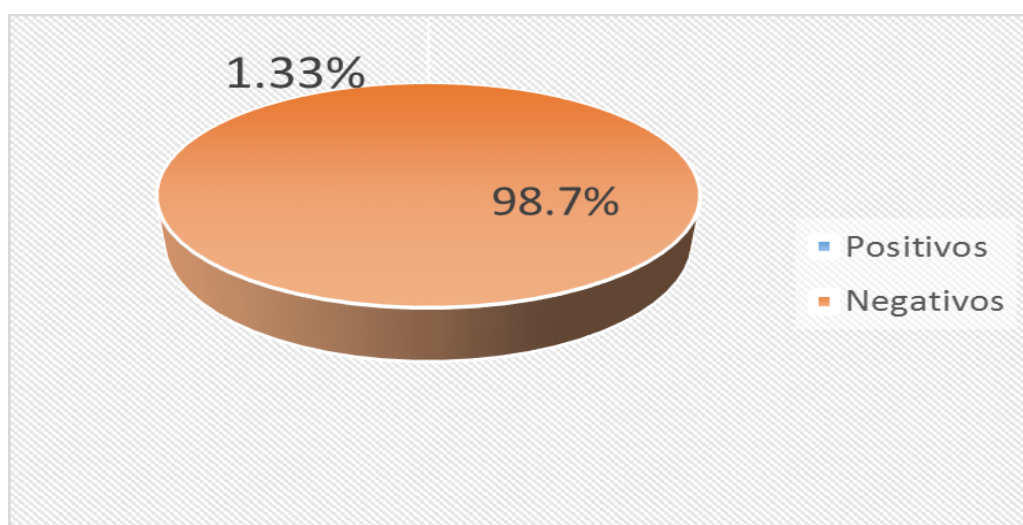


Gráfico 4. Resultados y porcentajes de la prevalencia de tuberculosis (*mycobacterium tuberculosis*), en vacas en producción.

Estos datos se compararon con la investigación de Herrera, E. (2011), realizados en la Universidad de las Américas, donde el mayor porcentaje de animales positivos se presentaron en el grupo de animales mayores a 5-7 años (40,60%) y animales de 3-5 años presentó una positividad de 36,66%.

En la investigación se encontró una vaca positiva a la reacción de la Tuberculina (PPD), el grosor del pliegue ano caudal fue de 10 mm posterior a la inoculación y se hizo el respectivo análisis dando un resultado positivo por lo cual no fue necesario hacer la prueba comparativa, en este caso siendo superior a 5 mm se declaró positiva.

Morán, N. (2006), la eliminación del *Mycobacterium bovis* por parte de los animales afectados es intermitente y no está en relación con el grado de lesiones presentes. Por infecciones experimentales se comprobó que los animales recientemente infectados eliminan este microorganismo en las etapas tempranas de la enfermedad, cuando aún no son detectables por la prueba de diagnóstico. La vía de ingreso del *Mycobacterium bovis* y el sitio de localización de las lesiones están íntimamente ligados en esta enfermedad. La vía más frecuente (80 a 90%) de infección es por la inhalación de la bacteria (vía aerógena), presente en aerosoles, toses y secreciones de animales enfermos que expelen gran cantidad

de microgotitas que contienen la bacteria, que al ser inhaladas por otro bovino llegan al sistema respiratorio y dan comienzo a una nueva infección.

E. PRODUCCION DE LECHE

Se tuvo en cuenta, que hay una vaca prevalente posiblemente si afecta en la producción de leche, de los 75 bovinos en producción se obtuvo 1140 litros totales de leche con una media de 15,20 litros, vaca, día lo cual indico que la producción fue relativamente baja a los parámetros de producción.

Albéitar, P. (2012), la tuberculosis bovina está considerada como causa importante de pérdidas económicas para la ganadería ya que disminuye la producción de leche y afecta la producción de carne por decomiso de los órganos y canales afectados. La prevalencia de esta enfermedad en México se ha estimado en 2,5 % para el ganado lechero y el 0,5 % para el de carne, lo que representa un número significativo de animales afectados ya que se estima la población bovina de 34 millones de cabezas, de las cuales 5 millones son dedicadas a la producción de leche.

La prevalencia de Tuberculosis si afecto en la producción de leche ya que al analizar los resultados se observó una producción de leche relativamente bajo en comparación con los parámetros de producción.

F. PESOS DE BOVINOS MUESTREADOS

Se muestreó un total de 136 bovinos de los cuales se pudo obtener sus pesos de acuerdo a sus categorías obteniendo una media por cada categoría como se describe en el siguiente (cuadro 6, gráfico 5).

Cuadro 6. RESULTADOS Y PORCENTAJES DE LOS PESOS DE BOVINOS MUSTREADOS.

CATEGORÍAS ZOOTÉCNICAS	No. Muestreados	PESOS Kg.	MEDIA Kg.
Vaonas	26	4489	172.65
Vacas Secas	33	9298	281,76
Vacas en producción	75	31024	413,65
TOTAL	136	44811	149,37

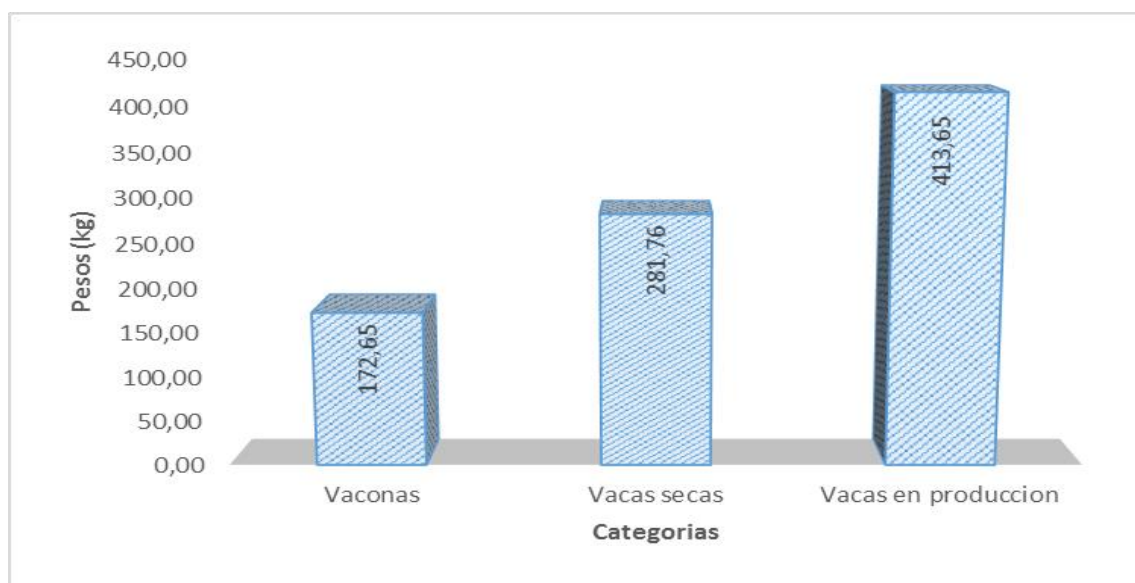


Gráfico 5. Pesos de bovinos muestreados.

Se pudo observar que las medias son relativamente bajas teniendo en cuenta que en el grupo de vacas en producción hubo un caso positivo a la prevalencia de tuberculosis lo que posiblemente indico que si afecta a la ganancia de peso esto se debió a la presencia de la enfermedad pudiendo haber disminución del apetito y por ende una baja de peso.

Se encontró una disminución del 6,25%, esto se podría explicar basándose en el argumento de Hutchinson, P. (2006), que el alimento consumido por los animales enfermos no es utilizado eficientemente ya que la prioridad de un animal enfermo es mantener en equilibrio de los principales organismos vitales, por lo que el desarrollo corporal es menor y por consiguiente la ganancia de peso, en la zona de estudio se estableció un promedio para la pérdida de peso de 20 kg, por otra parte Hutchinson, P. (2006), señala que la reducción de los animales enfermos en el peso con tuberculosis es de 10%, pudiendo intervenir otros factores, alimentación y manejo.

G. ANÁLISIS ECÓNOMICO

En Ecuador no existen estudios recientes sobre las pérdidas económicas provocadas por los decomisos totales o parciales atribuibles a la TB. Sin embargo, en Argentina el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA, 2007) estimó que las pérdidas y costos directos generados por esta enfermedad corresponden a US\$ 63 millones al año, por concepto de: decomiso parcial o total de reses afectadas (9%) pérdidas en peso de los animales afectados: detectados en faena (36%) y no detectados en faena (18%) pérdidas en la producción de terneros (12%) pérdidas en la producción de leche (13%) costos de las pruebas tuberculínicas en campo (6%) costo del tratamiento de los casos humanos (1,8%).

Se observó que la categoría “vacas en producción” mostró las mayores pérdidas por ser la categoría más prevalente, la cual contribuye con el 62,23% de los decomisos de canales.

La mayor cantidad de subproductos decomisados son lenguas y cabezas, por ser los puntos de localización más frecuentes de lesiones granulomatosas. Considerando el precio y la cantidad de lenguas decomisadas, éstas contribuyen con el 48,56% de las pérdidas por decomisos parciales; el segundo subproducto que provoca mayores pérdidas es cabeza con un 25,85%. Cabe señalar que las lenguas se decomisan por encontrarse en contacto directo con los nódulos linfáticos de la cabeza que presentaron lesiones granulomatosas compatibles con TB, como se observa en el siguiente (cuadro 7).

Cuadro 7. PERDIDAS DIRECTAS ANUALES POR LA PRESENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA.

EFECTO	% DE PERDIDA
Perdidas por decomiso parcial o total por reses afectadas	9%
Pérdidas en peso de los animales afectados	36%
Pérdidas en peso de los animales no detectados en faena	18%
Perdidas en la producción de terneros	12%
Perdidas en la producción de leche	13%
Costos de las pruebas tuberculinicas en el campo	6%
Costo del tratamiento en casos humanos	1%

Fuente: <http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=858&io=3240>. (2010).

Guamán M. (2012), indica que uno de los factores que más se deben considerar en un hato ganadero, es el rendimiento a la canal ya que la reducción de los ingresos económicos, por venta de una vaca enferma que cuando presenta buenas condiciones de carne puede ser de 800 a 900 dólares se reduce a 431,20 dólares americanos en el mejor de los casos por la venta de la vaca enferma, esto en función de su peso corporal a nivel de carnal, que lo pagan a 1.10 dólares/Kg, por lo tanto, existe una reducción económica de 46,10 % (368.80 dólares), ya que los factores que interviene en la disminución de peso es alimento y manejo.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la investigación puedo deducir las siguientes conclusiones.

- Con respecto a la prevalencia de tuberculosis bovina que fue de 0,73 % podría decir que la prevalencia no es significativa por lo cual no influye de gran manera en el hato.
- La reacción que produce la Tuberculina (PPD) en el los bovinos en la post inoculación es de una hinchazón en el pliego del ano la misma que fue observada en una vaca que es de 6 mm más de grosor dándonos un resultado de positivo a tuberculosis en la cual no fue necesario hacer la prueba comparativa de confirmación en este caso por manejo de la hacienda el animal fue descartado inmediatamente para así evitar el contagio con el resto del hato, lo cual es una buena práctica de manejo ya que es lo que nos indica la bibliografía en el descarte de los animales.
- En el análisis económico podrá decir que la Tuberculosis Bovina si afecta a la producción de leche por lo cual se ve reflejado una pérdida económica en la disminución del peso, al mismo tiempo hay perdidas económicas en lo referente al descarte total o parcial de las canales que dan positivo basándose en las norma de la O.N.G.
- De acuerdo a la categorización de los Bovinos se encontró que hay una inclinación por la incidencia de Tuberculosis en las vacas en producción esto se debe a la edad y al manejo de la hacienda porque las vías más comunes de contagio son la vía aerógena y la digestiva y en la hacienda los comederos son foco de infección.

VI. RECOMENDACIONES

- Es recomendable promover este tipo de investigaciones ya que ayudan a la recolección de datos reales de la situación de la provincia en cuanto a Tuberculosis Bovina para así hacer un estudio amplio y zonificar los lugares con mayor prevalencia a la enfermedad y así hacer una campaña de erradicación y ayudar a la población campesina que necesita mejorar las buenas prácticas de manejo.
- Hacer y promover una campaña de erradicación de Tuberculosis Bovina en todo el País ya que es una enfermedad zoonozica y esta prevalente en nuestro medio.
- Hacer cumplir la ley de camales que está vigente en el país y está regulada por AGROCALIDAD de obligar a los camales a eliminar por completo y no parcialmente a los animales enfermos, también la verificación completa y no parcial de los animales en mataderos, de la misma manera promover campañas de concienciación a la situación de riesgo del contagio de Tuberculosis Bovina.
- Es importante que las personas que manejan a los Bovinos en la hacienda Pucate tomen las debidas precauciones cumpliendo con las normas de bioseguridad de un posible contagio ya que la enfermedad es zoonotica, también deben acudir al centro de salud más cercano y realizarse la prueba de Tuberculosis, y someterse a un control de la enfermedad.
- Realizar cada 6 meses las pruebas de Tuberculina en la hacienda para lograr la erradicación de la enfermedad.

VII. LITERATURA CITADA

1. CAMACHO, C. 2008. Sanidad animal y enfermedades I. 1a ed. Riobamba, Ecuador. Edit. ESPOCH. pp. 35-39.
2. CICUTA, M. 2005. Validez de la prueba de tuberculina en el diagnóstico de la paratuberculosis bovina en el NEA. 1a edición. Buenos Aires, Argentina. Edit. Revista de medicina veterinaria. pp. 69 – 71.
3. COLLINS, J. 2007. Enfermedades en Ganado I., Ganado lechero. 1a edición. México D.F. México. Edit. Limusa. pp. 65 – 78.
4. CHIODINI, R. 2006. Historial orview and current approaches in determining Mycobacterium etiology of Crhons disease. In 1ra Ed. Dordretch, Estados Unidos. Edit. Kluwer Academy. pp. 12, 19.
5. CRESA, 2011. www.cresa.es/granja/tuberculosis.pdf.
6. GARCIA, J. 2007. Tuberculosis y paratuberculosis. 2a ed. Guanajuato, México. Edit. Limusa. pp. 12 - 23.
7. HENDERSON, B. 2003. Medicina veterinaria. 2a ed. Traducido de la Edición original de la obra Veterinary Medicine, sl. Edit. Interamericana S.A. pp. 439, 445.
8. INIA,2004. http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/n_e/arti/clavijo_a/arti/clavijo_a.htm.
9. OIE Manual of standards for diagnostic tests and vaccines-1996.
10. O.I.E. 2008. Manual of Standards for in Diagnostic Test and Vaccines. Second Edition. París - Franco. pp. 322-328.
11. O.I.E. 2012. Manual de animales Terrestres. Tuberculosis Bovina, Capítulo 2.4.7 pp. 10-12.

12. O. I.E. 2012. CAPÍTULO XXI, De las causas de decomiso Artículo 147.
13. OSORIO, M. 2010. Carta FEDEGAN N° 78, Proyecto Nacional TBC bovina-Colombia. p. 76.
14. PROAÑO, F. 2005. Preliminary observations on Mycobacterium SPP. In Dairy Cattle in Ecuador. pp. 78, 87, 98.
15. SENASA, 2007. Pruebas tuberculínicas (inoculación, lectura e interpretación) Preguntas y respuestas. Disponible en: <http://senasa.mecon.gov.ar> 4. Patogenia.
16. TORRES, P. 2006. Situación de la tuberculosis bovina en la República de Argentina. SENASA-ARGENTINA. Disponible en: http://www.senasa.gov.ar/oldweb/sanidad/tuberculosis/situacion_actual.pdf. 1. Definición.
17. THOEN, C. y EBEL, E. 2006. Chapter 6. Diagnostic teste for bovine tuberculosis. Mycobacterium bovis Infection in Animals and Humans. Second edition. Blackwell Publishing Ltd., Ames. pp. 49-53.
18. http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/ne/arti/clavijo_a/arti/clavijo_a.htm (2014).
19. <http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=858&io=3240>. (2010).
20. <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v25n1/v25n1a04.pdf>.
21. <http://www.perulactea.com/2014/03/16/caso-clinico-falsos-positivos-a-la-tuberculosis-bovina/>.
22. http://www.castillalamancha.es/sites/default/files/documentos/20120511/diagnostico_tuberculosis_bovina.pdf.
23. <http://www.agrocalidad.gob.ec/sanidad-animal/>.

24. http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa_nacional_brucelosis_bovina.pdf.

ANEXOS

Anexo 1. Reconocimiento y clasificación de los animales.



Anexo 2. Se coloca a los bovinos en la manga.



Anexo 3. Sujeción del animal, levanta la cola del bovino.



Anexo 4. Utilizando el calibrador se mide el pliegue ano caudal derecho, 6 cm de la base de la cola.



Anexo 5. Inoculación del antígeno PPD (0.1ml por animal).



Anexo 6. Esperar de 72 horas para la lectura pos inoculación.

