



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**IDENTIFICACIÓN, MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR DE
MICOBACTERIAS SP EN EL MATADERO MUNICIPAL
DEL CANTÓN VENTANAS PROV. DE LOS RÍOS.**

TESIS DE GRADO

Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del
título de
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

**AUTOR
MELENDEZ RODRIGUEZ JOSÉ GABRIEL**

**TUTOR
Dr. ORLANDO NARVAEZ ALBERTO**

GUAYAQUIL – ECUADOR

2021



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, **Dr. ALBERTO ORLANDO NARVÁEZ**, docente de la universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **“IDENTIFICACIÓN, MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR DE MICOBACTERIAS SP EN EL MATADERO MUNICIPAL DEL CANTÓN VENTANAS PROV. DE LOS RÍOS** “realizado por el estudiante **JOSÉ GABRIEL MELENDEZ RODRIGUEZ**; con cédula de identidad **No 0202237103** de la carrera de **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**, Unidad Académica **Guayaquil**, ha sido orientado y revisado durante su ejecución y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Dr. ALBERTO ORLANDO NARVÁEZ

TUTOR

Guayaquil, 30 de Julio de 2021



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. consejo Directivo como miembros del Tribunal de sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: **IDENTIFICACIÓN, MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR DE *Micobacterias* sp EN EL MATADERO MUNICIPAL DEL CANTÓN VENTANAS PROV. DE LOS RÍOS**, realizado por el estudiante **JOSÉ GABRIEL MELÉNDEZ RODRÍGUEZ**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Mvz. Alfredo Bruno Caicedo, MSc
PRESIDENTE

Ph.D. Paola López Coloma
EXAMINADOR PRINCIPAL

Mvz. Verónica Macías Castro, MSc
EXAMINADOR PRINCIPAL

Dr. Alberto Orlando Narváez, Mgs
EXAMINADOR SUPLENTE

Guayaquil, 30 de Julio de 2021

Dedicatoria

El presente trabajo está dedicado en primer lugar a Dios por haberme brindado la sabiduría el conocimiento y la fuerza necesaria para poder luchar contra las adversidades que se presentaron en el camino de mi vida profesional.

A mis Padres, Sr. Galo Melendez y Sra. Mercedes Rodríguez quienes siempre me han acompañado, guiado y brindaron su apoyo incondicional en todo momento dándome aliento para seguir luchando en esta dura batalla, por creer en mis capacidades como persona y por los buenos valores que sembraron en mi los cuales me ayudaron a formarme como persona y ahora en profesional, los quiero mucho.

GABRIEL

Agradecimiento

Quiero dedicar mis más sinceros agradecimientos a mi Director de tesis el Dr. Alberto Orlando Narváez el mismo que fue el principal colaborador en la investigación

A la Universidad Agraria del Ecuador por habernos dado la oportunidad de formarnos profesionalmente, abrir las puertas para forjar el conocimiento y ser entes productivos para nuestra sociedad.

Al personal del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (Inspi) en especial a las Doctoras Melissa Zambrano y Joselyn Calderón quienes me acompañaron y me guiaron durante todo el proceso investigativo brindándome su apoyo en todo momento, mil gracias.

GABRIEL

Autorización de Autoría intelectual

Yo, **JOSÉ GABRIEL MELENDEZ RODRIGUEZ**, en calidad de autor del proyecto realizado, sobre **“IDENTIFICACIÓN, MICROBIOLÓGICA Y MOLECULAR DE *Micobacterias sp* EN EL MATADERO MUNICIPAL DEL CANTÓN VENTANAS PROV. DE LOS RÍOS”**, para optar por el título de **MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**, por la presente autorizo a la **UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me correspondan con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6,8,19 y demás pertinentes de la Ley de propiedad Intelectual y su Reglamento.

JOSÉ GABRIEL MELÉNDEZ RODRÍGUEZ

C.I. 0202237103

Guayaquil, 30 Julio de 2021

Índice General

PORTADA	1
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN.....	3
DEDICATORIA	4
AGRADECIMIENTO	5
AUTORIZACIÓN DE AUTORÍA INTELECTUAL.....	6
ÍNDICE GENERAL.....	7
ÍNDICE DE TABLAS.....	11
ÍNDICE DE FIGURAS.....	12
RESUMEN	13
ABSTRACT	14
1 INTRODUCCIÓN.....	15
1.1. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA	15
1.2. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	16
1.2.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
1.2.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	18
1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	19
1.4. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	19
1.5. OBJETIVO GENERAL	20
1.5.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20

1.6.	HIPÓTESIS.....	20
2.	MARCO TEÓRICO.....	21
2.1.	ESTADO DEL ARTE.....	21
2.2.	BASES TEÓRICAS.....	21
2.2.1.	DEFINICIÓN.....	21
2.2.2.	ETIOLOGÍA.....	22
2.2.3.	DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	23
2.2.4.	EPIDEMIOLOGÍA.....	24
2.2.5.	TRANSMISIÓN.....	25
2.2.6.	PATOGENIA EN BOVINOS.....	26
2.2.7.	PERÍODO DE INCUBACIÓN.....	27
2.2.8.	SIGNOS CLÍNICOS.....	27
2.2.9.	LESIONES POST MORTEM.....	28
2.2.10.	DIAGNÓSTICO.....	28
2.2.11.	CONTROL Y PREVENCIÓN.....	30
2.2.12.	PROTOSCOLOS EN LOS CENTROS DE FAENAMIENTO SEGÚN NORMATIVA.....	31
2.2.13.	ENFERMEDADES DE DECLARACIÓN OBLIGATORIA A NIVEL NACIONAL.....	32
2.3.	MARCO LEGAL.....	32
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
3.1.	ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN.....	35
3.1.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN:.....	35

3.1.2. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:	35
3.2. METODOLOGÍA	35
3.2.1. VARIABLES	35
3.2.1.1. VARIABLE INDEPENDIENTE	35
3.2.1.2. VARIABLE DEPENDIENTE	36
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA	36
3.4. RECOLECCIÓN DE DATOS	37
3.4.1. MÉTODOS Y TÉCNICAS	37
3.4.1.1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS EN EL MATADERO MUNICIPAL DEL CANTÓN VENTANAS	37
3.4.1.2. AISLAMIENTO DE MICOBACTERIA SP	37
3.4.2. MÉTODO PCR	37
3.4.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	39
4. RESULTADO	40
4.1. LESIONES COMPATIBLES CON MICOBACTERIAS EN ANIMALES DESPOSTADOS EN EL CAMAL DE LA MUNICIPALIDAD DEL CANTÓN VENTANAS	40
4.2. GANGLIO AFECTADO	41
4.2.1. ESPECIES DE MICOBACTERIAS SP. MICROBIOLOGÍA TRADICIONAL (AISLAMIENTO EN MEDIOS DE CULTIVO) Y DE LA TÉCNICA BAAR.	43
4.2.2. ESPECIES DE MICOBACTERIAS APLICANDO BAAR	45
4.2.3. RESULTADOS DE LA APLICACIÓN A PCR	46
4.3. RAZA	48
4.4. EDAD	48

4.5. SEXO	49
4.6. PROCEDENCIA.....	49
4.7. CONDICIÓN CORPORAL	49
4.8. PROTOCOLOS DE CONTROL DE TUBERCULOSIS EN EL CAMAL MUNICIPAL DEL CANTÓN VENTANAS VIGENTE.....	50
5. DISCUSIÓN	53
6. CONCLUSIÓN	55

Índice de Tablas

<i>Tabla 1 Frecuencia de animales con lesiones compatibles con Micobacterias Sp.</i>	40
<i>Tabla 2 Prevalencia de M. bovis según tipo de Ganglio</i>	41
<i>Tabla 3 Prevalencia de M. bovis con respecto a la edad</i>	42
<i>Tabla 5 Prevalencia de M. bovis según procedencia</i>	43
<i>Tabla 6 Crecimiento de colonias en medios de cultivos</i>	44
<i>Tabla 7 Aislamiento de colonias en medios de cultivo</i>	44
<i>Tabla 8 Resultados de Baciloscopia BAAR</i>	45
<i>Tabla 9 Muestras positivas BAAR</i>	46
<i>Tabla 10 Especies de micobacterias mediante PCR</i>	47
<i>Tabla 11 Edad de los animales faenados</i>	49
<i>Tabla 12 Prevalencia M. bovis según la condición corporal de los bovinos</i>	50
<i>Tabla 13 Procedimiento para vigilancia y control de inspección de abasto en mataderos</i>	51

Índice de Figuras

Figura 1 *Resultados pruebas PCR*..... 48

Resumen

En el camal municipal del cantón Ventanas, provincia de los Ríos, se evaluó pos mortem a 132 reses, examinando ganglios con infecciones macroscópicas o alteraciones. Todas de raza mestiza, 65% machos y 35% hembras, de 1 a 8 años, la mayoría del sector Aguacatal. De 132 reses; se tomaron 23 muestras para cultivo de 23 animales, de las cuales se procesaron 25 incluyendo dos casos de resiembra. Se cultivaron las muestras en dos medios cada una y detectó un crecimiento de colonias en 13 de 25 muestras, que representa el 52% de las analizadas. En el medio de cultivo Stonebrink crecieron 11, y en Ogawa Kudoh 9. En baciloscopia, empleando tinción de Ziehl Neelsen, a (BAAR) Bacilos de Alcohol Acido Resistentes, dieron positivo 10 de las 13 muestras, representó el 77%, y negativas 3. Con la prueba PCR se examinaron 14 muestras pertenecientes a 8 animales, de ellas 5 correspondiente a 3 animales presentaron positivo para las bandas de genes 108 pb en RD9 y 149-150 pb en RD1, confirmando presencia de *Mycobacterium bovis*; con 2,8% del 132 inspeccionadas. Las 9 muestras de 5 animales analizadas mediante PCR resultaron Micobacterias No Tuberculosas (MNT) o atípicas.

Palabra clave: Microbiológica, Molecular, Micobacterias Sp,

Abstract

In the municipal slaughterhouse of the Ventanas canton Los Ríos province, 132 cattle were evaluated post mortem, examining lymph nodes with macroscopic infections or alterations. They were all of the mixed race 65% males and 35% females, from 1 to 8-year-old the majority from the Aguacatal. Of 132 cattle; 25 samples were taken for culture of 23 animals, including two cases of reseeded. The samples were cultured in two media each and a colony growth was detected in 13 of 25 samples which represents 52% of those analyzed. In the Stonebrink culture medium, 11 grew, and in Ogawa Kudoh 9. In smear microscopy using Ziehl Neelsen stain, a (AFB) Acid Resistant Alcohol Bacilli, 10 of the 13 samples were positive, representing 77%, and 3 negative. 2 samples cataloged as atypical Mycobacterium were obtained, GM-EV 02 and GM-EV 19. With the PCR test 14 samples from 8 animals were examined, of them 5 corresponding to 3 animals were positive for the 108pb gene bands in RD) an 149-150bp in RD1, confirming the presence of *Mycobacterium bovis*; With 2.8% of 132 inspected. The 9 samples of 5 animals analyzed by PCR were Non- Tuberculous Mycobacteria (NTIM)

Key word: Microbiological, Molecular, Mycobacterias

1 Introducción

1.1. Antecedentes del problema

La tuberculosis bovina (TBb) es causada por un agente etiológico llamado *Mycobacterium bovis* y afecta la salud tanto de animales salvajes como domésticos. La característica principal de la TBb es la generación de tubérculos que afectan cualquier órgano del animal, degenerando su tejido e impidiendo su funcionamiento lo que la ubica como una enfermedad crónica, progresiva y muchas veces asintomática que va restando vitalidad al animal hasta causarle la muerte (González & otros, 2016).

En el caso de la *M. bovis* los agentes hospedadores son los entes responsables de alojar y transmitir directa o indirectamente la enfermedad, según la OMS (2011) un hospedador puede ser un vegetal, animal o humano contagiado o contaminado con cualquier enfermedad infecciosa o susceptible a trasmisión y así mismo añade que no todo hospedador desarrolla completamente una enfermedad también depende de las características del huésped, su entorno social, nutrición, sanidad, habitad o vivienda, calidad del agua que consume y drenaje y el ambiente que lo rodea así como su alimentación.

Las constantes investigaciones científicas realizadas para hallar una vacuna efectiva contra *M. bovis* que funcione como un antimicrobiano potente que elimine completamente la bacteria es uno de los principales retos de la comunidad científica y que beneficiará principalmente al sector pecuario, en la reducción de los costos de producción ganadera, sanitarios y comerciales así como en combatir la propagación de la enfermedad en el ganado destinado para el consumo y al sector de la salud en reducir al máximo la probabilidad de

contagio a humanos o cualquier afectación a la salud pública (Domínguez, y otros, 2015).

La tuberculosis bovina se encuentra con mayor predominancia en África, también en Asia, Europa y América (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2020), enfermedad que genera importantes pérdidas en la producción ganadera tanto para las granjas pecuarias, como para el estado; debido a la propagación de la enfermedad cuando no se ha identificado o controlado apropiada ni oportunamente los casos de bovinos enfermos, generando altos costos tanto sanitarios como de la salud pública.

Para DATCP (2018) la mayor pérdida la asumen las fincas productoras. Una vez realizados los controles veterinarios y las pruebas de tuberculina el ganado que resulte positivo para *M. bovis* debe ser aislado del resto de la manada y sometido a un periodo de confinamiento necesario para tratar la enfermedad o para la realización de las pruebas post mortem, para la confirmación de los casos positivos. La producción o comercialización tanto de la res como de los productos como la leche, quesos y otros productos derivados de animales enfermos está prohibido; así mismo, cualquier tipo de traslado del animal para impedir la propagación, por lo que sumando las prácticas sanitarias que deben ejecutar implican altos costos para el productor.

1.2. Planteamiento y formulación del problema

1.2.1. Planteamiento del problema

El agente causal de la tuberculosis bovina es una micobacteria llamada *M. bovis*, la *Mycobacterium tuberculosis* es considerada como una enfermedad de alto

riesgo que afecta principalmente al ganado vacuno, con la capacidad de infectar al hombre a través de diferentes vías (Leal & Otros, 2016).

Un bovino puede contagiarse al beber leche cruda o respirar aire exhalado por otro animal enfermo o al estar en contacto con heridas expuestas de un animal positivo para tuberculosis bovina progresivamente el animal desarrollará una pérdida de peso, fatiga, disminución del apetito, tos crónica, fiebre, sin embargo los síntomas pueden ser visibles cuando la enfermedad ya ha progresado significativamente (DATCP, 2018).

La infección por *Mycobacterium* es presentada dentro del cuadro de enfermedades infecciosas así como de infestaciones más comunes por la Organización Mundial de Sanidad Animal (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2020).

En el Ecuador en el 2016 se emite el acuerdo Ministerial 136 por parte del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca, relacionado con las enfermedades infecciosas que incluye la tuberculosis en animales, en el artículo 2 se establece la bonificación por sanidad animal como medida para un mayor control de brucelosis y tuberculosis, indicando en el mismo que se otorgará una bonificación a aquellos productores que obtengan el certificado entregado por AGROCALIDAD, que indique que los animales se encuentran libres de enfermedades entre las que consta la tuberculosis (AGROCALIDAD, 2010)

En el 2020, se emite un informe de últimas notificaciones de enfermedades priorizadas de los animales terrestres en el Ecuador, con corte al mes de febrero en el que no consta ningún dato de tuberculosis bovina (Agencia de Regulación y Control fito y Zoonosanitario, 2020), en el 2019 la misma institución reportó

mensualmente el aparecimiento de las enfermedades en animales terrestres sumando un total anual de 74 casos, distribuidos: 1 caso en Cotopaxi, 30 casos en los Ríos, 8 casos en Chimborazo y 35 casos en la provincia de Pichincha. Información a nivel general, pero no existe información de este problema en los mataderos.

Al estar presente *M. bovis* causante de la tuberculosis en el ganado y este al ser faenado en los mataderos puede ser la causa del contagio de quienes se dedican a faenar y manipular la carne. Este trabajo en los mataderos debe cumplir con el control antes de su sacrificio y después del mismo, como parte del cumplimiento de las leyes vigentes y para que se garantice una carne apta para el consumo humano, sin ningún tipo de contaminación con esta enfermedad. Se necesita de la inspección de un profesional veterinario que observe los signos y patologías que este tipo de enfermedad produce en los animales que han sido infectados.

Al norte de la provincia de los Ríos se encuentra el cantón Ventanas, el cual cuenta con un camal ubicado al margen izquierdo del río Ventanas frente a la hacienda "Ventanillas" en el que se faenan un total de 200 reses en un promedio mensual, para abastecer al mercado local y de los cantones aledaños pero no se cuenta con información sobre identificación microbiología y molecular de *M. bovis*.

1.2.2. Formulación del problema

El matadero municipal del cantón Ventanas, provincia de Los Ríos, no cuenta con datos estadísticos de la identificación, microbiológica y molecular de micobacterias Sp en los animales despostados.

1.3. Justificación de la investigación

De acuerdo a los datos proporcionados por la municipalidad del cantón Ventanas en el matadero municipal de esa ciudad se faenan alrededor de 8 a 10 animales de diariamente a excepción de los días miércoles, con un promedio mensual de 200, para cubrir la demanda de carne del cantón y los sectores rurales y urbanos del cantón y sectores aledaños como como Zapotal, Echeandia, Pueblo Viejo y como aún no se ha podido erradicar la presencia de tuberculosis bovina en el país de acuerdo a los datos proporcionados por MAGAP, es necesario realizar un estudio de la bacteria en animales faenados en este matadero, por lo tanto la investigación ofrecerá información sobre la presencia de micobacterias Sp. en el matadero del cantón Ventanas, provincia de los Ríos donde no existe registro de identificación de este tipo de bacterias.

1.4. Delimitación de la investigación

Espacio. - La investigación se realizó en el Matadero Municipal de Ventanas, provincia de Los Ríos.

Tiempo. - El período comprende desde el mes de enero de 2021 hasta febrero de 2021.

Población. - animales faenados en el camal municipal de Ventanas que presenten signos de lesiones en ganglios.

1.5. Objetivo general

Identificar microbiológica y molecularmente las micobacterias en canales del matadero Municipal del Cantón Ventanas.

1.5.1. Objetivos específicos

- Cuantificar la presencia de ganglios y nódulos linfáticos con lesiones presuntivas a micobacterias en el matadero municipal del cantón Ventanas.
- Aislar mediante cultivos bacterianos la presencia de micobacterias
- Confirmar mediante pruebas moleculares los hallazgos microbiológicos de los cultivos bacterianos procedentes de los bovinos del cantón Ventanas.

1.6. Hipótesis

La Presencia de micobacterias en lesiones compatibles con tuberculosis en bovinos faenados en el matadero municipal del cantón Ventanas.

2. Marco Teórico

2.1. Estado del Arte

La Organización Mundial de Salud Animal estima que cada año aparecen aproximadamente 3 millones de casos de tuberculosis humana y la escasa información que se tiene a nivel global respecto a los programas de erradicación de la tuberculosis bovina, así como los pocos casos reportados de *M. bovis* principalmente por los países en vías de desarrollo desestiman los esfuerzos que se requieren para contrarrestar los problemas de la salud pública derivados por esta bacteria, más aún cuando los casos de tuberculosis humana no distinguen clínicamente si la infección fue provocada por la cepa *M. bovis*. (OIE, 2018).

A nivel nacional los datos de tuberculosis bovina son muy pocos, pero se ha implementado programas y bonificaciones por sanidad animal como una medida desesperada para erradicar la brucelosis y tuberculosis (AGROCALIDAD, 2010). La mayor presencia de tuberculosis bovina se reporta en el 2019, en la provincia de Pichincha, seguido de la provincia de Los Ríos (Agencia de Regulación y Control fito y Zoosanitario, 2020).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Definición

La tuberculosis bovina es considerada una enfermedad bacteriana crónica de los animales, el agente causante es *Mycobacterium tuberculosis*, por *M. bovis*, por *M. caprae* y también por *M. tuberculosis*. Es considerada como una enfermedad infecciosa (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2020).

En el año de 1881 Robert Koch un médico y microbiólogo alemán presentó sus avances en la investigación, tras descubrir el bacilo de la tuberculosis el cual se alojaba en los tubérculos, que más tarde en 1898 sería llamada como *Mycobacterium bovis* o *M. bovis*, por lo cual en el año de 1905 este descubrimiento lo hizo ganador a un premio Nobel de Fisiología. (Borrego, 2018)

2.2.2. Etiología

M. bovis, pertenece al complejo *M. tuberculosis*, que encierra a *M. bovis*, *M. caprae*, y *M. tuberculosis* (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2020), Pérez (2017), acota que también en este complejo de *M. tuberculosis* está *M. microti*, *M. canettii*; *M. pinnipedii*, así como la *M. africanum*, con similitud en la secuencia de nucleótidos, es la micobacteria causante de la tuberculosis tanto en animales silvestres o salvajes y puede transmitirse a humanos, por medio de inhalación, contacto con secreciones, orina, estiércol producidos por un animal infectado o por la ingesta de alimentos contaminados como la leche cruda (Verteramo, Tauer, Smith, & Grohn, 2019).

La tuberculosis bovina se produce de la infección por *M. bovis*, que es considerada una bacteria Gram positiva (Center Food Security & Public Health, 2009). *M. bovis* es la bacteria causante de tuberculosis bovina, es resistente al ácido-alcohol, tiene un tamaño aproximado entre 0,2 – 0,7 x 1-10 micras, no forma esporas no capsulas, es de crecimiento lento y es altamente resistentes a ambientes fríos y húmedos, presenta sensibilidad a la luz UV y solar y sus principales hospedadores son los bovinos, ovinos, caprinos, felinos, cérvidos y en especial el ganado vacuno. Para que un animal se contagie por inhalación, el aire debe contener al menos 10 bacilos de *M. bovis*. Se puede eliminar la bacteria

con temperaturas superiores a los 65 grados centígrados o inactivarla con luz ultravioleta y calor húmedo a 121° C (INSHT & DATABio, 2012).

2.2.3. Distribución Geográfica

La tuberculosis es una enfermedad que se ha propagado a nivel mundial siendo los continentes Africano, Asiático y Americano los que cuentan con la mayor presencia de casos reportados de *M. bovis* (Domínguez, y otros, 2015), dato corroborado por la Organización Mundial de Sanidad Animal en el 2019, (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2019). Sin embargo, en lo que respecta a América Latina y El Caribe Domínguez sostiene que la cantidad de casos podría ser mayor a la que se conoce debido a la falta de diagnóstico, soporte técnico para medir, la poca información provista por fincas ganaderas, falta de reportes o de registros inapropiados, entre otros.

Se ha catalogado como enfermedad de alto riesgo principalmente por incidir en la salud humana. Según los últimos reportes sobre el contagio con *M. bovis* reflejan un mayor número de casos a nivel global en África y un menor número de contagio en América Latina con aproximadamente 7000 casos. En los Estados Unidos, el Estado de California, presenta el mayor número de casos de contagio por tuberculosis bovina. En cuanto a América Latina el reporte de casos continúa siendo intermitente o nulo en algunos países (Pérez & Manjarrez, 2017). En el 2016, Diario El País, China e India tienen mayor prevalencia de contagios en humanos con 350 millones de personas que se han infectado mientras que en América se encontraba en un 17% (El País, 2016), contagios que también son datos considerados por el relacionamiento de la transmisión de la tuberculosis en animales a humanos y viceversa.

2.2.4. Epidemiología

El agente etiológico que causa la tuberculosis es la *M. bovis*, que con *M. tuberculosis*, *M. caprae*, *M. africanum*, *M. microtti* y por último *M. pinnipedii* dan lugar a *Mycobacterium tuberculosis*. Estas micobacterias no tienen pigmentos ni plásmidos (Ana Canal, 2012).

Según el estudio epidemiológico de *M. bovis* cuando se trata de animales silvestres requieren de varios actores o partes interesadas principalmente por su búsqueda por preservar la vida silvestre y determina que en ocasiones este proceso requiere un alto grado de participación y de manejo de conflictos presentados a menudo por temas relacionados a valores sociales asociados a las especies, consideraciones del reservorio del hospedador infectado con tuberculosis, el costo-beneficio económico de tratar a los animales enfermos versus sacrificarlos debido a que muchas especies se encuentran en riesgo de extinción, así como también el impacto que tendrá en las demás especies del ecosistema o reserva sean protegidas o no (Eamonn & Leigh, 2018).

A nivel mundial, la enfermedad se ha diseminado alrededor de todos los continentes afectados a animales y a humanos. En el 2020, ya se han reportado casos de tuberculosis bovina en países de Asia, Europa y América, confirmando la prevalencia de dicha enfermedad (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2020); además esta organización la presenta en el cuadro de las enfermedades de infestaciones más comunes en el 2020. En España según datos del 2019, se tiene que existió un descenso de la enfermedad hasta el 2013, con un repunte alcanzado en los años 2016 y 2017 y un posterior descenso hasta llegar a un 17% al 2019 (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación Español, 2019).

Entre el 2017 y 2018, el 44% de los países (82) reportaron a la OIE casos de tuberculosis bovina por medio del sistema WAHIS, en sus reportes se puede notar que la enfermedad se ha extendido en algunos de los países y que no todos han implementado o mantenido los controles necesarios para la erradicación de la tuberculosis, de este porcentaje únicamente el 23% reportó estar aplicando medidas de control, el 62% pocas medidas y el 3% no aplicaron medidas de control (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2019).

En Ecuador la información existente es escasa, pero en el 2019 se reportaron casos en la Provincia de Pichincha 34 casos y Los Ríos con 30 casos como las de mayor prevalencia, seguido por Chimborazo 8 y 1 en Cotopaxi (Agencia de Regulación y Control fito y Zoosanitario, 2020).

2.2.5. Transmisión

La tuberculosis bovina en un animal es un proceso largo, carece de precisión y su costo puede ser poco económico (González & otros, 2016). Los procesos de diagnóstico pueden aplicarse ante o post mortem y su método puede ser clínico, bacteriológico, inmunológico, histopatológica y detección de compuestos orgánicos volátiles. La especie bovina es uno de los hospedadores principales (Balzeiro & Goltazar, 2015)

M. tuberculosis y *M. bovis* son los principales agentes causantes de la tuberculosis en humanos. La *M. bovis* es el principal agente que se transmite entre animales y de animales a personas debido a una inadecuada gestión sanitaria en las fincas de producción ganadera, el contacto directo con animales infectados, por factores medioambientales en entornos con presencia física con animales infectados ya sea cuando están vivos o en la faena y en general por la

poca o nula higiene en manipulación de los alimentos provenientes de animales infectados como leche cruda y sus derivados. Las personas que tienen la enfermedad también pueden contaminar durante la cadena productiva si no se aplican correctamente las buenas prácticas de manipulación alimentaria (Elika, 2014)

Las vías de contagio de *M. bovis* son la respiratoria, digestiva, parental y por el contacto con mucosas o secreciones y en algunos casos por heridas abiertas (INSHT & DATABio, 2012).

La Tuberculosis es una de las enfermedades que se puede transmitir fácilmente entre un animal y un humano por vías similares de contagio y su desarrollo, así como la resistencia de la bacteria en el hospedador la hacen una enfermedad altamente peligrosa y una razón suficiente para mantener rigurosos controles sanitarios en animales y de salud pública en general (Domínguez, y otros, 2015).

2.2.6. Patogenia en Bovinos

Según (González & otros, 2016) a través de la biología molecular se han logrado grandes avances en el estudio del agente *M. bovis*, su relación patógena y la respuesta inmunológica que tiene ante diversos tratamientos que se han aplicado a través de vacunas vivas en las que se midieron la respuestas de diferentes animales infectados vacunados, aunque aún no hay una vacuna efectiva los científicos continúan realizando experimentos para lograr inmunizar a los animales así como reducir drásticamente su factor de transmisibilidad del *M. bovis*.

Según (Garro, Morris, Delgado, & Garbaccio, 2011) acorde a la vía de entrada de la bacteria se forma un foco infeccioso primario que ataca principalmente al órgano de entrada ya sean pulmones si el contagio se produjo por inhalación de la bacteria, o si el contagio primario fue por el aparato digestivo debido a la ingesta de alimentos contaminados por lo que deteriora principalmente los intestinos y nódulos linfáticos, en cambio si la entrada de *M. bovis* se produjo por el aparato oro nasal (cavidad bucal y nasal), se ven afectados los nódulos linfáticos y las amígdalas palatinas.

El proceso continuo una vez que la infección ha ingresado depende del hospedador el nivel de deterioro y progreso de la enfermedad que iniciará en el órgano afectado o si el hospedador tiene debilidad en el sistema inmunológico el *M. bovis* se dispersará rápidamente por todos los órganos principales y los síntomas de la enfermedad serán perceptibles externamente en el animal enfermo, hasta lograr la muerte del animal.

2.2.7. Período de incubación

El período de incubación de la enfermedad es variable y está relacionada con el estado del hospedador, así como la vía de entrada (Gobierno de España, 2020), también ejerce influencia el nivel de susceptibilidad, la manera en que se encuentran distribuida y otros aspectos. En el ganado los síntomas tardan mucho tiempo en desarrollarse (Center Food Security & Public Health, 2009).

2.2.8. Signos clínicos

La tuberculosis bovina presenta dificultad para ser detectada, por tener signos parecidos a otras enfermedades, solo es visible cuando la infección ha avanzado

(Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales y Agencia de Sanidad Animal y Vegetal Británico, 2018) Debe observarse si el ganado adelgaza, si presenta fiebre leve, reducción del apetito, además pueden observarse los ganglios linfáticos inflamados, tos húmeda, mastitis crónica, según menciona la misma fuente.

También disnea o taquipnea puede ser visible, pueden agrandarse los ganglios linfáticos retro faríngeos que puede ocasionar obstrucción de vasos sanguíneos. Cuando las afecciones aumentan también incide en la presencia de diarrea intermitente o estreñimiento (Ramos, Silva, & Degallostin, 2015).

2.2.9. Lesiones post mortem

Los signos de la tuberculosis en el ganado bovino pueden apreciarse en la cabeza y en el tórax, siendo observables también en el pulmón, brazo, así como en el hígado, se considera que puede verse en la superficie de las cavidades corporales Kantor y Ritacco 2006, (citado por Ramos y otros 2015) Aparecen a veces algunas lesiones en los genitales de las hembras y no así en los genitales del macho (Center Food Security & Public Health, 2009).

2.2.10. Diagnóstico

La detección de la tuberculosis bovina se puede realizar a través de diferentes métodos dependiendo de si el animal se encuentra vivo (ante mortem) o muerto (post mortem).

La prueba de hipersensibilidad retardada que consiste en inyectar tuberculina por vía intravenosa en una zona del animal y posteriormente medir el nivel de

hinchazón generado en un lapso de 72 horas. Por otra parte, las pruebas de laboratorio en sangre requieren de datos relativos sobre la especie que está siendo analizada, pueden aplicarse a diferentes pruebas en sangre como la prueba de proliferación de linfocitos que suelen ser utilizadas con fines científicos, prueba de interferón gamma para detección temprana de infecciones e enzimoimmunoanálisis utilizada comúnmente como una prueba complementaria más que diagnóstica de la enfermedad. Las pruebas post mortem en cambio se realizan por medio de necropsia, ácido nucleico, y la prueba PCR, histopatologías y bacteriológicas (OIE, 2018).

La detección a través del análisis de ADN en la leche constituye una prueba rápida de detección de *M. bovis* como una herramienta de control epidemiológico complementario y se realiza por medio de un test a muestra de leche la cual contiene ADN, así como bacterias lácteas y microorganismos en general, se aplica el test para determinar la presencia de *M. bovis* causante de la tuberculosis bovina por medio del cual se aplicando una técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Se recomienda mantener la prueba de tuberculina como un recurso para confirmar la presencia de *M. bovis* (Terreno, 2014)

Según un estudio realizado a bovinos con *M. bovis* positiva detectada a través de una prueba de tuberculina o intradermorreacción aplicada en el pliegue ano caudal (PAC) y que luego fueron confirmadas en la mayor parte de casos a través de muestras post mortem a estos animales. El estudio se enfocó en comparar con pruebas complementarias aplicadas en los bovinos vivos y confirmar la presencia de *M. bovis* con muestras realizadas en la leche, secreción nasal y

luego a través de la toma de muestras de tejidos (post mortem) para que fueran analizadas por medio de bacteriología e histopatología. Se concluyó que estos métodos diagnósticos complementarios de la leche y secreción nasal muestran una menor efectividad en la confirmación de los resultados positivos con *M. bovis*, en cambio en las pruebas realizadas al tejido en el estudio post mortem del animal los resultados fueron más efectivos y permitieron confirmar la mayor parte de casos sospechosos determinados inicialmente con PAC (Garbaccio, Delgado, Zumarraga, Rodríguez, Huertas, & Garro, 2018).

El estudio considera imperioso el mantener los estrictos controles sanitarios para lograr la propagación y erradicación de la tuberculosis bovina en especial durante los procesos productivos a través de la aplicación de pruebas de diagnóstico más efectivas que permitan disminuir el nivel de contagio en las granjas y así como también en mantener el proceso de pasteurización de la leche destinada principalmente para el consumo humano (Garbaccio, Delgado, Zumarraga, Rodríguez, Huertas, & Garro, 2018).

2.2.11. Control y prevención

A nivel mundial se han emprendido programas para el control y erradicación de la tuberculosis bovina muchos de ellos han logrado importantes resultados e incluso erradicación de tuberculosis, como en España que cuentan con un Programa Nacional de Erradicación de la tuberculosis bovina, logrando reducir el índice al 2019 con un 17% (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación Español, 2019).

En Europa se mantienen constantemente los programas de prevención, control y erradicación de la tuberculosis bovina, especialmente en España el cual cuenta un sistema de control para la erradicación de *M. bovis* e implementando

programas nacionales, manuales, encuestas epidemiológicas y planes de control tanto en bovinos domésticos como en especies silvestres dentro alineados normativas de la Unión Europea, así como controles en la información y estadísticas y capacitaciones nacionales alineadas a políticas públicas. (MAPA España, 2020)

Los programas de prevención en países de América Latina y el Caribe si los hay suelen ser intermitentes, regionales y existe poco seguimiento y la información encontrada es muy escasa. En el Ecuador, se han realizado algunas campañas de control en fincas o en algunas provincias principalmente para controlar la brucelosis y con un menor enfoque la tuberculosis, existen casos de éxito como el de las fincas de producción pecuaria ubicadas en la ciudad de Loja las cuales lograron obtener su certificado en el 2018 (Ministerio de Agricultura y Gadarería del Ecuador, 2018).

En el 2017 se pone en uso una hoja de ruta para el control de la tuberculosis Zoonótica en México, en la que se controla la trasmisión de los bovinos a los humanos (FAO, 2020)

2.2.12. Protocolos en los centros de faenamiento según normativa

Agrocalidad es la agencia encargada de regular los centros de faenamiento así lo establece el art. 59 de la Ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria, en todos los aspectos desde su funcionamiento hasta las medidas de faenamiento. Además, en el Registro Oficial N° 91, en el art. 168, se establece que la vigilancia epidemiológica en las zonas donde enfermedades deben realizarse de manera aleatoria por inspectores de Agrocalidad y esto incluye a los centros de faenamiento. En el art. 197 del mismo registro se menciona que los centros de

faenamiento, sean estos públicos o privados, deben colaborar con Agrocalidad con el sacrificio sanitario cuando sea el caso.

En el art. 221, se habla del control de ingreso de animales a Centros de faenamiento, los que deben contar con el certificado zoosanitario de Producción y Movilidad (DerechoEcuador, 2019).

2.2.13. Enfermedades de declaración obligatoria a nivel nacional

La Agencia de Regulación y Control fito y Zoosanitario emitió el catálogo que contiene el listado de enfermedades de declaración obligatoria en animales a nivel nacional, sitio en el cual se debe notificar sea sospecha o enfermedades confirmadas. Las enfermedades del ganado bovino si constan la tuberculosis bovina de declaración obligatoria así como también constan otras enfermedades como: Anaplasmosis bovina, campilobacteriosis genital bovina, la encefalopatía espongiiforme, leucosis, enzoótica, entre otras (Agencia de Regulación y Control Fito Zoosanitario, 2020).

2.3. Marco legal

La constitución del Ecuador 2008, en su art. 13 se establece el derecho que tienen las personas a alimentos sanos; producidos a nivel local. Se enfatiza la promoción de la Soberanía alimentaria (Gobierno del Ecuador, 2008).

En el Código Sanitario para los Animales Terrestres 2019, contenida en el artículo 8.11.1, para este código terrestre el complejo M tuberculosis encierra *M. bovis*, *M. caprae* y *M. tuberculosis*, pero excluye a aquellas cepas vacúnales. (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2020)

En el Registro oficial emitido en el año 2016, el primero de diciembre, se

establece un artículo para los procesos de certificación, rectificación y recertificación de predios libres de brucelosis y tuberculosis Bovina (Registro oficial 894, 2016).

La Ley de Sanidad Animal Ecuatoriana, promulgada en el 2004, y publicada en el Registro oficial de abril número 215, deja por sentado que será el Ministerio de Agricultura y Ganadería el encargado de velar por lo que ocurre con los hatos ganaderos (Registro Oficial 315, 2004). En el Art. 17 se otorga a la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosario, en control de plagas y enfermedades y en su Art. 23. Se menciona el aislamiento de animales enfermos para controlar los focos de infección y en su artículo 20, declara de interés nacional y obligatorio para ejercer acciones para evitar las enfermedades infectocontagiosas, endo-ectoparasitarias de ganado y aves.

Art. 15. Los animales a faenarse serán sometidos a la inspección ante y post mortem por el Servicio Veterinario del establecimiento quien debe emitir los correspondientes dictámenes (Ley de mataderos No 502. C)

De la ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria del Registro oficial suplemento 27, Art. 60. Condiciones de faenamiento. Indica de la inspección sanitaria. Dentro de los centros de faenamiento, el control y la inspección ante y post-mortem de los animales, será realizado obligatoriamente por un médico autorizado o que pertenezca a la Agencia y contará obligatoriamente con un registro audiovisual permanente de los procedimientos, tareas de faenamiento y de estándares de bienestar animal. El sacrificio urgente de animales será dictaminado por el médico veterinario autorizado, en los casos señalados por el Reglamento a esta Ley.

Todos los centros de faenamiento, público, mixto o privado deberán contar con al menos un médico veterinario en forma permanente, debidamente autorizado. Este requisito será indispensable para la habilitación y funcionamiento del centro de faenamiento. (Asamblea Nacional República del Ecuador , 2017).

En la ordenanza sustitutiva que Regula la introducción de Animales de Abasto, Faenamiento, El Desposte, la industrialización, la Inspección Sanitaria de los Animales de Abasto y Carnes de Consumo Humano, la refrigeración, la Comercialización, transporte y su expendio en cantón Ventanas indica en su Art .3. que la inspección sanitaria corresponde al control ante y post mórtem de los animales de abasto, a la recepción de los mismos en el camal, manipulación, faenamiento, elaboración, almacenamiento, rotulado, transporte, comercialización y consumo de carnes destinadas o no a la alimentación humana. En su Art. 13. Indica que los animales a faenarse serán sometidos a la inspección y re inspección, ante y post mortem por el Servicio Veterinario del establecimiento, quien debe emitir los correspondientes dictámenes (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del cantón Ventanas, 2015).

3. Materiales y métodos

3.1. Enfoque de la investigación

3.1.1. Tipo de investigación:

Es un estudio de tipo cuantitativa en cual se tomaron muestras y se identificaron animales con presencia de micobacterias mediante el método de PCR procedentes del camal municipal del cantón Ventanas.

De campo y de laboratorio: las bacterias detectadas se confirmaron mediante medios de cultivos los mismos que se caracterizan a especies de bacterias específicas, por lo tanto, el laboratorio deberá contar con un nivel de bioseguridad tipo 2 el cual está conformado por incubadoras, cámaras de flujo laminar y toda la indumentaria necesaria, entre otras.

3.1.2. Diseño de investigación:

De acuerdo a la clasificación de los estudios poblacionales la presente investigación fue de tipo descriptiva, transversal no experimental, por lo que se tomó una sola muestra por cada animal faenado durante los meses de enero y febrero en el camal municipal del cantón Ventanas Provincia de los Ríos.

3.2. Metodología

3.2.1. Variables

3.2.1.1. Variable independiente

- Raza
- Sexo

- Finca de procedencia
- Ganglio afectado
- Condición corporal

3.2.1.2. Variable dependiente

Identificación de Micobacterias Sp.

3.3. Población y muestra

Población. En el camal Municipal de Ventanas existe un promedio de sacrificio de 200 reses mensuales, las cuales son procedentes de los cantones aledaños a la localidad.

Muestra

$$n = \frac{NZ_{\alpha/2}^2 PQ}{(N-1)e^2 + Z_{\alpha/2}^2 PQ}$$

$$Z_{\alpha/2}^2 = 1.96$$

$$e^2 = 0.0025$$

DATOS

NIVEL DE CONFIANZA 95%	
1,96	
3,8416	
TOTAL DE PERSONAL	
N=	200
P=	0,5
Q=	0,5
ERROR (e)=	5%
TAMAÑO MUESTRA	
132	

Considerando 95% de confianza y 5% de error se determinó un tamaño de muestra de 132 animales faenados en el camal municipal de Ventanas.

3.4. Recolección de datos

3.4.1. Métodos y técnicas

3.4.1.1. Recolección de muestras en el matadero municipal del Cantón Ventanas.

- Se ejecutó una palpación en la cadena ganglionar con la finalidad de detectar lesiones.
- Se desinfectó el cuchillo en agua con Cloro al 10% antes de realizar cualquier corte en los ganglios identificados.
- Se guardó la muestra en una funda y rotuló la funda y se colocó en el cooler con hielo.
- Luego de cada corte se desinfectó el cuchillo con el agua con cloro al 10%

3.4.1.2. Aislamiento de Micobacteria Sp

De acuerdo a la microbiología tradicional, se realizó el aislamiento de el patógeno en los medios de cultivo Stonebrink y Ogawa Kudoh.

3.4.2. Método PCR

(Pèrez de Castro , 2011). La reacción en cadena de la polimerasa o PCR da la posibilidad de formar un elevado número de copias de un fragmento de DNA (ácido desoxirribonucleico). Para poder realizar la reacción se necesita una condición fundamental la cual se trata de disponer de fragmento cortos de DNA de cadena sencilla complementario a los extremos del fragmento a amplificar los mismos que servirán como cebadores para que una enzima polimerasa tenga la capacidad de incorporar nucleótidos complementarios a la cadena molde. Una

vez que la reacción esté finalizada los números de fragmentos amplificados se pueden observar por medio de métodos sencillos de separación de fragmentos de DNA.

El proceso parte desde un DNA molde, en donde una enzima polimerasa introduce nucleótidos complementarios mediante la zona de doble cadena causada por la unión de los cebadores al molde, esta reacción tiene lugar mediante los cambios de temperatura los cuales ayudaran a que complete los pasos necesarios. Dicho proceso se da lugar mediante tres fases, desnaturalización, hibridación y elongación.

El desarrollo del primer paso consiste en lograr que el DNA se desnaturalice, en otras palabras, que las dos cadenas de DNA se separen. Cociendo a esta primera fase como desnaturalización y se da lugar llevando la temperatura hasta alrededor de los 94 grados centígrados por lo menos un minuto

En segundo lugar, consiste en disminuir la temperatura con la finalidad que los cebadores se unan por complementariedad al DNA molde por lo que esta fase se la conoce como hibridación. Las temperaturas normales en este proceso van entre los 35 y 60 grados centígrados.

En la tercera y última fase la cual se trata de elongación o extensión, la enzima polimerasa incorpora nucleótidos complementarios a través del extremo 3' libre de la zona donde han hibridado los cebadores. Para saber que temperatura usar en esta fase es necesario tener en cuenta enzima polimerasa a usar; si se decide

trabajar con (Taq polimerasa) la temperatura de elongación debe ser de 72 grados centígrados.

Al culminar estas tres fases las cuales constituyen un ciclo de la PCR únicamente se ha obtenido una copia de un pequeño fragmento del DNA molde. La PCR se completa realizando alrededor de 25 y 35 ciclos.

La especificidad de la PCR está basada estrictamente en la temperatura empleada especialmente en la fase de hibridación, así como también en la cantidad de iones divalentes que se introducen a la reacción, también depende de la secuencia de los cebadores. Mientras mayor sea la temperatura empleada en la fase de hibridación, se puede decir que más específica es la reacción, ya que a mayor temperatura se ve más complicada la unión entre el cebador y la cadena molde.

3.4.3. Análisis Estadístico

El estudio consistió en aplicar distribución de frecuencias mediante tablas y gráficos descriptivos. Se realizó un análisis descriptivo, presentando los factores de riesgo. Se emplearon las herramientas de análisis avanzado de Excel.

4. Resultados

4.1. Lesiones compatibles con Micobacterias en animales despostados en el camal de la municipalidad del cantón Ventanas

La investigación se realizó desde 18 de enero hasta el 12 de febrero, se inspeccionó los animales despostados en el camal de la municipalidad del cantón Ventanas. Los animales faenados fueron 240, de los cuales examinó a 132 animales, y se tomó como muestra de los ganglios que presentaban lesiones macroscópicas que eran compatibles con micobacterias.

Tabla 1 Frecuencia de animales con lesiones compatibles con Micobacterias Sp.

Lesiones	Frecuencia absoluta	Frecuencia Relativa
Si	23	17%
No	109	83%
Total	132	100%

Fuente: Investigación de campo, Camal municipal del Cantón Ventanas.
Autor: Meléndez, 2021

En la tabla, se observa que el total de animales faenados de la muestra fue de 132, de esa cantidad 109 que corresponden el 83%, de los animales inspeccionados no mostraban ganglios lesionados, el 17% restante; es decir, 23 reses, si presentaron lesiones o afecciones compatibles con micobacterias.

4.2. Ganglio afectado

Según la prevalencia de *M. bovis* en relación al tipo de ganglio afectado del total de 23 muestras que presentaron afectaciones macroscópicas de 132 animales estudiados, los ganglios inguinal representaron el 4%, los pre-escapulares representaron el 30% y los retro faríngeo representaron el 65% de los ganglios con lesiones macroscópicas con alta probabilidad de presentar *M. bovis*. La técnica PCR confirmó 1 caso con presencia de *M. bovis* en cada tipo de ganglio.

Tabla 2 Prevalencia de M. bovis según tipo de Ganglio

Tipo de Ganglio	F		M
	Frecuencia	%	<i>M. bovis</i>
Inguinal	1	4%	1
Pre-escapular	7	30%	1
Retro faríngeo	15	65%	1
Total	23	100%	3

Fuente: Resultados PCR comparativo con datos levantados.

Autor: Meléndez, 2021

De los 23 animales con ganglios inflamados sospechosos, el 48% correspondían a las edades entre 1 y 3 años, solo el 25% dieron positivo a *M. bovis* bajo la técnica PCR. Las otras edades catalogadas fueron de entre 4-6 años, representaban el 43% de los animales con alteraciones en ganglios y el 9% restante, corresponden a las edades de 7-8 años (Ver Tabla 3).

Tabla 3 Prevalencia de *M. bovis* con respecto a la edad

Rango	Frecuencia	%	#M. bovis+	%M. bovis+
1 – 3 años	11	48%	3	25%
4 – 6 años	10	43%		
7 – 8 años	2	9%		
Total	23	100%	3	25%

Fuente: Resultados PCR comparativo con datos levantados.
Autor: Meléndez, 2021

Del total de 23 animales con lesiones macroscópicas compatibles con micobacterias, respecto al sexo del animal, 8 fueron hembras y 15 fueron machos, lo cual representa el 35% y el 65% respectivamente. De las hembras estudiadas, el 20% obtuvo prevalencia *Mycobacterium bovis* con la técnica PCR. Este resultado se observa en la siguiente tabla.

Tabla 4 Prevalencia de *M. bovis* con respecto al sexo

Sexo	Frecuencia	%	#M. bovis+	%M. bovis+
Hembra	8	35%		
Macho	15	65%	3	20%
-Total	23	100%	3	20%

Fuente: Resultados PCR comparativo con datos levantados.
Autor: Meléndez, 2021

En cuanto a la relación con el lugar de procedencia de los animales muestreados que presentaron ganglios con lesiones macroscópicas, el 87% (20) animales provenían del sector Aguacatal, vía Agua fría, de estos el 15% resultaron positivos a tuberculosis bovina mediante la técnica PCR. En cambio, analizando el total de 132 animales faenados en el camal durante el periodo de estudio, el

81% (107) provenían del sector Aguacatal, de estos 107 el 3% de animales resultó positivo a *M. bovis*.

Tabla 5 Prevalencia de M. bovis según procedencia

Procedencia	Muestra general		Muestra ganglios con lesiones macroscópicas		# M. bovis+	% M. bovis+
	F	%	f	%		
Aguacatal	107	81,06%	20	87%	3	2,8%
Echeandia	5	3,79%	0		0	0%
F. 2 Hnos.	8	6,06%	0		0	0%
F. Walter	8	6,06%	2	9%	0	0%
°Las Naves	2	1,52%	0		0	0%
Pueblo viejo	1	0,76%	1	4%	0	0%
San Luis	1	0,75%	0		0	0%
Total	132	100%	23	100%	3	2,8%

Fuente: Resultados PCR comparativo con datos levantados.

Autor: Meléndez, 2021

Los resultados respecto a la asociación de la procedencia de los animales con la prevalencia de tuberculosis bovina es probablemente debido al alto riesgo de transmisión o contagio entre los animales, ya que este sector es representativo en los procesos de producción lechera por lo que el contacto entre animales es mucho más alto que en zonas aledañas.

4.2.1. Especies de Micobacterias Sp. Microbiología tradicional (aislamiento en medios de cultivo) y de la técnica BAAR.

De los 132 animales 23 presentaron ganglios con lesiones o alteraciones compatibles con micobacterias y se encontraban en condiciones de análisis, por lo cual se extrajeron para su análisis, incluyendo dos casos de resiembra para

(GM-VEN 02 y GM-VEN 07), dando un total de 25 tomas de las cuales se observó el crecimiento de colonias en medios de cultivo.

Tabla 6 Crecimiento de colonias en medios de cultivos

Colonias	Frecuencia Absoluta	Frecuencias Relativas
Si	13	52%
No	12	48%
Total	25	100%

Fuente: Investigación de campo. Camal municipal del cantón Ventanas
Autor: Meléndez 2021

Se puede observar que, en 25 muestras correspondientes a 23 animales faenados, se comprobó el crecimiento de colonias en 13 muestras que representan el 52% de las muestras cultivadas y los 48% restantes no presentaron indicios de crecimiento de colonias.

Tabla 7 Aislamiento de colonias en medios de cultivo

Muestras	Medios de cultivo	
	Ogawakudoh	Stonebrink
GM-VEN 01	+	+
GM-VEN 02	+	
GM-VEN 02 (resiembra)		+
GM-VEN 03	+	+
GM-VEN 07 (Siembra)	+	+
GM-VEN 07 (Resiembra)	+	+
GM-VEN 12	+	+
GM-VEN 13		+
GM-VEN 14		+
GM-VEN 16	+	
GM-VEN 18		+
GM-VEN 19	+	+
GM-VEN 21	+	
GM-VEN 22		+
TOTAL	9	11

Fuente: Investigación de campo. Camal municipal del cantón Ventanas
Autor: Meléndez 2021

Los resultados del crecimiento de las colonias de acuerdo al medio de cultivo empleado. En el medio de cultivo de Stonebrink crecieron 11 muestras, y en el segundo de medio de cultivo Ogawakudoh, 9 muestras.

4.2.2. Especies de micobacterias aplicando BAAR

Se examinaron las muestras con pruebas de microbiología aplicando la técnica Ziehl Neelsen con el objeto de identificar casos con reacción a bacilos de alcohol acido resistentes (BAAR).

Tabla 8 Resultados de Baciloscopia BAAR

Resultados de baciloscopia	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Negativo	3	23%
Positivo	10	77%
Total general	13	100%

Fuente: Investigación de Campo Camal municipal cantón Ventanas
Autor: Meléndez 2021

De las 13 Muestras el 77% (10) de las colonias crecientes dieron positivo, a la prueba de bacilos alcohol acido resistentes (BAAR), frente a un 23% (3) que dieron como resultado negativo a BAAR. Se encontraron tres muestras catalogadas como Micobacterias atípicas (GM-VEN 02 siembra GM-VEN 02 resiembra y GM-VEN 19) aunque mostraron crecimiento en medio de cultivo, resultaron negativas para la prueba BAAR.

Tabla 9 Muestras positivas BAAR

Muestra	Resultado BAAR -	Resultado BAAR +
GM-VEN 01		+
GM-VEN 02 (Siembra)	+	
GM-VEN 02 (Resiembra)	+	
GM-VEN 03		+
GM-VEN 07 (siembra y Resiembra)		+
GM-VEN 12		+
GM-VEN 14		+
GM-VEN 16		+
GM-VEN 18		+
GM-VEN 18		+
GM-VEN 19	+	
GM-VEN 21		+
GM-VEN 22		+
Total	3	10

Fuente: Resultados de prueba BAAR. Trabajo de campo
Autor: Meléndez, 2021.

Se observa que 10 muestras que resultaron positivas a la técnica BAAR las cuales poseen alta probabilidad de padecer tuberculosis bovina o cualquier otro tipo de mico bacteria, el diagnóstico definitivo lo emite con mayor precisión con la técnica PCR.

4.2.3. Resultados de la aplicación a PCR

Se examinaron 14 muestras, mediante la técnica PCR multiplex, obteniendo como resultado, 5 muestras positivas a *M. bovis*, pertenecientes a 3 animales (tabla 12), lo cual representan el 2% de las 132 reses tomadas como muestra y las otras 9 muestras se catalogaron como micobacterias no tuberculosas (MNT).

Tabla 10 Especies de micobacterias mediante PCR

Muestra	Micobacterias no tuberculosas	M bovis +
GM-VEN 01	*	
GM-VEN 02 (Siembra)	*	
GM-VEN 02 (Resiembra)	*	
GM-VEN 03	*	
GM-VEN 07 (Siembra)		+
GM-VEN 07 (Resiembra)		+
GM-VEN 12	*	
GM-VEN 14	*	
GM-VEN 16	*	
GM-VEN 18		+
GM-VEN 18		+
GM-VEN 19	*	
GM-VEN 21	*	
GM-VEN 22		+
TOTAL	9	5

Fuente: Resultados de laboratorio. Informe del instituto de investigación en Zoonosis BioGENA®
 Autor: Meléndez 2021

Se identifican las muestras con resultados positivos mediante PCR, los cuales presentaron las bandas de genes de 108pb en RD9 y 149-150pb en RD1 confirmando presencia de *Mycobacterium bovis*.

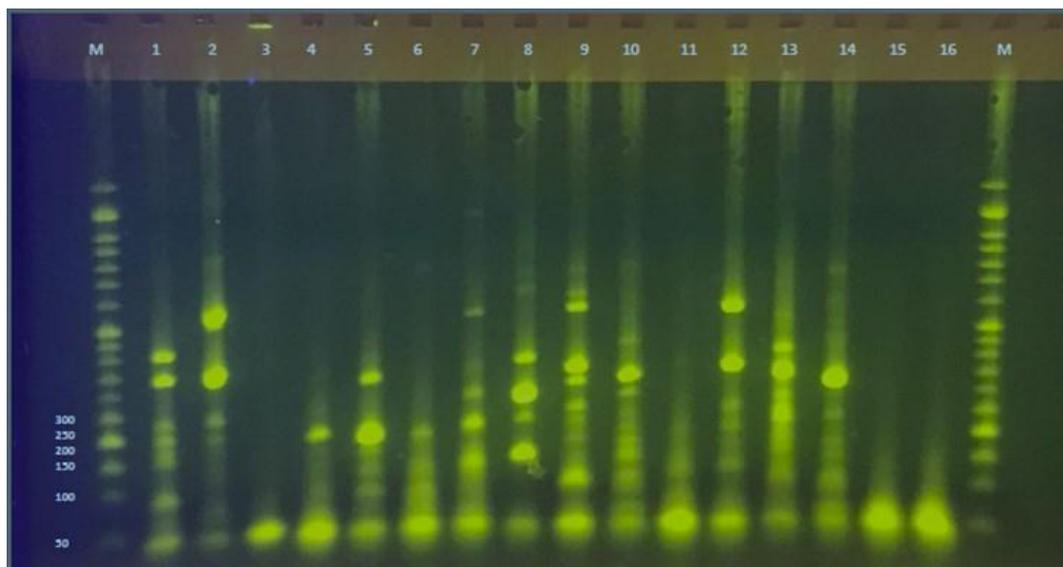


Figura 1 *Resultados pruebas PCR*

Fuente: Resultados de laboratorio. Informe del instituto de investigación en Zoonosis BioGENA ®

Autor: BioGENA

Las muestras 5, 6, 9, 10 y 14 T son *M. bovis* porque presentaron las dos bandas en los genes RD9 Y RD1, las otras 9 muestras se catalogaron como MNT micobacterias no tuberculosas.

4.3. Raza

El 100% de los bovinos que fueron inspeccionados en el camal del Cantón Ventanas correspondieron a la raza mestizos.

4.4. Edad

La edad de los animales tomados como muestra oscilaba entre 1 y 8 años, siendo en mayor número de 4 a 6 años, con 10 reses, según como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 11 Edad de los animales faenados

Rango	Frecuencia
1 – 3 años	11
4 – 6 años	10
7 – 8 años	2
Total	23

Fuente: Camal Municipal del cantón Ventanas
Elaborado por: Gabriel Meléndez

4.5. Sexo

De las 23 muestras seleccionadas 8 correspondieron a animales hembras; es decir el 35% y 15 a machos, que representa el 65%.

4.6. Procedencia

La procedencia de los animales faenados, en su mayoría el 81% de ellos provenía del sector Aguacatal, con un 6%, con 8 ejemplares cada una de F. 2 hermanos y F Walter, del cantón Echeandia 5 y de las Naves 2, Pueblo viejo 1 y San Luis 1.

4.7. Condición corporal

La prevalencia de micobacterias con respecto a la condición corporal de los bovinos al ingreso al camal del Cantón Ventanas. El 78% (18) de los bovinos con ganglios con alteraciones, correspondían a la condición corporal de 2,5 de los cuales el 11% (2) resultó positivo a *M. bovis*. Por otro lado, en el caso de los bovinos con condición corporal de 3 correspondiente al 13% (3) muestra, 1 resultó positivo a *M. bovis* lo que representa el 33% de animales en esta categoría.

Tabla 12 Prevalencia M. bovis según la condición corporal de los bovinos

Condición Corporal	F		M. bovis	%
	Frecuencia	%		M. bovis / F
2	2	9%		
2,5	18	78%	2	11,11%
3	3	13%	1	33,33%
Total	23	100%	3	

Fuente: Resultados PCR comparativo con datos levantados.

Autor: Meléndez, 2021

4.8. Protocolos de control de tuberculosis en el camal Municipal del cantón Ventanas vigente.

En la observación realizada en el Camal municipal del cantón Ventanas, en cuanto al cumplimiento de la norma ecuatoriana que regula el desposte animales en los mataderos y la obligatoriedad de notificar la presencia de casos con enfermedades de declaración obligatoria, se pudo establecer qué; las actividades realizadas de acuerdo al control realizado ante y post mortem de ganado bovino se cumple lo establecido en la normativa ecuatoriana y de acuerdo a las ordenanzas municipales del cantón Ventanas.

Tabla 13 Procedimiento para vigilancia y control de inspección de abasto en mataderos

Manual de procedimiento para la vigilancia y control de la inspección ante y post-mortem de animales de abasto en mataderos			
Proceso: Inocuidad de alimentos		Subproceso: Inocuidad de alimentos	
Responsable	Proceso	Actividades	Cumple
Médico Veterinario Oficial o autorizado	Inspección ante-mortem	Constatación de la limpieza del animal.	SI
Médico Veterinario Oficial o autorizado	Inspección ante-mortem	Inspección del animal vivo para detectar anomalías, en el movimiento, postura y conducta del animal.	SI
Médico Veterinario Oficial o autorizado	Inspección ante-mortem	Inspección al ingreso del animal vivo al matadero. Observación en movimiento.	SI
Médico Veterinario Oficial o autorizado	Inspección ante-mortem	Separación de animales con conductas anormales: Las anomalías pueden ser: <ul style="list-style-type: none"> • Al caminar • En la respiración • En la conducta • Postura • Secreciones • Protrusiones de los orificios corporales • Color anormal • Apariencia anormal (principalmente inflamación) • Olores anormales 	SI
Médico Veterinario Oficial o autorizado	Inspección ante-mortem	Emisión del informe ante-mortem. <ul style="list-style-type: none"> • Se autoriza matanza normal • Matanza bajo precauciones especiales. (Formulario de seguimiento de animal sospechoso) • Matanza de emergencia • Aplazamiento de matanza (riesgos al consumidor, enfermedades infecto-contagiosas) 	SI
Médico Veterinario Oficial o	Inspección ante-mortem	Retiro de animales con enfermedades zoonóticas u otras anomalías	SI

autorizado

Médico Veterinario Oficial o autorizado	Inspección ante-mortem	Retiro de animales encontrados muertos antes del faenamiento.	SI
Médico Veterinario Oficial o autorizado	Inspección ante-mortem	Inspección de tejidos, nódulos linfáticos por medio de múltiples incisiones, palpaciones y olfato.	SI
Médico Veterinario Oficial o autorizado	Inspección ante-mortem	Revisión del historial de enfermedades del hato o región de origen de los animales	SI
Médico Veterinario Oficial o autorizado	Inspección ante-mortem	Sellos de inspección visible en aptos o no para el consumo	SI
Médico Veterinario Oficial o autorizado	Inspección post mortem a la salida del eviscerado	Retiro de cualquier parte afectada o con patologías inhabilitadas para el consumo.	SI
Médico Veterinario Oficial o autorizado	Cierre de inspección	Formularios de inspección y formularios de seguimiento de animales sospechosos.	SI

Fuente: (Resolución 0197, 2016)

Autor: Meléndez 2021

5. Discusión

En la presente investigación de un total 132 animales faenados estudiados en el Camal del cantón Ventanas, el 2% de los animales inspeccionados tenían Micobacterias Bovina, según los resultados de la prueba PCR 5 muestras dieron positivo a *Mycobacterium bovis*, correspondiente a 3 reses, y 9 muestras restantes se catalogaron como MNT, correspondían a 5 animales. Contrasta de forma significativa con el 56,07% que obtuvo Plúas(2019), en los resultados de laboratorio en el Camal de Buena Fe, de la misma provincia de Los Ríos, en 157 animales. Difiere también con un resultado muy inferior al porcentaje encontrado por Bermeo (2019) en el 2019, que evaluó 200 animales encontrando 123 positivos a tuberculosis; es decir el 61, 5% en prueba en el cantón Valencia de la misma provincia de Los Ríos. La Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario en mayo de 2019 (AGROCALIDAD, 2019), presenta 30 casos confirmados en el cantón Valencia, cantidad muy superior a esta investigación. Esta diferencia puede deberse las zonas mencionadas están dedicadas a la producción ganadera, lo que implica mayor movimiento y hacinamiento de ganado que incide en la transmisión de la enfermedad.

El resultado de esta investigación es superior a 0 casos encontrados en el cantón Ventanas en el año 2019 y en el 2020 por la misma AGROCALIDAD. También es más alto que los resultados encontrados por (Vitoner, 2020) de 0% a PCR LAMP de 157 bovinos en el Camal de Santa Rosa en El Oro y de (Narvárez, 2020) de 0,8% de 123 bovinos inspeccionados en Lomas de Sargentillo. Resultado que indica que en la zona de Aguacatal de donde proviene la mayoría de las reses faenadas ganado de esta investigación existe la presencia de esta

enfermedad, en lo que es necesario prestar mayor atención por parte de las autoridades del cantón Ventanas.

En cuanto a las mycobacterias atípicas positivas corresponden a 2 reses del total representan 1.5% de las 132 reses, porcentaje similar a 1.32% obtenido (Capelo, 2020); pero es inferior comparado con el 2.5% que correspondía a 4 reses encontrado por (Vitoner, 2020); éstas bacterias que aunque no está demostrado que se transmiten por el consumo de la carne, producen graves efectos en la salud humana según lo indica (FAO 2019).

6. Conclusión

De las 132 reses examinadas en el camal municipal del cantón Ventanas, se cuantificó la presencia de 23 muestras con afectaciones macroscópicas de las cuales 4% corresponden a ganglios inguinal, el 30% en los ganglios pre-escapulares y los retro faríngeos representaron un 65%.

El aislamiento realizado en medios de cultivo Stonebrink se detectó el crecimiento de colonias en 11 muestras, mientras que en el medio Ogawa Kudoh se detectó el crecimiento de colonias en 9 muestras.

Al realizar las pruebas moleculares se obtuvo la confirmación de un caso en presencia de *M. bovis* en cada tipo de ganglio, inguinal, pre escapular, retro faríngeo. De 14 muestras examinadas con PCR multiplex, 5 muestras positivas a *M. bovis* de 3 animales y 9 muestras se catalogaron como MNT (Micobacterias no tuberculosas)

7. Recomendación

El uso de las pruebas de laboratorio con técnicas moleculares, permiten conocer lo que ocurre con la presencia de micobacterias de manera segura, rápida y sobre todo con precisión, por ello se aconseja que se emplee como medida de control para tener los datos de lo que ocurre con este tipo de problemas.

El camal municipal del cantón Ventanas, debe proporcionar los controles necesarios para que se pueda seguir reduciendo la presencia de esta enfermedad que afecta a animales y humanos como es la tuberculosis bovina.

Es preciso continuar investigando el tema para poder verificar la prevalencia de la enfermedad en el camal estudiado, así como también poder llevar un control Nacional, para que con ello podamos garantizar al consumidor una carne segura y libre de cualquier patógeno que pueda poner en riesgo la vida.

8. Bibliografía

- Agencia de Regulación y Control fito y Zoonosanitario. (2020). *últimas notificaciones de enfermedades*. Obtenido de <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/documentos/g8.pdf>
- Agencia de Regulación y Control Fito Zoonosanitario. (2020). Resolución 008. *Enfermedades, infecciones e infectaciones de animales determinadas como de notificación declaración obligatoria en el Ecuador*. Agencia de Regulación y Control Fito Zoonosanitario, Quito.
- AGROCALIDAD. (2010). *Acuerdo Ministerial*. Obtenido de <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/acuerdo-136.pdf>
- AGROCALIDAD. (mayo de 2019). *enfermedades de los animales terrestres confirmadas en Ecuador*. Obtenido de <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/09/Mayo-2019-reporte.pdf>
- Ana Canal. (2012). *tuberculosisi bovina: vigilancia epidemiológica en mataderos de la provincia de Santa Fe Argentina) evaluacipin de la repuesta inmune en lesiones gradulomatosas de animales infestados*. Obtenido de <https://eprints.ucm.es/17862/1/T34121.pdf>
- Asamblea Nacional República del Ecuador . (2017). *Ley orgánica de Sanidad Agropecuaria*. Obtenido de https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-09/Documento_Ley%20Org%C3%A1nica%20de%20Sanidad%20Agropecuaria.pdf
- Balzeiro, A., & Goltazar, C. (2015). *Tuberculosis animal, investigación y control en España*. Obtenido de <http://www.serida.org/pdfs/6345.pdf>

- Bermeo, R. (2019). Análisis basado en lamp (Aplicación isotérmica mediada por Loop= para la detección de *Mycobacterium bovis* en el camal municipal del cantón Valencia. *Proyecto de investigación*. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo.
- Borrego, J. (marzo de 2018). La Microbiología en sellos _ Robert Koch: El triunfo de la perseverancia. *NoticiaSEM*. Obtenido de <https://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/koch.pdf>
- Capelo. (2020). Tuberculosis Bovina en animales faenados en el camal del cantón pasaje provincia de el oro. *Tesis*. Universidad Técnica de Machala, Machala.
- Center Food Security &Public Healt. (2009). *Tuberculosis bovis*. Obtenido de http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/bovine_tuberculosis-es.pdf
- DATCP. (2018). *Tuberculosis bovina*. Obtenido de Wisconsin Department of Agriculture, Trade and Customer Protección DATCP: <https://datcp.wi.gov/Documents/dah-adc-090SPw.pdf>
- Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales y Agencia de Sanidad Animal y Vegetal Británico. (2018). *TB bovina: cómo detectar y notificar la enfermedad*. Obtenido de <https://www.gov.uk/guidance/bovine-tb>
- DerechoEcuador. (2019). *Registro Oficial No 91, viernes 29 de noviembre de 2019 suplemento*. Obtenido de <https://derechoecuador.com/registro-oficial/2019/11/registro-oficial-no91-viernes-29-de-noviembre-de-2019-suplemento>

- Domínguez, A., Pérez, R., González, I., Toirac, R., Riquenes, Y., Rodríguez, Y., & Acosta, I. (febrero de 2015). *Mycobacterium bovis: realidades y retos para la industria biofarmacéutica veterinaria. Bionatura - Latin American Journal of Biotechnology and Life Sciences.*
- Eamonn, G., & Leigh, C. (21 de diciembre de 2018). Wild Animal Tuberculosis: Stakeholder Value Systems and Management of Disease. *Frontiers in Veterinary Science.* Obtenido de <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2018.00327/full>
- El Comercio. (noviembre4 de 2019). La tuberculosis requiere detección y terapia. Obtenido de <https://www.elcomercio.com/actualidad/tuberculosis-deteccion-terapia-muerte-salud.html>
- El País. (2016). *El mapa de la tuberculosis.* Obtenido de https://elpais.com/elpais/2016/10/25/planeta_futuro/1477423376_392510.html?rel=mas
- El Telégrafo. (18 de mayo de 2020). Investigadores describen cepas ecuatorianas de tuberculosis. *Redacción Sociedad.* Obtenido de <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/sociedad/6/investigadores-cepas-ecuatorianas-tuberculosis>
- Elika. (2014). *Mycobacterium. Elika, Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria, 4.*
- FAO. (2020). *Primera hoja de ruta para detener la transmisión de la tuberculosis bovina y zoonótica.* Obtenido de <http://www.fao.org/news/story/es/item/1043395/icode/>
- FAO. (s.f.). *Información microbiológica.* FAO. FAO.

- Garbaccio, S., Delgado, F., Zumarraga, M., Rodríguez, L., Huertas, P., & Garro, C. (abril de 2018). Diagnóstico bacteriológico de tuberculosis bovina en bovinos reactivos positivos a la prueba de tuberculina. *Revista de Investigaciones Agropecuarias RIA*. Obtenido de <http://ria.inta.gob.ar/sites/default/files/trabajosenprensa/garbaccio-castellano-6.pdf>
- Garro, C., Morris, W., Delgado, F., & Garbaccio, S. (2011). *Tuberculosis Bovina en terneros*. Obtenido de Instituto de Patobiología INTA Castelar: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_en_general/98-Tuberculosis_Terneros.pdf
- Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del cantón Ventanas. (2015). *Ordenanzas Sustitutiva que Regula la introducción de Animales de Abasto, Faernamiento, el Desposte, la industrialización*. Ventanas.
- Gobierno de España. (2020). *Tuberculosis*. Obtenido de https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/sanidad-animal/enfermedades/tuberculosis/Tuberculosis_bovina.aspx
- Gobierno del Ecuador. (2008). *Constitución*.
- González, I., Domínguez, A., Toirac, R., & Rodríguez, Y. (septiembre de 2016). Prevención y diagnóstico veterinario de la tuberculosis bovina. Una revisión de las tendencias globales. Obtenido de <http://oaji.net/articles/2020/8277-1599517795.pdf>

- ICA. (Agosto de 2013). *Instituto Colombiano Agropecuario*. Obtenido de [https://www.ica.gov.co/getdoc/37fff3e7-2414-4129-a104-06f55f7f6c63/tuberculosis-bovina-\(1\).aspx](https://www.ica.gov.co/getdoc/37fff3e7-2414-4129-a104-06f55f7f6c63/tuberculosis-bovina-(1).aspx)
- INSHT, & DATABio. (23 de septiembre de 2012). *Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo*. Obtenido de Mycobacterium bovis (excepto la cepa BCG): <https://www.insst.es/documents/94886/353495/Mycobacterium+bovis.pdf/a9acf7ea-a777-4cd3-9c86-34b1afecd499>
- Instituto de Investigación de Salud Pública "Leopoldo Izquieta Pérez. (2021). *informe PCR*. Quito.
- Leal, A., Castro, C., Wintaco, L., Villalobos, R., & Puerto, G. (16 de septiembre de 2016). *Tuberculosis por Mycobacterium bovis en trabajadores de fincas en saneamiento para tuberculosis bovina, de Antioquia, Boyacá y Cundinamarca*. Instituto Nacional de Salud e Instituto Colombiano Agropecuario ICA, Bogotá, Colombia. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.15446/rsap.v18n5.51187>
- Ley de mataderos No 502. C.* (s.f.). Obtenido de <http://www.epmrq.gob.ec/images/lotaip/leyes/lm.pdf>
- Linde, P. (13 de octubre de 2017). *El País*. Obtenido de https://elpais.com/elpais/2017/10/12/planeta_futuro/1507840511_409992.html
- MAPA España. (2020). *Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*. Obtenido de https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/sanidad-animal/enfermedades/tuberculosis/Tuberculosis_bovina.aspx

- Ministerio de Agricultura y Gadaría del Ecuador. (2018). *Loja tiene 41 predios libres de brucelosis y tuberculosis bovina*. Obtenido de <https://www.agricultura.gob.ec/loja-tiene-41-predios-libres-de-brucelosis-y-tuberculosis-bovina-2/>
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación Español. (2019). *Informe final técnico financiero del programa Nacional de la Tuberculosis Bovina año 2019*. Obtenido de https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/informefinaltecnicotb2019_tcm30-540890.pdf
- Narváez, O. (2020). Presencia de Mycobacterium spp. en Bovinos faenados en el camal del cantón Lomas de Sargentillo. *Tesis*. Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil.
- OIE. (2018). Tuberculosis bovina. *Manual Terrestre de la OIE*. Obtenido de https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.04.06_BOVINE_TB.pdf
- OMS. (2011). *Módulo de principios de Epidemiología para el control de enfermedades MOPECE* (Vol. 2da). Organización Mundial de la Salud. Obtenido de https://www.paho.org/col/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=publicaciones-ops-oms-colombia&alias=855-mopece3&Itemid=688
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2019). *Tuberculosis bovina: distribución mundial y aplicación de medidas de prevención y control según los datos de WAHIS*. Obtenido de Organización Mundial de Sanidad Animal: <https://oiebulletin.com/?panorama=wahis-tb-es&lang=es>

- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2020). *Enfermedades, infecciones e infestaciones de la lista de la OIE en vigor en 2020*. Obtenido de <https://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-la-lista-de-la-oie-2020/>
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2020). *Infección por el complejo Mycobacterium tuberculosis*. Obtenido de https://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=chapitre_bovine_tuberculosis.htm
- Pérez de Castro , A. (2011). Reacción en cadena de la polimerasa (polymerase Chain Reaction, PCR). *Riunet*, 1-10.
- Pérez, E., & Manjarrez, B. (marzo de 2017). Tuberculosis por Mycobacterium bovis: ¿Una infección reemergente? *Revista del Instituto Mexicano del Seguro Social*. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2017/im175s.pdf>
- Pérez, I. d. (2021). *Informe de resultados PCR*. Quito.
- Plúas, L. (2019). Técnica de LAMP (aplicación isotérmica mediada por Loop) para la detección directa de Mycobacterium ovis en el Camal Municipal del cantón Buena Fé. *Proyecto de investigación*. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo.
- Ramos, D., Silva, P., & Degallostin, O. (2015). *Diagnóstico de tuberculosis bovino: revisión de las principales técnicas*. Obtenido de https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842015000600830
- Registro Oficial 315. (2004). *Ley de sanidad animal codificación*. Obtenido de <http://www.epmrq.gob.ec/images/lotaip/leyes/losa.pdf>

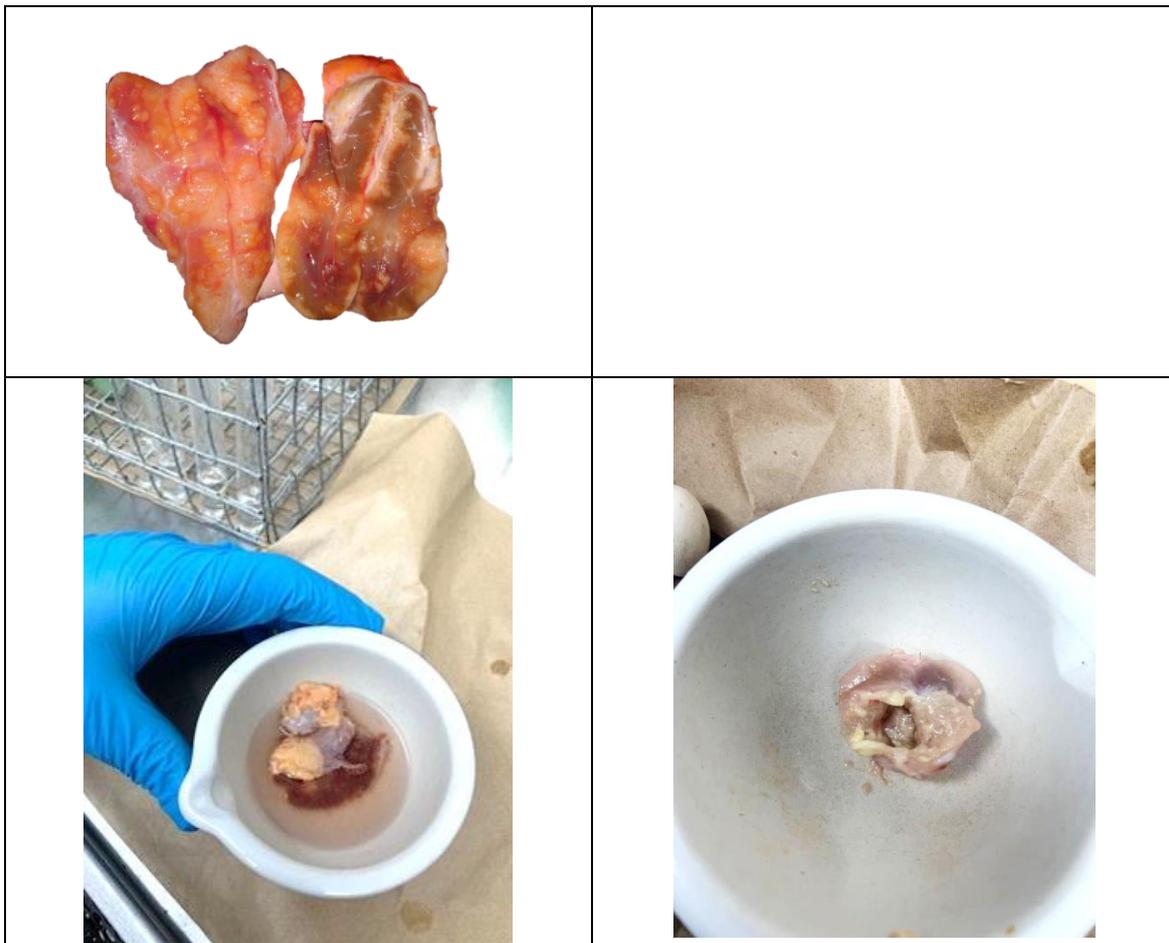
- Registro oficial 894. (2016). *Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del AGro- Agrocalidad*. Obtenido de https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2019-02/Documento_Instructivo%20para%20los%20procesos%20de%20certificaci%2B%C2%A6n%20y%20recertificaci%2B%C2%A6n%20de%20predios%20libres%20de%20brucelosis%20y%20tuberculosis%20bovina.pdf
- Resolución 0197. (2016). Manual de procedimiento para la vigilancia y control de la inspección ante y post-mortem de animales de abasto en mataderos. *AGROCALIDAD*. Obtenido de <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/fae3.pdf>
- Terreno, F. (agosto de 2014). PCR Para vigilancia epidemiológica, Tuberculosis Bovina. *RIA Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 40(2).
- Tierney, D., & Nardell, E. (2018). *Manual MSD*. Obtenido de Tuberculosis: <https://www.msmanuals.com/es/hogar/infecciones/tuberculosis-e-infecciones-relacionadas/tuberculosis-tb>
- Vanegas, E., & Mora, A. (2018). *Diagnóstico de Mycobacteriosis por Técnicas microbiológicas en animales Faenados en un camal de la provincia del Guayas*. Universidad de Guayaquil, Guayaquil.
- Verteramo, L., Tauer, L., Smith, R., & Grohn, Y. (25 de Enero de 2019). *Journal of Dairy Science*. 102(3). Obtenido de [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(19\)30076-1/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(19)30076-1/fulltext)
- Vitonera, R. (2020). *Tuberculosis Bovina en animales faenados en el camal del cantón Santa Rosa, provincia del Oro*. Universidad Técnica de Machala, Machala.

9. Anexos

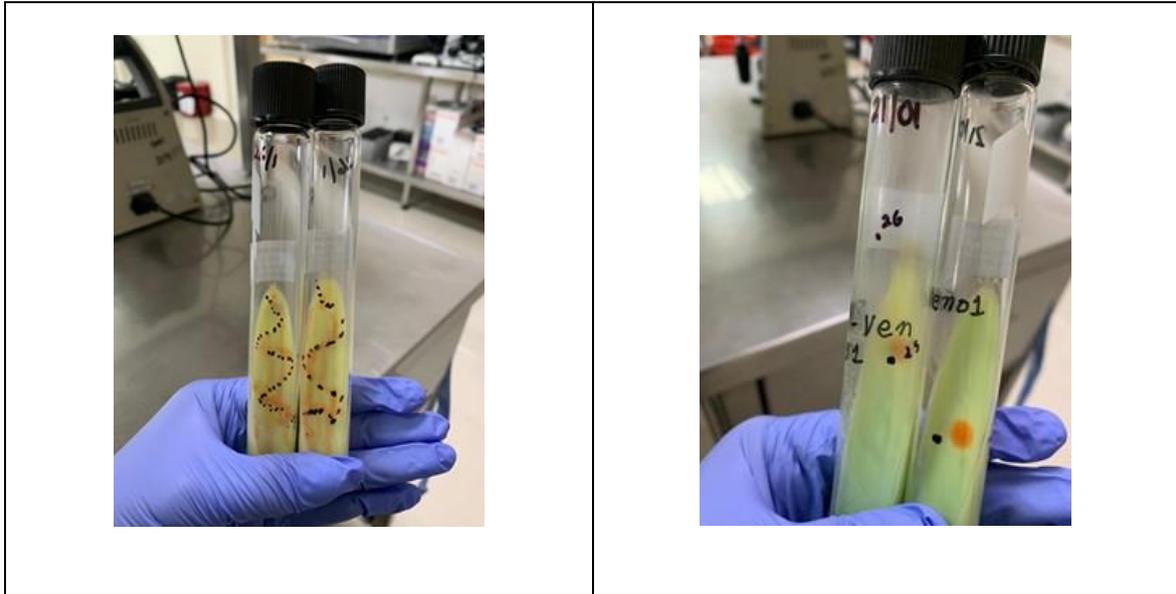
Anexo N° 1 Inspección post mortem para detección de lesiones compatibles con M bovis



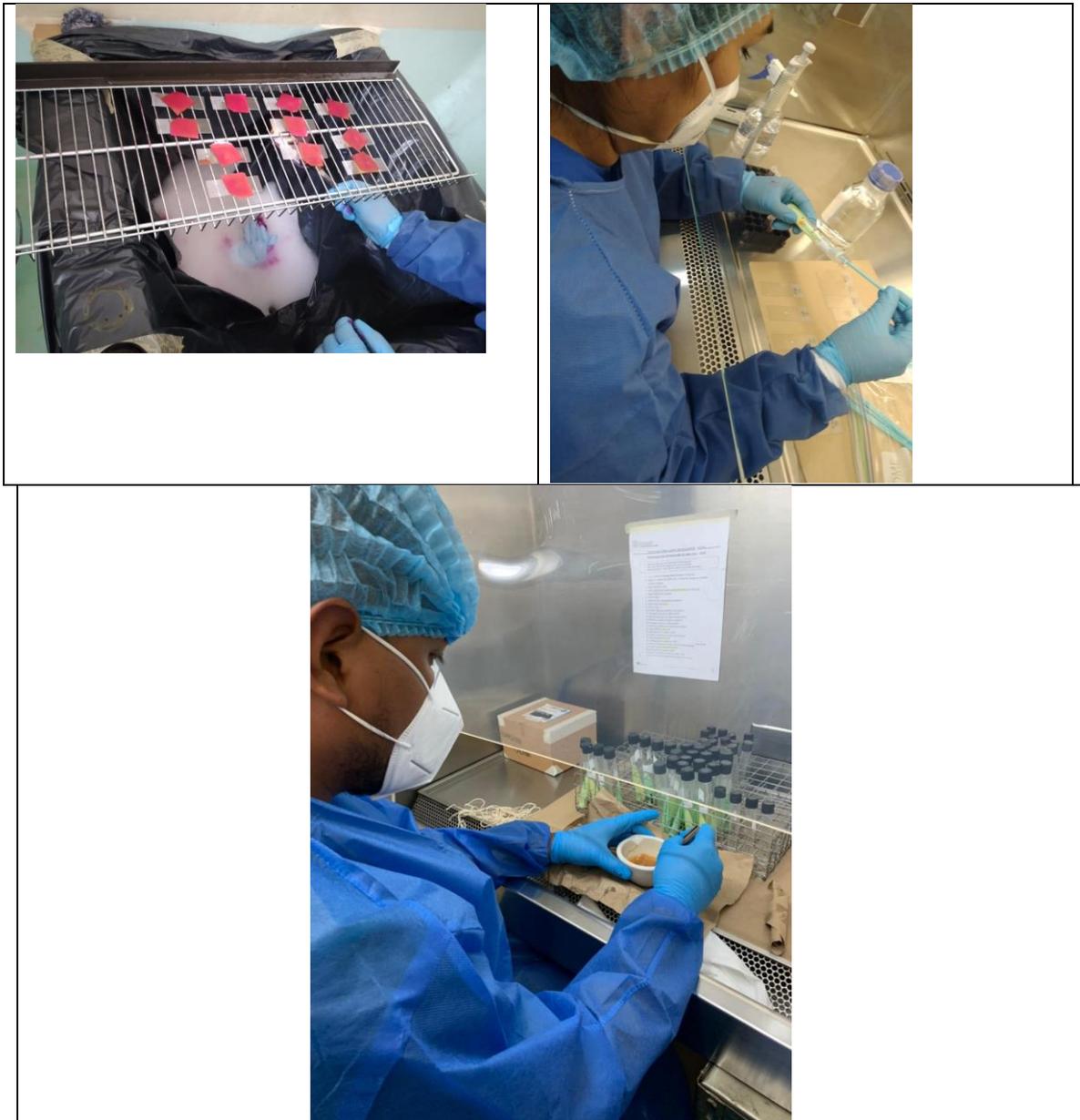
Anexo N° 2 Ganglios con lesiones compatibles a tuberculosis



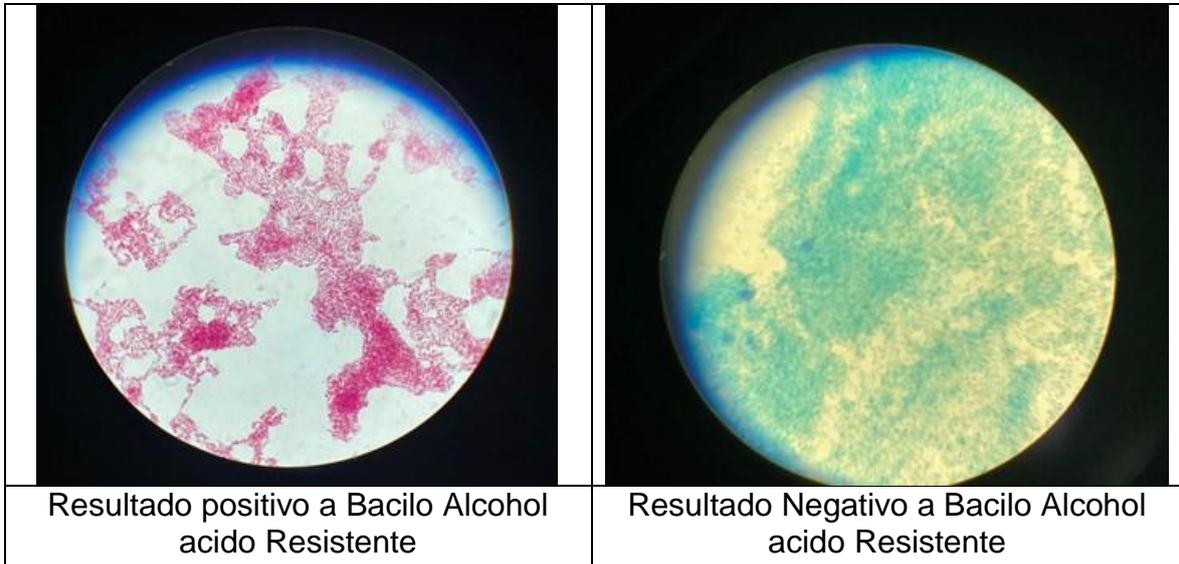
Anexo N° 3 Crecimiento de colonias en medios de cultivo



Anexo N° 4 Resultados de la aplicación de la técnica de tinción Ziehl Neelsen



Anexo N° 5 Visualización de placa POSITIVA y NEGATIVA a bacilo alcohol ácido resistente



Anexo N° 6 registros de muestras y crecimientos

N° DE VACA	FECHA REVISIÓN	RAZA	SEXO	PROCEDENCIA	GANGLIO AFECTADO	C.C	CON LESIONES	TIPO DE LESIÓN	PROPOSITO DEL ANIMAL	COLOR ANIMAL	D. RECOLECCION	CODIGO INSPI	DÍA DE SIEMBRA	CRECIMIENTO COLONIA	FECHA DE CRECIMIENTO	RESULTADO BAR
1	18/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
2	18/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
3	18/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
4	18/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble	CAFÉ	18/1/2021	GM-VEN 01	21/1/2021	SI	1/2/2021	POSITIVO
5	18/1/2021	mestizo	M	F. Walter	Retrofaringeo	3	SI	grisáceos	doble							
6	18/1/2021	mestizo	M	F. 2 Hinos	NA	2,5	NO	N/A	doble							
7	18/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	Retrofaringeo	2	SI	grisáceos	doble							
8	18/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2	NO	N/A	doble	BLANCA	18/1/2021	GM-VEN 02	21/1/2021	SI	25/1/2021	NEGATIVO
9	18/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
10	18/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
11	19/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
12	19/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
13	19/1/2021	mestizo	H	Echeandia	NA	2,5	NO	N/A	doble							
14	19/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
15	19/1/2021	mestizo	M	F. Walter	Retrofaringeo	2,5	SI	caseosos	doble	CAFÉ	19/1/2021	GM-VEN 03	21/1/2021	SI	28/1/2021	POSITIVO
16	19/1/2021	mestizo	H	Las Naves	NA	2	NO	N/A	doble							
17	19/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
18	19/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	Retrofaringeo	2,5	SI	grisáceos	doble	NEGRO	19/1/2021	GM-VEN 04	21/1/2021	NO	NA	NA
19	19/1/2021	mestizo	M	Las Naves	NA	3	NO	N/A	doble							
20	19/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
21	19/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
22	19/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
23	21/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
24	21/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
25	21/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	Retrofaringeo	2,5	SI	amarillentos	doble	BLANCO	21/1/2021	GM-VEN 05	21/1/2021	NO	NA	NA
26	21/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
27	21/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
28	21/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
29	21/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
30	21/1/2021	mestizo	H	F. Walter	NA	2,5	NO	N/A	doble							
31	21/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	Retrofaringeo	2,5	SI	grisáceos	doble	NEGRA	21/1/2021	GM-VEN 06	21/1/2021	NO	NA	NA
32	21/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
33	21/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2	NO	N/A	doble							
34	25/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
35	25/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2	NO	N/A	doble							
36	25/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
37	25/1/2021	mestizo	H	San Luis	Inguinal	2,5	SI	purulento	doble							
38	25/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	Retrofaringeo	2,5	SI	amarillentos	doble							
39	25/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	Inguinal	2,5	SI	caseosos	doble	MANCHADO	25/1/2021	GM-VEN 07	28/1/2021	SI	2/7/2021	POSITIVO
40	25/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
41	25/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	Retrofaringeo	2,5	SI	grisáceos	doble	EGRA-BLANCO	25/1/2021	GM-VEN 08	28/1/2021	NO	NA	NA
42	25/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
43	25/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	Retrofaringeo	3	SI	amarillentos	doble							
44	26/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
45	26/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2	NO	N/A	doble							
46	26/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	Pre-escapular	2,5	SI	grisáceos	doble							
47	26/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	Pre-escapular	2,5	SI	grisáceos	doble	NEGRO	26/1/2021	GM-VEN 09	28/1/2021	NO	NA	NA
48	26/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
49	26/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
50	26/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
51	26/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	Retrofaringeo	2,5	SI	amarillentos	doble	BLANCO	26/1/2021	GM-VEN 10	28/1/2021	NO	NA	NA
52	26/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
53	26/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	Pre-escapular	2,5	SI	grisáceos	doble	CAFÉ	26/1/2021	GM-VEN 11	28/1/2021	NO	NA	NA
54	26/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
55	28/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
56	28/1/2021	mestizo	H	F. 2 Hinos	Pre-escapular	3	SI	grisáceos	doble							
57	28/1/2021	mestizo	H	Echeandia	NA	2,5	NO	N/A	doble							
58	28/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
59	28/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
60	28/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
61	28/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
62	28/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	Pre-escapular	2,5	SI	grisáceo	doble	MANCHADO	28/1/2021	GM-VEN 12	28/1/2021	SI	NA	POSITIVO
63	28/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
64	28/1/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
65	28/1/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
66	1/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
67	1/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
68	1/2/2021	mestizo	H	F. 2 Hinos	NA	2,5	NO	N/A	doble							
69	1/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
70	1/2/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
71	1/2/2021	mestizo	H	F. Walter	NA	3	NO	N/A	doble							
72	1/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
73	1/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
74	1/2/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
75	2/2/2021	mestizo	M	F. Walter	NA	2,5	NO	N/A	doble							
76	2/2/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
77	2/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
78	2/2/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2	NO	N/A	doble							
79	2/2/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
80	2/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	Retrofaringeo	2,5	SI	amarillentos	doble	AMARILLA	2/2/2021	GM-VEN 13	4/2/2021	NO	NA	NA
81	2/2/2021	mestizo	M	Echeandia	NA	2,5	NO	N/A	doble							
82	2/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
83	2/2/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
84	2/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
85	2/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2	NO	N/A	doble							
86	4/2/2021	mestizo	M	Echeandia	NA	2,5	NO	N/A	doble							
87	4/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
88	4/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
89	4/2/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
90	4/2/2021	mestizo	H	Pueblo Viejo	Retrofaringeo	2,5	SI	caseosos	doble	CAFÉ	4/2/2021	GM-VEN 14	4/2/2021	SI	24/3/2021	POSITIVO
91	4/2/2021	mestizo	H	F. Walter	NA	2,5	NO	N/A	doble							
92	4/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	Pre-escapular	2,5	SI	grisáceos	doble	BLANCO	4/2/2021	GM-VEN 15	4/2/2021	NO	NA	NA
93	4/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
94	4/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2	NO	N/A	doble							
95	4/2/2021	mestizo	H	Aguacatal	Retrofaringeo	2	SI	amarillentos	doble	CARAMELO	4/2/2021	GM-VEN 16	4/2/2021	SI	17/2/2021	POSITIVO
96	4/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
97	4/2/2021	mestizo	H	Echeandia	NA	2,5	NO	N/A	doble							
98	4/2/2021	mestizo	H	F. 2 Hinos	NA	2,5	NO	N/A	doble							
99	4/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
100	4/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
101	8/2/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
102	8/2/2021	mestizo	H	F. Walter	NA	2,5,5	NO	N/A	doble							
103	8/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	2,5	NO	N/A	doble							
104	8/2/2021	mestizo	H	Aguacatal	NA	3	NO	N/A	doble							
105	8/2/2021	mestizo	M	F. 2 Hinos	NA	3	NO	N/A	doble							
106	8/2/2021	mestizo	M	F. 2 Hinos	NA	3	NO	N/A	doble							
107	8/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	Retrofaringeo	3	SI	grisáceos	doble	RAYADO	8/2/2021	GM-VEN 17	11/2/2021	NO	NA	NA
108	8/2/2021	mestizo	M	Aguacatal	NA	4,5	NO	N/A	doble							

Anexo No 8 Informe de PCR



BioGENA®



**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN ZOONOSIS- CIZ
LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN -
BIOGENA**

Reporte resultados PCR-MULTIPLEX

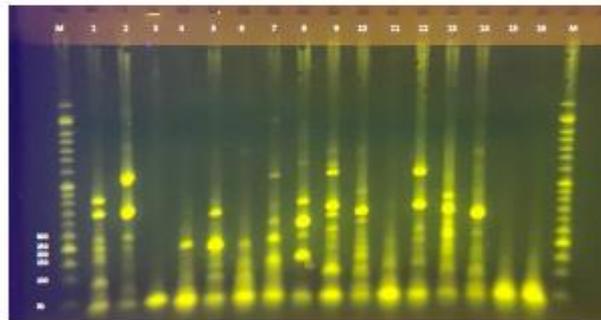
Elaborado por: Gustavo Echeverría

Antecedentes:

Se reciben 14 muestras del Instituto de Investigación en Salud Pública "Dr. Leopoldo Izquieta Pérez", del Dr. Alberjo Orlando.

La metodología que se aplicó es un Multiplex PCR para identificar *M. bovis* en las cepas enviadas (Parsons et al. 2002)

Se espera dos bandas de 108pb en RD9 y 146-150pb en RD1 para *M. bovis*.



Número	ID	Resultado <i>M. bovis</i>	Para identificar
1	01 27-01-21		*
2	01 21-01-21		*
3	03 21-01-21		*
4	07 09- 0020.21		*



5	07/04-02-21	+	
6	07/09-02-21	+	
7	12 NARANJA		*
8	16 LISO AMARILLO		*
9	18 LISO AMARILLO	+	
10	18 LISO AMARILLO	+	
11	18 RUGOSO AMARILLO		*
12	18 ROJO AMARILLO		*
13	21 LISO NARANJA		*
14	22 RUGOSO	+	

Conclusión:

Las muestras 5, 6, 9, 10 y 14T son *M. bovis* porque presentan las dos bandas en los genes RD9 y RD1. Las otras muestras son MNT.
Las muestras con el * sería adecuado tipificar con otra metodología.

Referencia:

Telen arsons, Linda M, Roland Brosch, Stewart T Cole, Arthur Loder, Gisela Bretzel, Dick Van Soolingen, and Yvonne M Hale. 2002. "Rapid and Simple Approach for Identif Cation Of." *Society* 40 (7): 2339-45. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.7.2339>.