

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**DIAGNOSTICO DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* EN CABRAS POR  
MEDIO DE LA PRUEBA ANOCAUDAL CON TUBERCULINA**

**TESIS:**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TITULO DE:**

***MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA***

**POR: JAIME ANTONIO CISNEROS TOSCANO**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**OCTUBRE DEL 2005**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**DIAGNOSTICO DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* EN CABRAS  
POR MEDIO DE LA PRUEBA ANOCAUDAL CON  
TUBERCULINA**

**POR:**

**JAIME ANTONIO CISNEROS TOSCANO**

**COORDINADOR DE LA DIVISION DE CIENCIA ANIMAL**

  
  
**M.C. ERNESTO MARTINEZ ARANDA**

Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

**TORREÓN COAHUILA, MEXICO**

**UAAAN - OCTUBRE DE 2005**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**TESIS QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ ASESOR COMO  
REQUISITO PARCIAL PARA EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**APROBADO POR:**

---

**DR. MARCO ALFREDO HERNANDEZ VERA  
DIRECTOR**

---

**M.C. JORGE ITURBIDE RAMIREZ  
ASESOR PRINCIPAL**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**TESIS QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR  
PARA OBTENER EL TITULO DE:**

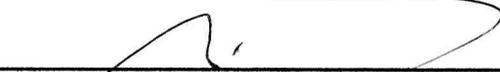
**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**APROBADO POR:**

**PRESIDENTE :**

  
\_\_\_\_\_  
**DR. MARCO ALFREDO HERNANDEZ VERA**

**VOCAL:**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. JORGE ITURBIDE RAMIREZ**

**VOCAL:**

  
\_\_\_\_\_  
**M. C. ERNESTO MARTINEZ ARANDA**

**VOCAL SUPLENTE:**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. SERGIO IGNACIO BARRAZA ARAIZA**

**TORREÓN, COAHUILA, MEX.**

**OCTUBRE DEL 2005**

## **DEDICATORIAS**

### **A DIOS:**

Por ser mi luz guiadora, dándome la Fortaleza para vencer los obstáculos que se me presentan y por haberme permitido concluir una fase de mi vida, gracias.

### **A MIS PADRES: Leonardo Ernesto Cisneros Melo**

**Saula Divina Toscano Torres**

Con todo amor y respeto, para quienes me dieron la vida, amor, cariño y depositaron en mi toda su confianza para culminar con mis estudios, gracias por sus consejos y lucha inagotable que realizaron para guiarme por el mejor camino de la vida, gracias.

### **A MIS ABUELOS:**

A ustedes, y principalmente a mi Abuela Isabel Emperatriz Torres Ramírez por sus grandes consejos de cómo salir adelante así como el apoyo incondicional que me ha brindado durante mi vida, mil gracias.

### **A MIS HERMANOS: Lic. Divina J. Cisneros Toscano**

**Lic. Liliana E. Cisneros Toscano**

**Arq. Clara F. Cisneros Toscano**

**Leonardo F. Cisneros Toscano**

Con quien he compartido alegrías y tristezas, pero siempre saliendo adelante, porque estuvieron pendientes para que nada obstaculizara mi carrera y quienes a pesar de los esfuerzos y dificultades dieron de sí lo mejor.

**A MI ESPOSA: Nidia G. Ramírez Sánchez**

Por su comprensión y apoyo en las circunstancias adversas que nos da la vida, nunca claudicando ante ellas, además por haberme dado lo mejor de este mundo, mi hija **Katia Berenice Cisneros Ramírez**, quien también me dio las fuerzas para seguir adelante, las amo; gracias.

**A LA Sra. Yolanda Galván**

Por haberme brindado todo su apoyo, cariño y comprensión desde que la conocí, gracias.

**A MI ALMA TERRA MATER:**

Por cobijarme en su seno e instruirme en mi formación profesional.

**A MI ASESOR: Dr. Marco Alfredo Hernández Vera**

Por dedicarme su tiempo tan valioso para la realización de este trabajo ya que sin su esfuerzo no sería posible, Gracias.

**AL MC. Jorge Iturbide Ramírez**

Por su valiosa colaboración, dedicación y tiempo brindado para llevar a cabo este trabajo.

**A MIS AMIGOS:**

Azor, Julio, Heriberta, Isidro, Susano, por su apoyo como amigos, ya que al estar tan lejos de nuestras casas, nunca lo sentimos así por nuestro deseo de superación, todos esos momentos fueron abatidos por la amistad que siempre nos une y por todos los momentos de felicidad, tristeza, desesperación y ansiedad que viví durante mi formación.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mis Padres: Leonardo E. Cisneros Melo  
Saula D. Toscano Torres**

Por ayudarme a concluir uno de mis sueños en la vida brindándome todo su apoyo, amor, cariño y comprensión.

**A mi Alma Terra Mater:**

Por haberme permitido concluir parte de mi sueños y darme la formación que significa el escudo para resolver los problemas que me dará la vida.

**A mi asesor: Dr. Marco A. Hernández Vera**

Por el apoyo incondicional, experiencia y tiempo brindado para realizar este trabajo. Gracias Médico.

## INDICE GENERAL

DEDICATORIAS .....	i-ii
AGRADECIMIENTOS .....	iii
INDICE GENERAL .....	iv
INDICE DE CUADROS .....	v
INDICE DE GRAFICAS .....	vi
RESUMEN .....	1
I.- JUSTIFICACION .....	2
II.- OBJETIVOS .....	2
III.- META .....	2
IV.- INTRODUCCION .....	3
V.- REVISION DE LITERATURA .....	6
1. - CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS MYCOBACTERIAS .....	8
1.1. - CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y DE CRECIMIENTO DE LAS MYCOBACTERIAS .....	9
2.- METODOS DE IDENTIFICACIÓN DE <i>M. BOVIS</i> .....	10
3.- CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE <i>M. BOVIS</i> SUBSP. <i>CAPRAE</i> .....	12
4.- INMUNOPATOLOGIA DE LA PRUEBA ANOCAUDAL CON TUBERCULINA .....	15
5.- PRUEBA DE TUBERCULINA DESCRITA POR GONZALEZ (1999) ....	16
6.- REACCION DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA .....	17
6.1. - BASES CELULARES DE LA RHR .....	18
VI. MATERIALES Y METODOS .....	21
VII.- RESULTADOS .....	24
VIII.- DISCUSION .....	32
IX.- CONCLUSIONES .....	33
X.- LITERATURA CITADA .....	34

## INDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1.- Tipo de reacción a la tuberculina .....	24

## INDICE DE GRAFICAS

- 1.- **GRAFICA 1.-** Cabras que no mostraron ninguna reacción al ppd, se mantuvieron constantes en todas las lecturas realizadas en los días posteriores a la inoculación ..... 25
- 2.- **GRAFICA 1.1.-** Continuación de la grafica 1 y al igual son cabras que no tuvieron ninguna reacción, se mantuvieron constantes al momento de las lecturas ..... 26
- 3.- **GRAFICA 2.-** Cabras que tuvieron una ligera reacción que se puede considerar como reacción sospechosa pero no es muy significativa porque solo aumentaron 1 mm más a la medida que se les realizó antes de la aplicación ..... 27
- 4.- **GRAFICA 2.1.-** Se observa igual que en la grafica 2 que no hubo una reacción considerable ya que solo aumentaron 1-2 mm al momento de la lectura ..... 28
- 5.- **GRAFICA 3.-** Grafica que nos muestra como estas cabras tuvieron una reacción inconstante ya que al momento de realizarles las lecturas al segundo y tercer día aumentaron 1-2 mm y posteriormente volvieron a bajar ..... 29
- 6.- **GRAFICA 4 .-** Grafica de las cabras que tuvieron una alta reacción a la tuberculina por lo cual se consideraron positivas pero se les realizó una segunda prueba para comprobar ..... 30
- 7.- **GRAFICA 4.1 . –** Grafica de las cabras que se les realizó la prueba cervical comparativa pero no tuvieron ninguna reacción solo disminuyeron a como estaban inicialmente cuando se les realizó la primera prueba ..... 31

## RESUMEN

Para evaluar la situación de la Tuberculosis caprina en 2 establos de la Comarca Lagunera se realizó un diagnóstico con ppd (derivado proteico purificado) bovino, por medio de la prueba anocaudal con tuberculina utilizándose 50 cabras de la raza Alpina y Sanen, elegidas al azar, en el primer establo se seleccionaron 10 cabras para establecer adecuadamente el procedimiento de la prueba y las 40 restantes en otro establo. Se midió el pliegue anocaudal antes de la aplicación de la tuberculina y se realizaron tres lecturas, 24, 48 y 72 horas posteriores a la aplicación. Los resultados obtenidos en las primeras 10 cabras que representan el 20%, no revelaron reacción al ppd bovino utilizado. Sin embargo, en el otro grupo de 40 cabras se encontraron cambios, algunos significativos, 2 de las cabras (4%) tuvieron una evidente reacción a la prueba anocaudal, pero al realizarles la prueba comparativa, no reaccionaron de la misma manera al ppd; no estableciendo claramente si hay una infección en establos. Se requiere otra metodología para establecer un diagnóstico preciso de la enfermedad, métodos que no estuvieron al alcance del presente trabajo.

## **JUSTIFICACIÓN**

La práctica y manipulación de las cabras hoy en día es una labor que está tomando mucha importancia en la ganadería mexicana, es justificable desde el punto de vista económico, de producción y de la salud tanto humana como de los mismos animales, ya que la Tuberculosis al ser diagnosticada a tiempo se pueden evitar muchos problemas de salud pública y además salvar una gran cantidad de animales al evitar la posible infección de animales sanos que conviven con los ya infectados.

La información acerca de la Tuberculosis caprina a nivel mundial y en particular en nuestro país es bastante escasa, ya que tanto la información existente y la investigación realizada hasta hoy en día está centrada principalmente para animales de elevada producción de leche como son los bovinos, pudiendo llegar a ser esta una alternativa de buenos ingresos para el mediano y pequeño capricultor.

El conocer el estado que guarda la tuberculosis caprina, da una perspectiva en dos sentidos: por un lado se obtendría más información acerca de la enfermedad en las cabras y por otro, el reconocer animales reactores positivos, representa una alternativa para los capricultores para evitar pérdidas y obtener más ganancias mediante una mejor producción.

## **OBJETIVOS**

- 1.- Identificar cabras que reaccionen al ppd bovino.
- 2.- Establecer si la fuente de infección de *M. bovis* en las cabras proviene de bovinos infectados.

## **META**

Establecer la prueba anocaudal para el diagnóstico de la Tuberculosis en cabras

## INTRODUCCION

La tuberculosis (Tb) es una enfermedad infecto-transmisible que causa significantes pérdidas económicas en el ganado de la mayoría de los países del mundo. *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), el agente causante de la tuberculosis bovina puede también causar enfermedad en una gran variedad de animales domésticos y salvajes incluyendo al hombre (Aranaz A. y col., 1996).

La pasteurización de la leche ha disminuido la incidencia de Tb humana causada por *M. bovis* en los países desarrollados; sin embargo, la tuberculosis para esta especie permanece como una importante enfermedad veterinaria así como un problema de salud pública en algunas partes del mundo. *M. bovis* es el responsable de aproximadamente 7,000 casos de Tb humana cada año en Latino América (Milián F. y col., 2000).

El género *Mycobacterium* es el único género de la familia *Mycobacteriaceae* y en el seno de este género, la especie *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium microtti* y *Mycobacterium tuberculosis* son los responsables de la tuberculosis (Euzebly J., 2002).

Las mycobacterias son unos bacilos derechos o ligeramente cóncavos, de 0.2 a 0.6  $\mu\text{m}$  de diámetro sobre 1.0 – 10.0  $\mu\text{m}$  de longitud, presentando a veces ramificaciones. Su pared posee una estructura muy compleja (Euzebly J., 2002). Se caracterizan por una pared original y muy rica en lípidos y esta constitución explica, por lo menos parcialmente, las propiedades tintóreas, la patogenicidad y la resistencia a diversos antibióticos (Goldsmid J., 1994).

Debido a sus características de crecimiento las especies del género *Mycobacterium* están divididas en mycobacterias de crecimiento lento, forman colonias después de 7 días de cultivo y son incapaces de crecer en medios bacteriológicos estándares y las mycobacterias de crecimiento rápido, que forman colonias en menos de 7 días y son aptas para desarrollarse sobre gelosa nutritiva o peptona (Euzebly J., 2002).

La infección de *M. bovis* en animales normalmente es una enfermedad progresivamente lenta en la cual los signos clínicos no son aparentes hasta más tarde en el proceso de la enfermedad (Costello E. y col., 1999).

Los humanos son un reservorio del organismo, pero la infección de humano a humano sólo ocurre raramente, la comida contaminada sobre todo la leche, o el contacto directo con animales es considerada la forma primaria de las causas de infección con *M. bovis* en humanos (Kubica T. y col. 2003).

Por otro lado aunque el manejo mixto de ganado y cabras no es una práctica común, el contacto íntimo de estas especies a veces hace que se presente la Tb. Por esto se consideran una fuente de infección para los humanos e implican un riesgo de zoonosis existe qué podría impactar en las practicas de manejo tradicional de la cabra (Gutiérrez M. y col. 1997).

En estudios realizados en cabras y que se han encontrado infectadas de Tuberculosis se piensa que la posible causa de transmisión a estos animales puede ser la ingestión de sobrantes de alimentos de ganado bovino contaminados con *M. bovis* o por la dispersión de aerosoles que ocurre durante el contacto directo entre las especies (Serraino A. y col., 1999, Phillips C. y col. 2003).

*Mycobacterium bovis subsp. caprae* es un miembro del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (Erlor W. y col., 2004). Así cepas de este tipo han sido aisladas en España, de nódulos linfáticos y de pulmones de cabras infectadas de tuberculosis. También esta subespecie ha sido identificada en Alemania y Francia (Euzéby J., 2002).

La infección de *M. bovis* en el ganado caprino está extendida, y solo se adoptan medidas de control mínimas para prevenir al humano y las poblaciones bovinas (Gutiérrez M. y col. 1997).

En la infección de animales de granja la Tb es normalmente diagnosticada por la prueba anocaudal con tuberculina intradérmica o mediante un examen postmortem (Gutiérrez y col. 1997).

Existen varias técnicas de laboratorio para la identificación de *M. bovis* como son pruebas de DNA, RFLP (polimorfismo en la longitud del fragmento de restricción), PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y DR (repetición directa) (Cousins Debby y col. 1998).

Usando varios métodos de tipificación molecular para la identificación de *M. bovis* en cabras, en España se concluye que las cepas que causan la tuberculosis en el ganado bovino y los rebaños caprinos no son las mismas e indican que los reservorios para la tuberculosis bovina y caprina son diferentes (Gutiérrez M. y col. 1997). La aplicación de todas estas técnicas para definir estudios seguros y confiables puede ayudar a aclarar más aspectos exactos de la epidemiología de la Tuberculosis bovina y caprina en diferentes países (Skuce R. y col. 1996). Además también nos hace ver que las infecciones de *M. bovis subsp. caprae* no son una parte insignificante de la tuberculosis humana contraída de animales debido a la presencia continua del patógeno (Wolfgang M. y col. 2002).

La vacunación exitosa contra la tuberculosis en animales domésticos o de fauna podría contribuir a la erradicación de la tuberculosis (Griffin J., 2000). El refinamiento de los modelos animales existentes es esencial para el avance en la investigación de la vacuna para la tuberculosis de relevancia para los humanos y animales (Griffin J., 2000). Así también estudios moleculares de tuberculosis y el desarrollo de nuevas vacunas es indispensable para la erradicación de la tuberculosis caprina (Gutiérrez M. y col. 1997).

## REVISIÓN DE LITERATURA

La Tuberculosis (Tb) bovina causada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) es una importante enfermedad en veterinaria que también afecta a los humanos. La pasteurización de la leche ha disminuido la incidencia de Tb humana causada por *M. bovis* en las ciudades desarrolladas; sin embargo, la Tb para esta especie permanece como una importante enfermedad así como un problema de salud pública en algunas partes del mundo. *M. bovis* es culpado de aproximadamente 7,000 casos de Tb humana cada año en Latino América (Milián F. y col., 2000).

La tuberculosis es una enfermedad infecto-transmisible que causa significantes pérdidas económicas en el ganado. *M. bovis*, el agente causante de la tuberculosis bovina puede también causar enfermedad en una gran variedad de animales domésticos y salvajes (Aranaz A. y col., 1996).

La infección con *M. bovis* es reconocida mundialmente como el principal agente responsable de Tb en el ganado. Sin embargo, un huésped muy importante en esta infección es también el humano, en general una amplia gama de especies animales pueden actuar como huéspedes para *M. bovis* (Gutiérrez M. y col. 1997). Es por esto que la Tb bovina continúa presentando un serio problema en algunos países del mundo con índices de prevalencia en rebaños de hasta 8.2 % (Kubica T. y col. 2003).

Los humanos son un reservorio del organismo, pero la infección de humano a humano sólo ocurre raramente, la comida contaminada sobre todo la leche, o el contacto directo con animales es considerada la forma primaria de las causas de infección con *M. bovis* en humanos (Kubica T. y col. 2003). Además, el aislamiento del tipo de cepas bovinas en poblaciones humanas indican que el ganado bovino infectado también constituye uno de los riesgos principales de la transmisión de *M. bovis* a los humanos, esto puede ser porque la Tb bovina está más extendida o porque las cepas de bovino son más adaptables en los humanos (Kubica T. y col. 2003).

La importancia de *M. bovis* para la Tb humana ha disminuido dramáticamente después de la introducción de medidas de control eficaces alrededor de la mitad del último siglo en muchos países desarrollados (*Kubica T. y col., 2003*).

Por otro lado las cabras también se consideran una fuente de infección para los humanos e implican un riesgo de zoonosis existe qué podría impactar en las practicas de manejo tradicional de la cabra. Aunque se han demostrado proporciones bajas de Tb en las ovejas, se ha encontrando que el genotipo *M. bovis* es idéntico al de las cabras y que la oveja no se excluye como una posible fuente de infección (*Gutiérrez M. y col. 1997*).

La Tuberculosis causada por *M. bovis* en el ganado doméstico y la fauna es un significativo problema en muchos países del mundo (*Griffin J. 2000*). La infección de *M. bovis* en animales normalmente es una enfermedad progresivamente lenta en la cual los signos clínicos no son aparentes hasta más tarde en el proceso de la enfermedad (*Costello E. y col., 1999*).

En estudios realizados en cabras y que se han encontrado infectadas de Tuberculosis se piensa que la posible causa de transmisión a estos animales puede ser la ingestión de sobrantes de alimentos de ganado bovino contaminados con *M. bovis* o por la dispersión de aerosoles que ocurre durante el contacto directo entre las especies (*Serraino A. y col., 1999, Phillips C. y col. 2003*). Los animales pueden también excretar el patógeno en heces, orina, leche, saliva y descargas nasales y bucales (*Richard S. y col., 2001*).

Como en el bovino, las lesiones por tuberculosis en cabras usualmente son encontradas en los pulmones y nódulos linfáticos regionales, pero formas generalizadas también pueden ocurrir (*Gutiérrez M. y García Marín, 1999*).

Durante el curso de la infección con Tuberculosis en cabras se presentan principalmente signos como pérdida de peso y desordenes respiratorios (*Gutiérrez*

M. y García Marín, 1999). En un examen postmortem las lesiones se pueden encontrar en pulmones y nódulos linfáticos mediastínicos y bronquiales, los pulmones se encuentran agrandados de tamaño, con tubérculos y con contenido caseoso, los nódulos linfáticos alcanzan un diámetro de 0.5 - 2 cm. microscópicamente se puede observar que el parénquima pulmonar es sustituido por tejido difuso y además se encuentran frecuentemente macrófagos multinucleados en la septa alveolar (Gutiérrez M. y García Marín, 1999).

## 1.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS MYCOBACTERIAS

El género *Mycobacterium* es el único género de la familia *Mycobacteriaceae* y en el seno de este género, la especie *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium microtti* y *Mycobacterium tuberculosis* son los responsables de la tuberculosis (Euzéby J., 2002).

Estos micro-organismos pueden ser diferenciados por medio de sus características fenotípicas (Aranaz A. y col., 1999). El complejo *Mycobacterium tuberculosis* consiste en un grupo altamente relacionados de bacilos ácido-alcohol-resistente los cuales son patógenos humanos y animales (Aranaz A. y col., 1999). Las mycobacterias son unos bacilos derechos o ligeramente cóncavos, de 0.2 a 0.6µm de diámetro sobre 1.0 – 10.0 µm de longitud, presentando a veces ramificaciones (Euzéby J., 2002).

La Identificación del complejo *Mycobacterium tuberculosis* ha sido basada tradicionalmente en las características de crecimiento (producción de pigmento, morfología de la colonia, índice de crecimiento) y pruebas bioquímicas (Aranaz A. y col. 1999, Llamazares G. y col. 1999).

Otras pruebas comúnmente usadas para la especificación dentro del complejo son acumulación de niacina, actividad de la nitrataasa, susceptibilidad a la pirazinamida y susceptibilidad a ácidos hidroxí-carboxílicos (*Espinosa de los M. y col., 1998*).

La mayor diferencia para la identificación entre los genotipos bovino y caprino son su reservorio natural y la diferencia en su susceptibilidad a la pirazinamida (PZA), como consecuencia se propuso la diferenciación de 2 subtipos de *M. bovis*: *M. bovis subtipo bovis*, el cual es resistente a la PZA y su reservorio natural es el bovino, y *M. bovis subtipo caprae* el cual es sensitivo a la PZA y su reservorio natural son la oveja y la cabra (*Niemann S. y col., 2000* ).

### **1.1.- CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y DE CRECIMIENTO DE LAS MYCOBACTERIAS**

La pared de las Mycobacterias poseen una estructura más compleja que la pared de las bacterias Gram-positivas y, sobre un frotis coloreado por la técnica de Gram, las mycobacterias aparecen a menudo como coloreadas, bajo la forma de "fantasmas" lo que las hace cualificar a veces de "Gram Neutro" (*Euzeby J., 2002* ).

Se caracterizan por una pared original y muy rica en lípidos (60 % de los constituyentes) y esta constitución explica, por lo menos parcialmente, las propiedades tintóreas, la patogenicidad y la resistencia a diversos antibióticos (*Goldsmid J., 1994*).

La pared está constituida por 3 capas. La más interna, calificada de esqueleto parietal, esta formada por un peptidoglicano sobre el cual es fijado un polímero de arabino-galactano formado por la alternación de moléculas de arabinosa y de galactosa que se atan por enlaces esters a unos ácidos micólicos situados en la capa intermedia (*Euzeby J., 2002*). La capa externa de la pared, esta formada por una matriz de fosfolípidos simples (*Euzeby J., 2002*).

Debido a sus características de crecimiento las especies del género *Mycobacterium* están divididas en 2 grupos:

Las mycobacterias de crecimiento lento, forman colonias sólo después de 7 días de cultivo y son incapaces de crecer en medios bacteriológicos estándares. Las mycobacterias de crecimiento rápido, forman colonias en menos de 7 días y son aptas para desarrollarse sobre gelosa nutritiva o peptona (Euzebby J., 2002).

De acuerdo a sus características de crecimiento las mycobacterias del genero bovis son de crecimiento muy lento y la temperatura óptima para su desarrollo es de 37°C (Kimura T. 2003).

## **2.- METODOS DE IDENTIFICACIÓN DE *M. BOVIS***

En años recientes, hay una variedad de estudios enfocados en la relación molecular de cepas de *Mycobacterium tuberculosis*; sin embargo, estudios epidemiológicos de *M. bovis* en humanos asociados con Tb es aún rara (Kubica T. y col. 2003).

En la infección de animales de granja la Tb es normalmente diagnosticada por la prueba anocaudal con tuberculina intradérmica o mediante un examen postmortem (Gutiérrez y col. 1997).

Existen varias técnicas para la identificación de *M. bovis* como son pruebas de DNA, RFLP (polimorfismo en la longitud del fragmento de restricción), PCR (reacción en cadena de la polimeraza) y DR (repetición directa) (Cousins Debby y col. 1998).

El uso del método PCR y métodos de RFLP basada en la secuencia IS6110, puede ser tomado como un método muy útil para estudios epidemiológicos de la tuberculosis caprina (Haddad N. y col. 2001, Van der Zanden A. y col. 2002.).

La ventaja de PCR sobre RFLP es que es simple y rápida y requiere sólo una cantidad pequeña de ADN (*Gutiérrez M. y col. 1997*). Los resultados son consistentes con diferentes cepas de *M. bovis* que son implicadas en la tuberculosis bovina y caprina (*Niemann S. y col. 2000*). Las cepas pueden ser aisladas de los nódulos linfáticos y pulmones de cabras tuberculosas (*Aranaz A. y col., 1999*).

El método de PCR permite el mismo nivel de discriminación entre las cepas caprinas como lo hace RFLP hibridación con IS6110, pero el factor de que menos bandas son detectadas restringe la comparación de resultados entre los laboratorios donde el método de tipificación RFLP estandarizado es comúnmente usado (*Gutiérrez M. y col. 1997*).

El método de Spoligotyping (tipificación de espacios de oligonucleotidos), RFLP IS6110 es considerado un importante indicador de identificación de cepas y es lo suficientemente estable para ser usado en estudios epidemiológicos de aislamientos e identificación de *M. bovis* (*Skuce R. y col. 1996, Njanpop-Lafourcade Berthe y col. 2001*). Sin embargo la Spoligotyping es un método que tiene ventajas para la rápida tipificación de *M. bovis*, pero necesita tener un poco mas de sensibilidad en la misma (*Cousins Debby 1998*).

Usando varios métodos de tipificación molecular para la identificación de *M. bovis* en cabras, en España se concluye que las cepas que causan la tuberculosis en el ganado bovino y los rebaños caprinos no son las mismas (*Gutiérrez M. y col. 1997*). Estos resultados indican que los reservorios para la tuberculosis bovina y caprina son diferentes (*Gutiérrez M. y col. 1997*). Los resultados hacen, sin embargo, la necesidad de la reevaluación de la evidencia de la transmisión de *M. bovis* entre el ganado y las cabras (*Gutiérrez M. y col. 1997*).

En conclusión la aplicación de todas estas técnicas para definir estudios seguros y confiables puede ayudar a aclarar más aspectos exactos de la epidemiología de la Tuberculosis bovina y caprina en diferentes países (*Skuce R. y col. 1996*).

### 3.- CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *M. BOVIS SUBSP. CAPRAE*.

*Mycobacterium bovis subsp. caprae* es un miembro del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, el cual también incluye *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. microti*, y *M. canettii* (Erler W. y col., 2004).

Las cepas de *Mycobacterium bovis subsp. caprae* poseen secuencias específicas de ADN de los bacilos de la tuberculosis (IS6110, IS1081 y MPB70) (Euzeby J., 2002). La cepa de *M. bovis subsp. caprae* se caracteriza porque es sensible a isoniazide (0,2 µg/mL), a la rifampicina (1 µg/mL), al etambutol (5 µg/mL), a la estreptomina (2 µg/mL), a P-aminosalicilato (2µg/mL), a la ofloxacina (2,5 µg/mL), a la cicloserina (30 µg/mL) y a pirazinamida (50 µg/mL) (Euzeby J., 2002).

Aunque IS6110 está presente en la mayoría de las cepas del complejo *M. tuberculosis*, el número de copias de este elemento parece la diferencia entre ellas. *M. bovis*, incluyendo *M. bovis BCG*, que normalmente se encuentra con solo una copia de IS6110, en la mayoría de los casos es la misma situación que limita su utilidad como un marcador genético (Gutiérrez y col. 1997).

Por otro lado aunque el manejo mixto de ganado y cabras no es una práctica común, el contacto íntimo de estas especies a veces hace que se presente la Tb (Gutiérrez M. y col. 1997). *Mycobacterium bovis subsp. caprae* juega un papel muy importante en la epidemiología de la tuberculosis humana y animal. (Aranaz A. y col., 1999).

La bioquímica, la genética y las diferencias epidemiológicas encontradas entre los miembros clásicos del complejo *M. Tuberculosis* y las mycobacterias aisladas de rebaños de cabras sugieren que los aislados caprinos pueden ser considerados como pertenecientes a un nuevo miembro del complejo *M. tuberculosis*, estas cepas pueden ser clasificadas como un nuevo taxón en el

mismo complejo, en lugar de un grupo subalterno de *M. bovis*, y de ahí se propone el nombre *Mycobacterium tuberculosis subsp. caprae* para estas cepas (Aranaz A. y col., 1999).

La tuberculosis en cabras está extendida en países mediterráneos y a menudo es una enfermedad muy severa (Gutiérrez M. y col., 1997).

Cepas de *Mycobacterium bovis subsp. caprae* han sido aisladas en España, de nódulos linfáticos y de pulmones de cabras infectadas de tuberculosis. Más tarde esta subespecie fue identificada en Alemania y posteriormente en Francia (Euzéby J., 2002). Así, también cepas de *Mycobacterium bovis subsp. caprae* han sido aislados de carne de cerdo, de carneros y de bovinos. Varias cepas de esta subespecie han sido aisladas también del hombre, estas cepas humanas aisladas en España provenían de un empleado de un rastro, de un veterinario que tenía contacto con las cabras y un habitante que vivía en una región donde la ganadería caprina esta muy desarrollada (Euzéby J., 2002). Estos datos dejan suponer la posibilidad de una transmisión al hombre a partir de los animales, particularmente pequeños rumiantes (Euzéby J., 2002).

La presencia de *M. bovis subsp. caprae* en esos países fue confirmada por el método de PCR alelo-específico detectando polimorfismos de ADN descritos para el gen del *pncA* y el gen del *oxyR* (Prodinger M. y col., 2002). Los resultados del PCR alelo-específico para *pncA* y *oxyR* corroboró la presencia de *M. bovis subsp. caprae* para todos los aislados presentes en la posición 169 *pncA*, y la transición G/A fue encontrada en *oxyR* en la posición 295 (Prodinger M. y col., 2002).

En 1999, el estudio de 119 cepas aisladas de cabras, una cepa aislada de un carnero y una cepa aislada de la carne de un cerdo permitió a Aranaz descubrir a *Mycobacterium tuberculosis subsp. caprae* (Euzéby J., 2002).

En un artículo publicado el 11 de marzo del 2001, Niemann y col. mostraron que las características de cultivo, bioquímicas y genéticas de *Mycobacterium tuberculosis subsp. caprae* son características más próximas de *Mycobacterium bovis* que características de *Mycobacterium tuberculosis* (Euzéby J., 2002). En relevancia a estos datos, los bacteriólogos adoptan la nomenclatura de *Mycobacterium bovis subsp. caprae* pudiendo así designar a *Mycobacterium tuberculosis subsp. tuberculosis* bajo la nomenclatura de *Mycobacterium tuberculosis* (Euzéby J., 2002).

La infección de *M. bovis* en el ganado caprino está extendida, y solo se adoptan medidas de control mínimas para prevenir al humano y las poblaciones bovinas (Gutiérrez M. y col. 1997).

Así se concluye que las infecciones de *M. bovis subsp. caprae* no son una parte insignificante de la tuberculosis humana contraída de animales debido a la presencia continua del patógeno (Wolfgang M. y col. 2002). La vacunación exitosa contra la tuberculosis en animales domésticos o de fauna podría contribuir a la erradicación de la tuberculosis (Griffin J., 2000).

El refinamiento de los modelos animales existentes es esencial para el avance en la investigación de la vacuna para la tuberculosis de relevancia para los humanos y animales (Griffin J., 2000). Así también estudios moleculares de tuberculosis y el desarrollo de nuevas vacunas es indispensable para la erradicación de la tuberculosis caprina (Gutiérrez M. y col. 1997).

#### 4.- INMUNOPATOLOGIA DE LA PRUEBA ANOCAUDAL CON TUBERCULINA

*Mycobacterium* es un patógeno intracelular facultativo el cual reside y sobrevive dentro del fagolisosoma de los macrófagos alveolares (Vercellone A. y col., 1998).

La multiplicación de *Mycobacterium* dentro la célula es el paso más importante para la patogénesis de la enfermedad. En el huésped, la primera interacción entre *M. tuberculosis* y los macrófagos alveolares es la llegada del *Mycobacterium* a la superficie celular seguida por su internalización. A nivel molecular, esta interacción es mediada por moléculas las cuales son expuestas a la superficie de ambos, del desarrollo Mycobacterial y de la membrana celular del huésped (Vercellone A. y col., 1998).

La fagocitosis de los patógenos por los macrófagos inician la respuesta inmune innata, la cual continúa con la respuesta adaptativa. En orden para la discriminación entre agentes infecciosos e internos los macrófagos desprenden un número limitado de receptores fagocíticos como el receptor manosa, que reconoce la estructura en los patógenos. Los patógenos son también fagocitados por receptores de complemento después de la opsonización no específica con receptores Fc y receptores de complemento después de la opsonización específica con los anticuerpos. Estos receptores inducen modificación en la actina del citoesqueleto que conduce a la en la internalización de la partícula. Esto incluye diferencias en los elementos del citoesqueleto que regulan la ingestión, las diferencias en la maduración de la vacuola y la diferencia en la respuesta inflamatoria. Los agentes infecciosos, tales como *M. tuberculosis*, *Legionella pneumophila* y *Salmonella typhimurium*, entran a los macrófagos transportados vía heterogénea y modifican la maduración vacuolar en una manera que favorece su supervivencia. Los macrófagos también juegan un papel muy importante en el reconocimiento de células apoptocicas; una notable característica de este proceso es la ausencia de una respuesta inflamatoria (Aderem A. y col., 1999).

El diagnóstico para *M. bovis* consiste en una prueba de tuberculina intradérmica, la cual se basa en la medida de la respuesta celular inmune, puede ser realizada por la inoculación de ppd bovino en el pliegue caudal de la base de la cola o una prueba comparativa en el cuello con ppd bovino y ppd aviar, ambas se inoculan en el sitio mencionado con una jeringa insulínica (Llamazares G. y col. 1999).

## **5.- PRUEBA DE TUBERCULINA DESCRITA POR GONZALEZ (1999)**

La tuberculina usada para la prueba intradérmica es un derivado proteico purificado (PPD) preparado de un cultivo de cepas de *M. bovis* en un laboratorio.

Esta prueba, basada en una herramienta de respuesta celular inmune, puede ser utilizada para inoculación en el pliegue anocaudal o en la tabla del cuello con una jeringa insulínica (inoculación solamente con tuberculina bovina) o también se puede utilizar para una prueba comparativa (inoculación con tuberculina bovina y tuberculina aviar) en la tabla del cuello o en el pliegue anocaudal.

La prueba consiste en medir el sitio de aplicación e inocular intradérmicamente 0.1 ml de ppd bovino. Cuando se realiza la prueba comparativa, en el mismo animal se inoculan 0.1 ml de ppd aviar a 2 cm de distancia del sitio de inoculación del ppd bovino. El sitio de inoculación se examina aproximadamente  $72 \pm 6$  horas después, y la principal evidencia de una infección es el edema o una reacción de endurecimiento en el sitio de inoculación, se considera positivo a *M. bovis* cuando el incremento rebasa los 4 mm más a la medida que se tomó antes de la inoculación y cuando solo hay un incremento entre 2-4 mm se considera como reacción sospechosa. En el otro sitio una reacción aviar es considerada positivo sí la medida de la piel a las 72 hrs posteriores a la inoculación rebasa los 3 mm (Llamazares G. y col. 1999).

## 6.- REACCION DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA

La reacción de hipersensibilidad retardada (RHR) juega un papel importante contra agentes patógenos intracelulares. Existe una reacción de hipersensibilidad cuando se desarrolla una respuesta inmune dirigida contra elementos que no debieran ser considerados como extraños, o hacia elementos patógenos, pero de una forma inadecuada. aunque las RHR se descubrieron hace más de 100 años, sus mecanismos han sido objeto de debate durante este tiempo. Esta reacción fue descubierta por Robert Koch, en 1882 pero no fue hasta los años 40 cuando Lansteiner y Chase demostraron que era mediada por células y no por los mecanismos humorales del sistema inmune (*Abbas Abal K., 2002*).

La prueba cutánea de RHR se utiliza para determinar si existe una exposición previa a los antígenos. Cuando se inyectan dérmicamente pequeñas cantidades de un antígeno se produce una respuesta característica que incluye induración, edema e infiltración monocítica en la zona en 24 a 72 horas. Las RHR, son las reacciones tardías mediadas por células. Las denominadas reacciones de hipersensibilidad retardada se denominan así porque se manifiestan por una respuesta inmune característica a las 24-48 hs. después del contacto con el antígeno en organismos previamente sensibilizados. Estas reacciones son desencadenadas por linfocitos T CD4+ y en ocasiones linfocitos T CD8+. Ambos tipos celulares secretan citoquinas que activan a los macrófagos, células efectoras finales de la reacción de HSR. Las RHR constituyen reacciones inflamatorias debidas al reclutamiento y activación de macrófagos por el efecto de las citocinas liberadas por linfocitos T<sub>CD4+</sub> al reconocer al antígeno en asociación con las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase II en la membrana de las células presentadoras del antígeno (APC). En esta reacción, también denominada hipersensibilidad de tipo IV según la clasificación de Gell y Coombs, no intervienen los anticuerpos, a diferencia de lo que ocurre con las otras formas de mecanismos inmunes de lesiones inflamatorias (*Abbas Abal K., 2002*).

## 6.1.- BASES CELULARES DE LA RHR

La reacción de HSR, como toda reacción de hipersensibilidad, implica dos etapas: una primera etapa de **sensibilización** en la que el sistema inmune reacciona por primera vez frente a un antígeno (Ag), y posteriores etapas de **desencadenamiento** tras la reexposición al Ag.

En la etapa de sensibilización, el Ag es presentado a los linfocitos T vírgenes lo que produce la activación, expansión y diferenciación de los linfocitos Ag-específicos en células efectoras y de memoria.

La etapa de desencadenamiento de la HSR ocurre cuando el mismo Ag se presenta a una población expandida de linfocitos T memoria y se desarrolla en tres fases sucesivas: reconocimiento, activación y fase efectora (*Abbas A. y col., 2004*).

### **Fase de Reconocimiento**

En esta etapa el antígeno se presenta a una población expandida de linfocitos T memoria presentes en la circulación sanguínea, a diferencia de la etapa de sensibilización que ocurre a nivel de los ganglios linfáticos locales.

La presencia del antígeno en el tejido desencadena, inicialmente, una respuesta inflamatoria de carácter innato con secreción de citoquinas por parte de los macrófagos y células endoteliales que conduce al reclutamiento de leucocitos en el sitio de exposición antigénica. La migración de los linfocitos hacia el lugar de ingreso del antígeno es controlada principalmente por las moléculas de adhesión (selectinas, integrinas). Esto resulta en el reclutamiento de linfocitos T circulantes en la zona de inflamación (*Abbas A. y col., 2004*).

### ***Fase de activación linfocitaria***

Una vez que los linfocitos T efectores migran al sitio de provocación antigénica y reconocen al antígeno para el cual son específicos, se activan para cumplir sus funciones efectoras. En la inmunidad celular, la principal función efectora de los linfocitos T CD4+ consiste en estimular la actividad microbicida de los macrófagos. Los linfocitos TCD4+ subtipo Th1 memoria activados secretan citoquinas tales como la interleuquina 2 (IL-2), el factor de necrosis tumoral (TNF) y la linfotoxina (LTx), que son las responsables de la expresión del fenómeno de HSR.

### ***Fase efectora***

Los monocitos reclutados en el sitio de la reacción de HSR se extravasan en el tejido y se diferencian a macrófagos, últimas células efectoras de la hipersensibilidad retardada.

Una vez activados, los macrófagos pueden desempeñar varias funciones efectoras:

- Destruyen los microorganismos fagocitados a través de la producción de sustancias bactericidas (óxido nítrico, enzimas lisosómicas).
- Estimulan la diferenciación de los linfocitos T hacia el subtipo Th1 mediante la secreción de IL-12, función esencial en la inducción de la HSR.
- Se vuelven APC más eficaces debido a un aumento en la expresión de moléculas del MHC de clase II y de coestimuladores.
- Estimulan la inflamación aguda mediante la secreción de citoquinas (TNF, IL-1, quimioquinas).
- Facilitan la reparación de los tejidos dañados a través de la eliminación de los tejidos muertos (por medio de fibroblastos, colágeno (*Abbas A. y col. 2004*)).

Clásicamente la reacción a la tuberculina se ha utilizado como prueba para determinar si un individuo u/o animal ha sido infectado previamente con *Mycobacterium tuberculosis o bovis*. En un organismo sensibilizado (previamente

infectado o inmunizado), la administración de tuberculina desencadena una reacción de HSR característica que aparece en 24-48 horas. En el sitio de inyección del antígeno se produce una reacción inflamatoria, con infiltrado de leucocitos, acumulación de linfocitos T y monocitos, y aumento de la permeabilidad vascular con extravasación de macromoléculas del plasma. El depósito extravascular de fibrina que se produce a partir del fibrinógeno extravasado, es la base de la induración característica de las lesiones cutáneas de la HSR. La induración es máxima a las 24-48 hrs, siendo este retraso en la aparición de la induración la razón por la que esta respuesta se denomina retardada. Las células endoteliales que cubren estas vénulas se engrosan, muestran un aumento de organelas biosintéticas y se vuelven permeables a las macromoléculas del plasma. El fibrinógeno pasa de los vasos sanguíneos a los tejidos de alrededor, donde se convierte en fibrina. La acumulación de fibrina y, en menor proporción, de células T y monocitos dentro del espacio del tejido extravascular en la zona de la inyección provoca la hinchazón y la induración del tejido. La induración, signo de la RHR, se detecta generalmente alrededor de las 48 a 72 horas dependiendo de la especie. Después, la inflamación disminuye (*Aderem A. y col., 1999, Abbas A. y col. 2004*).

## **MATERIALES Y METODOS**

El objetivo del presente estudio fue identificar cabras que reaccionaran al ppd bovino con el propósito de comprobar si existen reactoras a *M. bovis*, además de establecer si la fuente de infección con esta bacteria proviene de bovinos infectados con tuberculosis a través de los sobrantes de alimentos que son utilizados para la alimentación de cabras.

Para lograr este objetivo se realizó la prueba anocaudal con tuberculina en 2 establos de la comarca lagunera.

### **LOCALIZACION**

El estudio se realizó en 2 establos el primero llamado Yucatán localizado en Francisco I. Madero, Coahuila, México, y el segundo establo llamado el Paredón localizado en la colonia la Partida en Torreón, Coahuila, México.

### **MATERIAL UTILIZADO**

Para el diagnostico de este estudio se utilizó ppd (derivado proteico purificado) bovino, jeringas insulínicas para su aplicación, un Vernier para hacer la medición del pliegue anocaudal y marcadores de ganado.

## **SELECCIÓN DE ANIMALES Y SU IDENTIFICACION**

Para llevar acabo este trabajo se utilizaron 50 cabras hembras de las razas Sanen y Alpina de diferentes edades seleccionadas al azar, en los corrales de los dos establos que han sido alimentados con sobrantes de dietas de bovinos infectados con Tuberculosis.

Para tener un control de estos animales, la identificación se basó mediante el número de arete con que cuentan en el establo, además de que al momento de ser inoculados se les marco con un crayón de ganado para una mejor identificación en el momento de la aplicación de la tuberculina y su lectura posterior.

## **PROCEDIMIENTO UTILIZADO EN ESTE TRABAJO**

La evaluación de estos animales se dividió en dos partes, la primera parte se realizó seleccionando 10 hembras en uno de los establos, esto para poder establecer adecuadamente el manejo de los animales y la forma de aplicación de la tuberculina. Posteriormente, en otro establo se utilizaron 40 animales, a los que se les realizó la prueba al igual que las primeras 10.

La metodología que se utilizó para la realización de esta prueba fue la misma que se realiza en los bovinos descrita por González y colaboradores (1999).

Como primer paso a estos animales con la ayuda de un vernier, se les realizó una medición del pliegue anocaudal, sitio donde se aplica la tuberculina, para así poder tomar una medida precisa del sitio, posteriormente se inocularon 0.1 ml de ppd (derivado proteico purificado) bovino intradérmico, y las lecturas del aumento en el grosor del pliegue fueron tomadas con el mismo vernier a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la aplicación.

La interpretación de la prueba se realizó tomando como base los signos y medidas que describen González y colaboradores (1999).

Si el grosor de la piel en el sitio donde se aplicó la tuberculina midió 4 mm más de lo que midió antes de la aplicación además de tomar en cuenta los signos de la inflamación, se consideraron como animales reactivos o positivos, si midió de 1-4 mm más de lo que midió antes de aplicación se consideró como reacción sospechosa y si no hubo ningún cambio se consideraron negativos.

A las cabras que resultaron reactivas se les realizó una segunda prueba, inoculando 0.1 ml de ppd bovino y 0.1 ml de ppd aviar en la tabla del cuello. Para comprobar si realmente estos animales estaban contaminados de Tuberculosis o solo fue un falso positivo, las lecturas que se realizaron en la primera prueba la lectura esta solo se realizó a las 72 hrs posteriores a la inoculación ya que González (1999) describe que la lectura se debe realizar a las  $72 \pm 6$  hrs posteriores a la aplicación .

## RESULTADOS

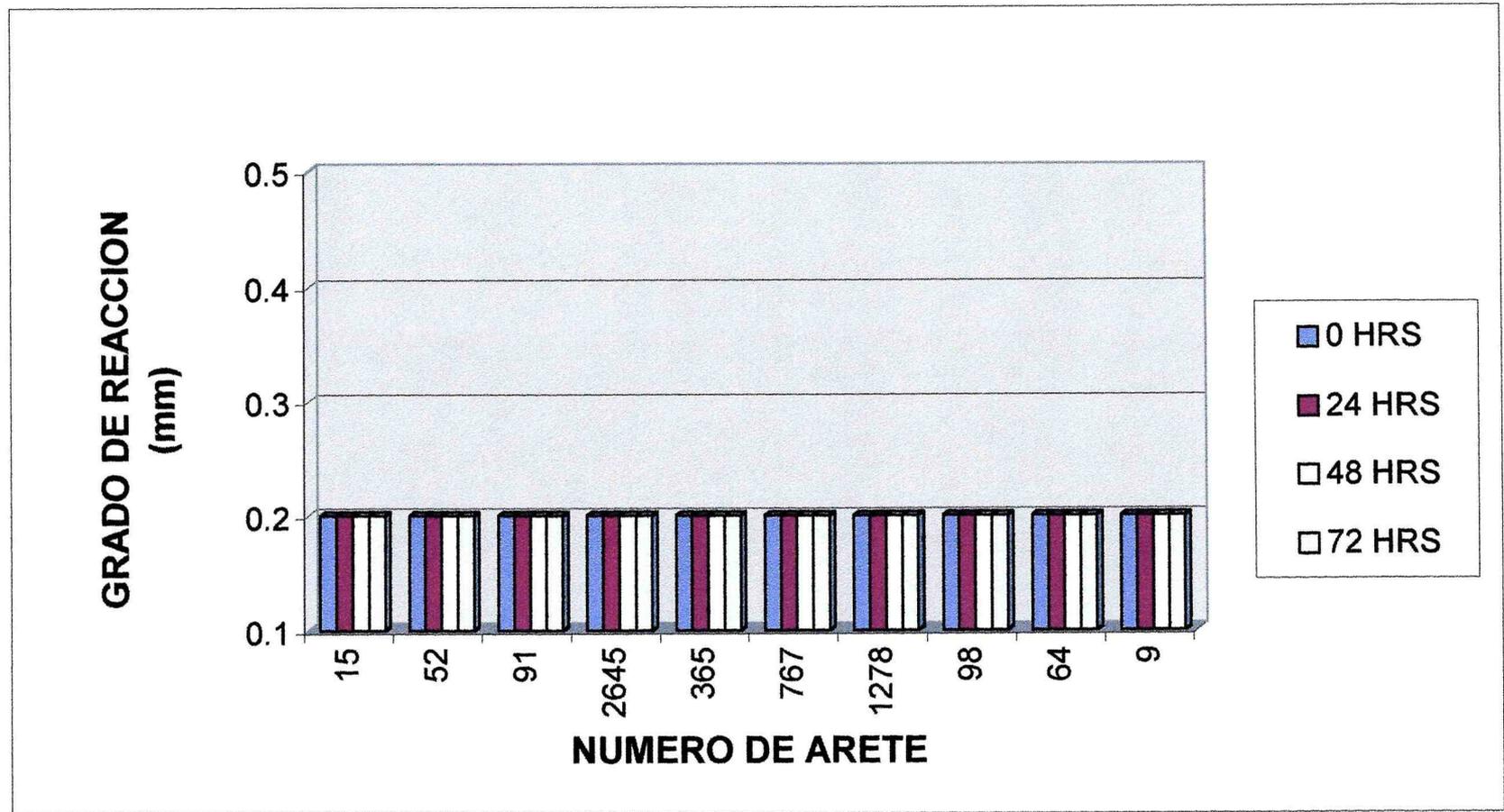
Los resultados de las graficas 1 a 4 y muestran que los animales muestreados no existe una infección con *M. bovis* ya que la mayoría de los animales no tuvieron una reacción y los que la tuvieron al realizarles la prueba doble comparativa en la tabla del cuello resultaron negativos.

De los animales probados ( Cuadro 1), el 38% no tuvo ninguna reacción a la tuberculina, sin signo de inflamación en el área de la inoculación de la tuberculina, otro 40% tuvo solo una ligera reacción ya que solo llegaron a aumentar de 1-2 mm más de lo que midieron cuando se les realizó la inoculación de la tuberculina, otro 18% mostraron una reacción inconstante porque tuvieron diferentes medidas en los 3 días de lectura y por ultimo el 4% tuvieron una considerable reacción a los cuales se les realizó la prueba comparativa y nos dieron negativos.

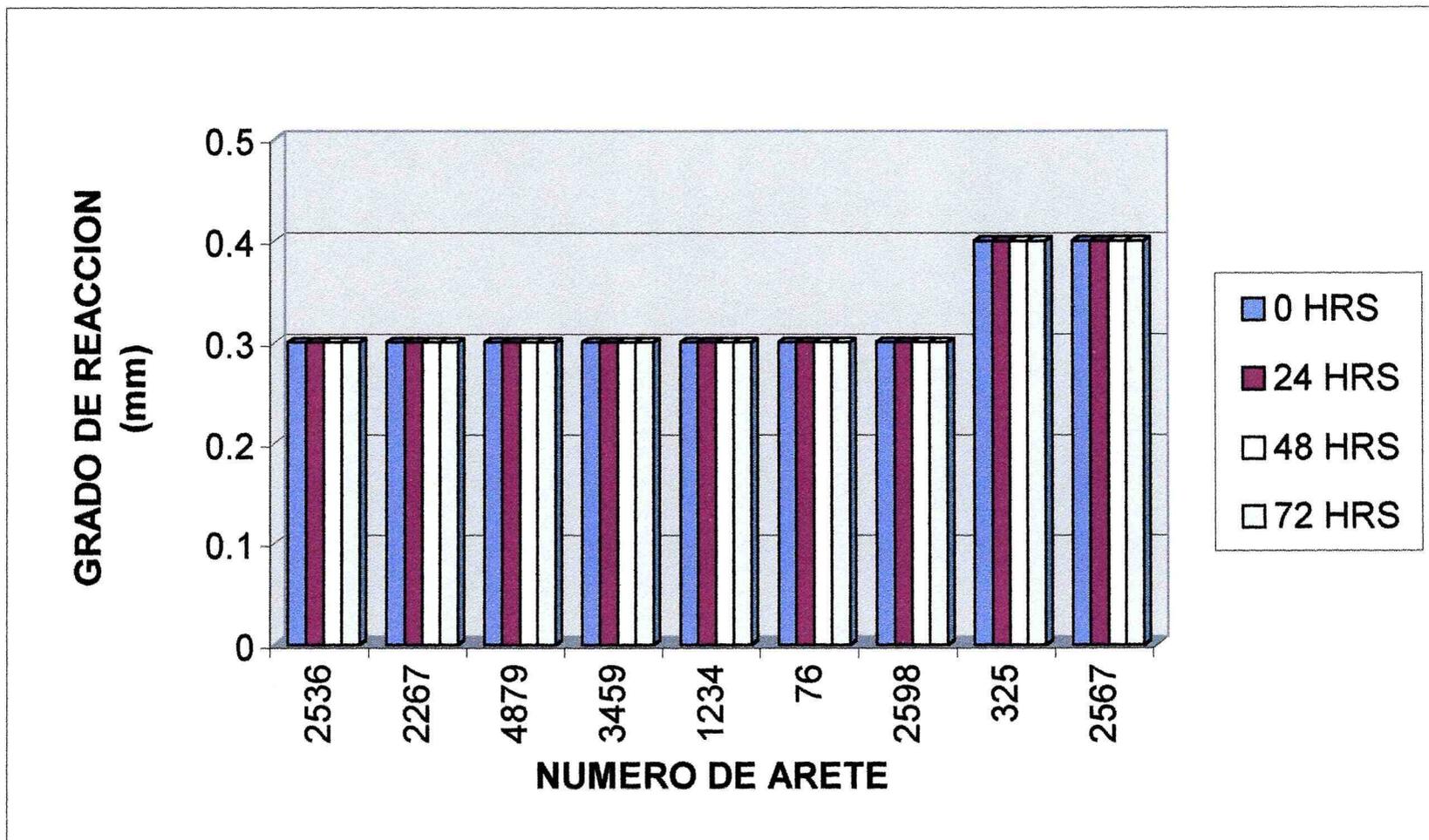
Cuadro 1. Tipo de reacción a la tuberculina.

<b>Porcentaje</b>	<b>Tipo de reacción</b>
38%	Ninguna reacción
40%	Ligera, de 1 a 2 mm
18%	Reacción inconstante
4%	Reacción considerable

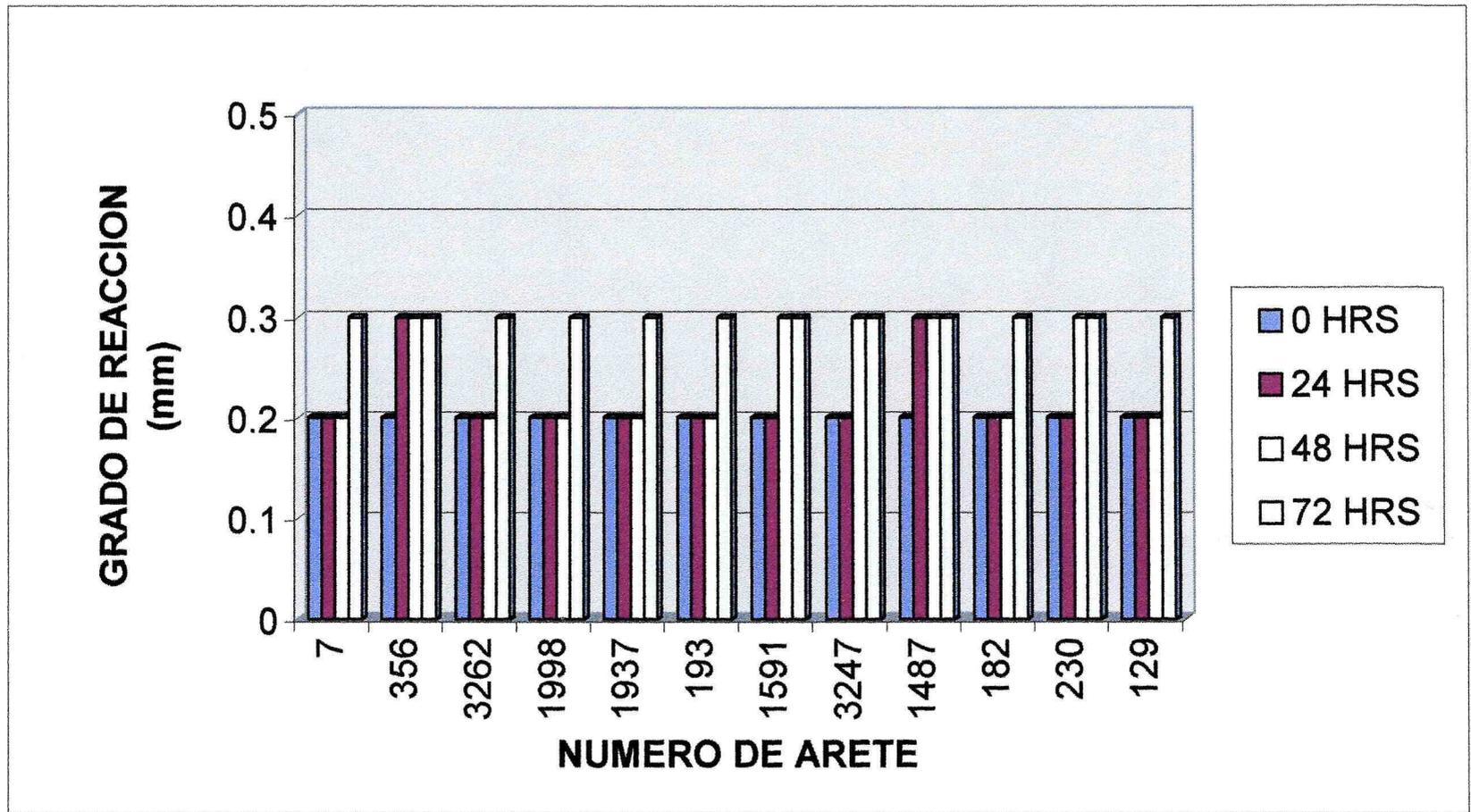
En las graficas de abajo se describen los resultados por los diferentes grados de reacción obtenidos en los animales, de acuerdo a todas las características que describe González (1999) para considerar un animal positivo, sospechoso o negativo.



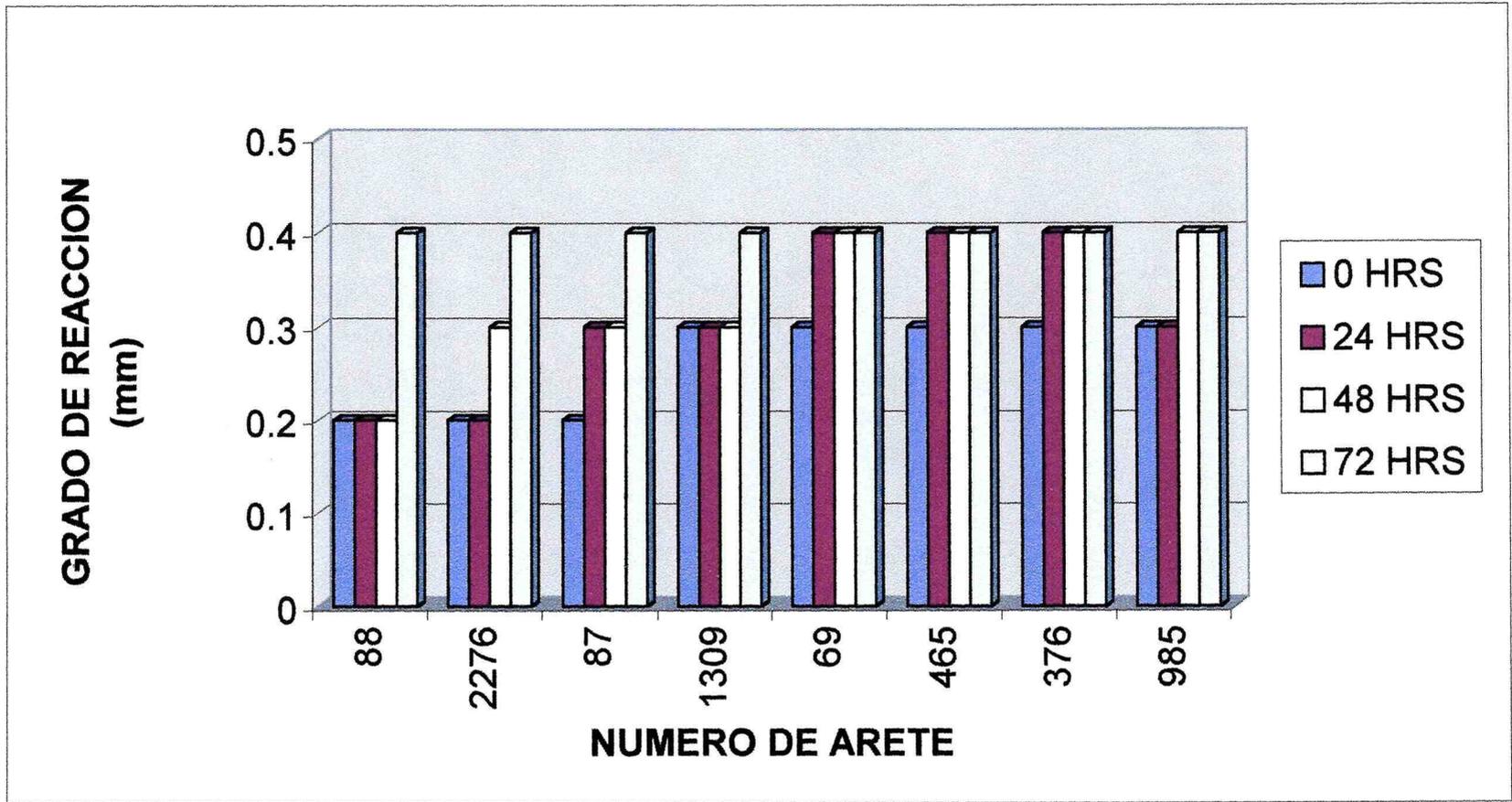
**GRAFICA 1.-** cabras que no mostraron ninguna reacción al ppd, se mantuvieron constantes en todas las lecturas realizadas en los días posteriores a la inoculación.



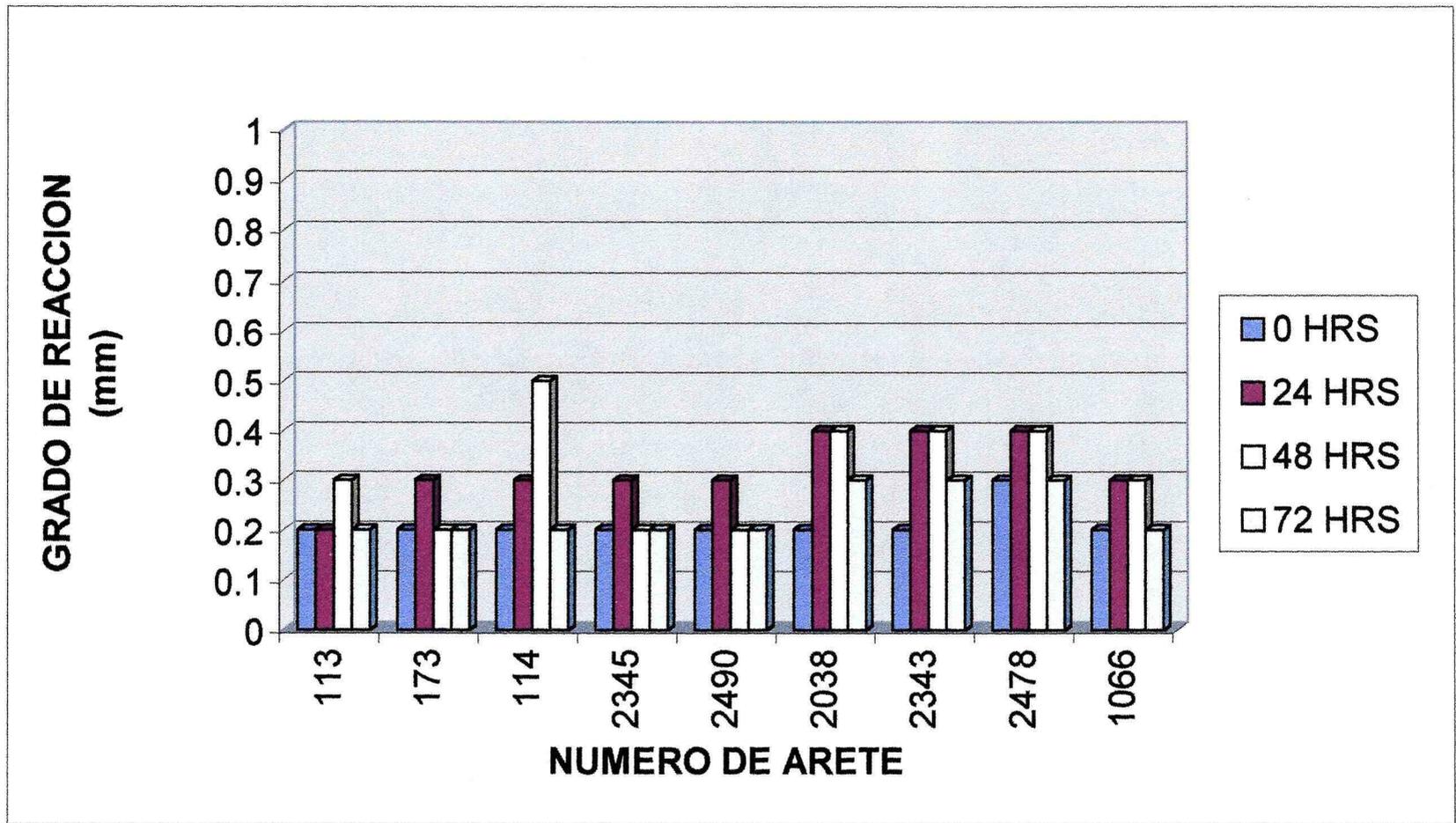
**GRAFICA 1.1.-** Esta grafica es continuación de la primera y al igual son cabras que no tuvieron ninguna reacción, se mantuvieron constantes al momento de las lecturas.



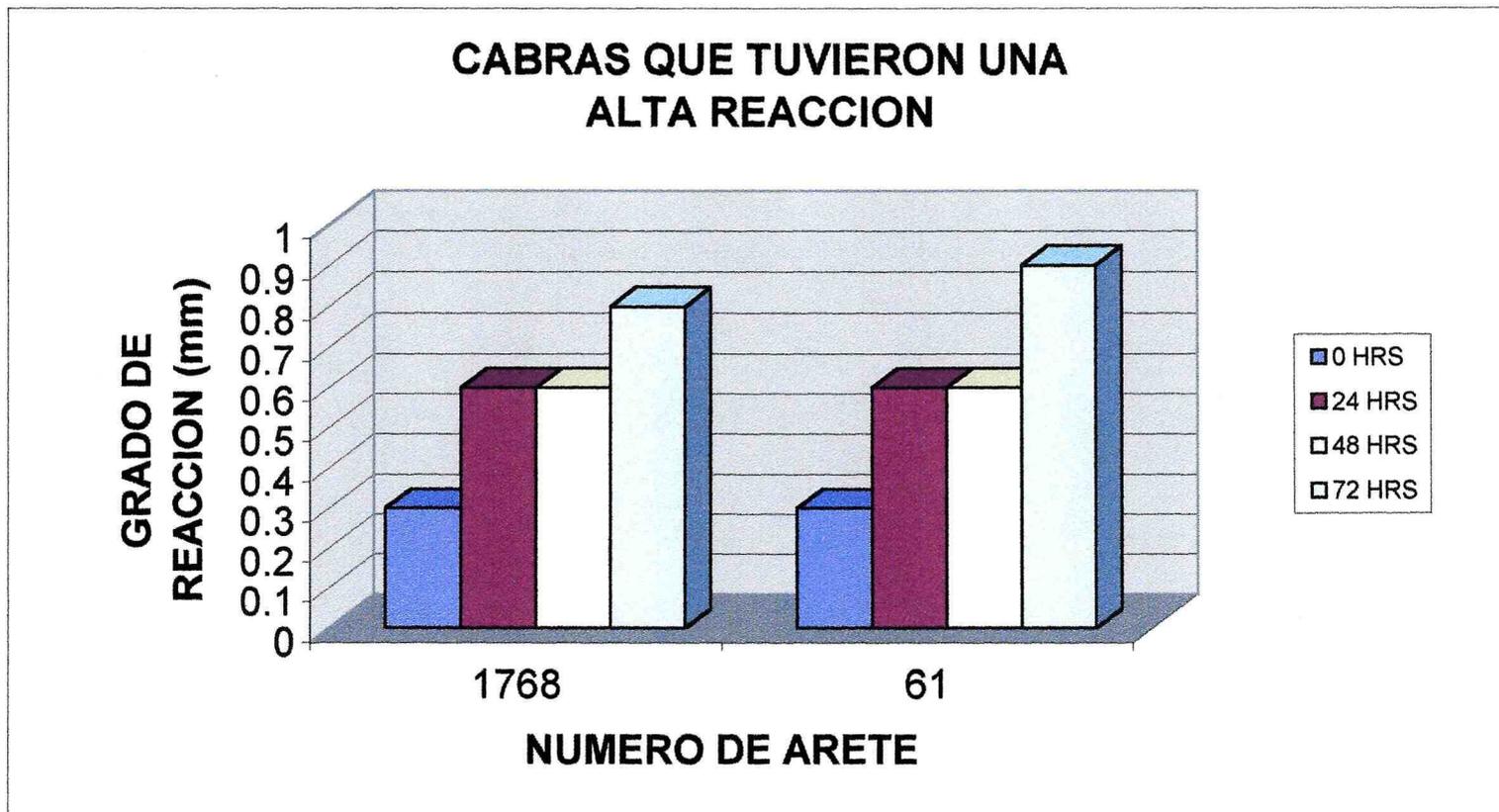
**GRAFICA 2.-** En esta grafica podemos observar como estas cabras tuvieron una ligera reacción que se puede considerar como reacción sospechosa pero no es muy significativa porque solo aumentaron 1 mm más a la medida que se les realizó antes de la aplicación.



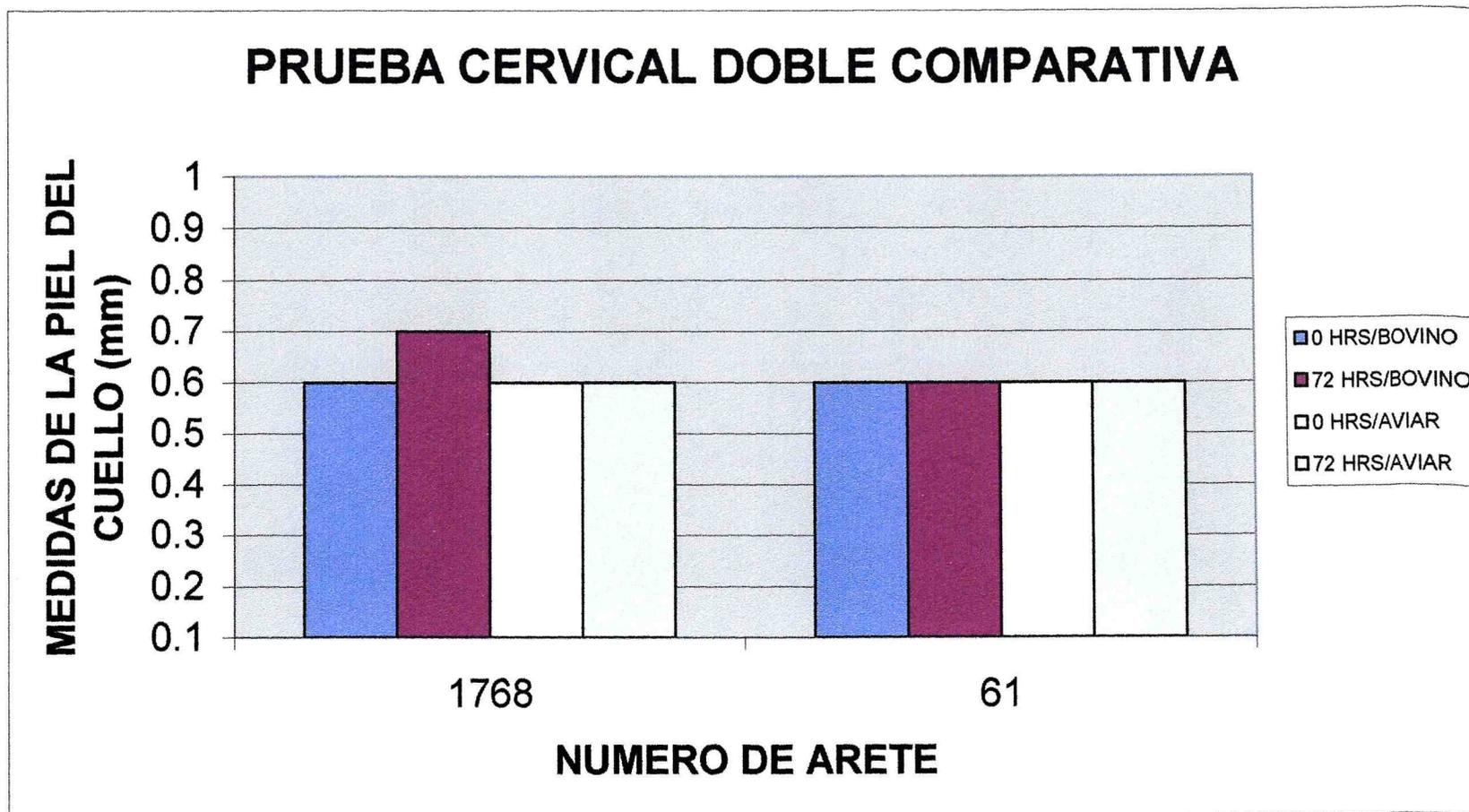
**GRAFICA 2.1.-** Aquí podemos observar igual que en la grafica 2 que no hubo una reacción considerable ya que solo aumentaron 1-2 mm al momento de la lectura.



**GRAFICA 3.-** Esta grafica nos muestra como estas cabras tuvieron una reacción inconstante ya que al momento de realizarles las lecturas al segundo y tercer día aumentaron 1-2 mm y posteriormente volvieron a bajar.



**GRAFICA 4.-** Grafica de las cabras que tuvieron una alta reacción a la tuberculina por lo cual se consideraron positivas pero se les realizó una segunda prueba para comprobar (los resultados se muestran en la grafica 4.1).



**GRAFICA 4.1.** – Grafica de las cabras que se les realizó la prueba cervical comparativa pero no tuvieron ninguna reacción solo disminuyeron a como estaban inicialmente cuando se les realizó la primera prueba (esta prueba se realizó 1 día después de la última lectura de la primera prueba y la lectura se tomó a las 72 hrs posteriores a la aplicación).

## DISCUSION

En este trabajo se utilizó el ppd bovino para el diagnóstico de la tuberculosis en algunas cabras de la Comarca lagunera por medio de la prueba anocaudal, prueba que no se ha reportado en México en el ganado caprino, y que además se podría utilizar como base para posteriormente realizar otras pruebas para el diagnóstico de la tuberculosis, permitiendo confirmar si realmente existe la presencia de *M. bovis subsp. caprae* en cabras de la Comarca Lagunera.

Los resultados obtenidos demuestran que los animales muestreados no mostraron reacción a la prueba de tuberculina. Esto nos indica que probablemente tengan que realizarse otro tipo de pruebas para poder diagnosticar la Tuberculosis en cabras, ya que hay datos que nos indican que la transmisión de la Tuberculosis a los animales caprinos si se puede presentar cuando se alimentan con sobrantes de dietas de animales bovinos infectados, o que también el contacto entre el ganado y las cabras puede ser una forma de transmisión de dicha enfermedad entre estas especies.

Por otro lado también los resultados obtenidos nos indican que algunas cabras presentaron una reacción a la prueba de tuberculina, sin embargo, al realizar la prueba doble comparativa, la reacción no fue específica. Este hecho podría ser dado por mycobacterias atípicas que hacen que la prueba de reacción se manifieste, o bien a otro tipo de mycobacteria como podría ser el *M. paratuberculosis*. Situación que en el presente trabajo no se tiene el alcance debido a que se requieren otro tipo de estudios para confirmar el diagnóstico. Otros factores también han sido reportados como causantes de reacciones falsas positivas, como son: estrés, mala nutrición o algún otro factor que haya podido favorecer la reacción de la prueba.

## CONCLUSIONES

- 1.- Las cabras del presente estudio reaccionan a la prueba de la tuberculina en un 4%, sugiriendo reactor positivo al *M. bovis*.
- 2.- Al realizar la prueba doble comparativa en la tabla del cuello, las cabras positivas, no mostraron reacción.
- 3.- La prueba de tuberculina en cabras podría ser un método para el diagnóstico de *M. bovis*.
- 4.- Para diferenciar de *M. bovis* y de *M. bovis sup. caprae*, se requiere otro tipo de estudios, que para los objetivos del presente trabajo no se tienen a su alcance.

## Literatura Citada

- 1.- Abbas Abal K. 2002. Inmunología Celular y Molecular. 4e. Editora Mc Graw-Hill Interamericana. Pág. 419-460.
- 2.- Abbas A., Lichtman A. 2004. Enfermedades producidas por respuestas inmunitarias: hipersensibilidad y autoinmunidad. En: Inmunología celular y molecular. Ed. Elsevier. Quinta edición. Pag. 411-431.
- 3.- Aderem Alan y Underhill David M. 1999. Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu. Rev. Immunol.* 17:593–623
- 4.- Aranaz A., Cousins D. Mateos A. y Domínguez L. 2003. Elevation of *Mycobacterium tuberculosis subsp. caprae* Aranaz et al. 1999 to species rank as *Mycobacterium caprae comb. nov., sp. nov.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiol. 53;1785–1789.
- 5.- Aranaz A., Liébana E., Mateos A., Domínguez L., D. Vidal, Domingo M., González, Rodríguez-Ferri E., Bunschoten A., A. van Embden J., and Cousins D. 1996. Spacer oligonucleotide typing of *Mycobacterium bovis* strains from cattle and other animals: a tool for studying epidemiology of tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 34:2734–2740.
- 6.- Aranaz A., y Liébana E., Gómez-Mampaso E., Galán Juan, Cousins D., Ortega A., Blázquez J., Baquero F., Mateos A., Suárez G. and Domínguez L. 1999. *Mycobacterium tuberculosis subsp. caprae subsp. nov.*: a taxonomic study of a new member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated from goats in Spain. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 1263–1273.

7. - Costello E., O'Grady D., Flynn O., O'Brien R., Rogers M., Quigley F., Egan J., and Griffin J. 1999. Study of restriction fragment length polymorphism analysis and spoligotyping for epidemiological investigation of *Mycobacterium bovis* infection. J. Clin. Microbiol. 37:3217–3222.
8. - Cousins Debby, Williams Suzette, Liebana Ernesto, Aranaz Alicia, Bunschoten Annelies, Van Embden Jan, and Ellis Trevor. 1998. Evaluation of Four DNA Typing Techniques in Epidemiological Investigations of Bovine Tuberculosis. J. Clin. Microbiology, 36:168–178.
- 9.- Erler Wilfried, Martin Gerald, Sachse Konrad, Naumann Ludmila, Kahlau Dagmar, Beer Jorg, Bartos Milan, Nagy Gyorgy, Cvetnic Zeljko, Zolnir-Dovc Manca, and Pavlik Ivo. 2004. Molecular Fingerprinting of *Mycobacterium bovis subsp. caprae* Isolates from Central Europe. J. Clin. Microbiology, 2234–2238.
- 10.- Espinosa de los Monteros L. E., Galán J.C., Gutiérrez M., Samper S., Marín J., Martín C., Domínguez L., L. de Rafael, Baquero F., Mampaso E., and Blázquez J. 1998. Allele-specific PCR method based on *pncA* and *oxyR* sequences for distinguishing *Mycobacterium bovis* from *Mycobacterium tuberculosis*: intraspecific *M. bovis pncA* sequence polymorphism. J. Clin. Microbiol. 36:239–242.
- 11.- Euzéby J. P. 2002. *Mycobacterium bovis subsp. caprae*. Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. 1-12.
- 12.- Gutiérrez M. and Marín García J. F. 1999. *Cryptococcus neoformans* and *Mycobacterium bovis* Causing Granulomatous Pneumonia in a Goat. Vet. Pathol. 36:445–448.
- 13.- Gutiérrez M., Samper S., Gavigan J., García Marín J., and Martín C. 1995. Differentiation by molecular typing of *Mycobacterium bovis* strains causing tuberculosis in cattle and goats. J. Clin. Microbiol. 33:2953–2956.

- 14.- Gutiérrez M., Samper S., Jiménez M. S., D. van Embden J., Marin J., and Martin C. 1997. Identification by spoligotyping of a caprine genotype in *Mycobacterium bovis* strains causing human tuberculosis. J. Clin. Microbiol. 35:3328–3330.
- 15.- Griffin J. Frank. 2000. Veterinary Tuberculosis Vaccine Development. Clinical Infectious Diseases. 30;223–228.
- 16.- Goldsmid John. 1994. Mycobacteria Pathological Basis of Disease. 1-5.
- 17.- Haddad N., Ostryn A., Karoui C., Masselot M., Inwald J., Hewinson R. and Durand B. 2001. Spoligotype Diversity of *Mycobacterium bovis* Strains Isolated in France from 1979 to 2000. J. Clin. Microbiology, 3623–3632.
- 18.- Huard R., De Olivera L., Ray Butler W., Van Soolingen D. and L. Ho John. 2003. PCR-Based Method to Differentiate the Subspecies of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex on the Basis of Genomic Deletions Clin. Microbiology, 41;1637–1650.
- 19.- Kimura T. 2003. The Mycobacteria. 1-3.
- 20.- Kubica T., Rusch-Gerdes Sabine, and Niemann Stefan. 2003. *Mycobacterium bovis* subsp. *caprae* Caused One-Third of Human *M. bovis*-Associated Tuberculosis Cases Reported in Germany between 1999 and 2001. J. Clin. Microbiology, 41;3070–3077.
- 21.- Llamazares G. O., Gutiérrez C., Álvarez D., V. de la Puente Redondo, Domínguez L. and Rodríguez E. 1999. Field evaluation of the single intradermal cervical tuberculin test and the interferon- $\gamma$  assay for detection and eradication of bovine tuberculosis in Spain, 70; 55-66.

- 22.- Mondragón-Barreto M., Vázquez C., Barrón C., Acosta P. and Jost K. 2000. Comparison among three methods for Mycobacteria identification. *Salud Publica Méx.* 42;484-489.
- 23.- Milián F., Sánchez Luisa M., Toledo P., Ramírez C. and Santillán M. 2000. Descriptive Study of Human and Bovine Tuberculosis in Querétaro, México, 42:13-19.
- 24.- Niemann S., Harmsem D., Rusch-Gerdes Sabine and Richeter E. 2000. Differentiation of Clinical *Mycobacterium tuberculosis* Complex Isolates by gyrB DNA Sequence Polymorphism Analysis. *J. Clin. Microbiology*, 3231–3234.
- 25.- Niemann S., Richter E. and Rusch-Gerdes Sabine. 2000. Differentiation among Members of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex by Molecular and Biochemical Features: Evidence for Two Pyrazinamide-Susceptible Subtypes of *M. bovis*. *J. Clin. Microbiology*, 152–157.
- 26.- Njanpop-Lafourcade Berthe M., Inwald Jacqueline, Ostyn Annick, Durand Benoit, Hughes Steven, Thorel Marie-Francoise, Hewinson Glyn, and Haddad Nadia. 2001. Molecular Typing of *Mycobacterium bovis* Isolates from Cameroon. *J. Clin. Microbiology*, 39 ; 222–227.
- 27.- Phillips C.J.C., Foster C.R.W., Morris P.A. and Teverson R. 2003. The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. *Research in Veterinary Science* 74;1–15.
- 28.- Prodinger Wolfgang M., Eigentler A., Allerberger F., Schönbauer M. and Glawischnig W. 2002. Infection of Red Deer, Cattle, and Humans with *Mycobacterium bovis subsp. caprae* in Western Austria. *J Clin. Microbiology*, 40; 2270-2272.

29.- Richard S., Clifton-Hadley, Carola M., Sauter-Louis, Ian W. L., Ronald Jackson, Peter A. Durr, and John W. Wilesmith. 2001. *Mycobacterial Diseases*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 340-361.

30.- Serraino A., Marchetti G., Sanguinetti V., Rossi María. C., Zanoni R., Catozzi L., Bandera A., Dini W., Mignone W., Franzetti F. y Gori A. 1999. Monitoring of Transmission of Tuberculosis between Wild Boars and Cattle: Genotypical Analysis of Strains by Molecular Epidemiology Techniques. *J. Clin. Microbiology*, 2766–2771.

31.- Skuce R. A., Brittain D., Hughes M. S. and Neill S. D. 1996. Differentiation of *Mycobacterium bovis* Isolates from Animals by DNA Typing. *J. Clin. Microbiology*, 34;2469–2474.

32.- Van der Zanden A. G. M., Kremer K., Schouls L. M., Caimi K., Cataldi A., Hulleman A., Nagelkerke N. J. D., and Van Soolingen D. 2002. Improvement of Differentiation and Interpretability of Spoligotyping for *Mycobacterium tuberculosis* Complex Isolates by Introduction of New Spacer Oligonucleotides. *J. Clin. Microbiology*, 40:4628–4639.

33.- Vercellone Alain, Nigou Jerome, Puzo Germain. 1998. Relationships between the structure and the roles of lipoarabinomannans and related glycoconjugates in tuberculosis patogenesis. *Front Biosci*, 3:e149-63.