

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DIRECCION GENERAL DE INVESTIGACION

***PRESENCIA DE MYCOBACTERIUM sp. EN LECHE DE
VACAS TUBERCULINO POSITIVAS EN SEIS REGIONES
DE GUATEMALA***

GUATEMALA, ENERO DE 1,998

Directorio:

Dr. Jaime Rolando Méndez Sosa
Coordinador
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Dr. Luis Alfonso Morales Rodríguez
Investigador
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Dr. David René Orellana
Investigador
DIGESEPE Región Metropolitana

Dra. Alda Girón Gross
Investigadora
Laboratorio Central de DIGESEPE

Dr. Pablo Sandoval Ventura
Investigador
DIGESEPE, Región IV

Dr. Leonel Cruz
Investigador
DIGESEPE, Región VI

Dr. Luis A. Villeda
Investigador
DIGESEPE, Región I

Dr. Salvador Portillo
Investigador
DIGESEPE, Región V

AGRADECIMIENTOS

Queremos dejar constancia de nuestro agradecimiento a las siguientes instituciones que hicieron posible llevar a feliz término la presente investigación interinstitucional de un problema de gran trascendencia social, son ellas:

- **Dirección General de Investigación**
- DIGI/USAC -
- **Dirección General de Servicios Pecuarios**
- DIGESEPE/MAGA -
- **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**
- Universidad de San Carlos de Guatemala -

1. RESUMEN

Con base en información disponible en el programa de control de tuberculosis bovina de la Dirección General de Servicios Pecuarios se identificaron las áreas, donde en 1,995-1996 se reportaron bovinos reactores positivos a tuberculina ano caudal. En las regiones seleccionadas se procedió a tubercular a 26,308 bovinos utilizando la prueba simple ano caudal con tuberculina PPD mamífera.

Posteriormente se identificó a 184 bovinos reactores positivos a la prueba ano caudal estableciéndose una prevalencia puntual de 0.70% para las regiones estudiadas, con variaciones por región, así la región II presentó una prevalencia de 2.33% y la región III 0%.

De los 184 bovinos reactores positivos solamente 45 fueron vacas en lactación, a las cuales se les tomó una muestra de leche al inicio y al final del ordeño, las cuales fueron trasladadas al Laboratorio Central de DIGESEPE para el análisis mediante el método de coloración de Ziehl Neelsen encontrándose en 21 muestras de leche evidencias de la presencia de bacilos Acido Alcohol resistentes, de las cuales el 17.78% procedían de la región VI.

Adicionalmente las muestras de leche que presentaron presencia de bacilos Acido Alcohol resistentes fueron cultivadas en el medio Lowenstein Jensen, encontrándose crecimiento de bacilos tuberculosos en el 4.44% de las muestras de leche analizadas.

2. INTRODUCCION

En los últimos años se ha incrementado la frecuencia de tuberculosis en el país, y según la División de Tuberculosis del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, no se hacen cultivos de materiales patológicos del hombre, el examen de laboratorio consiste en baciloscopía, no hay por lo tanto manera de determinar en qué proporción participa el bacilo bovino (M. bovis) o el tipo aviar (M. avium) en la tuberculosis humana. Dada la difusión de la tuberculosis bovina, su apreciable prevalencia y el estrecho contacto de los trabajadores agropecuarios con el ganado, así como la comercialización de leche y sus derivados sin ningún tratamiento sanitario hace inferir que esta fuente de infección y este mecanismo de transmisión están incrementando la prevalencia de tuberculosis en el hombre.

En la actualidad en el Programa de Control de Tuberculosis Bovina que cubre la Costa Sur del país, así como áreas delimitadas de los departamentos de Guatemala, Zacapa, Chiquimula, Chimaltenango y Alta Verapaz, se cuenta con información epidemiológica que permitirá identificar al ganado infectado y de esta forma establecer en que proporción eliminan el Mycobacterium a través de la leche.

3. OBJETIVO

Determinar la presencia de Mycobacterium sp. en leche de vacas tuberculínicas positivas en seis regiones del país, donde se desarrolla el Programa de Control de Tuberculosis bovina.

4. ANTECEDENTES

Según la información suministrada por la División de Tuberculosis del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, no se hacen cultivos de materiales patológicos del hombre. El examen de laboratorio consiste en baciloscopía. No hay, por consiguiente manera de determinar en que proporción participa el bacilo bovino (M. bovis) o el tipo aviar (M. avium) en la tuberculosis humana.

En el año de 1995 en el Programa de Control de tuberculosis Bovina del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, se determinó una prevalencia de 1.64% de un total de 45,618 animales tuberculinizados en el país.

A partir de 1993 a la fecha en dicho Programa se ha establecido la política de la caracterización de áreas para poder declarar fincas libres de tuberculosis a través de los muestreos y pruebas que se realizan en dichas zonas, por lo tanto

existe una planificación de las actividades, se ha implementado un sistema de información, un manual de normas y procedimientos, de manera que las actividades respondan a un plan estructurado.

Existen datos aislados sobre la prevalencia de tuberculosis bovina en diferentes áreas geográficas del país que varían de 2.52% en Sacatepéquez a 0.89% en Huehuetenango.

De acuerdo con la literatura, la tuberculosis extrapulmonar del hombre es a menudo producida por M. bovis como resultado del consumo de leche infectada, asimismo, este microorganismo puede causar las mismas formas clínicas y lesiones patológicas que el M. tuberculosis.

Una fuente de información de gran interés para conocer el problema de la tuberculosis en el país es el registro de decomisos y el número de bovinos que presentan lesiones compatibles con dicha entidad en el post mortem, en los mataderos. Así en 1976 y 1977 se estableció en rastros una prevalencia de 5.2 % de animales con lesiones tuberculosas.

Los agentes etiológicos de la tuberculosis de los mamíferos son Mycobacterium tuberculosis, M. bovis, M. africanum y M. avium en menor proporción.

En América Latina, pese a la costumbre de hervir la leche de consumo humano, debido a la alta prevalencia de la infección en bovinos, la tuberculosis humana de origen animal sigue siendo un problema de Salud Pública, debido en parte a que muchos productos se elaboran con leche sin pasteurizar.

La prevalencia de tuberculosis bovina en Guatemala, de acuerdo con la procedencia de los bovinos sacrificados fue la siguiente:

Región II	5.20%
Región III	1.60%
Región IV	3.34%
Región V	0.52%
Región VI	3.00%
Región VII	1.00%

Lo anterior permite inferir que la enfermedad se encuentra difundida en todo el país.

El bovino tuberculoso puede transmitir la infección a muchas especies de mamíferos, incluyendo el hombre. La vía más frecuente de transmisión al hombre es la digestiva por la leche y productos lácteos crudos.

La prevalencia es más alta en animales lecheros, debido a que la vida económica de éstos es más prolongada y porque están en contacto al reunírseles para el ordeño.

La leche no sólo puede constituir una fuente de infección por bacilo bovino, sino también por otras micobacterias, responsables de enfermedades en humanos.

Debe recordarse además que los organismos ácido resistentes, que microscópicamente no pueden diferenciarse con certeza de los bacilos tuberculosos, están ampliamente distribuidos en la naturaleza, por lo que se requiere un diagnóstico bacteriológico preciso, éste puede ser directo que no es más que realizar con el material sospechoso la coloración de Ziehl - Neelsen, o bien indirecto el cual consiste en sembrar el material sospechoso en medios especiales como el Lowestein Jensen.

5. MATERIALES Y METODOS

Recursos Humanos:

- 8 médicos Veterinarios
- 6 vaqueros

Recursos Biológicos:

- Bovinos
- Tuberculina PPD Mamífera

Recursos de Campo:

- Combustible y Lubricantes
- Equipo de Sujesión para bovinos
- Jeringas decartables para tuberculina
- Overoles
- Batas blancas
- Botas de hule
- Guantes quirúrgicos
- Diskettes
- Cinta para impresora
- Papel Continuo
- Defintectante
- Película fotográfica

Recursos de Laboratorio:
Alcohol etílico
Coloración de Ziehl Neelsen
Cristalería
Material plástico

METODOLOGIA Y TECNICAS UTILIZADAS

SELECCION DE LA MUESTRA

Con base en los datos obtenidos en el Programa de Control de Tuberculosis Bovina de la Dirección General de Servicios Pecuarios durante 1995 y 1996, se identificaron las áreas a trabajar, siendo las siguientes:

REGION	DEPARTAMENTO	MUNICIPIO
I	Guatemala	San Pedro Ayampuc San José del Golfo San José Pinula
II	Alta Verapaz	Cuenca del Polochic
III	Zacapa Chiquimula	Cabañas Esquipulas
IV	Jutiapa Santa Rosa	Moyuta Chiquimulilla Oratorio
V	Escuintla Chimaltenango	Masagua Comalapa
VI	San Marcos	Pajapita Ocós Malacatán Catarina

La selección de las regiones anteriores se hizo con base en las notificaciones de reactores positivos que se llevan en el Programa de Control, en el cual durante 1995 se tuberculinizaron en esas regiones 45,618 bovinos, de los que el 1.64% reaccionó positivamente a la prueba.

PROCEDIMIENTO

Para la presente investigación se siguió el siguiente procedimiento para obtener la información que permitió llegar a la toma de muestras de leche.

Se informó a los Coordinadores de Sanidad Animal Regionales de la presente investigación.

Se caracterizó la población animal existente en el área.

Se procedió a tuberculinizar a los bovinos por medio de la prueba simple ano caudal, utilizando tuberculina PPD mamífera según lo define el Programa de Control.

Se identificó a los animales reactores positivos a la prueba tuberculina.

A los animales reactores positivos se les tomó una muestra de leche al inicio y final del ordeño.

Se trasladaron las muestras de leche al laboratorio central de DIGESEPE, donde se determinó la presencia de *Mycobacterium* sp. en la misma.

Análisis de Laboratorio: Las muestras de leche se centrifugan a 2000 r.p.m. durante 30 minutos. Posteriormente se prepararon extensiones con el sedimento y se les tiñó con el método de coloración de Ziehl Neelsen siguiendo la siguiente técnica:

1. Realización de frotis con el sedimento de la leche.
2. Fijación de frotis: Las láminas ya secas con el extendido hacia arriba se pasan dos o tres veces sobre la llama para fijación.
3. Se cubre la totalidad de la superficie del extendido con fucsina fenicada previamente filtrada.
4. Se calienta suavemente con la llama de un hisopo de algodón humedecido con alcohol, pasando lentamente por debajo de la lámina hasta que se produzca emisión de vapores. El procedimiento se repite tres veces evitando que la fucsina hierva.

Si la fucsina disminuye por evaporación o derrame hay que reponerla porque el extendido debe estar cubierto constantemente durante el calentamiento.

5. Lavar con agua a baja presión.
6. Se cubre la totalidad de frotis con la solución del decolorante, en este estudio se utilizó ácido sulfúrico al 25%. El alcohol ácido sulfúrico al 25% en agua destilada. En éste último caso hay que dejar que el ácido sulfúrico cubra el extendido por un mínimo de tres minutos.
7. Lavar con agua a baja presión. Si el extendido está aún de color rojo o rosado, se decolora nuevamente hasta que toda la coloración haya desaparecido.
8. Se lava nuevamente.
9. Se cubre la totalidad de superficie del extendido con azul de metileno por no menos de 30 segundos.
10. Secar al medio ambiente y observar al microscopio.

INTERPRETACION

Luego de realizada la técnica de coloración se dió como positivo a bacilos ácido alcohol resistentes la presencia de bacilos delgados de color rojo.

6. RESULTADOS Y DISCUSION

Durante el periodo de estudio se realizaron 26,308 pruebas tuberculínicas en las seis regiones de Guatemala de las cuales 26,031 (98.95%) corresponden a hembras y 277 (1.05%) a machos. (Cuadro No. 1)

De las hembras tuberculinizadas 19,523 (75%) fueron vacas y 6,500 (25%) fueron novillas.

De las 19,523 vacas examinadas se encontraron 15,618 (80%) en lactación al momento del muestreo.

Se pudo establecer que 184 bovinos reaccionaron positivamente a la prueba tuberculínica lo cual determinó una prevalencia de 0.7% para las seis regiones estudiadas con variaciones en la prevalencia por Región, así la Región II reporta una proporción de 2.33% y 0% en la Región III. (Cuadro No. 2)

Se pudo observar que de los 184 bovinos reactores positivos, 4 fueron machos, 100 novillas y 80 vacas en lactación, de las cuales 45 fueron sometidas al muestreo de leche encontrándose que el 46.67% presentaban bacilos ácidos alcohol resistentes, siendo la Región VI de donde procedían la mayor proporción de muestras positivas a estos bacilos con un 17.78%. (Cuadro No. 3)

El presente estudio es congruente con la información disponible en el Programa de Control de Tuberculosis Bovina, ya que la prevalencia para las seis regiones investigadas es baja lo cual es consecuencia de los programas de vigilancia epidemiológica y de control llevados a cabo por DIGESEPE con la colaboración de los ganaderos conscientes de la importancia de esta zoonosis ya que los bovinos reactores positivos son llevados inmediatamente al rastro para evitar la diseminación de la enfermedad.

La alta proporción de muestras de leche con evidencia de bacilos ácido alcohol resistentes (46.67) debe considerarse con reserva en virtud de que la leche puede contener Mycobacterium bovis así como también otras micobacterias saprófitas o bien difteroides, los cuales algunas veces se decoloran lentamente y complican el diagnóstico. Tomando esto en cuenta las muestras de leche fueron sometidas a cultivo en el medio de aislamiento para micobacterias Lowenstein Jensen, obteniéndose dos aislamientos de Mycobacterium sp. cuyas características fueron de crecimiento lento a 37°% y al realizar el frotis con coloración de Ziehl Neelsen evidenciaron las características morfológicas de los bacilos tuberculosos, concluyéndose con una proporción de 4.44% de las muestras analizadas por este método indirecto.

7. CONCLUSIONES

1. Fueron tuberculinizados 26,308 bovinos en las seis regiones de estudio de los cuales el 98.95% fueron hembras.
2. La prevalencia puntual de reactores positivos a la prueba tuberculínica ano caudal para el área de estudio fue de 0.7%.
3. El 46.67% de muestras de leche de vacas tuberculino positivas presentaba evidencias de bacilos ácido alcohol resistentes a la prueba de coloración de Ziehl Neelsen.
4. El 4.44% de muestras de leche de vacas tuberculino positivas presentaron crecimiento en el medio Lowenstein Jensen.

8. RECOMENDACIONES

1. Continuar con el estudio de *Mycobacterium* sp. en leche de vacas orientado al aislamiento y tipificación de los mismos y su impacto en la salud del consumidor.
2. Establecer cual es el papel del *Mycobacterium bovis* en la ocurrencia de tuberculosis en el hombre.
3. Divulgar los resultados de esta investigación y de la importancia del Programa de Control de Tuberculosis Bovina, desarrollado por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación para el bienestar de la población guatemalteca.
4. Realizar programas de educación sanitaria a la población de los riesgos de adquirir enfermedades zoonóticas por la ingestión de leche cruda.

9. BIBLIOGRAFIA

- 9.1 Acha, P., Syfres, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Segunda edición. Publicación científica No. 503, OPS-OMS. 1986.
- 9.2 Archila, M. R. Contribución al estudio de la mastitis tuberculosa en bovinos como entidad zoonótica. Tesis. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala. 1986.
- 9.3 Blood, D. C. et al. Medicina Veterinaria. 5ª. Ed. Interamericana. México, 1983.
- 9.4 CEPANZO. Diagnóstico de laboratorio de la tuberculosis animal. Nota Técnica No. 16, OPS-OMS. 1972.
- 9.5 CEPANZO. Manual de normas y procedimientos técnicos para la bacteriología de la tuberculosis. Notas técnicas No. 26,28,29. OPS-OMS. 1988.
- 9.6 DIGESEPE/MAGA. Programa de Control de Brucelosis y Tuberculosis Bovina. Boletín Epidemiológico. Guatemala, 1996.
- 9.7 Kelly, W. R. Diagnóstico clínico veterinario. Continental. México, 1981.
- 9.8 OPS/CENSA/IMV. Curso Intensivo de Tuberculosis Bovina. Cuba, 1983.
- 9.9 Salvatierra, J. R. Actualización de tuberculosis en animales domésticos. Folleto. OIRSA-OPS-DIGESEPE. Guatemala, 1985.

ANEXOS

CUADRO No. 1

BOVINOS TUBERCULINIZADOS EN SEIS REGIONES DE GUATEMALA,
SEGÚN EL SEXO. 1997

REGION	HEMBRAS	MACHOS	TOTAL
I	1395	25	1420
II	726	5	731
III	1588	18	1606
IV	10456	150	10606
V	4200	44	4244
VI	7666	35	7701
TOTAL:	26031	277	26308

CUADRO No.2

PRUEBAS DE TUBERCULINA EN BOVINOS DE SEIS REGIONES DE
GUATEMALA. 1997

REGION	TOTAL DE PRUEBAS	REACTORES	POSITIVOS	REACTORES	NEGATIVOS
I	1420	6	0.42%	1414	99.58%
II	731	17	2.33%	714	97.67%
III	1606	0	0.00%	1606	100.00%
IV	10606	57	0.54%	10549	99.46%
V	4244	22	0.52%	4222	99.48%
VI	7701	82	1.06%	7619	98.93%
TOTAL	26308	184	0.70%	26124	99.30%

CUADRO No. 3

RESULTADO A LA COLORACION DE ZEHL NEELSEN EN MUESTRAS DE LECHE DE VACAS TUBERCULINICO POSITIVAS EN SEIS REGIONES DE GUATEMALA. 1997

REGION	POSITIVO	BAAR	NEGATIVO	BAAR	TOTAL
I	3	6.67%	10	22.22%	13
II	0	0.00%	0	00.00%	0
III	0	0.00%	0	00.00%	0
IV	5	11.11%	4	8.89%	9
V	5	11.11%	10	22.22%	15
VI	8	17.78%	0	00.00%	8
TOTAL	21	46.67%	24	53.33%	45

INDICE

1	RESUMEN.....	01
2	INTRODUCCION.....	02
3	OBJETIVO.....	02
4	ANTECEDENTES.....	02
5	MATERIALES Y METODOS.....	04
6	RESULTADOS Y DISCUSION.....	08
7	CONCLUSIONES.....	09
8	RECOMENDACIONES.....	09
9	BIBLIOGRAFIA.....	10
10	ANEXOS.....	11