



UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS
Laureate International Universities®

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

“DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE MYCOBACTERIUM SPP. MEDIANTE LA APLICACIÓN DE LA PRUEBA DE TUBERCULINIZACIÓN, Y ANÁLISIS DE FACTORES DE RIESGO EN PRIMATES Y FELINOS MANTENIDOS EN CAUTIVERIO EN EL ZOOLOGICO DE GUAYLLABAMBA.”

Trabajo de titulación presentado en conformidad a los requisitos establecidos para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista

Profesor Guía:

Dr. Freddy Proaño Pérez, Ph.D.

Autora:

Verónica Patricia Albornoz Villacrés

Año

2012

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con la estudiante, orientando sus conocimientos para un adecuado desarrollo del tema escogido, y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.”

Freddy Proaño Pérez

MVZ, Ph.D.

C.I.: 100208116-2

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

Verónica Patricia Albornoz Villacrés

C.I.: 172014867-3

AGRADECIMIENTO

A mis padres por ser mi guía, apoyo en cada aspecto de mi vida, por no perder la confianza, por su incansable esfuerzo, dedicación y amor. A mis hermanos, por alentarme siempre a ser una mejor persona y darme ánimos de cumplir mis sueños.

A mis amigas Verónica, Teresa y Stephany por siempre estar a mi lado, y compartir su vida conmigo.

Al Doctor Freddy Proaño-Pérez PhD., no solo por su guía y aporte técnico, sino también por su apoyo y paciencia al realizar esta investigación.

Al personal que labora en el Zoológico de Guayllabamba, en especial al Doctor Pablo Arias por ayudarme con la realización práctica del presente estudio y aportar con su experiencia en el manejo de los animales con los que trabajé.

A los docentes de los que he tenido el gran gusto de ser alumna, muchas gracias por sus enseñanzas y amistad.

A Felipe, Rafael, Samantha, Valentina, Nana, Esteban, Valentina, Mirko, Flaquita y al resto de nobles animales que contribuyeron con este proyecto. Este estudio ha sido para preservar su bienestar.

DEDICATORIA

A mis padres, Oswaldo y Alexandra,
por ser el pilar más importante para
mi formación personal y profesional.

A mis hermanos Oswaldo y Sofía por
estar siempre a mi lado brindándome
su apoyo.

A mi Roxana, mi eterna compañera.

RESUMEN

La tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa crónica que constituye un grave problema para la salud pública, animales domésticos y silvestres. El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar la presencia de reacciones causadas por micobacterias en los primates y felinos mantenidos en cautiverio en el Zoológico de Guayllabamba y la relación con factores de riesgo. En total, se incluyeron 29 individuos, de estos 4 fueron felinos, y 25 primates de diferentes edades, en cuarentena y exhibidores; para el diagnóstico se utilizó la prueba de tuberculina simple, en primates, y la prueba cervical comparada en felinos.

Los resultados obtenidos demostraron el 12% de positividad a la prueba de tuberculina en primates, realizando la lectura a las 24 y 48 horas post-inoculación. En felinos no se identificó ningún reactor positivo a la prueba. Las encuestas realizadas a cada animal establecieron posibles factores de riesgo como: lugar de origen, procedencia del alimento, edad del animal.

En conclusión, los resultados obtenidos demuestran el contacto de algunos individuos con la bacteria, por lo que se recomienda realizar las pruebas de tuberculina periódicamente a todos los animales de exhibidor, y como rutina a los animales en cuarentena; monitorear e identificar el estado de salud de la población expuesta en el Zoológico de Guayllabamba, siguiendo los procedimientos y normas recomendadas para la aplicación de estas pruebas, y de esta manera evitar el riesgo de posibles infecciones.

ABSTRACT

Tuberculosis is a chronic infectious disease which cause a serious health problem in human, domestic animals and wildlife. This study was conducted with the aim to determine the presence of tuberculin reactions caused by micobacteria in primates and felines kept in captivity at Guayllabamba Zoo, and analysis the relationship with risk factors. In total, 29 individuals were included, from them, 4 were felines and 25 primates with different ages, quarantined and exhibitors. To diagnose, it was used a simple tuberculine test in primates, and the comparative cervical test in felines.

The results showed that 12% were positive to the tuberculin test in primates, with the reading at 24 and 48 hours post-inoculation. In felines, there was no any positive reaction. The risk factor analysis showed that the origin of the animal, source of food, animal age can be influence the skin test.

In conclusion, the results revealed that some individuals have had contacted the bacteria, therefore, it is recommended a periodic tuberculin testing applied in all animals, including quarantined animals; monitoring and identifying the health condition of the exposed population at Guayllabamba Zoo, following the procedures and standards recommended for the application of these tests, and thus avoid the risk of possible infections.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I.....	5
1. ANTECEDENTES / REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
1.1. Etiología.....	5
1.1.1 Agente Etiológico.....	5
1.1.2 Características del Género Mycobacterium.....	5
1.1.3 Mycobacterium tuberculosis Complex(MTC).....	6
1.2. Metabolismo de las micobacterias.....	7
1.3. Resistencia de Bacilo.....	7
1.4. Transmisión.....	7
1.4.1. Vía Aérea.....	7
1.4.2. Vía Digestiva.....	8
1.4.3. Vía Vertical.....	8
1.5. Fisiopatología.....	8
1.5.1 Infección Primaria.....	8
1.5.2 Reinfeción y Reactivación.....	9
1.5.3 Tuberculosis Miliar.....	9
1.6. Manifestaciones Clínicas.....	10
1.7. Diagnóstico.....	10
1.7.1. Diagnóstico Directo.....	10
1.7.2. Diagnóstico Indirecto	11
1.7.3. Diagnóstico Clínico.....	13
1.8. Tratamiento.....	14

CAPITULO II.....	15
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
2.1. Área de estudio.....	15
2.2. Población.....	16
2.3. Métodos.....	16
2.3.1. Captura e inmovilización.....	16
2.3.2. Tuberculinización.....	17
2.3.3. Diseño Experimental.....	19
2.3.4. Factores de Riesgo.....	20
2.4. Materiales.....	20
2.4.1. Especies de estudio.....	21
2.4.2. Reactivos y Medicamentos.....	21
CAPITULO III.....	22
3. RESULTADOS.....	22
CAPITULO IV.....	31
4. DISCUSIÓN.....	31
CAPITULO V.....	34
5. CONCLUSIONES.....	34

CAPITULO VI.....	35
6. RECOMENDACIONES.....	35
BIBLIOGRAFÍA.....	36
ANEXOS.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1	Clasificación Taxonómica de las Micobacterias.....	6
Tabla 2.1	Interpretación de la reacción a la prueba de tuberculina.....	19
Tabla 3.1	Resultados de la tuberculinización simple en primates.....	24
Tabla 3.2	Resultados de la tuberculinización cervical comparativa en felinos.....	27
Tabla 3.3	Resultados de riesgos primates.....	28
Tabla 3.4	Resultados de riesgos felinos.....	30

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráficos 3.1 Mapa del zoológico de Guayllabamba.....	22
Gráficos 3.2 Distribución de la población de Primates tuberculinizados	23
Gráficos 3.3 Distribución de la población de Felinos tuberculinizados...	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1	Mapa del zoológico de Guayllabamba.....	6
Figura 2.2	Inoculación intradérmica de tuberculina en primates no humanos.....	17
Figura 2.3	Inoculación intradérmica de tuberculina.....	18
Figura 2.4	Inoculación intradérmica de tuberculina.....	18
Figura 3.5	Reacción positiva a la prueba de tuberculina simple. Lectura a las 24 horas.....	25
Figura 3.6	Reacción positiva a la prueba de tuberculina simple. Lectura a las 48 horas.....	26

INTRODUCCION

La tuberculosis es una enfermedad infectocontagiosa, que ha acompañado al ser humano desde hace mucho tiempo. Se cree que el género *Mycobacterium* existe desde hace 150 millones de años (Daniel, 2006), y las especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* se originaron de un antepasado común (*M. canetti*) hace 15 000 a 30 000 años (Gutierrez et al., 2005).

El género *Mycobacterium* comprende un grupo de especies bacterianas ampliamente distribuidas por todo el mundo, se las encuentra principalmente en el agua y en los alimentos como vías de contagio de enfermedades como la tuberculosis y la paratuberculosis en animales (de importancia zoonósica), tuberculosis y lepra en humanos que pueden llegar a ser letales. Todas estas enfermedades son de importancia sanitaria y producen grandes pérdidas económicas (Davis et al., 1996)

La bacteria causante de la tuberculosis bovina, *Mycobacterium bovis*, es el principal agente de infección entre los animales de zoológico, pertenece al Filo: Actinobacteria; Clase: Actinobacteridae; Orden: Actinomycetales; Suborden: Corynebacterineae; Familia: Mycobacteriaceae; Género *Mycobacterium*; Complejo *Mycobacterium tuberculosis* dentro de este género constan 8 especies diferentes: *Mycobacterium tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. canettii*, (Van Soolingen et al., 1997), *M. pinnipedii* (Cousins et al., 2003).

La gestión de la fauna salvaje en cautiverio abarca numerosas actuaciones, todas ellas encaminadas a conservar las poblaciones animales en equilibrio con el medio en el que se encuentran. Una de estas actuaciones, que no se ha tenido muy en cuenta hasta hace relativamente poco tiempo, es la relacionada con los aspectos sanitarios de los animales, en los cuales, el veterinario ha de desempeñar un papel fundamental.

Al inicio se relacionaba casi exclusivamente con la transmisión de enfermedades de los animales salvajes al hombre, posteriormente con la transmisión de enfermedades a los animales domésticos y más recientemente con la salud de los propios animales salvajes (Lavín, 2005).

En área de baja prevalencia los animales silvestres que viven en libertad, lejos del hombre y de los animales domésticos, por lo general no contraen tuberculosis. En cambio, los animales que viven en reservas o en zoológicos, granjas de animales, animales de laboratorio, o los mantenidos en casas de familia, son más propensos a ser expuestos e infectarse. Es de interés señalar la susceptibilidad de los monos y felinos, tanto a *M. tuberculosis* como a *M. bovis*. Aproximadamente el 70% de las cepas aisladas de estos animales son del tipo humano y el resto del tipo bovino.

La principal vía de infección es la aerógena en animales de la misma especie, la digestiva es la principal vía entre diferentes especies. La infección puede propagarse de un animal a otro y constituir un problema serio para las colonias en instituciones científicas y zoológicos.

A pesar de que los primates y felinos son considerados susceptibles a la tuberculosis, actualmente en Ecuador se desconoce la presencia y situación de la enfermedad en estas especies en cautiverio. Los primates y felinos provenientes del tráfico ilegal son especies comunes encontradas en el Zoológico de Guayllabamba, por lo que es de suma importancia estudiar la enfermedad en estas condiciones, no solo por el riesgo que representan para las poblaciones de sus propias especies sino para las poblaciones humanas con las que se mantienen en contacto.

La prueba de tuberculina intradérmica es el instrumento básico para detectar la presencia de micobacterias, así, es utilizada como método fundamental en programas de control y erradicación de la tuberculosis bovina (Torres, 2000), y es el método tradicional a utilizar en especies silvestres.

Esta investigación generará información sobre las micobacterias en poblaciones de primates y felinos en cautiverio en el Zoológico de Guayllabamba y los factores de riesgo que existen en su ambiente.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar de la prevalencia de *Mycobacterium* spp. mediante la aplicación de la prueba de tuberculinización y análisis de factores de riesgo en la población de primates y felinos que permanecen en cautiverio en el Zoológico de Guayllabamba

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la presencia de micobacterias en los primates y felinos existentes en el Zoológico, mediante la utilización de las pruebas de tuberculinización: simple y comparativa para confirmar la presencia del patógeno.
- Determinar los posibles factores de riesgo relacionados con la presencia micobacterias, a través de la aplicación de una encuesta epidemiológica.
- Proponer, como estudio piloto, condiciones idóneas para la tenencia de primates y felinos en cautiverio con el fin de controlar las enfermedades causadas por micobacterias en zoológicos y centros de rescate, y así contribuir en los programas de conservación de estos animales.

CAPÍTULO I

1. ANTECEDENTES / REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 ETIOLOGÍA

1.1.1 Agente Etiológico

Se reconocen tres tipos principales de bacilos tuberculosos: humano (*M. tuberculosis*), bovino (*M. bovis*) y aviar (*M. avium*). Los primates no humanos son más resistentes a *Mycobacterium avium*. Los tres tipos pueden producir infección en especies silvestres.

M. tuberculosis es más específico y rara vez produce enfermedad progresiva en animales distintos de los primates y, a veces, en los perros, cerdos y aves.

M. bovis es el principal agente zoonótico. Los bovinos son su principal huésped, pero causa tuberculosis en muchas otras especies domésticas con una susceptibilidad intermedia en perros, cabras, cerdos y gatos, mientras que ovejas y caballos presentan una importante resistencia natural (Radostits et. al 1994).

Existe una variante humana que puede producir lesiones pero de una forma más leve.

1.1.2 Características del Género *Mycobacterium*

Las micobacterias son bacilos rectos o ligeramente curvos, inmóviles, aerobios o microaerófilos y no esporulados; su tamaño oscila entre 0,2 a 0,6 μm de ancho por 1 a 10 μm de largo (Murray et. al, 2007). Estas bacterias poseen una gran cantidad de gránulos citoplasmáticos y una pared celular con un alto contenido de lípidos (20-60%) (Rodríguez, 2002), lo que les confiere un

carácter hidrófobo, por lo que son resistentes a varios desinfectantes y tinciones de laboratorio. Los lípidos impiden el ingreso de colorantes a base de anilina, por lo que deben utilizarse arilmetanos, y una vez teñidos con ellos no se decoloran con una mezcla de alcohol-ácido; por lo que son consideradas ácido-alcohol resistentes (BAAR) (Metchcok et al., 1999; Dorronsoro & Torroba, 2007). Son muy resistentes, pero pueden inactivarse con rayos UV o a más de 65°C por 30 minutos. Se han identificado más de 120 especies de micobacterias, muchas de las cuales se han relacionado con infecciones en el ser humano. (Jawetz et al., 2007).

Tabla 1.1 Clasificación Taxonómica de las Micobacterias.

TAXONOMÍA	
Filo	Actinobacteria
Clase	Actinobacteridae
Subclase	Actinobacteriae
Orden	Actinomycetales
Suborden	Corynebacterineae
Familia	Mycobacteriaceae
Género	Mycobacterium
Especie	Mycobacterium spp.

Fuente: NCBI, 2010

Elaborado por: La autora

1.1.3 Mycobacterium tuberculosis Complex (MTC)

El complejo Mycobacterium tuberculosis es un grupo de ocho micobacterias, que presentan una homología del más del 95% en su genoma (Dorronsoro, et. al, 2007); está constituido por: M. tuberculosis, M. bovis, M. bovis BCG, M. africanum, M.cannetti, M. pinnipedii, M. microti y M. caprae.

1.2 METABOLISMO DE LAS MICOBACTERIAS

Las micobacterias son aerobias (*M. tuberculosis*) y muy pocas son microerófilas (*M. bovis*); obtienen su energía mediante la oxidación de compuestos simples de carbono. Así la principal fuente de carbono de *M. tuberculosis* es el glicerol, ya que no metaboliza el piruvato (Thierry, 2003); al contrario *M. bovis* no metaboliza el glicerol, debido a una mutación en el gen que codifica la glicerol-quinasa, por lo que utiliza el piruvato para obtener energía (de Kantor, 2008).

1.3 RESISTENCIA DEL BACILO

Debido a su envoltura las micobacterias son bastante resistentes frente a agentes químicos y físicos y a condiciones ambientales. El bacilo resiste a temperaturas muy bajas y su viabilidad puede ser preservada entre los 2 a 4 °C y menos de 60 °C. Son resistentes a los álcalis y ácidos (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2007). Pueden sobrevivir en el pasto hasta por un año y persisten por varias semanas en objetos contaminados con esputo. En productos lácteos no pasteurizados pueden sobrevivir hasta por 14 días (Kleeberg, 1984 citado por Gallagher & Jenkins, 1998).

Son susceptibles a la luz solar, la radiación ultravioleta, a la desecación y a químicos como: el fenol, formol y formaldehído. Pero pueden resistir a ciertos desinfectantes como el cloruro o bromuro de cetilpiridinio y el trifosfato de sodio (Barrera, 2008).

1.4 TRANSMISIÓN

1.4.1 Vía Aérea

El reservorio principal de la tuberculosis es el ser humano, y la principal vía de transmisión es la vía aérea. El hospedador con tuberculosis activa, al toser producen aerosoles, las pequeñas gotas de secreción (1-5 µm) que contienen

bacilos tuberculosos, quedan suspendidas en el aire; de donde son inhaladas; así el bacilo llega a los alvéolos pulmonares del nuevo hospedador donde encuentran las condiciones adecuadas para su multiplicación (Rozman & Cardellach, 2009).

1.4.2 Vía Digestiva

Los animales eliminan los bacilos a través de leche, orina y heces. Así la transmisión en los seres humanos se produce por la ingestión de leche y productos lácteos no pasteurizada y agua contaminada. Y en animales por el consumo de agua y pasto con restos de secreciones nasales, heces, orina y cadáveres que contienen bacilos tuberculosos.

1.4.3 Vía Vertical

Se transmite la enfermedad de madre a hijo. La enfermedad en el período perinatal puede ser adquirida in utero o neonatal temprana por contagio materno o de otros familiares (Jasso-Gutierrez, 2006).

1.5 FISIOPATOLOGÍA

1.5.1 Infección Primaria

Esta etapa es asintomática y se presenta de 3 a 10 días después del primer contacto con el bacilo tuberculoso. Se caracteriza por el desarrollo de una lesión exudativa, caseificación de los ganglios linfáticos, hipersensibilidad a las proteínas del bacilo

Generalmente la primoinfección en individuos inmunocompetentes se resuelve sola y no produce enfermedad tuberculosa; mientras que en inmunosuprimidos si se desarrolla la enfermedad (Rozman & Cardellach, 2009; Jawetz et al., 2007).

1.5.2 Reinfeción y Reactivación

Se produce por bacilos que sobreviven a la primera infección y que permanecen en estado de latencia en un órgano, así las micobacterias se reactivan y producen signos clínicos; a este proceso se denomina Reinfeción Endógena. También es posible que se dé una reinfeción por nuevas micobacterias del medio exterior a lo que se conoce como Reinfeción Exógena (Fine & Small, 1999).

Esta fase se caracteriza por la presencia de lesiones crónicas, formación de tubérculos, caseificación y fibrosis; dando lugar a una lesión productiva.

Si la respuesta inmunológica no es eficiente, los bacilos tuberculosos se replican atrayendo una cantidad elevada de células inflamatorias, mediadores y enzimas facilitando la necrosis caseosa. Así, la zona central sufre necrosis y en la zona periférica se desarrolla tejido fibroso lo que da origen al tubérculo; el material caseoso se licúa, el tubérculo se rompe y libera su contenido dentro de los bronquios; se forma una cavidad y después cicatriza por fibrosis o calcificación (Jawetz et al., 2007; Rozman & Cardellach, 2009).

1.5.3 Tuberculosis Miliar

Se produce cuando hay diseminación linfática y hematológica posprimaria o tardía de las micobacterias, de manera que se distribuyen por todos los órganos; generalmente se produce afectación pulmonar, gastrointestinal y meníngea. Esta invasión masiva puede presentar distintos cuadros clínicos, pero son característicos cuadros febriles (Rozman & Cardellach, 2009).

1.6 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La primoinfección puede ser asintomática, o se presenta como un síndrome infeccioso inespecífico con fiebre, anorexia, adelgazamiento, sudoración, tos, disnea ligera o signos físicos de afectación pulmonar.

En la tuberculosis pulmonar se presentan síntomas como: tos productiva (hemoptisis) o no productiva persistente por más de quince días, fiebre, dolor torácico e insuficiencia respiratoria. Después de un tiempo la sintomatología puede desaparecer, pero debido a las lesiones fibrosas se observa una serie de modificaciones anatómicas, como: reducciones de segmentos y lóbulos pulmonares con insuflación de otras zonas paralelas y retracciones de los hilios pulmonares hacia arriba y del mediastino hacia el sitio afectado.

La sintomatología en los bovinos es bastante similar al de otras especies, se presenta anorexia, fiebre, tos, disnea y diarrea; pero en ellos es muy frecuente la afección de ganglios linfáticos, principalmente los retrofaríngeos y retromamarios, así puede llegar a afectarse la glándula mamaria, la cual se endurece en las zonas lesionadas (Rozman & Cardellach, 2009).

1.7 DIAGNÓSTICO

1.7.1 Diagnóstico Directo

Debido a la eliminación intermitente de bacilos en el esputo, es necesario examinar más de una muestra. Así es posible detectar el 80% de casos positivos en la primera muestra, el 95% en la segunda y el 100% con la tercera (Sequeira & Barrera, 2008).

Baciloscopía: Se utiliza la coloración Ziehl-Neelsen, aprovechando la propiedad de ácido-alcohol resistente de las micobacterias provocando que los ácidos micólicos retengan la fucsina en la micobacteria después de la

decoloración con alcohol-ácido; por lo que se observa a los bacilos de color rojo sobre un fondo azul, por el azul de metileno que se usa como medio de contraste.

Esta técnica es de diagnóstico rápido, pero para obtener una baciloscopía positiva, deben estar presentes en cada mililitro de la muestra un mínimo de 1000 a 5000 bacilos; por lo que se detectan los casos avanzados e infecciosos. (Sequeira & Barrera, 2008; de Waard & Robledo, 2007).

Cultivo “in vitro” de micobacterias: Es necesario proporcionar los nutrientes necesarios a las micobacterias para su desarrollo como el medio de Löwestein-Jensen que contiene glicerol, por lo que favorece el crecimiento de *M. tuberculosis*, pero dificulta el de *M. bovis*; por ello es necesario el uso de un medio con piruvato como el medio Stonebrink (de Waard & Robledo, 2007; Sepúlveda et al., 2001).

El cultivo permite detectar de 10 a 1000 bacilos por mililitro de muestra, así, es posible detectar los casos antes que sean infecciosos (de Waard & Robledo, 2007).

Técnicas Moleculares: Detección rápida y directa de los bacilos tuberculosos, la de uso más frecuente es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR); esta permite la amplificación exponencial de un segmento específico de DNA, la cual es detectada mediante electroforesis.

1.7.2 Diagnóstico Indirecto

Prueba cutánea de la Tuberculina o PPD (Purified protein derivate):

La prueba intradérmica de la tuberculina es la prueba por excelencia utilizada en los programas de erradicación de la TBB a nivel mundial. Existen dos tipos de tuberculinizaciones, la tuberculinización simple y la comparativa. En ambas se utiliza un derivado proteínico purificado que se obtiene a partir de un filtrado

de cultivo de *M. bovis* por precipitación con sulfato de amonio o ácido tricloroacético (Thoen & Ebel, 2006).

El PPD se estandariza de acuerdo a la reactividad biológica como unidades de tuberculina (UT). La dosis de primera potencia es de 1 UT, la de potencia intermedia es de 5 UT y la de segunda potencia es de 250 UT.

La prueba se basa en la respuesta inmune en la piel (Test intradérmico o Skin Test) y la consiguiente reacción inflamatoria llamada hipersensibilidad tardía tipo IV, que es mediada por los linfocitos TH1 activados ya sensibilizados por una presentación anterior al antígeno, estos se dirigen directamente al sitio de la inoculación y convocan macrófagos activados, liberan citoquinas que producen edema y provocan el depósito de fibrina, la respuesta aparece a las 24 a 48 horas, tiempo durante el cual se observan las primeras reacciones, y la lectura final se realiza a las 72 horas (Abbas et al., 2009).

Esta prueba se vuelve positiva de 4 a 6 semanas después de la infección. Un resultado positivo a la prueba implica que el hospedador se ha infectado por micobacterias y persisten en él en estado latente; pero esto no significa que haya presencia de la enfermedad. Y un resultado negativo nos dice que el individuo no ha tenido contacto con el bacilo tuberculoso (Jawetz et al., 2007).

Prueba simple: Esta prueba consiste en la inyección intradérmica en el parpado (primates) o en el cuello (felinos), del PPD, previa la medición del grosor de la piel a través de uso de un cutímetro (en el caso de los felinos), después se procede a inyectar intradérmicamente 0.1 mL a 20,000 UI/mL de PPD Bovino (Proaño et al., 2006), luego se observan a las 24 horas para analizar la primera reacción, luego a las 48 horas, y finalmente a las 72 horas se mide el grosor del pliegue, se observa si hay aumento en el tamaño (felinos) y la presencia de induración o tumefacción en el sitio de la inoculación (primates), el tamaño debe ser igual o superior a los 5 mm para considerar a un animal reactor positivo a la prueba, si hay este signo el animal se lo pone en

cuarentena y se debe confirmar en los primeros 7 días luego de la lectura o sino sesenta días después, esta prueba es considerada de reconocimiento pues los resultados no son concluyentes.

Prueba de tuberculinización comparativa:

Esta prueba tiene un procedimiento similar a la prueba simple, salvo que la inoculación intradérmica se realiza en dos áreas separadas en el cuello (felinos) o en abdomen (primates), y que además del PPD bovina se utilizan 25,000 UI/mL de un PPD aviar (Realizado con un cultivo de *Mycobacterium avium*), el resultado depende de la diferencia de tamaño entre las dos reacciones (Grooms & Molesworth, 2000), un animal resulta positivo a la prueba si entre las dos reacciones hay una diferencia de al menos 4 mm., siendo la reacción al PPD bovino más grande que la reacción al PPD aviar. (Cousins et al., 2004).

La especificidad del S.T. puede verse alterada por otras micobacterias que también producen una reacción alérgica a la prueba (Thoen & Barletta, 2009), además que animales con tuberculosis avanzada, con una infección muy incipiente o animales que han sido sometidos a la prueba 10 semanas antes pueden ser anérgicos a la prueba y dar como resultado falsos negativos (Tizard, 2002).

1.7.3 Diagnóstico Clínico

Se basa en la observación de las manifestaciones clínicas antes mencionadas, junto con las evidencias radiológicas encontradas como: signos de fibrosis con imágenes lineales de límites netos, a veces calcificadas y pérdidas de volumen en unas zonas, compensadas por insuflaciones en otras (Rozman & Cardellach, 2009).

1.8 TRATAMIENTO

El tratamiento solo se utiliza en animales de gran valor, como animales de zoológico y de compañía.

El tratamiento para la tuberculosis tiene como objetivos: conseguir la negativización de los cultivos en el menor tiempo posible, disminuir la transmisión de la enfermedad, prevenir la aparición de resistencias, y asegurar la curación completa sin recaídas.

CAPITULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDIO

El estudio fue realizado en las instalaciones del Zoológico de Quito en Guayllabamba que se encuentra ubicado en la población de Guayllabamba, a 29 Km al noreste de Quito (Coordenadas: latitud norte 0°3'33" longitud oeste 78°20'29"). Distribuido en un área total de 12 Ha, de las cuales 5 están destinadas para los 25 exhibidores, albergando, entre aves, reptiles, mamíferos, y anfibios, alrededor de 45 especies de fauna silvestre de las diferentes eco regiones del país, en sistemas de cautiverio especialmente creados para su buen desarrollo, tomando en cuenta su ambiente natural.

El Zoológico recibe mensualmente alrededor de 17000 visitantes, tanto locales como extranjeros (quitozoo.org 2012)

Figura 2.1 Mapa del Zoológico de Guayllabamba



Fuente: <http://www.quitozoo.org>

2.2 POBLACIÓN

El número total de individuos examinados fueron: 25 primates (*Saimiri sciureus*, *Alouatta palliata*, *Cebus albifrons*, *Cebus apella*, *Ateles belzebuth*, *Lagothrix lagotricha*) correspondientes al 67.56% del total de la población de primates existentes en el Zoológico. La especie *Saimiri sciureus* comparte el exhibidor con 3 especies: ardillas (*Sciurus stramineus*), Guatín (*Myoprocta acouchy*) y Guatusa (*Dasyprocta fuliginosa*). Las especies *Cebus apella*, *Ateles belzebuth*, y *Lagothrix lagotricha* comparten un solo exhibidor.

El número total de ejemplares felinos fueron 4, repartidos en 3 especies (*Panthera onca*, *Panthera leo*, *Leopardus weidii*) correspondientes al 50% de la población total de felinos existentes en el Zoológico.

2.3 MÉTODOS

2.3.1 Captura e inmovilización

El procedimiento de captura e inmovilización de cada animal se llevó a cabo bajo la supervisión del médico veterinario responsable del zoológico, más la ayuda de pasantes, voluntarios y zoocuidadores. La captura de los animales se realizó con un ayuno aproximado de 12 horas. El cálculo de la dosis para la inmovilización química se basó en el peso registrado en las fichas clínicas de cada animal.

Los primates mantenidos en cuarentena fueron capturados mediante el uso de paredes falsas en jaulas de manejo dispuestas a un lado de sus jaulas normales. Posteriormente la inmovilización química fue realizada con clorhidrato de ketamina al 5% vía intramuscular con una dosis de 15mg/kg, que se inyectó en el área ventral de la cola de los individuos. Los primates de exhibidor fueron capturados con redes, y al igual que los animales de cuarentena se les inyectó clorhidrato de ketamina al 5% vía intramuscular para su inmovilización.

En el caso de los felinos, el felino de cuarentena fue capturado con red e inyectado clorhidrato de ketamina al 5% más xylacina al 2% vía intramuscular con una dosis de 15mg/kg y 1mg/kg respectivamente, para la inmovilización química. En el caso de los felinos de exhibidor, se utilizaron las jaulas de manejo que dispone cada exhibidor, seguido a esto la inmovilización química fue mediante el uso de dardos cargados con clorhidrato de ketamina al 5% mas xylacina al 2% con una dosis de 15mg/kg y 1mg/kg respectivamente, y disparados con pistola a presión.

2.3.2 Tuberculinización

La inoculación de la tuberculina se realizó en el área del párpado en el caso de los primates y a la altura de la tabla del cuello en el caso de los felinos.

Se utilizó derivado proteico purificado bovino PPD, BOVITUBER® SYNBIOTICS Corporation, en los primates. Se inoculó en el párpado izquierdo una dosis de 0.1ml vía intradérmica, previo la desinfección del área con un algodón mojado con alcohol y secado con algodón limpio y seco.

Figura 2.2 Inoculación intradérmica de tuberculina en primates no humanos



Fuente: León Godoy, 2007

**Figura 2.3 Inoculación intradérmica de tuberculina
(*Cebus albifrons* izq. *Lagothrix lagotricha* der.)**



Fuente: La autora

En los ejemplares felinos primero se depiló un área de 30cm² a la altura de la paleta del cuello, se desinfectó con gasa y alcohol, y se secó con gasa limpia. Se inoculó en el segmento craneal derivado proteico purificado aviar PPD, AVITUBER[®] SYNBIOTICS Corporation, en una dosis de 0,1 ml vía intradérmica, y en el segmento caudal derivado proteico purificado bovino PPD, BOVITUBER[®] SYNBIOTICS Corporation, en dosis de 0,1 ml vía intradérmica.

Figura 2.4 Inoculación intradérmica de tuberculina (*Leopardus weidii*).



Fuente: La autora

Lectura de la prueba: Las lecturas se realizaron a las 24, 48 y 72 horas siguientes a la inoculación, para lo cual se utilizaron binoculares y cámara fotográfica con aumento para poder diferenciar los cambios de las superficies cutáneas inoculadas y los resultados obtenidos se anotaron en la ficha de registro.

Interpretación de resultados: Los resultados se evaluaron, tomando en cuenta los siguientes criterios:

Tabla 2.1 Interpretación de la reacción a la prueba de tuberculina.

GRADOS	CARACTERÍSTICA
0	Ninguna reacción. (NR)
1	Hinchazón, extravasación de sangre de la superficie cutánea inoculada. (HS)
2	Variación en los grados de eritema con mínima hinchazón. (EH)
3	Hinchazón con o sin eritema. (H)
4	Hinchazón, superficie áspera y exudados. (HX)
5	Reacción extrema con necrosis, cierre parcial o total del párpado (primates). (N)

Fuente: León Godoy, 2007

Elaborado por: La Autora

2.3.3 Diseño Experimental

Prevalencia: Para determinar el número de casos de micobacterias encontradas en las poblaciones estudiadas, durante un tiempo determinado (Dawson-Saunders & Trapp, 1993).

$$P = \frac{\text{N}^\circ \text{ de casos de TB encontrados}}{\text{Población Total Estudiada}}$$

2.3.4. Factores de Riesgo:

Riesgo Relativo (RR): para determinar si un suceso constituye un factor de riesgo y la probabilidad de dicho suceso; se determina mediante el cociente del grupo expuesto y el grupo no expuesto (Molinero, 2001).

$$RR = \frac{\text{Incidencia del Grupo Expuesto}}{\text{Incidencia del Grupo No Expuesto}}$$

2.4 MATERIALES

- Jaulas de manejo y captura
- Redes
- Pistola de dardos
- Dardos
- Cerbatana
- Jeringuillas desechables intradérmicas de 1ml
- Jeringuillas desechables de 3ml
- Caja de guantes de examinación
- Algodón
- Gasa
- Rasuradora
- Hojas de registro
- Material de escritorio
- Cámara fotográfica
- Lámpara
- Termo portátil
- Calculadora
- Balanza

2.4.1 Especies de estudio

PRIMATES

- 9 Mono ardilla (*Saimiri sciureus*)
- 2 Mono aullador negro (*Alouatta palliata*)
- 10 Machín blanco (*Cebus albifrons*)
- 1 Machín negro (*Cebus apella*)
- 2 Mono araña (*Ateles belzebuth*)
- 1 Chorongó (*Lagothrix lagotricha*)

FELINOS

- 1 Jaguar (*Panthera onca*)
- 2 León (*Panthera leo*)
- 1 Margay (*Leopardus weidii*)

2.4.2 Reactivos y Medicamentos

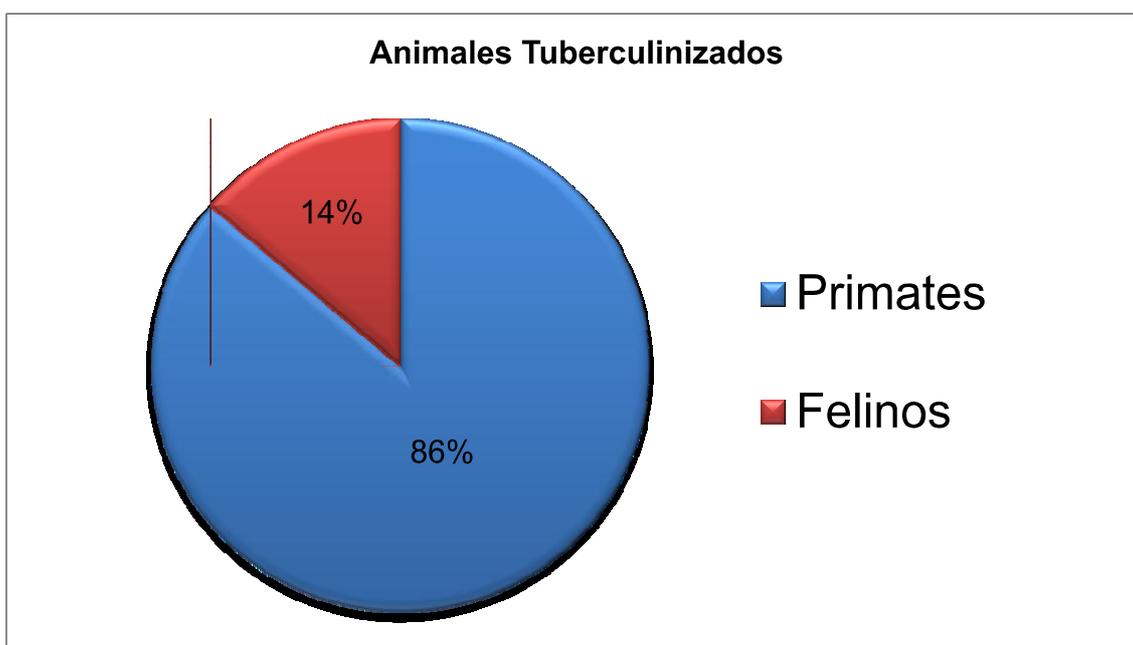
- 29 Dosis de tuberculina derivado proteico purificado bovino PPD, BOVITUBER® SYNBIOTICS Corporation.
- 4 Dosis de tuberculina derivado proteico purificado aviar PPD, AVITUBER® SYNBIOTICS Corporation.
- Clorhidrato de Ketamina al 5% Holliday
- Clorhidrato de Xylacina al 2% VMD
- Alcohol etílico
- Clorhexidina (1/1000) Germidal LIFE
- Suero fisiológico.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS

Los resultados obtenidos de la prueba de tuberculina realizada en el Zoológico de Guayllabamba, han sido agrupados en 2 tipos de poblaciones, con un total de 29 de individuos examinados, entre felinos (14% 4/29) y primates (86% 25/29). En el Gráfico 3.1 se muestra la distribución total de los individuos estudiados.

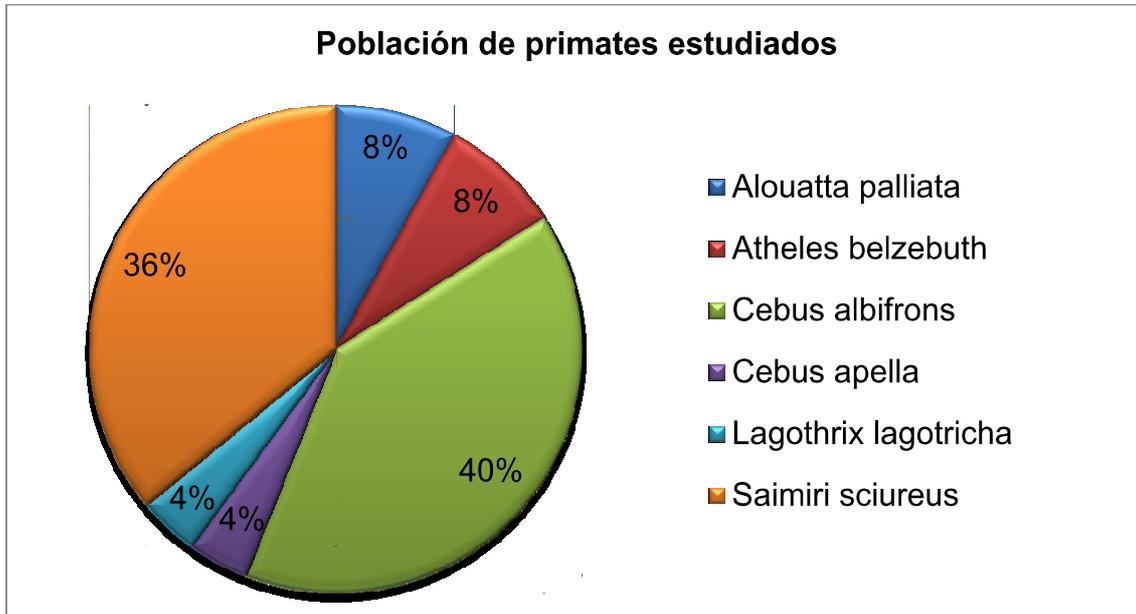
Gráfico 3.1 Distribución del total de animales del estudio.



Fuente: La Autora

El total de la población de primates examinados fue de 25 individuos, los cuales se agruparon para su análisis, por especies: *Alouatta palliata* (8% 2/25) *Ateles belzebuth* (8% 2/25), *Cebus albifrons* (40% 10/25), *Cebus apella* (4% 1/25), *Lagothrix lagotricha* (2% 1/25), *Saimiri sciureus* (36% 9/25), como se muestra en el Gráfico 2.

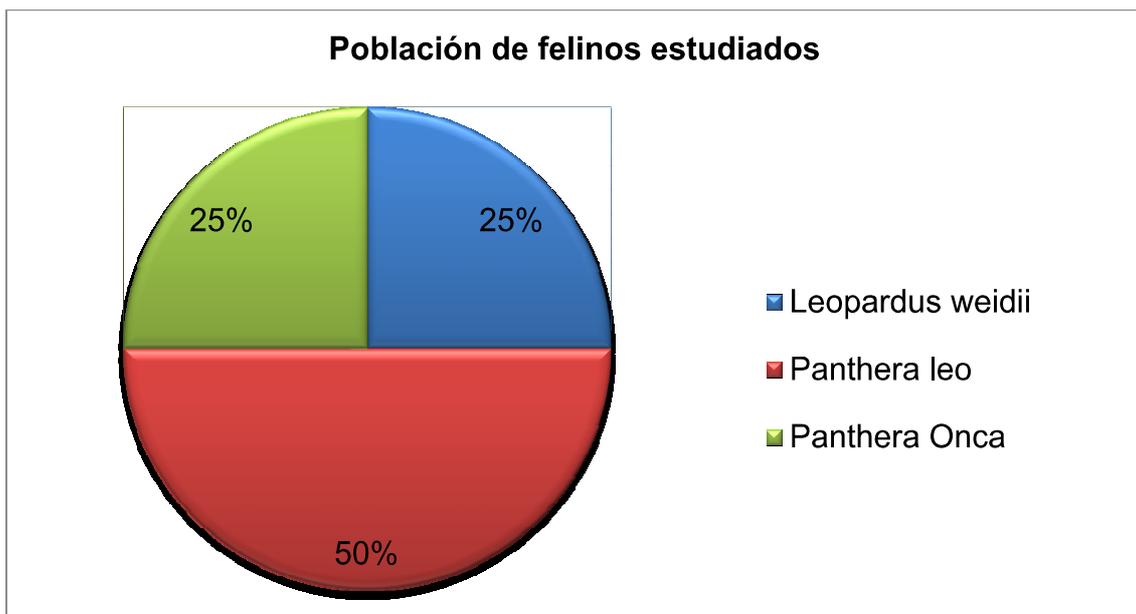
Gráfico 3.2 Distribución de la población de Primates tuberculizados



Fuente: La Autora

El total de la población de felinos examinados fue de 4 individuos, agrupados en 3 especies: *Leopardus weidii* (25% 1/4), *Panthera leo* (50% 2/4), *Panthera onca* (25% 1/4), como se muestra en el Gráfico 3.

Gráfico 3.3 Distribución de la población de Felinos tuberculizados.



Fuente: La Autora

En la Tabla 3.1 se presentan los resultados obtenidos después 24, 48 y 72 horas de la aplicación de la prueba de tuberculina simple realizada en los individuos primates descritos anteriormente. Como se puede apreciar 2 individuos de las especies *Lagothrix lagotricha* y *Cebus apella* reaccionaron a la prueba a las 24 horas, y un solo individuo de la especie *Cebus albifrons* reaccionó a las 48 horas posteriores a la inoculación. El resto de individuos no reaccionaron a esta prueba diagnóstica.

Tabla 3.1 Resultados de la tuberculinización simple en primates.

Especie	Id	Edad	Tiempo de reacción (horas) ¹			Resultado	
			24	48	72	Grado	Característica
<i>Alouatta palliata</i>	Ap1	Juvenil	---	---	---	0	NR ²
	Ap2	Bebé ³	---	---	---	0	NR
<i>Ateles belzebuth</i>	Ab1	8 años	---	---	---	0	NR
	Ab2	Adulta	---	---	---	0	NR
<i>Cebus albifrons</i>	Cal1	Adulto	---	---	---	0	NR
	Cal2	Juvenil ⁴	---	---	---	0	NR
	Cal3	4 años	---	---	---	0	NR
	Cal4	11 años	---	---	---	0	NR
	Cal5	11 años	---	---	---	0	NR
	Cal6	Adulto ⁵	---	---	---	0	NR
	Cal7	4 años	---	---	---	0	NR
	Cal8	5 años	---	---	---	0	NR
	Cal9	4 años	---	+	---	2	EH
	Cal10	Juvenil	---	---	---	0	NR
<i>Cebus apella</i>	Cap1	Juvenil	+	---	---	2	EH
<i>Lagothrix lagotricha</i>	LI1	5 años	+	---	---	2	EH
<i>Saimiri sciureus</i>	Ss1	5 años	---	---	---	0	NR

¹Tiempo máximo de reacción

² NR: Ninguna Reacción

³ Bebé: 1º año

⁴ Juvenil 1-5 años

⁵ Adulto 5 años en adelante.

	Ss2	6 años	---	---	---	0	NR
	Ss3	Adulto	---	---	---	0	NR
	Ss4	3 años	---	---	---	0	NR
	Ss5	Adulto	---	---	---	0	NR
	Ss6	Adulto	---	---	---	0	NR
	Ss7	3 años	---	---	---	0	NR
	Ss8	3 años	---	---	---	0	NR
	Ss9	Adulto	---	---	---	0	NR

Fuente: La autora

Figura 3.5 Reacción positiva a la prueba de tuberculina simple. Lectura a las 24 horas (Lagotrix lagotricha)



Fuente: La autora

Figura 3.6 Reacción positiva a la prueba de tuberculina Simple. Lectura a las 48 horas (Cebus albifrons)



Fuente: La autora

En la Tabla 3.2 se presentan los resultados obtenidos después de la aplicación de la prueba de tuberculina cervical comparada (PPD-A y PPD-B) realizada en los felinos. Ninguno de los individuos reaccionó positivamente a esta prueba diagnóstica como se muestra a continuación:

Tabla 3.2 Resultados de la tuberculinización cervical comparativa en felinos.

Especie	Id	Edad	Tiempo de reacción			Resultado	
			24	48	72	Grado	Característica
Leopardus weidii	Lw1	10 meses	---	---	---	0	NR ⁶
Panthera leo	PI1	15 años	---	---	---	0	NR
	PI2	15 años	---	---	---	0	NR
Panthera onca	Po1	16 años	---	---	---	0	NR

Fuente: La autora

En esta investigación complementariamente se realizó el levantamiento de la información relacionada con el manejo, alimentación y origen de los animales involucrados en este estudio.

En la Tabla 3.3 se describen todas las especies de primates examinados en donde se muestran las características de manejo de cada animal. Uno de los individuos de la especie *Ateles belzebuth* comparte la jaula con individuos de la especie *Cebus apella* que no pudieron ser examinados en este estudio debido a que no fueron anestesiados. Todos los individuos primates recibieron durante el período de estudio la misma dieta de frutas, verduras y huevo (Plátano, papaya, coco, mango, uva, granadilla, melón, naranja, sandía, kiwi, yuca, lechuga, acelga, zanahoria, choclo). Sin embargo es importante mencionar que su dieta estuvo basada principalmente en el consumo de frutas (90%). El agua potable que consumieron durante el estudio proviene de tanqueros que distribuyen agua a todo el poblado de Guayllabamba.

⁶ NR: No Reacciona

Tabla 3.3 Resultados de Registros Primates.

Especie	Id	Historial del animal			
		Comparte jaula	Alimento	Agua	Origen
Lagothrix lagotricha	LI1	no	verduras frutas huevo	potable	Quito (Casa)
Ateles belzebuth	Ab1	no	verduras frutas huevo	potable	Tena Reserva Yanacocha
	Ab2	si	verduras frutas huevo	potable	SR
Alouatta palliata	Ap1	no	verduras frutas huevo	potable	El Carmen Manabí (Casa)
	Ap2	no	verduras frutas huevo	potable	Chone Manabí (Casa)
Cebus albifrons	Cal1	no	verduras frutas huevo	potable	UPMA
	Cal2	no	verduras frutas huevo	potable	Policía Nacional
	Cal3	no	verduras frutas huevo	potable	Nacido en Zoológico
	Cal4	no	verduras frutas huevo	potable	UPMA
	Cal5	no	verduras frutas huevo	potable	UPMA ⁷
	Cal6	no	verduras frutas huevo	potable	Probosque
	Cal7	no	verduras frutas huevo	potable	Nacido en zoológico
	Cal8	no	verduras frutas huevo	potable	Nacido en zoológico
	Cal9	no	verduras frutas huevo	potable	SR
	Cal10	no	verduras frutas huevo	potable	SR
Cebus apella	Cap1	no	verduras frutas huevo	potable	SR
Saimiri sciureus	Ss1	si	verduras frutas huevo	potable	Nacido en zoológico
	Ss2	si	verduras frutas huevo	potable	SR
	Ss3	si	verduras frutas huevo	potable	Quito (Casa)

⁷ UPMA: Unidad policial de medio ambiente

	Ss4	si	verduras frutas huevo	potable	Nacido en Zoológico
	Ss5	si	verduras frutas huevo	potable	SR ⁸
	Ss6	si	verduras frutas huevo	potable	SR
	Ss7	si	verduras frutas huevo	potable	Nacido en Zoológico
	Ss8	si	verduras frutas huevo	potable	Nacido en Zoológico
	Ss9	si	verduras frutas huevo	potable	SR

Fuente: La autora

Según los datos recogidos en el estudio el lugar de origen de los animales varía, así se conoció que los individuos sin registro (SR) corresponden al 32% (8/25), los nacidos en el Zoológico corresponden al 28% (7/25), los provenientes de la Unidad Policial de Medio Ambiente (UPMA) corresponden al 12% (3/25), de la provincia de Manabí (Chone – El Carmen) al 8% (2/25), de Quito corresponde al 4% (1/25), de la Provincia de Napo (Tena) corresponde al 4% (1/25), de Probosque corresponde al 4% (1/25), de la Policía Nacional corresponde al 4% (1/25).

En la Tabla 3.4 se describe todas las especies de felinos examinados y las características de manejo de cada uno de los animales. Ninguna de las 3 especies estudiadas comparte jaula. Su alimento está basado en carne roja (burro y caballo). El agua que consumieron provino del abastecimiento mediante tanqueros de agua del sector. Al igual que los primates el lugar de origen de los felinos varía, y como resultado se obtuvo que el 25% (1/4) de los animales examinados fue entregado por la Unidad Policial de Medio Ambiente, y el 75% (3/4) restante fue trasladado desde el Zoológico Amazonas de la ciudad de Quito.

⁸ SR: Sin Registro

Tabla 3.4 Resultados de Registros Felinos.

Especie	Id	Historial del animal			
		Comparte jaula	Alimento	Agua	Origen
Leopardus weidii	Lw1	No	carne	potable	UPMA ⁹
Panthera leo	PI1	No	carne	potable	Zoológico Amazonas Colegio Militar Eloy Alfaro
	PI2	No	carne	potable	Zoológico Amazonas Colegio Militar Eloy Alfaro
Panthera onca	Po1	No	carne	potable	Zoológico Amazonas Colegio Militar Eloy Alfaro

Fuente: La autora

⁹ UPMA: Unidad Policial de medio Ambiente

CAPÍTULO IV

4. DISCUSIÓN

En el Ecuador no existen estudios publicados sobre la situación actual de la tuberculosis en animales silvestres; sin embargo, en estudios realizados en el Centro de Rescate ARCAS de Guatemala en 40 monos araña (*Ateles geoffroyi*), los resultados a la prueba simple de tuberculina fueron negativos en su totalidad (León Godoy, 2008). En Argentina, un estudio realizado en una reserva natural de la provincia de Buenos Aires en 5 pumas, demostró que resultaron positivos al análisis de las secreciones respiratorias y analizadas a través de la prueba de microscopía con coloración de Ziehl Neelsen (Jorge et al., 2008); este último estudio demuestra que los animales mantenidos en cautiverio están en la posibilidad de desarrollar una infección tuberculosa, considerando factores relacionados con la crianza y alimentación se podrían encontrar diferencias entre los resultados de las especies analizadas.

En este estudio el criterio de interpretación se basó en la formación de eritema e inflamación a las 24, 48 y 72 horas; se identificó que el 8% (2/25) de primates examinados resultaron positivos a la prueba de tuberculina al momento de realizar la lectura a las 24 horas post-inoculación, y un 4% (1/25) resultó positivo a las 48 horas. A pesar que en el estudio de León Godoy (2008) se utilizó el mismo criterio de interpretación, ninguno de los animales presentó una reacción positiva, lo que quiere decir que aparentemente no existió contacto previo con la bacteria. En la población de felinos, se identificó que el 100% (4/4) resultó negativo a la prueba cervical comparada de tuberculina, mientras que en el estudio realizado por Jorge et al. (2008), todos los pumas examinados resultaron positivos a las muestras extraídas de ejemplares que presentaban signos clínicos y lesiones macroscópicas compatibles con tuberculosis, demostrando una clara diferencia con nuestros resultados.

La prueba de tuberculina podría verse influenciada por varios factores, dando resultados falsos positivos, debido a una reacción cruzada o sensibilización de los animales a micobacterias diferentes que *M. bovis* (micobacterias no tuberculosas), como menciona Sreevatsan et al. (2000). Varios factores pueden intervenir en los resultados como la edad de los animales, en animales jóvenes el sistema inmune es más sensible a los antígenos. Resultados falsos negativos se pueden manifestar por una falta de reacción de un animal aunque esté infectado con micobacteria patógena, ya sea porque el estado de la infección es muy temprano (etapas iniciales) o muy tardío (etapas crónicas) (Morris et al., 1994).

La posibilidad de una alteración en la respuesta a la prueba como consecuencia de un mal manejo de las tuberculinas, está descartado en esta investigación debido a que los biológicos utilizados, ya fueron probados en bovinos en otros estudios (Proaño et al., 2009; Proaño et al., 2011).

La transmisión de micobacterias se da principalmente por vía respiratoria (aerosoles en individuos de la misma especie), también se transmite vía digestiva entre individuos de especies diferentes, al ingerir carne o alimentos que contengan la bacteria, volviéndose este un importante factor de riesgo. Debido a que la tuberculosis bovina no solamente afecta a bovinos, sino también a la mayoría de animales de sangre caliente, se realizó este estudio complementado con una encuesta para identificar factores sobre la alimentación y su procedencia. Los resultados obtenidos de la encuesta realizada a cada animal indicó que el 100% (25/25) de los primates se alimentan a base de frutas y vegetales más huevos de gallina. Este alimento debe cumplir con normas de calidad establecidas por el Zoológico a los proveedores, aún así el origen del mismo es desconocido haciendo que sea una posible fuente de contagio. La misma encuesta realizada a la población de felinos demostró que el 100% (4/4) consume carne de burro y caballo, a pesar de que ninguno de los animales resultó positivo a la prueba de tuberculina, este factor vuelve a la población de felinos más susceptible al desarrollo de la

infección, sumándose a esto que el origen de la carne que ingieren no es confiable y puede tener lesiones microscópicas, debido a una falta de análisis de laboratorio en este tipo de animales.

Otro aspecto a considerar es la bioseguridad de los animales, el contagio por micobacterias se da por inhalación en especial en los primates que al entrar en contacto con otros animales de los cuales no se conoce su procedencia pueden contraer la infección. De igual manera la desinfección correcta de las jaulas es un elemento a tomar en cuenta como factor de riesgo. En el Zoológico se siguen estrictas normas de limpieza diaria de las jaulas e instalaciones tanto de los exhibidores como de las cuarentenas; sin embargo, la eliminación de los residuos orgánicos como alimentos y heces no se realiza siguiendo normas adecuadas y establecidas en otros zoológicos y centros de rescate de otros países, en los cuales las heces son desechadas por tuberías y los residuos de alimentos son incinerados en una fosa alejada de las instalaciones. Este manejo de residuos puede convertirse en un foco de infección y aumenta la posibilidad de que, no solo los animales sino también las personas involucradas en manejo de los animales, sean expuestas infecciones bacterianas.

El período de cuarentena de los animales nuevos se sigue de acuerdo al protocolo que sugiere la literatura para cada especie, por esto no se lo considera como un factor de riesgo en este estudio.

En resumen, los resultados encontrados en esta investigación, no demuestran una alta reacción positiva en los animales analizados, sin embargo, es necesario establecer estrictas normas de bioseguridad para evitar una futura infección causada por micobacterias.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES

- Se detectó el 12% de reactores positivos a la prueba de tuberculina analizados, en función al tiempo y la reacción desarrollada en primates de las especies chorongo (*Lagothrix lagotricha*), machín blanco (*Cebus albifrons*) y machín negro (*Cebus apella*) muestreados en el Zoológico de Guayllabamba.
- Los factores de riesgo involucrados en la positividad de dos de los individuos en cuarentena que reaccionaron a las pruebas aplicadas pueden estar asociados a un contacto previo en el lugar de origen de estos animales. El factor de riesgo del otro individuo reaccionante puede haber estado involucrado con la edad del animal.
- Se constató una deficiencia en los sistemas de bioseguridad que maneja el zoológico debido a que no existe un control suficiente de los animales que ingresan y son utilizados como alimento para los felinos.

CAPÍTULO VI

6. RECOMENDACIONES

- Realizar las pruebas de tuberculina periódicamente a todos los animales, para monitorear e identificar el estado de salud de la población expuesta en el Zoológico de Guayllabamba, siguiendo los procedimientos y normas recomendadas para la aplicación de estas pruebas, y de esta manera evitar el riesgo de posibles infecciones.
- Se debe reforzar y mantener las normas de bioseguridad relacionadas con el manejo de los animales nuevos que ingresan al Zoológico (cuarentena, control de animales y alimentos), este control también debe realizarse en el personal del Zoológico realizando la prueba de tuberculina periódicamente, y asegurarse de que el nuevo personal esté vacunado.
- Se recomienda hacer un análisis más profundo del origen de los alimentos en especial de la carne, o abastecerse de un camal certificado, con carne libre de microorganismos patógenos.
- Por último se considera importante el establecimiento de un programa de información relacionado con las normas de bioseguridad y de manejo de animales a todo el personal profesional y técnico del Zoológico.

BIBLIOGRAFÍA

Libro:

- **Abbas, A.**, Enfermedades de la Inmunidad, Robbins Patología estructural y funcional, Elsevier Health Sciences 7ma edición, 2005, p. 197-272.
- **Abbas, A., Lichtman, A., & Pillai S.**, Mecanismos efectores de la inmunidad celular, Inmunología Celular y Molecular, Elsevier, 2009, p. 303-320).
- **Daniel, T.**, The History of tuberculosis. Respiratory Medicine, 2006, p. 1862-1870.
- **Davis, B.D., Dulbecco, R., Eisen, H.N. y Ginsberg, H.S.** Tratado de Microbiología, Masson, S.A., 1996.
- **Dawson-Saunders, B., & Trapp, R. G.** Bioestadística Médica, Manual Moderno, 1993.
- **de Waard, J., & Robledo, J.**, Conventional Diagnostic Methods, Tuberculosis 2007: From Basic Science to Patient Care, 2007, p. 401-424.
- **Echeverría, G.**, Determinación de la Prevalencia de Tuberculosis Bovina (TBB) Mediante la Aplicación de Nested-PCR en Bovinos Faenados en los Camales Municipales de los Cantones Cayambe (Pichincha) y Pelileo (Tungurahua), 2011.
- **Gutierrez, C., Brisse, S., Brosch, R., Fabre, M., Omais, B., Marmiesse, M.**, y otros., Ancient Origin and Gene Mosaicism of the Progenitor of Mycobacterium tuberculosis, 2005.
- **Jawetz, Melnick, & Adelberg**, Micobacterium, Microbiología Médica, Editorial Manual Moderno, 2007, p. 338-345
- **Jorge, M. C., Traversa, M. J., Schettino, D. M., Etchechoury, I., Bernardelli, A., Zumárraga, M., Paolicchi, F., Canal, S.**, Micobacteriosis en pumas (Felis concolor) en cautiverio, 2008, p 1-5.
- **Metchcok, B., Nolte, F., & Wallace, R.** Micobacterium., Manual of Clinical Microbiology, McGraw Hill, 1999, p. 399-437.

- **Murray, P., Rosenthal, K., & Pfäuer, M.**, Mycobacterium., Microbiología Médica, ELSEVIER, 2007, p. 297-301.
- **Nicolet, Jacques.** Compendio de Bacteriología Médica Veterinaria. Acribia, 1985.
- **Proaño-Perez, F., Benitez-Ortiz, W., Celi-Eraza, M., Ron-Garrido, L., Benitez-Capistros, R., Portaels, F., Rigouts, L., Linden, A.**, Comparative intradermal tuberculin test in dairy cattle in the north of Ecuador and risk factors associated with bovine tuberculosis., American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 81, 2009, p. 1103-1109.
- **Proaño-Perez, F., Rigouts, L., Brandt, J., Dorny, P., Ron, J., Chavez, M., Rodríguez, R., Fissette, K., Van Aerde, A., Portaels, F., And Benitez-Ortiz W.**, Preliminary observations on Mycobacterium spp. In dairy cattle in Ecuador, The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 75(2), 2006, p. 318–323.
- **Rodríguez, G.**, Género Mycobacterium., Microbiología Médica, Manual Moderno, 2002, p. 265-281.
- **Rozman, C., & Cardellach, F.**, Tuberculosis. Medicina Interna Farreras-Rozman., Elsevier, 2009, p. 2357-2367.
- **Sequeira, M., & Barrera, L.** Baciloscopía., OPS, Manual Para el Diagnóstico Bacteriológico de la Tuberculosis, 2008, p. 7-64.
- **Tizard, I.**, Hipersensibilidad tipo IV: hipersensibilidad tardía, Inmunología Veterinaria. Mc Graw Hill, Interamericana, 2002, p 371-379.

Revista:

- **Fine, P., & Small, P.,** Exogenous Reinfection in Tuberculosis. The New England Journal of Medicine, 1999, p. 1227.

Documento de Internet:

- **Baraboglia, E. R,** Enfermedades Infecciosas Micobacteriosis Atípicas, <http://veterinaria.org/revistas/redvet/n101009/100905.pdf>, 2009, 2-Marzo-2012
- **de León Godoy, Ana,** Tuberculosis en monos araña (*Ateles geoffroyi*) del Centro de Rescate de fauna silvestre (Arcas): Determinación de presencia y comparación de dos métodos diagnósticos, <http://biblioteca.usac.edu.gt>, 2008, 17-Enero-2012, p. 6 – 20.
- **Grooms, D, Molesworth, J.,** The Comparative Cervical Tuberculin Test, Michigan State University Extension. Bovine TB Notes. Extension Bulletin E-2731, <http://cvm.msu.edu/extension/docs/TB/E-2731.pdf>, 2000, 8-Diciembre-2011.
- **Molinero, L.,** Odds ratio, Riesgo Relativo y Número Necesario a Tratar. www.bioestadisticaalceingenieria.com, 2001, 23-Febrero-2012

ANEXOS

Anexo1.**ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA****Información Básica**

No. general encuesta: ___/___/___

Fecha: ___/___/20___

Nombre del Encuestador: _____

Nombre del médico veterinario responsable:
_____**Identificación del animal**

Especie

Edad..... Sexo..... Código del animal.....

Nombre del responsable de la jaula: _____

Sistema de bioseguridad

Procedencia del animal:

Realiza cuarentena:

Si (especificar tiempo) _____

No

Comparte la jaula con otras especies

Si Cuales _____

No

Procedencia del alimento _____

Procedencia del agua de bebida _____

Desinfección de jaulas

Si Especificar _____

No

Alimentación

Que alimentos consume:

Alimento:

Frecuencia:

Sanidad

Desparasitaciones:

Si Cuales _____

Fecha de la última desparasitación: ___/___/20___

No

Vacunaciones:

Si Cuales

Fecha de la última vacunación: ___/___/20___

No

Está recibiendo algún medicamento

Cual/Dosis _____

Duración _____

Fuente: La autora

Anexo 2.

Ficha de registro de tuberculinización

N°	FECHA	IDENTIFICACIÓN DEL ANIMAL		TUBERCULINIZACIÓN					
		ESPECIE	EDAD	LUGAR DE INOCULACIÓN	TIEMPO DE REACCIÓN (HORAS)			RESULTADO	
					24	48	72	GRADO	CARACTERÍSTICA
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									

Elaborado por: La autora

Anexo 3.

3.1 Tuberculina PPD Bovina



Fuente: La autora

3.2 Tuberculina PPD Aviar



Fuente: La autora

3.3 Inoculación de tuberculina PPD bovina en párpado (*Saimiri sciureus*)



Fuente: La autora

3.4 Individuo reactor positivo a la prueba de tuberculina simple. Lectura a las 72 horas (*Cebus albifrons*)



Fuente: La autora

3.5 Inoculación de tuberculina PPD aviar en cuello (*Leopardus weidii*)



Fuente: La autora