

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE AGROPECUARIA

Tema: "Diagnóstico molecular de Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*) de nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi"

Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del
título de Ingeniera en Agropecuaria

AUTORA: Suarez Tarapues Deysi Dayana

TUTOR: Ing. Ibarra Rosero Edison Marcelo, MSc.

Tulcán, 2025

CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que la estudiante Suarez Tarapues Deysi Dayana con el número de cédula 040195145-4 ha desarrollado el Trabajo de Integración Curricular: "Diagnóstico molecular de Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*) de nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi"

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el Reglamento de la Unidad de Integración Curricular, Titulación e Incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizo la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.

Ing. Ibarra Rosero Edison Marcelo, MSc.

TUTOR

Tulcán, abril de 2025

AUTORÍA DE TRABAJO

El presente Trabajo de Integración Curricular constituye un requisito previo para la obtención del título de Ingeniera en la Carrera de agropecuaria de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales

Yo, Suarez Tarapues Deysi Dayana con cédula de identidad número 040195145-4 declaro que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.

Deysi Suarez

Suarez Tarapues Deysi Dayana

AUTORA

Tulcán, abril de 2025

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, Suarez Tarapues Deysi Dayana declaro ser autor de los criterios emitidos en el Trabajo de Integración Curricular: "Diagnóstico molecular de Tuberculosis Bovina (*Mycobacterium bovis*) de nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi" y eximo expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes de posibles reclamos o acciones legales.

Deysi Suarez

Suarez Tarapues Deysi Dayana

AUTORA

Tulcán, abril de 2025

AGRADECIMIENTO

A Dios, por la vida, la salud, la sabiduría y la fortaleza que me dio para poder culminar esta etapa importante en mi vida.

Agradezco a mi madre María Suarez mi pilar fundamental, por el apoyo incondicional que me brindó durante este proceso, por su amor, comprensión y su paciencia.

A Ramiro y Angela por su apoyo, su amor y cariño, por darme ánimos de nunca rendirme.

A mis abuelitos Rosa y Carlos por su apoyo incondicional, por estar presentes en vida, por su amor, sus consejos y su cariño.

A mi tutor Marcelo Ibarra por su paciencia, tiempo y dedicación, que gracias a sus conocimientos y experiencia me supo guiar para lograr este propósito.

A la Ingeniera Andrea Chamorro por su apoyo durante la práctica de laboratorio, por brindarme sus conocimientos y guiarme para lograr un buen trabajo.

A los docentes de la carrera de agropecuaria, por la formación académica, por impartir sus conocimientos y valores para la formación profesional.

A la Universidad Politécnica Estatal del Carchi, por brindarme la oportunidad de formar parte de la institución y formarme profesionalmente.

DEDICATORIA

Este logro se lo dedico especialmente a Dios y a mi mamá María Suarez por apoyo incondicional en todo momento, por su esfuerzo, cariño, amor, confianza, por sus consejos y por estar siempre presente para mí y nunca dejarme sola.

A mi familia por su apoyo, su cariño y todos sus consejos que me ayudaron a cumplir esta meta.

ÍNDICE

RESUMEN	11
ABSTRACT	12
INTRODUCCIÓN	13
I. EL PROBLEMA	15
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	17
1.1.JUSTIFICACIÓN	17
1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	18
1.4.1. Objetivo General.....	18
1.4.2. Objetivos Específicos	18
1.4.3. Preguntas de Investigación	19
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	20
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	20
2.2. MARCO TEÓRICO	21
2.2.1. Importancia de la tuberculosis bovina.....	21
2.2.2. Etiología.....	22
2.2.3. Taxonomía	23
2.2.4. Patogenia de <i>Mycobacterium bovis</i>	24
2.2.5. Especies del complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y sus hospederos...	25
2.2.6. Epidemiología de la tuberculosis bovina	28
2.2.7. Transmisión	30
2.2.8. Signos y síntomas	31
2.2.9. Lesiones patológicas.....	31
2.2.10. Control y prevención	32

2.2.11. Diagnóstico	32
III. METODOLOGÍA	39
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO	39
3.1.1. Enfoque	39
3.1.2. Tipo de Investigación.....	39
3.2. IDEA A DEFENDER	39
3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	40
3.4. MÉTODOS UTILIZADOS.....	41
3.4.1. Ubicación de la investigación	41
3.4.2. Toma de muestras	41
3.4.3. Fase de laboratorio	41
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
3.5.1. Toma de muestras	46
3.5.2. Estadística descriptiva	47
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
4.1. RESULTADOS	48
4.1.1. Inspección veterinaria	48
4.1.2. Validación de técnicas.....	48
4.1.3. Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	49
4.1.4. <i>Mycobacterium bovis</i>	50
4.1.5. Identificación de <i>Mycobacterium bovis</i>	51
4.2. DISCUSIÓN	51
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	53
5.1. CONCLUSIONES.....	53
5.2. RECOMENDACIONES	54
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
VII. ANEXOS.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica <i>Mycobacterium bovis</i>	23
Tabla 2. Supervivencia de <i>Mycobacterium bovis</i> en el medio ambiente.....	30
Tabla 3. Definición y operacionalización de variables.....	40
Tabla 4. Parámetros para el termociclador	44
Tabla 5. Parámetros para el termociclador	44
Tabla 6. Secuencia de primers para MTBC	44
Tabla 7. Reactivos para la PCR	45
Tabla 8. Condiciones para el termociclador.....	45
Tabla 9. Bandas de identificación y secuencia de primers utilizados para <i>Mycobacterium bovis</i>	45
Tabla 10. Reactivos utilizados para la PCR	46
Tabla 11. Condiciones para el termociclador.....	46
Tabla 12. Resultados de Inspección veterinaria.....	48
Tabla 13. Resultados de PCR complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	50
Tabla 14: Resultados de PCR a <i>Mycobacterium bovis</i>	50
Tabla 15. Identificación de <i>Mycobacterium bovis</i>	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Mycobacterium bovis</i>	23
Figura 2. Fagocitosis de una bacteria.....	25
Figura 3. Distribución mundial de la tuberculosis bovina en 2017 y 2018.	29
Figura 4. Lesiones tuberculosis bovina	41
Figura 5. Gradiente complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	48
Figura 6. Gradiente de <i>Mycobacterium bovis</i>	49
Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa MTBC	49
Figura 8. Electroforesis en gel de agarosa <i>Mycobacterium bovis</i>	50
Figura 9. Inspección veterinaria	66
Figura 10. Muestras	66
Figura 11. Extracción de ADN.....	67
Figura 12. Reactivos para PCR	67

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Acta de la sustentación de Predefensa del TIC	63
Anexo 2. Certificado del abstract por parte de idiomas.....	64
Anexo 3. Inspección Veterinaria.....	66
Anexo 4. Laboratorio.....	66

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo identificar mediante técnicas moleculares tuberculosis bovina (*Mycobacterium bovis*) de nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi. Esta investigación se desarrolló en dos etapas: la primera consistió en la toma de muestras mediante inspección post mortem donde se examinaron 200 bovinos, identificándose 45 animales (22,5%) con lesiones compatibles con tuberculosis. La segunda etapa, fue de laboratorio que incluyó tres fases fundamentales, (1) la extracción de ADN; (2) la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y (3) la electroforesis. Para el PCR se realizó la validación de temperaturas, para optimizaron las condiciones de hibridación, en donde para el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, se emplearon gradientes de temperaturas de entre 64 °C y 72 °C, estableciendo 68 °C como temperatura óptima, y para *Mycobacterium bovis* se evaluaron temperaturas entre 59 °C y 70 °C, determinándose 62 °C como óptima. Como resultado se obtuvo que 10/45 (22,2%) muestras con lesiones compatibles a TB fueron positivas al complejo *Mycobacterium tuberculosis* y de estas se confirmó 7/10 (70%) como *Mycobacterium bovis*.

Palabras Claves: Complejo *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, PCR, validación.

ABSTRACT

This study aimed to identify the presence of bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in tuberculous nodules from lungs obtained at the slaughter center in Tulcán, Carchi, using molecular techniques. The research was conducted in two stages. The first stage involved sample collection through post-mortem inspection, during which 200 cattle were examined, identifying 45 animals (22,5%) with lesions compatible with tuberculosis. The second stage consisted of laboratory analysis, which included three key phases: (1) DNA extraction, (2) polymerase chain reaction (PCR), and (3) electrophoresis. For PCR, hybridization temperatures were validated to optimize the process conditions. In the case of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, temperature gradients between 64°C and 72°C were tested, with 68°C determined as the optimal temperature. For *Mycobacterium bovis*, temperatures ranging from 59°C to 70°C were evaluated, establishing 62°C as the most suitable. As a result, 10 out of 45 samples (22,2%) with lesions compatible with tuberculosis tested positive for the *Mycobacterium tuberculosis* complex, of which 7/10 (70%) were confirmed as *Mycobacterium bovis*.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis* complex, *Mycobacterium bovis*, PCR, validation.

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina es una enfermedad bacteriana crónica de gran importancia zoonótica, ampliamente difundida en el ganado bovino de América Latina. Su agente causal es *Mycobacterium bovis*, un miembro del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Se caracteriza por su alta capacidad de transmisión y su naturaleza debilitante, afectando a diversos órganos y presentándose en muchos casos de manera asintomática. Debido a su carácter zoonótico, representa un riesgo significativo para la salud pública y afecta negativamente la comercialización de los animales, generando importantes pérdidas económicas para los productores (Suquilanda, 2015).

En la actualidad, aproximadamente la mitad de los casos se confirman mediante análisis bacteriológico, utilizando el examen microscópico como herramienta principal. Aunque este método es rápido y económico, tiene la limitación de no poder diferenciar entre las especies del género *Mycobacterium*, lo que dificulta un diagnóstico específico y preciso (García y Vera, 2021).

En el caso de Ecuador, la tuberculosis bovina, aunque es una enfermedad de declaración obligatoria, carece de registros precisos debido a la limitada implementación de pruebas de diagnóstico y a la deficiencia en la inspección veterinaria en los centros de faenamiento. Además, el uso predominante de técnicas como la baciloscopia, que no distingue entre *Mycobacterium bovis*, de Complejo *Mycobacterium tuberculosis*, dificulta aún más el control de la enfermedad (Barberán y Cedeño, 2021).

El diagnóstico de la tuberculosis continúa siendo un reto, debido a que las herramientas de diagnóstico actualmente disponibles presentan limitaciones en cuanto a sensibilidad y especificidad, afectando la detección temprana de dicha patología, provocando un retraso en el avance de los programas de control (Maldonado, 2020).

La detección de *Mycobacterium bovis* mediante técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa, es crucial para controlar la tuberculosis bovina. Estos métodos de diagnóstico permiten identificar infecciones tempranas, diferenciar entre las especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y evitar

diagnósticos falsos. Además, facilitan la implementación de medidas de control efectivas, como el aislamiento y la bioseguridad. La estandarización de estas técnicas garantiza resultados confiables y adaptables a diferentes entornos, mejorando la recopilación de datos epidemiológicos. La identificación precisa de *Mycobacterium bovis* es esencial para proteger la salud pública, mejorar la productividad ganadera y diseñar políticas de control y prevención efectivas (Guananga, 2020). Bajo este contexto la presente investigación tiene por objetivo identificar mediante técnicas moleculares tuberculosis bovina (*Mycobacterium bovis*) de nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi.

I. EL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Mycobacterium bovis es la principal causante de tuberculosis bovina, una enfermedad de preocupación mundial por sus efectos sobre la salud pública y la producción ganadera. A pesar de los avances en el control, en algunos países la prevalencia de *M. bovis* sigue siendo significativa en muchas regiones, especialmente en países en desarrollo donde las capacidades de diagnóstico son limitadas (Murai et al., 2019).

La tuberculosis bovina es una enfermedad que puede desarrollarse de forma crónica o, en casos agudos, puede avanzar rápidamente. Las infecciones tempranas suelen ser asintomáticas, dificultando su detección, aunque los programas de erradicación han logrado disminuir los casos sintomáticos. En fases avanzadas, provoca emaciación progresiva, fiebre fluctuante, debilidad y pérdida de apetito. Cuando afecta a los pulmones, puede presentar disnea o taquipnea, especialmente en climas fríos. Además, el agrandamiento de los ganglios linfáticos puede causar obstrucciones respiratorias y digestivas o vasculares, generando diarrea intermitente, estreñimiento e insuficiencia respiratoria aguda en etapas terminales (Guananga, 2020).

En países en desarrollo, la frecuencia y la presencia del *Mycobacterium bovis* son desconocidas debido a la falta de laboratorios especializados para el cultivo y la identificación de bacilos tuberculosos. El método estándar para el diagnóstico que se usa para determinar la tuberculosis bovina es la prueba de la tuberculina. Pero la prueba de tuberculina puede provocar resultados falsos positivos, ocasionando el sacrificio del bovino libre de esta enfermedad conllevando pérdidas económicas, o también puede dar resultados falsos negativos, lo que hace que el animal infectado permanezca en el rebaño infectando a los bovinos sanos, causando una rápida diseminación de la enfermedad (Broughan et al., 2019).

Cada año, se reportan aproximadamente 10 millones de nuevos casos de tuberculosis bovina a nivel mundial, con más del 95% de estos casos en países en

desarrollo. Esta alta incidencia se atribuye, en gran parte, a la falta de pruebas diagnósticas suficientemente precisas que permitan la identificación exacta de *Mycobacterium bovis*, el principal agente causal. La ausencia de un diagnóstico temprano y específico impide la implementación de estrategias efectivas para el control y erradicación de la enfermedad (Suárez, 2023).

En Ecuador no se ha documentado el estado de la tuberculosis bovina por la falta de registros positivos, también por falta de uso de pruebas de diagnóstico molecular y la ineficiente inspección de médicos veterinarios en la mayoría de los centros de faenamiento. Según encuestas sobre la tuberculosis bovina, se ha reportado un 3,9 % de prevalencia en el norte del Ecuador estos datos no han sido publicados (Calle, 2020).

Aunque en Ecuador la tuberculosis bovina es una enfermedad de declaración obligatoria, la información precisa sobre su prevalencia es escasa. La detección de esta enfermedad se basa principalmente en la baciloscopia, una técnica que no distingue entre *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium tuberculosis*. Aunque el cultivo bacteriano es una opción diagnóstica, su uso es limitado en el país y, cuando se realiza, no siempre permite una identificación precisa de la especie (Guananga, 2020).

En las zonas rurales de Ecuador, donde el riesgo de tuberculosis bovina es mayor, las pruebas de diagnóstico avanzadas, como las moleculares y bioquímicas, no se realizan de manera rutinaria, lo que complica la capacidad de diferenciar *M. bovis* de otras micobacterias. Esto limita la implementación de estrategias efectivas de control y dificulta la recopilación de datos precisos sobre la prevalencia de la enfermedad, ya que también falta infraestructura adecuada, como laboratorios especializados (Suárez, 2023).

El cantón Tulcán, una importante región ganadera de la provincia de Carchi, enfrenta una situación similar. La falta de información precisa sobre *Mycobacterium bovis* en esta zona representa una barrera significativa para el control de la tuberculosis bovina. Los ganaderos locales dependen de métodos de diagnóstico simples, que no permiten una identificación exacta de la especie causante de la enfermedad. La única forma de diferenciar *M. bovis* de otras especies de micobacterias es mediante técnicas moleculares y bioquímicas avanzadas, que no se aplican de forma regular en la región (Rosas, 2021).

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La identificación de *Mycobacterium bovis* causante de la tuberculosis bovina en nódulos tuberosos de pulmones en la ciudad de Tulcán es limitada debido a la ausencia de pruebas de diagnóstico molecular.

1.1. JUSTIFICACIÓN

La detección de *Mycobacterium bovis* mediante técnicas moleculares es fundamental en la lucha contra la tuberculosis bovina (TBB). Esta enfermedad no solo afecta la salud pública, sino que también tiene un impacto negativo en la producción ganadera y repercute significativamente en las economías rurales. En el contexto de la búsqueda para erradicar esta enfermedad, contar con herramientas de diagnóstico avanzadas es crucial para garantizar una identificación precisa y eficaz (Torres, 2019).

Las técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), permiten identificar pequeñas cantidades de ADN bacteriano, incluso en las primeras etapas de la infección. Este aspecto es particularmente relevante, ya que muchos casos de *M. bovis* pueden no presentar síntomas evidentes. La alta sensibilidad y especificidad de estas pruebas son esenciales para distinguir *M. bovis* de otras especies de micobacterias, lo que ayuda a evitar diagnósticos falsos (Diz, 2020).

Un diagnóstico más temprano y preciso permite a veterinarios y ganaderos tomar decisiones informadas e implementar medidas de control antes de que la enfermedad se propague. Esto incluye aislar a los animales infectados y establecer medidas de bioseguridad. Además, las técnicas moleculares pueden ser utilizadas para analizar muestras difíciles, como nódulos o tejidos dañados, donde los niveles de ADN bacteriano pueden ser bajos (Perera y Acevedo, 2018).

La validación de técnicas moleculares para la detección de *M. bovis* es otro aspecto crítico. Este proceso asegura que los métodos sean precisos, reproducibles y aplicables en diferentes entornos. Así, se garantiza no solo resultados confiables, sino también la posibilidad de adaptar las técnicas a las condiciones específicas de los laboratorios de cada región del Ecuador. La estandarización de protocolos facilitará la comparación de datos epidemiológicos a nivel nacional (Del Portillo et al., 2019).

La identificación precisa del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) es fundamental para prevenir la transmisión zoonótica de la tuberculosis. La capacidad

de diferenciar entre *M. bovis* y *M. tuberculosis* permite implementar estrategias de control específicas. Cada especie dentro del MTBC puede requerir diferentes enfoques de tratamiento y gestión; por lo tanto, comprender qué especie está causando la infección es clave para desarrollar medidas efectivas. Así, es fundamental realizar investigaciones que incluyan el uso de técnicas moleculares y bioquímicas para detectar *Mycobacterium bovis*, lo que permitiría mejorar las estrategias de control y prevención de esta enfermedad en la región (Robinne et al., 2020).

Conocer que la tuberculosis en ganado es causada por *M. bovis* permite a los ganaderos adoptar medidas de control adecuadas, como el sacrificio selectivo de animales infectados. Esto no solo mejora la salud del ganado, sino que también protege la productividad y rentabilidad de las explotaciones ganaderas. Identificar *M. bovis* como el agente causante es esencial para el diseño de políticas de salud pública que aborden la tuberculosis en el contexto de zoonosis. Tener claridad sobre el agente responsable de la tuberculosis es clave para recopilar datos epidemiológicos precisos. Esta información resulta fundamental para planificar y ejecutar programas de control eficaces, así como para asignar recursos adecuadamente según la prevalencia de la enfermedad en distintas regiones (Buddle et al., 2023).

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

Identificar mediante técnicas moleculares tuberculosis bovina (*Mycobacterium bovis*) de nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Validar un protocolo de PCR punto final como técnica molecular para la identificación de tuberculosis bovina (*Mycobacterium bovis*) de nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi.
- Determinar la presencia de microorganismos pertenecientes al complejo de *Mycobacterium tuberculosis* en nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi.

- Identificar la presencia de *Mycobacterium bovis* causante de tuberculosis bovina en nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi.

1.4.3. Preguntas de Investigación

- ¿Las técnicas moleculares permiten identificar tuberculosis bovina (*Mycobacterium bovis*) de nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi?
- ¿Cómo validar un protocolo de PCR punto final para la identificación de tuberculosis bovina (*Mycobacterium bovis*) de nódulos tuberosos de pulmones de bovinos?
- ¿Se puede determinar microorganismos del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) en muestras de nódulos tuberosos en pulmones bovinos?
- ¿Se puede identificar *Mycobacterium bovis* mediante la validación de técnicas moleculares en nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de Tulcán?

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Guananga (2020) en su investigación "Determinación de la prevalencia de tuberculosis bovina mediante la reacción en cadena de polimerasa en el camal municipal de Riobamba" se examinaron un total de 384 muestras de pulmones, tejido mamario y ganglios linfáticos. Las muestras fueron sometidas a análisis microbiológicos y baciloscopia, y la PCR se utilizó para confirmar la identidad de *M. bovis*. Los resultados revelaron que dos muestras dieron positivo para *Mycobacterium spp.*, y en ambas se confirmó la presencia de *M. bovis*, lo que indica una prevalencia de TBB en el Camal Municipal de Riobamba del 0.52% (2 de 384). Los casos positivos se localizaron en hembras de la provincia de Chimborazo, cantón Riobamba, con edades entre 24-36 y 50-62 meses.

Maldonado (2020) en su investigación "Análisis de *Mycobacterium bovis* en bovinos faenados en el camal privado Ronald ubicado en la parroquia Cone, Yaguachi" se realizó la exploración de los canales post mortem de 116 animales, siendo 73 machos y 43 hembras. Se tomaron muestras de 43 bovinos que presentaban lesiones macroscópicas y se realizaron 172 cultivos de los diferentes ganglios retrofaríngeos en medios de Ogawa y Stonebrick. De estas, 11 muestras mostraron crecimiento ácido-alcohol resistente con presencia de bacilos. Las 11 muestras positivas fueron analizadas con el método molecular PCR-LAMP, y todas resultaron negativas para *M. bovis*, aunque 5 de ellas fueron positivas para micobacterias atípicas.

Guardiola (2009) en su investigación "Detección de *Mycobacterium bovis* en pulmón y nódulo linfático mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)" se recolectaron muestras de tejido pulmonar y nódulos linfáticos bronquiales de animales sospechosos en el rastro municipal de Torreón, siguiendo la NOM-031-ZOO-1995 para el transporte y conservación de tejidos. Para el diagnóstico, se realizó la extracción de ADN usando dos métodos: un kit comercial DNAzol (Invitrogen, Inglaterra) y digestión con proteinasa K, SDS al 10% y buffer de lisis celular. La amplificación del ADN se realizó con primers específicos para un control interno y para detectar el gen de la proteína MP60 de *Mycobacterium*. Sin embargo, los

resultados fueron negativos, posiblemente debido a la falta de extracción adecuada de ADN micobacteriano o la presencia de inhibidores de la PCR bajo las condiciones empleadas.

Rosas (2021) en su investigación "Prevalencia de Tuberculosis bovina TBB mediante el uso de aislamiento microbiológico de lesiones compatibles de la enfermedad en animales faenados en el camal de Tulcán de la provincia del Carchi" se examinaron 289 bovinos mediante inspección post-mortem, y la prevalencia de lesiones compatibles con la enfermedad fue del 43,25% (125/289). La presencia de *Mycobacterium bovis* en el centro de faenamiento del cantón Tulcán fue confirmada mediante cultivo bacteriológico realizado en medio Stonebrink con tinción Zielh Neelsen, el cual arrojó una prevalencia de 2,77% (8/289) y un diagnóstico por PCR utilizando los fragmentos RD9 y RD1, dando una prevalencia de 1,73% (5/289).

Villavicencio (2021) en su investigación "Identificación de *Mycobacterium bovis* mediante análisis microbiológico y molecular, en bovinos faenados en la ciudad de Loja" se examinaron 385 bovinos y se tomaron muestras de pulmones y nódulos linfáticos. Lesiones granulomatosas no se encontraron. De las muestras cultivadas, 18 mostraron colonias compatibles con *Mycobacterium spp.*, y 12 (3,12%) se confirmaron como *M. bovis* mediante PCR múltiple. Las micobacterias atípicas y ambientales fueron las restantes. Además, se examinaron factores relacionados con la infección y se descubrió que, en comparación con lesiones como la antracosis, las lesiones hemorrágicas en nódulos linfáticos aumentan el riesgo de identificar *M. bovis*.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Importancia de la tuberculosis bovina

La tuberculosis bovina (TBB) es una zoonosis importante causada por *Mycobacterium bovis*, que afecta principalmente al ganado vacuno, aunque ocasionalmente puede afectar a los seres humanos y otros animales domésticos y salvajes. Se estima que *M. bovis* causa aproximadamente el 2% de las infecciones por tuberculosis en humanos en América Latina y el Caribe (Proaño y Benítez, 2019).

Por su persistencia y graves consecuencias, la tuberculosis bovina es crítica en el ganado, los animales pierden un rendimiento significativo, entre el 10% y el 25%, y una disminución del 6% en la fertilidad. La producción de leche también se ha visto afectada, con una reducción del 10%, mientras que el tiempo de lactancia se ha

reducido a la mitad. El peso normal disminuye un 15%, lo que podría conducir al desarrollo de inmunidad a otras enfermedades (Macalupú, 2021).

2.2.2. Etiología

La tuberculosis bovina es causada por *Mycobacterium bovis*, una bacteria ácido-alcohol resistente que pertenece al complejo *Mycobacterium tuberculosis* de la familia *Mycobacteriaceae*. Además de *M. bovis*, otras especies como *M. tuberculosis*, *M. microti* y varias especies de *M. africanum* forman parte de este complejo y son patógenas para los mamíferos. Por otro lado, existen micobacterias no tuberculosas, como *Mycobacterium paratuberculosis*, que, aunque no causan tuberculosis, son patógenas y responsables de otras enfermedades, como la paratuberculosis en rumiantes (Lojano, 2022).

El género *Mycobacterium*, perteneciente a la familia *Mycobacteriaceae*, incluye una variedad de especies grampositivas, aerobias y microbianas. Este organismo pertenece al orden *Actinomycetales*, junto con *Nocardia* y *Corynebacterium*, y comparte características como un alto contenido de guanina y citosina (GC) en el ADN, así como la capacidad de producir ácidos micólicos como parte de su pared celular. Las bacterias no forman esporas ni cápsulas y tienen un tamaño de 0,2 a 0,6 micrómetros de diámetro y de 1 a 10 micrómetros de longitud. Aunque pueden formar estructuras ramificadas, estas son frágiles y se rompen fácilmente. La pared celular, rica en lípidos, les proporciona resistencia a condiciones ambientales adversas y a ciertos desinfectantes solubles en agua, aunque son susceptibles a desinfectantes a base de fenol (Sabando y Zambrano, 2023).

Las micobacterias que se observa en la Figura 1 son muy resistentes al medio ambiente y pueden sobrevivir hasta 13 días en las heces de los pastos y 10 meses en el moco desecado. Sin embargo, los rayos solares disminuyen significativamente el tiempo de supervivencia, eliminando a las bacterias en las heces después de 5 horas y en la mucosidad pulmonar después de 30 a 40 días. A pesar del ácido láctico, la leche permanece viva durante 15 días y muere al calentarla a 65 °C durante 30 minutos, o por pasteurización de 71 °C a 74 °C en 42 segundos o por ebullición en 2 minutos (Pinedo, 2019).



Figura 1. *Mycobacterium bovis*
Fuente: Kon (2023)

2.2.3. Taxonomía

Mycobacterium bovis es un miembro del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), un grupo de 11 especies o ecotipos con tropismo y virulencia variables, incluido *Mycobacterium tuberculosis*, la principal causa de tuberculosis en humanos. Bovis tiene una gama más amplia de huéspedes e infecta una variedad de especies, principalmente ganado y ocasionalmente humanos, con una persistencia poblacional variada. Dentro del MTBC también existen especies como *Mycobacterium africanum* y *Mycobacterium microti*, todas ellas pueden causar tuberculosis en diferentes pacientes (Guimaraes y Zimpel, 2020).

En la tabla 1 podemos observar la clasificación taxonómica de *Mycobacterium bovis*. También en actualidad existe una clasificación taxonómica como es *Mycobacterium abscessus* y *Mycobacterium chelonis*; *Mycobacterium Ancienteri*, *Mycobacterium smegmatis*; *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium tuberculosis* (Asas, 2023).

Tabla 1. Clasificación taxonómica *Mycobacterium bovis*

Dominio	Bacteria
Filo	<i>Actinomycetota</i>
Clase	<i>Actinomycetia</i>
Orden	<i>Actinomycetales</i>
Familia	<i>Mycobacteriaceae</i>
Género	<i>Mycobacterium</i>
Especie	<i>bovis</i>

Fuente: Asas (2023)

2.2.4. Patogenia de *Mycobacterium bovis*

Mycobacterium bovis es una bacteria intracelular que afecta principalmente a los pulmones, donde se aloja tras ser inhalada en forma de aerosoles contaminados. Sin embargo, también puede ingresar al organismo por otras vías, como la ingestión de leche, agua o alimentos contaminados. En algunas especies, como los tejones, la transmisión por mordeduras infectadas es común. Otras formas de contagio, como la transmisión intrauterina o coital, son mucho menos frecuentes (Santos, 2023).

Una de las principales razones por las que *M. bovis* es un patógeno tan exitoso es su capacidad para evadir el sistema inmunológico. Esta bacteria puede sobrevivir dentro de los macrófagos, que son células encargadas de destruir microorganismos, lo que le permite mantenerse activa dentro del organismo y desarrollar infecciones persistentes (Palmer y Waters, 2006).

2.2.4.1. Fases del proceso infeccioso

Mycobacterium bovis tiene el siguiente proceso de infección:

- Entrada en el organismo y fagocitosis: Cuando un animal inhala *M. bovis*, las bacterias llegan a los alvéolos pulmonares, donde son fagocitadas por los macrófagos alveolares. Sin embargo, a diferencia de otras bacterias, *M. bovis* sobrevive dentro de estas células en lugar de ser destruida en la Figura 2 podemos observar el proceso de fagocitosis de una bacteria. (Palmer y Waters, 2006).
- Mecanismo de evasión: evita la destrucción en el macrófago. Para sobrevivir, *M. bovis* bloquea la fusión del fagosoma con el lisosoma, evitando que las enzimas digestivas destruyan su pared celular. Este proceso es clave para su éxito como patógeno. La bacteria logra esto gracias a sus lípidos en su pared celular, que inhiben la maduración del fagosoma y la interferencia con las señales del macrófago, evitando la activación de mecanismos bactericidas (Bermudez y Sangari, 2001).
- Multiplicación y formación del granuloma: a medida que *M. bovis* se multiplica dentro de los macrófagos, el sistema inmunológico responde con la formación de granulomas o tubérculos. Estos son masas de células inmunitarias que intentan aislar la bacteria y evitar su diseminación. El granuloma es una estrategia del cuerpo para contener la infección, pero también proporciona

un ambiente donde *M. bovis* puede permanecer latente durante meses o años (Cassidy, 2006).

- Ruptura de la pared celular y diseminación: en algunos casos, el granuloma se degrada y se rompe, lo que permite que *M. bovis* escape y se disemine dentro del organismo. Esto ocurre cuando hay debilitamiento del sistema inmunológico (por estrés, enfermedades concurrentes o desnutrición). También se produce necrosis caseosa extensa, que lleva a la destrucción del granuloma. Los macrófagos infectados mueren y liberan bacilos viables en el tejido circundante. Cuando el granuloma pulmonar se rompe, los bacilos son expulsados hacia los bronquios, facilitando la diseminación a otros órganos o su excreción en el ambiente mediante la tos (Corner y Gormley, 2012).

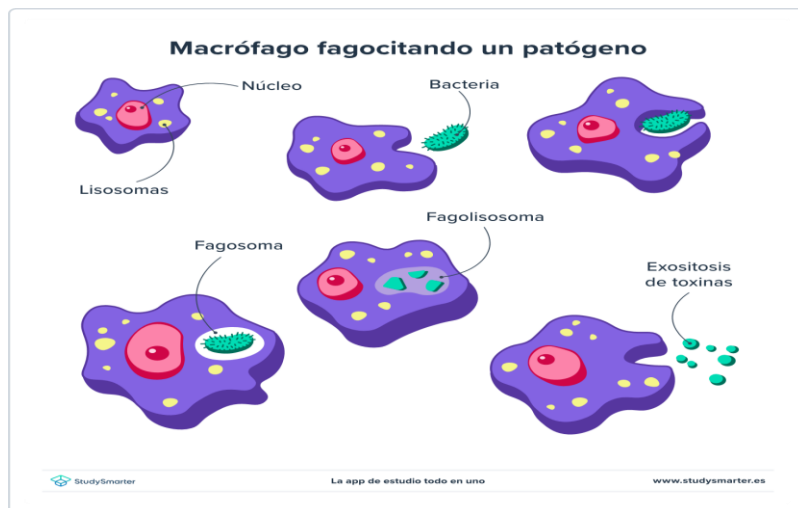


Figura 2. Fagocitosis de una bacteria
Fuente: StudySmarter (2023)

2.2.5. Especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y sus hospederos

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa causada principalmente por especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB), que comparten el 99.5% de su ADN. A pesar de esta alta similitud genética, las especies del complejo se diferencian por características fenotípicas clave, como la preferencia por ciertos huéspedes. Algunas especies, como *M. tuberculosis*, *M. africanum* y *M. canettii*, se han adaptado predominantemente a infectar a los humanos. Por otro lado, *Mycobacterium bovis* tiene una amplia gama de huéspedes, ya que puede propagarse entre humanos, bovinos y animales silvestres. Otras especies del complejo, como *M. microti*, *M. pinnipedii* y *M. caprae*, suelen encontrarse en animales, pero también pueden representar un riesgo zoonótico bajo ciertas condiciones (Gómez et al., 2024).

2.2.4.1. *Mycobacterium tuberculosis*

El principal hospedero y reservorio de la *M. tuberculosis* son los humanos; está adaptada para infectar y causar tuberculosis en personas. Otros hospederos son los mamíferos, especialmente primates no humanos como simios y monos, que pueden ser infectados (Maulén, 2011).

2.2.4.2. *Mycobacterium bovis*

El principal agente causal de la tuberculosis bovina es *Mycobacterium bovis*, cuyo hospedero natural y primario son los bovinos, considerados el principal reservorio de la enfermedad. Sin embargo, *M. bovis* también puede infectar a otros mamíferos, incluidos los humanos, mamíferos domésticos como perros, gatos y cerdos, así como diversas especies de fauna silvestre, lo que amplía su impacto en la salud pública y animal (ICA, 2024).

Las bacterias grampositivas, resistentes a los ácidos, con tamaños que varían de 0,2 a 0,7 x 1-10 micrómetros, algo curvadas, con bordes apretados, sin esporas ni cápsulas y de crecimiento lento (INSST, 2022).

Puede sobrevivir durante meses en condiciones frías, oscuras y húmedas. Se encuentra en el ambiente contaminado o en la superficie de objetos. Es muy sensible al calor, luz solar y a la luz ultravioleta, pero resistente al frío, a la congelación y degradación (INSST, 2022).

2.2.4.3. *Mycobacterium africanum*

Es un miembro del complejo de *Mycobacterium tuberculosis* que tiene un hábitat exclusivo en humanos. Sin embargo, se reportaron casos raros de infección en animales, generalmente por contacto directo con humanos infectados (De Jong et al., 2010).

2.2.4.4. *Mycobacterium canettii*

Los humanos son el reservorio principal de *Mycobacterium canettii*, al igual que otros miembros de los otros complejos como *M. tuberculosis* y *M. africanum*. La especie está principalmente en África, donde se han reportado infecciones humanas. Aunque *M. canettii* solo se ha descrito en humanos, se cree que puede existir una reserva animal no identificada (Coll y García, 2018).

2.2.4.5. *Mycobacterium caprae*

El hospedero más común de *Mycobacterium caprae* son las cabras. Sin embargo, el ganado vacuno también puede verse afectado, con infecciones similares a las provocadas por *M. bovis*. Además, *M. caprae* ha sido detectada en diversas especies silvestres, como ciervos, jabalíes, tigres siberianos, camellos, dromedarios y bisontes, lo que evidencia un amplio rango de hospederos dentro del reino animal. Aunque menos frecuente, se han reportado algunos casos de tuberculosis en humanos (Elika, 2024).

2.2.4.6. *Mycobacterium pinnipedii*

Los principales hospedadores de *Mycobacterium pinnipedii* son las focas, específicamente las grises y las leonas marinas. También infecta a otros animales marinos que pertenecen al grupo de los pinnípedos, aunque su prevalencia en estas especies no ha sido tan bien documentada (SOCIVESC, 2017).

2.2.4.7. *Mycobacterium suricattae*

En particular, este bacilo se ha recuperado de suricatas, que son pequeños mamíferos sociales que viven en algunas partes de África. Hasta ahora no se han encontrado en otros hospederos, lo que indica que el rango de huéspedes para esta bacteria es bastante pequeño y se encuentra en suricatas. Esto podría indicar una especialización evolutiva del bacilo hacia estos animales (Clarke et al., 2017).

2.2.4.8. *Mycobacterium mungi*

Mycobacterium mungi se encontró principalmente en mangostas anilladas, que se consideran su huésped principal. Hasta el momento, no se ha identificado ningún otro animal como huésped de esta bacteria, lo que indica que las mangostas anilladas pueden ser su huésped principal, y quizás el único, conocido. Esto sugiere una estrecha relación entre el patógeno y este tipo de mangosta, con un rango de huéspedes muy limitado (Gómez et al., 2024).

2.2.4.9. *Mycobacterium orygis*

Mycobacterium orygis se ha aislado principalmente del ganado vacuno, donde puede causar infecciones similares a las causadas por otros miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Además, se han documentado casos de infección en conejos, lo que sugiere que esta especie también podría ser un huésped potencial. Aunque se han informado infecciones en otros mamíferos, el rango exacto de

huéspedes de *M. orygis* aún no está completamente definido, lo que indica que puede haber más especies susceptibles aún por descubrir (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2022).

2.2.4.10. *Mycobacterium microti*

El principal reservorio de *M. microti* son sus roedores, que incluyen ratas y otros pequeños mamíferos. Se ha encontrado en gatos, que frecuentemente contraen la infección a través del contacto con roedores infectados. Además, se han documentado casos en jabalíes, lo que sugiere que esta especie podría operar como hospedador adicional. A pesar de que los roedores son los principales portadores, estos hallazgos sugieren que *M. microti* tiene un rango más amplio de huéspedes potenciales, incluidos tanto animales domésticos como animales silvestres (RumiNews, 2019).

2.2.6. Epidemiología de la tuberculosis bovina

2.2.6.1. Mundial

La OMS señala que la tuberculosis bovina es más común en Asia y África. Se desarrolló una estrategia en 2017 bajo el enfoque de "Una sola salud" para combatir la tuberculosis zoonótica, implementando vigilancia activa y control de movimientos de animales. Sin embargo, la OIE informó que solo el 44 % de los países notificaron casos de tuberculosis bovina entre enero de 2017 y junio de 2018 en la Figura 3 se observa la distribución mundial de TB, y solo una cuarta parte de los países afectados implementó todas las medidas de control necesarias. Para prevenir y controlar la tuberculosis bovina en el origen animal, es esencial mejorar la vigilancia y los informes precisos de los servicios veterinarios nacionales (Cifuentes y Murillo, 2021).

La prevalencia de la tuberculosis bovina varía significativamente entre las áreas. En los países en desarrollo sigue siendo común, aunque está casi erradicada en los países desarrollados o bajo control avanzado. En Europa occidental, Canadá y Estados Unidos, las tasas de infección han caído a menos del 0,1%. A excepción de Nicaragua y el Caribe. El porcentaje de animales afectados en Centroamérica es muy bajo, menos del 0,1%, mientras que Cuba no tiene esta enfermedad. Los niveles más altos de infección de n se encuentran en América del Sur, donde la prevalencia es del 1% o más, y los hatos lecheros son los más afectados. (González, 2019)

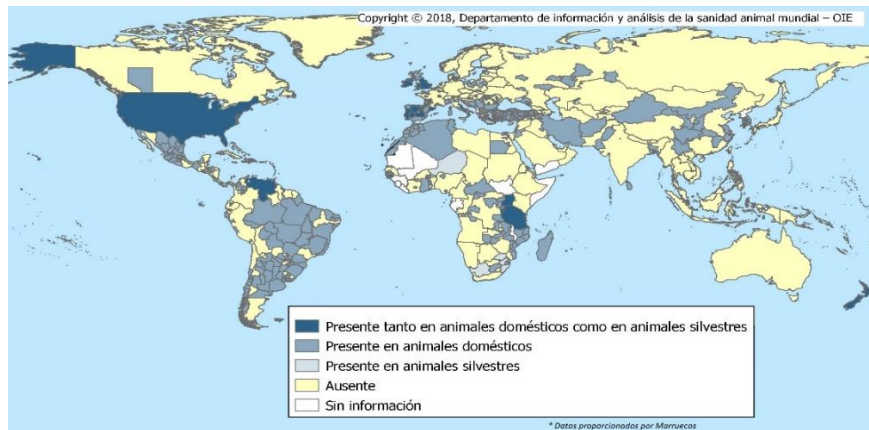


Figura 3. Distribución mundial de la tuberculosis bovina en 2017 y 2018.
Fuente: OMSA (2019)

2.2.6.2. Ecuador

En Ecuador, no se han registrado casos confirmados de tuberculosis bovina. Estos factores incluyen un mal manejo de los métodos de diagnóstico, el llenado incorrecto de registros, una inspección veterinaria inadecuada y la falta de conocimiento sobre la enfermedad por parte de los ganaderos. Se destaca que la información sobre la prevalencia de TBB en Ecuador se obtiene principalmente de instituciones educativas en lugar de organizaciones gubernamentales. Estas investigaciones realizadas por estudiantes en todo el país muestran que el gobierno no tiene un registro preciso de la prevalencia del TBB y no tiene planes u organizaciones efectivas para controlarlo (Cervantes, 2023).

En Ecuador, investigaciones realizadas en diferentes regiones del país revelaron, mediante pruebas de laboratorio, una tasa total de prevalencia de tuberculosis bovina del 4,33%. Se estimó una prevalencia del 4.06% en otras regiones donde se llevaron a cabo investigaciones, lo que destaca la gran cantidad de tuberculosis no diagnosticada en animales sacrificados en el país. Sin embargo, no hay estadísticas sobre esta enfermedad a nivel nacional (Maldonado, 2020).

2.2.6.3. Carchi

En comparación con otras áreas dedicadas a la producción de ganado, la prevalencia de tuberculosis bovina (TBB) es baja en Carchi, una provincia con una gran cantidad de ganado. En 2002, la prevalencia fue del 1,73%, pero disminuyó significativamente a 0,37% en 2013. Sin embargo, todavía muestra TBB. En el cantón Tulcán, en estudios realizados se encontraron prevalencias del 0.54% y 1.05%, lo que indica que la enfermedad sigue presente en la provincia. La adquisición frecuente

de animales en mercados de procedencia desconocida y sin documentos que certifiquen su estado de salud es una posible causa (Acosta y Palacios, 2022).

2.2.7. Transmisión

La tuberculosis bovina es una enfermedad infecciosa que se transmite a través del contacto directo con animales infectados y de forma indirecta mediante superficies contaminadas. Los objetos como el suelo, agua, pasto y alimentos son fuentes de transmisión clave, ya que el agente patógeno puede sobrevivir en ellos durante meses, aumentando el riesgo de propagación en Tabla 2 podemos observar el tiempo de supervivencia de *M. bovis*. La transmisión aérea ocurre cuando un animal infectado tose o exhala gotas de saliva. El contacto cercano entre las vacas lecheras en áreas como comederos y salas de ordeño facilita aún más la diseminación de la enfermedad (Maldonado, 2020).

Tabla 2. Supervivencia de *Mycobacterium bovis* en el medio ambiente

Objeto	Tiempo de supervivencia
Suelo	Hasta 2 años
Estiércol	Varios meses
Polvo	Varias semanas
Leche cruda	Semanas a meses
Tejido de animales	Meses
Fluidos y secreciones	Días a semanas
Agua	Hasta 4 semanas
Pastos	Varias semanas

Fuente: The Center for Food Security and Public Health (2009)

2.2.7.1. Vías de transmisión

Según Sánchez (2024), las principales vías de propagación son las siguientes:

- Vía respiratoria: es la más común (80 a 90% de los casos), se propaga a través de mugidos, estornudos o tos.
- Vía digestiva: el 10 al 20 % de los casos ocurren cuando los terneros ingieren leche no pasteurizada infectada, consumen suelos, pastos, agua, heces u orina infectados con el bacilo. Es crucial comprender que *Mycobacterium bovis* puede sobrevivir en heces, sangre y orina durante un año en promedio a temperaturas de 12–14 °C y protegido del sol, pero disminuye durante 18–31 días a temperaturas de 24–43 °C y también si se expone al sol.
- Vía materno fetal o congénita: hasta el 1% de las vacas afectadas pueden contraer tuberculosis de madre a hijo.

- vía cutánea: El bacilo ingresa a la piel infectada y forma una vía cutánea. La identificación de animales enfermos mediante pruebas bacteriológicas es esencial para prevenir la tuberculosis. El sacrificio y la incineración de los cuerpos ayudan a prevenir la propagación de la enfermedad, y las áreas afectadas deben ser declaradas en cuarentena.

2.2.8. Signos y síntomas

La tuberculosis es una enfermedad sin síntomas ni signos específicos, lo que hace que el diagnóstico clínico sea limitado. El signo clínico más común es la pérdida de peso progresiva, que puede ir acompañada de fiebre fluctuante y, en fases avanzadas de la enfermedad, caquexia (Macalupú, 2021).

Ayana y González (2019) mencionan que los síntomas se pueden dividir en tres fases:

- Fase aguda: La invasión y formación de lesiones en el primer órgano y la diseminación progresiva por todo el organismo, incluyendo la inflamación de los ganglios linfáticos, son características de esta fase. Además, en casos de inmunosupresión, la infección puede progresar a tuberculosis miliar en diversos órganos.
- Fase tardía: los síntomas incluyen debilidad progresiva, fatiga, debilidad y falta de apetito. Se propaga al pulmón, causando taquipnea, disnea y humedad. Ser evidente durante esta fase.
- Fase terminal: A menudo acompañada de síntomas pulmonares graves, la caquexia puede descomponerse en muerte. Acompañada de síntomas pulmonares graves, la caquexia puede descomponerse en muerte.

2.2.9. Lesiones patológicas

La tuberculosis se identifica por la formación de granulomas o tubérculos donde se encuentran las bacterias. Las lesiones se pueden encontrar en diversos órganos y ganglios linfáticos en forma de nódulos o tubérculos con material caseoso purulento de color amarillo, cuyo tamaño y cantidad varían. En el ganado bovino, la tuberculosis puede manifestarse de forma localizada o generalizada, afectando principalmente los ganglios linfáticos de la cabeza y la garganta, así como órganos internos como los pulmones, el bazo y el hígado. En algunos casos avanzados, se han detectado lesiones en el tracto genital. A nivel pulmonar, la enfermedad se caracteriza por la formación de nódulos firmes de superficie lisa, que varían entre 2 y

10 cm de diámetro, y que pueden presentar caseificación y mineralización. Estas lesiones también pueden encontrarse en las serosas y en las cápsulas de los órganos (Villavicencio, 2021).

2.2.10. Control y prevención

Según la Organización Mundial de Sanidad Animal, varios países han logrado controlar la tuberculosis bovina mediante programas nacionales de control y erradicación de enfermedades que incluyen el sacrificio de animales infectados. Sin embargo, debido al sacrificio masivo de ganado, limitaciones financieras, recursos humanos y razones culturales, su implementación puede ser difícil en países gravemente afectados (Álvarez y Rodríguez, 2023).

Estos países suelen utilizar pruebas y aislamiento temprano antes de pasar a sacrificios y pruebas más tarde. Diversos programas de erradicación han tenido éxito gracias a medidas como inspecciones post mortem de carne, vigilancia intensiva en explotaciones, pruebas individuales sistemáticas, eliminación de animales infectados y trazabilidad efectiva (Álvarez y Rodríguez, 2023).

La tuberculosis bovina se controla mediante pruebas individuales antes del sacrificio de animales infectados. Además, los programas de erradicación como el examen post-mortem de la carne, la vigilancia intensiva de las explotaciones, las pruebas individuales sistemáticas y la eliminación de animales infectados, el control de movimientos de animales y la reducción del tiempo de permanencia de animales positivos en las explotaciones afectadas han demostrado ser efectivos (Veliz, 2020).

Los exámenes post-mortem evitan que la carne de animales infectados ingrese a la cadena alimentaria, buscando tubérculos en pulmones y ganglios linfáticos. A diferencia de los humanos, los animales no se vacunan contra la tuberculosis bovina porque las vacunas no siempre funcionan bien y pueden interferir con las pruebas de detección (Veliz, 2020).

2.2.11. Diagnóstico

Para diagnosticar la tuberculosis bovina se pueden utilizar tanto técnicas clínicas como de laboratorio. El diagnóstico se puede realizar con la ayuda de los síntomas del animal, el análisis post mortem y la prueba de tuberculina. En el ámbito del laboratorio, el diagnóstico se realiza a partir de muestras contaminadas o sospechosas que se tamizan y se colocan en medios de cultivo. Para confirmar la

presencia de la enfermedad se realizan pruebas de sensibilidad como el interferón gamma, la prueba serológica de inmunoensayo (ELISA), pruebas bacterianas y moleculares como la PCR (Vargas , 2020).

2.2.11.1. Prueba de tuberculina

Es una de las pruebas estándar confiables utilizadas para diagnosticar tuberculosis en animales vivos. Se utiliza en programas de control y erradicación de la tuberculosis bovina que emplean la estrategia en prueba y sacrificio. La base de esta prueba es la respuesta a la hipersensibilidad de tipo IV (retardada), que se encuentra 72 horas después de la exposición al antígeno. La hipersensibilidad de tipo IV se transfiere a través de células T sensibilizadas en lugar del suero. Estas células T atraen a otras células inmunitarias hacia el sitio de la reacción después de haber sido expuestas al antígeno anterior (Torres, 2019).

La prueba de tuberculina utiliza un derivado proteico purificado como antígeno. Se aplica en pequeñas dosis al pliegue ano caudal (PAC) o al cuello (PCS). Esta prueba no es específica para *Mycobacterium bovis* porque puede mostrar contacto con cualquier tipo de micobacteria. Como resultado, se realiza la prueba cervical comparativa (PCC) mediante el uso de PPD bovino y aviar. El antígeno PPD causa una respuesta inflamatoria localizada en animales sensibilizados en 48 horas en porcinos y aves, y en 72 horas en bovinos y rumiantes. La especificidad de la prueba de tuberculina oscila entre el 98% y el 99,9%, pero su sensibilidad oscila entre el 51% y el 80%, lo que puede resultar en falsos negativos (Flores et al., 2019).

2.2.11.2. Inspección post mortem

Un paso esencial para identificar y tratar la tuberculosis bovina, causada por *Mycobacterium bovis*, es mediante la inspección veterinaria. El objetivo de este procedimiento, que se realiza en los centros de faenamiento, es identificar lesiones relacionadas con la tuberculosis, identificar granulomas de tuberculosis en órganos y tejidos que indiquen la presencia de tuberculosis, implementar una medida de control sanitario para evitar que carne contaminada ingrese a la cadena alimentaria y salvaguardar la salud pública, y establecer un registro epidemiológico que ayude al monitoreo y manejo de la prevalencia de la enfermedad en áreas particulares. La inspección tiene una sensibilidad del 28.2% para detectar tuberculosis y una especificidad del 99.3% para las lesiones identificadas como tuberculosas (Arcos , 2020).

Torres (2017), pasos a seguir para un proceso de inspección:

- Identificación del animal: Antes de la necropsia, se registra el origen y estado del animal, lo que facilita el rastreo epidemiológico.
- Condiciones sanitarias: Asegurar que el entorno de inspección cumpla con las normativas sanitarias.
- Inspección visual: Evaluar el estado general del cadáver, buscando signos evidentes de enfermedad o lesiones externas.
- Examen de la cabeza, se retiran las linfoglándulas retrofaríngeas, submaxilares, parotídeas y amígdalas para buscar lesiones tuberculosas.
- Examen de la cavidad torácica, los pulmones se examinan meticulosamente, palpando y realizando cortes foliados en los ganglios bronquiales y mediastínicos.
- Examen de carcasa, las medias reses, cabeza y vísceras se inspeccionan en busca de adherencias o lesiones. Se realizan incisiones en linfoglándulas preescapulares, prefemorales e inguinales.
- Toma de muestras, se recolectan ganglios linfáticos y trozos de órganos (pulmón, hígado, bazo) para análisis bacteriológicos e histopatológicos.

2.2.11.3. Medios de cultivo

Su objetivo es confirmar la infección en animales sacrificados y permitir la identificación de la especie de micobacteria y su caracterización molecular para buscar el origen y las relaciones epidemiológicas de la infección. El crecimiento del *Mycobacterium bovis* requiere una temperatura de 37°C y su aparición puede tardar entre 6-8 semanas, ya que la enfermedad es de desarrollo lento. El cultivo no da falsos positivos y un resultado positivo confirma la presencia del agente patógeno. Sin embargo, la falta de crecimiento bacteriano no significa que no haya infección (Jakes, 2022).

2.2.11.3.1. Medio de cultivo STONEBRINK

Este medio se emplea para el cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* variedad *bovis*, ya que crea un ambiente favorable para su desarrollo. Contiene verde de malaquita, que impide el crecimiento de flora acompañante Gram positiva y de algunas bacterias Gram negativas. Su composición incluye fosfato monosódico, fosfato

disódico, piruvato de sodio, huevos frescos enteros, verde de malaquita y agua purificada. El piruvato favorece el crecimiento de *M. bovis*. No obstante, para obtener resultados óptimos, es fundamental seguir procedimientos clave, como un adecuado procesamiento de la muestra, una descontaminación en el tiempo correcto y asegurar condiciones óptimas de ubicación y temperatura (Vargas , 2020).

2.2.11.3.2. Medio de cultivo Ogawa Kudoh

El medio de cultivo Ogawa Kudoh es selectivo y se emplea para el aislamiento y cultivo de micobacterias, a excepción de *M. leprae*. Cuando se utiliza de manera adecuada, permite la identificación de al menos diez BAAR en una muestra, lo que aumenta su sensibilidad. Para preservar su eficacia, debe almacenarse en su envase original entre 4 y 8°C, protegido de la luz directa. Su pH es de 6.4 y está compuesto por sales como citrato de magnesio, sulfato de magnesio, glutamato de sodio, fosfato disódico, fosfato mono potásico anhidro, glicerol, verde de malaquita y homogeneizado de huevo. Aunque no es exclusivo para *M. tuberculosis*, también permite el crecimiento de otras micobacterias, incluidas algunas no patógenas (García y Vera, 2021).

2.2.11.4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), descubierta en 1983 por el bioquímico Kary Mullis, transformó la biología molecular al hacer posible la amplificada acción masiva de secuencias de ADN. Esta técnica ha sido fundamental en genética, diagnóstico médico y criminalística. Gracias a este descubrimiento, que permite estudiar el ADN en detalle a partir de muestras diminutas, Mullis fue galardonado con el Premio Nobel en 1993, marcando un hito en las ciencias biomoleculares (Kossakovski, 2021).

La PCR es un método de trabajo que amplifica un segmento específico de ADN de un pequeño volumen de material genético. Este método es rápido, sensible y específico al realizar ciclos de temperaturas específicas. Su principal beneficio es facilitar la identificación de la acción del ADN de una bacteria en muestras biológicas, como la sangre, permitiendo una detección más fácil del agente causal de enfermedades (Gaibor y Miguez, 2024).

Onelab (2024), el proceso de PCR se desarrolla en tres etapas fundamentales que son:

- **Desnaturalización (96°C)**, Durante 20 –30 segundos, las cadenas de ADN se retardan y separan a altas temperaturas; la duración varía según la cantidad de G–C y de la velocidad con la se aumenta la temperatura. Las cadenas separadas que se utilizarán como plantilla para el siguiente paso.
- **Hibridación (55°C- 65°C)**, para que los cebadores puedan unirse a sus secuencias complementarias al ADN molde.
- **Extensión (72°)**, para que los primers empiecen su función catalítica, la Taq polimerasa debe actuar sobre estos a una velocidad muy rápida; se agregan dNTP's adicionales para crear las cadenas completas de ADN.

Tamay de Dios et al. (2013), los componentes importantes para el desarrollo de la amplificación del ADN mediante PCR son:

- **Primers**, pequeñas secuencias de ADN diseñadas para unirse a regiones específicas del ADN que se quiere amplificar, marcando el inicio del proceso de duplicación. Sus concentraciones están entre 0.2 - 1 μ M, adecuadas para un inicio específico y eficiente de la amplificación.
- **dNTPs**, son los nucleótidos (adenina, timina, guanina y citosina) que se incorporan al ADN durante la PCR para crear nuevas cadenas de ADN. Con una concentración entre 50 - 200 μ M, en equilibrio para evitar errores y asegurar la incorporación de nucleótidos.
- **Tampón (buffer)**, con una concentración de 1X para mantener el pH y las condiciones óptimas de la reacción, asegurando que la ADN polimerasa funcione eficientemente.
- **ADN polimerasa (como Taq)**, es la enzima que sintetiza nuevas cadenas de ADN a partir de los nucleótidos, trabajando a altas temperaturas. Con una concentración de aproximadamente 2 U por 100 μ L de reacción, ajustada según el tamaño de la muestra.
- **MgCl₂ (cloruro de magnesio)**, Actúa como un cofactor esencial para el funcionamiento de la ADN polimerasa, facilitando su correcta unión al ADN. Requiere concentraciones entre 2 y 4 mM, siendo un elemento clave tanto para la actividad de la enzima como para la precisión de la reacción.

La identificación de micobacterias aisladas de medios líquidos o sólidos mediante el uso de técnicas de biología molecular permite diagnósticos más rápidos y confiables.

Algunas técnicas comerciales se basan en la amplificación de secuencias génicas específicas del género *Mycobacterium* mediante PCR. Estas técnicas son útiles para diferenciar el complejo *M. tuberculosis* de otras micobacterias, aunque no entre sus miembros debido a la invariabilidad genética de los loci utilizados. Se utiliza la PCR con oligonucleótidos específicos para amplificar fragmentos de ADN del complejo *M. tuberculosis* para confirmar el diagnóstico de TB (Chávez et al., 2004).

2.2.11.4.1 PCR convencional para *Mycobacterium tuberculosis*

La PCR convencional es una técnica molecular clave para la identificación de *Mycobacterium bovis*, causante de la tuberculosis bovina y relevante en la salud pública por su zoonosis. Utiliza cebadores específicos, como los del inserto IS6110 utilizado como un marcador genético en la PCR para detectar *M. tuberculosis* y diferenciarlo de otras especies, y condiciones de reacción que incluyen Tris-HCl, cloruro de magnesio y Taq polimerasa, con un ciclo de amplificación que alcanza hasta 45 ciclos para asegurar la sensibilidad (Hernández et al., 2019).

2.2.11.4.2 PCR *Mycobacterium bovis*

Para diferenciar *M. bovis* de *M. tuberculosis*, se emplea un sistema de PCR basado en la presencia o ausencia de regiones específicas del genoma, como RD1 y RD9.

- **RD1 (región of difference 1)**, es una región genética que se pierde en *M. bovis* en comparación con *M. tuberculosis*. Los cebadores diseñados para amplificar esta región ayudan a confirmar la presencia de *M. bovis* (Yang et al., 2014).
- **RD9**, es otra región de diferencia que permite distinguir entre *M. bovis* y otras cepas del complejo *M. tuberculosis*. La amplificación de RD9 se utiliza para confirmar el diagnóstico de infecciones por *M. bovis* (Gurrola et al., 2018).

2.2.11.5.2. Electroforesis

La electroforesis se utiliza para separar fragmentos de ácidos nucleicos. Para ello, se emplean polímeros como la agarosa o la poliacrilamida, que se colocan en una cubeta de electroforesis sumergida en un tampón de pH cercano a 8. Las moléculas de ADN o ARN, que tienen carga negativa en condiciones de pH superiores a 5, migrarán hacia el polo positivo en el campo eléctrico, permitiendo así su separación y posterior análisis. Los geles en electroforesis funcionan como un tamiz, separando moléculas cargadas en base a su tamaño y forma. Fragmentos de ADN de distintos

tamaños migran de forma diferente a través del gel, y la distancia que recorre cada una o es inversamente proporcional al logaritmo de su peso molecular (Padilla et al.).

La concentración del gel, que varía entre 0,5% y 2%, se ajusta según el tamaño de los fragmentos a separar: geles menos concentrados son ideales para fragmentos grandes (>1.000 pb), mientras que los más concentrados son mejores para fragmentos pequeños (<500 pb). El voltaje aplicado, generalmente entre 5-10 V/cm, determina la velocidad de migración, siendo común usar 80-120 V para geles pequeños, aunque valores más altos pueden distorsionar las bandas por el calor generado. El tiempo de ejecución, aproximadamente de 30-60 minutos, varía con la concentración del gel, el tamaño del gel y el voltaje, mientras se monitorea el marcador de peso molecular para evitar sobrecargas (Pérez y Gómez, 2019).

Es esencial usar marcadores de tamaño conocido para estimar los pesos moleculares de las muestras de ADN. El gel es de agarosa; se añade bromuro de etidio, un compuesto que se intercala entre las bases del ADN y se vuelve fluorescente bajo luz ultravioleta. Luego de la electroforesis, se ilumina el gel con una lámpara UV, permitiendo observar las bandas que corresponden tanto a las muestras de ADN como a los marcadores de peso molecular (Padilla et al.).

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

Esta investigación tiene un enfoque cualitativo, se centra en la identificación y confirmación de *Mycobacterium bovis* en nódulos tuberosos de pulmones provenientes del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán.

3.1.2. Tipo de Investigación

El enfoque de esta investigación es de tipo descriptivo, a través de técnicas moleculares, como la PCR, se podrá detectar la presencia o ausencia de *Mycobacterium bovis* en muestras obtenidas de nódulos tuberculosos en los pulmones.

3.2. IDEA A DEFENDER

La implementación de pruebas de diagnóstico molecular detecta *Mycobacterium bovis* en nódulos tuberculosos de bovinos en el centro de faenamiento de Tulcán.

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla 3. Definición y operacionalización de variables

VARIABLES	DIMENSIÓN	INDICADORES	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Independientes				Termociclador
	Reacción en cadena de la polimerasa	Amplificación del ADN Temperaturas	PCR	Micropipetas
Técnicas moleculares	Separación de fragmentos de ADN, ARN o proteínas	Observación de las bandas	Electroforesis	Gel de agarosa Cámara de electroforesis
Calidad de las muestras	Técnica de obtención	Tiempo de almacenamiento Método de conservación.	Observación	Análisis de lesiones compatibles con TB
Dependientes				
Identificación del MTBC	Presencia Ausencia	Presencia de la banda específica 123 pb	Comparación	Observación
Identificación de <i>Mycobacterium bovis</i>	Presencia Ausencia	Presencia de la banda específica 108 pb		

3.4. MÉTODOS UTILIZADOS

3.4.1. Ubicación de la investigación

El trabajo fue realizado en el laboratorio de Diagnóstico Veterinario de la Universidad Politécnica del Carchi, ubicado en la Avenida Universitaria, en el cantón Tulcán, Provincia del Carchi.

3.4.2. Toma de muestras

En el centro de faenamiento de Tulcán, se realizó una inspección post mortem de pulmones, de 200 animales. Para evitar la contaminación y asegurar la integridad de las muestras, se implementaron medidas estrictas de bioseguridad, tales como el uso de guantes estériles y equipo de protección personal. Las muestras se colocaron en fundas independientes, etiquetadas con la información relevante, incluyendo fecha, transportadas al Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de la UPEC, donde se mantuvieron congeladas a -20°C hasta su procesamiento en laboratorio.

3.4.3. Fase de laboratorio

3.4.3.1. Procesamiento de las muestras

Las muestras se procesaron en condiciones estériles en una cámara de flujo laminar en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de la UPEC, para evitar la contaminación cruzada durante la descongelación. Se identificaron las lesiones granulomatosas como nos indica la Figura 4 y se tomaron fragmentos de estas lesiones utilizando tijeras y pinzas esterilizadas. Los fragmentos se colocaron en tubos sellados y etiquetados adecuadamente. Posteriormente, las muestras se congelaron a -20°C hasta su uso para la extracción de ADN.

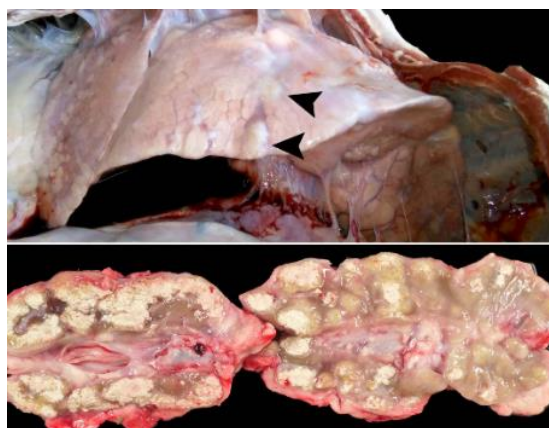


Figura 4. Lesiones tuberculosis bovina
Fuente: Cresa (2017)

3.4.3.2. Extracción de ADN

Para la extracción de ADN un comercial de la marca Invitrogen:

- Se colocaron 25 mg de nódulos tuberosos en tubos de 3 ml.
- Se añadieron 180 μ L de tampón de digestión y 20 μ L de proteinasa K, asegurando que el tejido quedara completamente sumergido.
- Se incubó a 55 °C con agitación ocasional hasta completar la lisis, durante un período de 1 a 4 horas.
- Se centrifugó el lisado a velocidad máxima durante 3 minutos a temperatura ambiente.
- Se transfirió el sobrenadante a un tubo de microcentrífuga nuevo y estéril.
- Se añadieron 20 μ L de RNasa A al lisado, se mezcló bien y se incubó a temperatura ambiente durante 2 minutos.
- Se incorporaron 200 μ L de tampón de unión/lisis genómica y se mezcló bien.
- Se añadieron 200 μ L de etanol al 96–100 % al lisado y se mezcló agitando durante 5 segundos.

Unión ADN

- Se agregó el lisado (~640 μ L) preparado con PureLink® Genomic Lysis/Binding Buffer y etanol a la PureLink® Spin Column.
- Se centrifugó la columna a 10,000 \times g durante 1 minuto a temperatura ambiente.
- Se desechó el tubo de recolección y se colocó la columna de centrifugación en un tubo de recolección PureLink® limpio.

Lavado de ADN

- Se agregaron 500 μ L de tampón de lavado 1 preparado con etanol a la columna.
- Se centrifugó la columna a temperatura ambiente a 10,000 \times g durante 1 minuto.
- Se desechó el tubo de recolección y se colocó la columna de centrifugación en un tubo de recolección limpio.

- Se agregaron 500 µL de tampón de lavado 2 preparado con etanol a la columna.
- Se centrifugó la columna a máxima velocidad durante 3 minutos a temperatura ambiente y se desechó el tubo de recolección.

Elución de ADN

- Se colocó la columna de centrifugación en un tubo de microcentrífuga estéril de 1,5 ml.
- Se agregaron 25–200 µL de tampón de elución genómica PureLink® a la columna.
- Se incubó a temperatura ambiente durante 1 minuto y se centrifugó la columna a máxima velocidad durante 1 minuto. El tubo contenía ADN genómico purificado.
- Para recuperar más ADN, se realizó un segundo paso de elución utilizando el mismo volumen de tampón de elución en otro tubo de microcentrífuga estéril de 1,5 ml.
- Se centrifugó la columna a máxima velocidad durante 1,5 minutos a temperatura ambiente.
- El tubo contenía ADN purificado. Se retiró y desechó la columna.

Almacenamiento de ADN

- Almacene el ADN purificado a –20 °C o utilice el ADN para la aplicación posterior deseada.

3.4.3.3. Validación de temperaturas para el complejo *Mycobacterium tuberculosis*

Para la validación del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), se emplearon gradientes de temperatura que oscilaron entre 64° a 72° C, este rango permitió observar la eficiencia y especificidad de la amplificación en cada temperatura, optimizando las condiciones de alineación con se indica en la Tabla 4. El número de ciclos utilizado fue de 35.

Tabla 4. Parámetros para el termociclador

Parámetros	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización inicial	94 °C	5 min
Desnaturalización	94 °C	2 min
Hibridación	64 °C - 72 °C	2 min
Replicación	72 °C	5 min
Almacenamiento	8 °C	0

Fuente: Vatani et al. (2011)

3.4.3.4. Validación de temperaturas para *Mycobacterium bovis*

De manera similar, la validación de *Mycobacterium bovis* se llevó a cabo empleando un gradiente de temperaturas entre 59 °C y 70 °C como se muestra en la Tabla 5. Este procedimiento tuvo como objetivo identificar la temperatura óptima de alineación para la amplificación específica de *M. bovis*.

Tabla 5. Parámetros para el termociclador

Parámetros	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización inicial	95 °C	5 min
Desnaturalización	94 °C	40 seg
Hibridación	59 °C - 70 °C	40 seg
Replicación	72 °C	10 min
Almacenamiento	8 °C	0

Fuente: Vatani et al. (2011)

3.4.3.5. PCR Complejo *Mycobacterium tuberculosis*

Para la identificación de cepas pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis* se utilizó el elemento IS6110, siendo un marcador común y específico para este complejo. Se utilizó primers diseñados para amplificar un fragmento de 123 pb como se indica en la Tabla 6. Y los parámetros establecidos para el termociclador se muestran en la Tabla 8.

Tabla 6. Secuencia de primers para MTBC

IS6110	Secuencia de primers
Forward	5' CCTGCGAGCGTAGGCGTCGG 3'
Reverse	5'CTCGTCCAGCGC CGCTTCGG 3'

Fuente: Vatani et al. (2011)

Para realizar la mezcla de reacción para 20 µL se utilizaron los siguientes reactivos y cantidades como se detallan en la Tabla 7.

Tabla 7. Reactivos para la PCR

Reactivos	Volumen final
Master Mix	12,5 µL
Forward	0,5 µL
Reverse	0,5 µL
H ₂ O	6,5 µL
DNA	5 µL

Fuente: Vatani et al. (2011)

Tabla 8. Condiciones para el termociclador

Parámetros	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización inicial	94 °C	5 min
Desnaturalización	94 °C	2 min
Hibridación	Según los resultados de la validación	
Replicación	72 °C	5 min
Almacenamiento	8 °C	0

Fuente: Vatani et al. (2011)

3.4.3.6. PCR *Mycobacterium bovis*

Para identificar los fragmentos RD1 y RD9 en *M. bovis*, se utilizaron primers específicos. En la Tabla 9 se muestran los primers utilizados y las bandas de identificación correspondientes.

Tabla 9. Bandas de identificación y secuencia de primers utilizados para *Mycobacterium bovis*

Bandas de identificación	Secuencia de primers
RD9 (108 pb)	5'-CAAGTTGCCGTTTCGAGCC-3' 5'-CAATGTTTGTGCGCTGC-3' 5'-GCTACCCTCGACCAAGTGTT-3'
RD1 (146-150 pb)	5'-AAGCGGTTGCCGCCGACCGACC-3' 5'-CTGGCTATATTCCTGGGCCCGG-3' 5'-GAGGCGATCTGGCGGTTGGGG-3'

Fuente: Vatani et al. (2011)

Los cálculos necesarios para preparar un volumen final de reacción de 20 µl fueron realizados previamente. La Tabla 10 presenta las cantidades específicas de cada reactivo, así como el orden en que fueron añadidos a la mezcla. Por otro lado, la Tabla 11 muestra los parámetros establecidos para llevar a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Tabla 10. Reactivos utilizados para la PCR

Reactivos	Concentraciones iniciales	Volumen final (1X)
Mater mix	12.5 µL	12.5 µL
P1	0.2 µL	0.2 µL
P2	0.2 µL	0.2 µL
P3	0.2 µL	0.2 µL
P4	0.2 µL	0.2 µL
P5	0.2 µL	0.2 µL
P6	0.2 µL	0.2 µL
H ₂ O	-	6.3 µL

- Se colocó 20 µl del mix en tubos de 200 µl.
- A cada tubo de 200 µl se le agregó 5 µl de ADN extraído.
- Según los parámetros específicos que se indican a continuación, se realizó la amplificación en el equipo.
- El número de ciclos fue 35.

Tabla 11. Condiciones para el termociclador

Parámetros	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización inicial	95 °C	5 min
Desnaturalización	94 °C	40 seg
Hibridación	Según los resultados de la validación	
Replicación	72 °C	10 min
Almacenamiento	8 °C	0

3.4.3.5. Electroforesis

- Las bandas se visualizaron en gel de agarosa al 2%, el cual fue preparado con 50 ml de buffer TBE.
- Se colocaron las muestras en el tanque de electroforesis, con los marcadores de peso molecular (50 pb) a 90 voltios durante 45 minutos.
- Por último, se observaron las bandas con luz UV en el transiluminador.

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.5.1. Toma de muestras

Se tomaron 45 muestras de nódulos tuberosos de pulmones de bovinos en el centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, de un total de 200 animales analizados. Esta cantidad de muestras refleja la limitada entrada de animales con signos de la enfermedad, debido a la falta de controles sanitarios en los hatos ganaderos.

3.5.2. Estadística descriptiva

En el presente estudio, se utilizó estadística descriptiva para organizar los datos recolectados sobre la presencia de *Mycobacterium bovis* en las muestras analizadas. Aunque el enfoque general de esta investigación es cualitativo, la estadística descriptiva permite organizar la información en porcentajes de muestras positivas y negativas, proporcionando una visión general de la distribución de este patógeno en el conjunto de datos. La representación de los resultados fue mediante tablas y gráficos, ayudando a una interpretación más clara de los hallazgos (Rendón et al., 2019).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Inspección veterinaria

Se realizó una inspección post- mortem de 200 bovinos, identificándose 45 (22,5 %) animales con lesiones compatibles a la TB a nivel de pulmones. Los resultados se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Resultados de Inspección veterinaria

Inspección veterinaria	Animales	Porcentaje
Positivas	45	22,5 %
Negativas	155	77,5%
Total	200	100%

4.1.2. Validación de técnicas

4.1.2.3. Validación del complejo *Mycobacterium tuberculosis*

Para la validación del complejo *Mycobacterium tuberculosis* se aplicaron gradientes de temperatura entre 64 a 72°C, durante la reacción de PCR, obteniéndose como temperatura óptima de amplificación 68°C. Este resultado se observa en la Figura 5, donde se aprecian las bandas con mayor claridad.

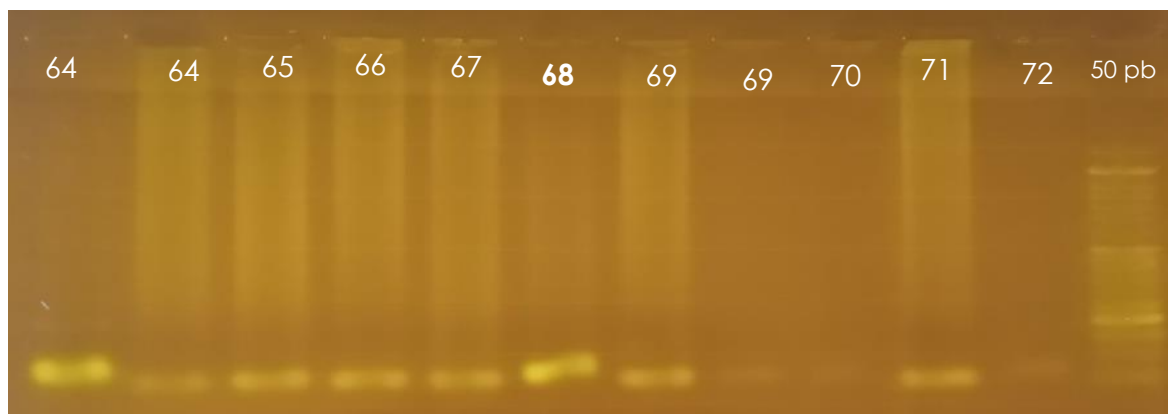


Figura 5. Gradiente complejo *Mycobacterium tuberculosis*

4.1.2.4. Validación para *Mycobacterium bovis*

Para la validación de *Mycobacterium bovis* se aplicaron gradientes de temperatura entre 59 a 70 °C durante la hibridación, obteniéndose como temperatura óptima de amplificación 62°C. Este resultado se observa en la Figura 6, donde se puede observar con mayor claridad la banda correspondiente.

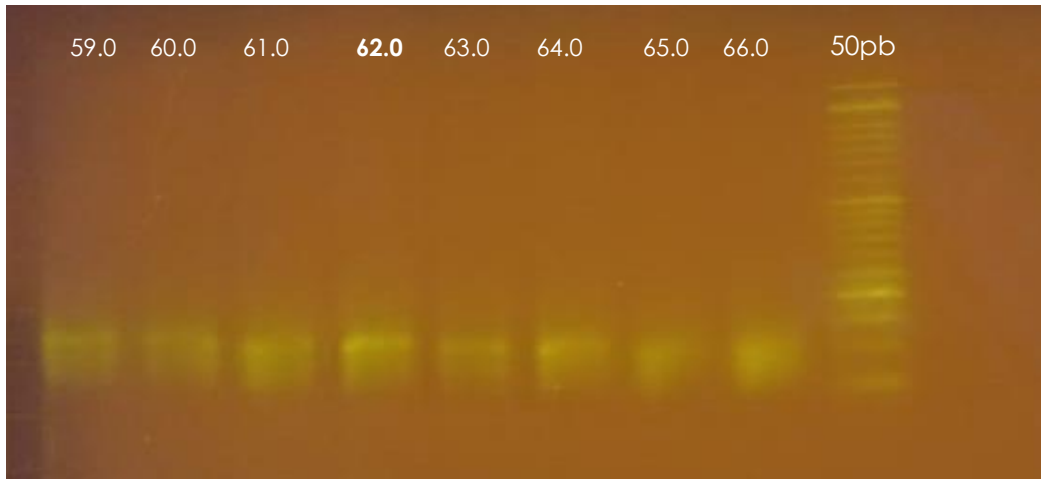


Figura 6. Gradiente de *Mycobacterium bovis*

4.1.3. Complejo *Mycobacterium tuberculosis*

De las 45 muestras identificadas con lesiones compatibles a TB, se sometieron a prueba mediante PCR. Como resultado se detectaron 10 muestras pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis*, las cuales se confirmaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% como se observa en la Figura 7 bandas correspondientes a 123 pb. Y la Tabla 13 nos indica las muestras positivas al MTBC.

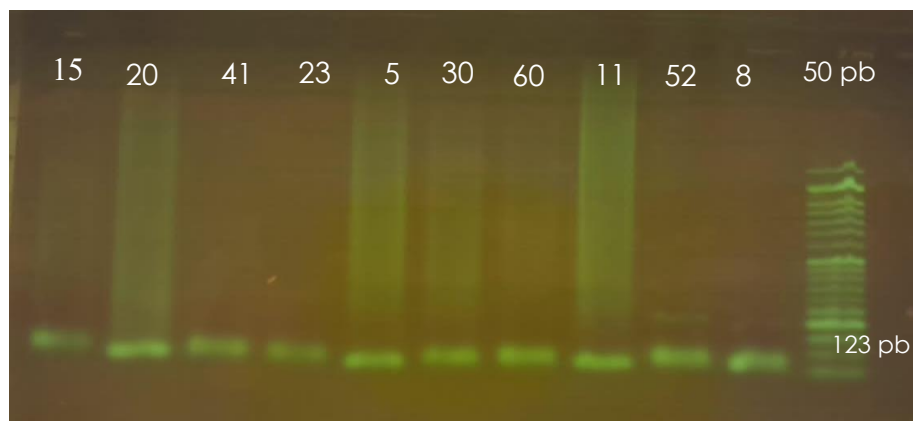


Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa MTBC

Tabla 13. Resultados de PCR complejo *Mycobacterium tuberculosis*

NÚMERO	PCR
15	MTBC
20	MTBC
41	MTBC
23	MTBC
5	MTBC
30	MTBC
60	MTBC
11	MTBC
52	MTBC
8	MTBC

4.1.4. *Mycobacterium bovis*

De las 10 cepas identificadas como pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), se realizó una PCR utilizando cebadores específicos para *Mycobacterium bovis*, logrando identificar 7 muestras correspondientes a *M. bovis*. Los resultados se confirmaron mediante observación en gel de electroforesis Figura 8 donde se puede observar bandas correspondientes a 108 pb y se detallan en la Tabla 14.

Tabla 14: Resultados de PCR a *Mycobacterium bovis*

NUMERO	PCR
20	<i>M. bovis</i>
5	<i>M. bovis</i>
11	<i>M. bovis</i>
8	<i>M. bovis</i>
41	<i>M. bovis</i>
30	<i>M. bovis</i>
52	<i>M. bovis</i>

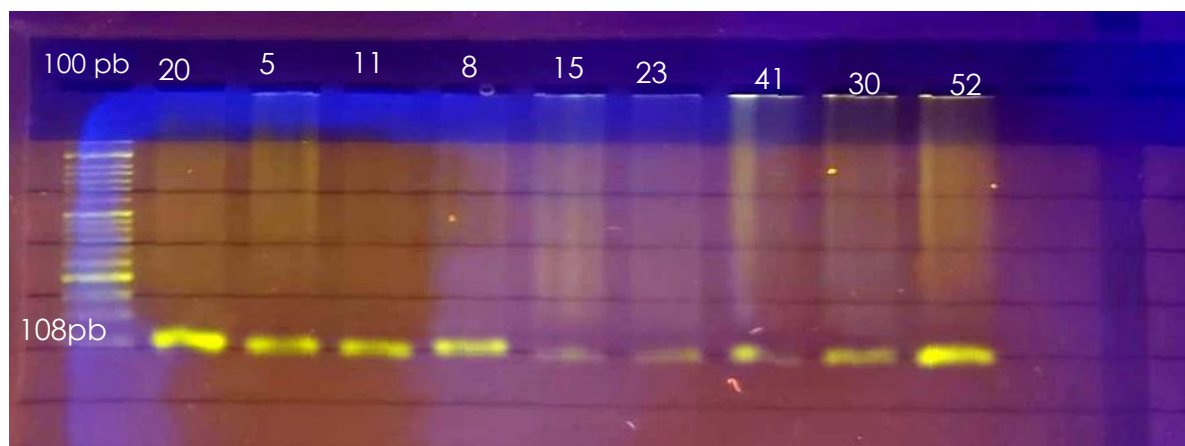


Figura 8. Electroforesis en gel de agarosa *Mycobacterium bovis*

4.1.5. Identificación de *Mycobacterium bovis*

En la inspección post mortem realizada en el centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, se identificaron lesiones compatibles con tuberculosis en 45/200 (22,5%) bovinos analizados. De estos 45 animales con lesiones compatibles, 10/45 (22,2%) fueron positivos al complejo *Mycobacterium tuberculosis*. De los 10 casos positivos al complejo *Mycobacterium tuberculosis*, 7/10 (70%) fueron positivos a tuberculosis bovina, causada por *Mycobacterium bovis*. La Tabla 15 presenta un resumen de los resultados obtenidos.

Tabla 15. Identificación de *Mycobacterium bovis*

Análisis	cantidad	Porcentaje
Inspección Post mortem	45/200	22,5%
Complejo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	10/45	22,2 %
<i>Mycobacterium bovis</i>	7/10	70%

4.2. DISCUSIÓN

En la presente investigación, los resultados obtenidos mediante la inspección post mortem de tuberculosis TB en el centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán fueron del 45/200 (22,45%) animales con lesiones compatibles a TB. Estos resultados son similares a los reportados por Álvarez y Rodríguez (2023) en su estudio "Prevalencia de *Mycobacterium spp.* en canales de bovinos sacrificados en el centro de faenamiento del cantón El Carmen", donde se encontró una prevalencia del 15,74%, lo que indica que la enfermedad sigue presente en el país. Sin embargo, en la investigación de Rosas (2021) realizada en el camal de Tulcán, la prevalencia mediante inspección post mortem fue significativamente mayor, alcanzando el 43,25% (125/289). Esto resalta la alta incidencia de la enfermedad en algunos centros de faenamiento y su impacto en la ganadería local.

En cuanto a la validación de las técnicas moleculares, se utilizó un gradiente de temperaturas entre 64°C y 72°C durante la etapa de hibridación del PCR. Los resultados mostraron que a 68°C se observó la banda correspondiente al complejo *Mycobacterium tuberculosis* con mayor claridad, lo que indica una mayor especificidad y estabilidad de las interacciones entre los primers y el ADN. Estos hallazgos son consistentes con los obtenidos por Vatani et al. (2011) en su estudio sobre la diversidad genética de *Mycobacterium tuberculosis*, donde también emplearon un rango de temperaturas similares, lo que permitió resultados confiables para la tipificación del complejo. La relación entre ambos estudios subraya la

relevancia de optimizar la temperatura de hibridación como un paso crítico para maximizar la exactitud en la identificación molecular del complejo.

De los 45 animales con lesiones compatibles a TB 10/45 (22,2%) fueron positivos al complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Este resultado es comparable con los obtenidos por Villavicencio (2021), quien reportó una prevalencia del 4,7% (18/385) utilizando el medio de cultivo Stonebrink en muestras de nódulos pulmonares y linfáticos. Además, en el estudio de Rosas (2021), se identificaron 5 cepas pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis* mediante PCR.

En la identificación de *Mycobacterium bovis* mediante PCR, se utilizaron las 10 cepas identificadas como positivas al complejo *Mycobacterium tuberculosis*, de las cuales 7/10 (70 %) fueron positivas a *Mycobacterium bovis*. Estos resultados coinciden con los de Guananga (2020), quien reportó una prevalencia de 0,52% (2/385) en su estudio realizado en Riobamba, lo que indica una baja prevalencia en comparación con los animales muestreados. Sin embargo, algunos estudios han reportado una prevalencia de 0% utilizando PCR, como en el caso de Cruz y Pozo (2019) en Daule, lo cual podría estar relacionado con la menor prevalencia de tuberculosis en bovinos de la costa frente a los de la Sierra.

También se encuentran estudios como el de Barberán y Cedeño (2021), que reportaron una prevalencia del 6% (8/132) positiva a *Mycobacterium bovis* mediante cultivos bacteriológicos, o el de García y Vera (2021), quienes informaron una prevalencia del 0,87% (2/229) en el camal municipal de Chone. Sin embargo, pocos estudios han utilizado la PCR como método de identificación de *Mycobacterium bovis*, lo cual es crucial debido a la especificidad de la técnica y la eliminación de falsos negativos.

La aplicación del diagnóstico molecular mediante PCR en Tulcán se muestra como una estrategia fundamental para el control de la tuberculosis bovina, ya que su alta sensibilidad y especificidad permiten una detección precisa del agente causal de la enfermedad. La rapidez y exactitud de esta técnica mejoran la detección temprana, lo que facilita la implementación de medidas de control, como el aislamiento de animales infectados y la prevención de la propagación en los rebaños. Esto no solo contribuye a reducir las pérdidas económicas en la producción y comercialización del ganado, sino que también protege la salud pública en la ciudad.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- La inspección post mortem realizada en el centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán reveló que 45/200 (22,5%) de los animales presentaron lesiones compatibles con tuberculosis. Este hallazgo subraya la presencia de la enfermedad en la región y la necesidad de continuar con el monitoreo de la salud animal en los centros de faenamiento.
- La validación de las técnicas moleculares permitió establecer que la temperatura óptima para realizar el PCR del complejo *Mycobacterium tuberculosis* es 68°C y para *Mycobacterium bovis* es 62°C. Estos parámetros son fundamentales para obtener resultados más confiables y específicos en la detección molecular de la tuberculosis bovina.
- Mediante la técnica de PCR, se identificó 10/45 (22,2 %) de las muestras como pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis*, destacando la eficacia del PCR para la detección temprana de la tuberculosis bovina.
- Se identificó 7/10 (70 %) muestras positivas a *Mycobacterium bovis* en el centro de faenamiento de Tulcán, lo que confirma la presencia de este agente patógeno y la necesidad de aplicar estrategias de control específicas para la tuberculosis bovina.

5.2. RECOMENDACIONES

- Capacitar a los profesionales veterinarios y personal de los centros de faenamiento sobre técnicas de inspección post mortem y la correcta identificación de lesiones compatibles con tuberculosis bovina, para mejorar la detección temprana y el manejo de la enfermedad en los animales sacrificados.
- Implementar un manejo adecuado de las muestras para evitar contaminaciones cruzadas, particularmente aquellas asociadas al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MBTC).
- Utilizar PCR como prueba de "screening" en animales con lesiones tuberosas sospechosas, ya que esta técnica de punto final tiene una alta sensibilidad y especificidad, lo que permite detectar con precisión la presencia de los microorganismos del complejo *Mycobacterium tuberculosis*.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, J., y Palacios, K. (2022). *Prevalencia de Tuberculosis Bovina (TBB) (Mycobacterium spp.) y factores de riesgo asociados, en la Provincia del Carchi.* Universidad Politécnica Estatal del Carchi: <https://revistasdigitales.upec.edu.ec/index.php/sathiri/article/view/1134>
- Álvarez, K., y Rodríguez, M. (2023). *PREVALENCIA DE Mycobacterium spp. EN CANALES DE BOVINOS SACRIFICADOS EN CENTRO DE FAENAMIENTO DEL CANTÓN EL CARMEN . ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ :* https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/2090/1/TIC_MV21D.pdf
- Arcos , F. (2020). *PRESENCIA DE Mycobacterium bovis EN GANADO FAENADO EN EL MATADERO MUNICIPAL DEL CANTÓN EL TRIUNFO .* <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/CALLE%20DOMINGUEZ%20MARIA%20ELIZABETH.pdf>
- Asas, G. (2023). *Incidencia de tuberculosis en bovinos, que se faenan en el camal Municipal de Babahoyo. .* UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO : <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/14079/TE-UTB-FACIAG-MVZ-000053.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ayana, M., y González , A. (2019). *Revisión bibliográfica de la tuberculosis bovina y su potencial zoonótico en Colombia en los años 2010 a 2017 .* <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/3717/Revisi%3fb3n%20bibliogr%3a1fica%20de%20la%20tuberculosis%20bovina%20y%20su%20potencial%20zoon%3btico%20en%20Colombia%20en%20>
- Barberán, T., y Cedeño, I. (2021). *INCIDENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA (Mycobacterium bovis.) EN CANALES DE BOVINOS FAENADOS EN EL MATADERO MUNICIPAL DE LA PARROQUIA CHARAPOTÓ DEL CANTÓN SUCRE. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ.*
- Bermudez, L., y Sangari, F. (2001). Cellular and molecular mechanisms of Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium bovis pathogenesis. *Veterinary Microbiology*(4), 363-374.
- Broughan, J., Cameron, A., Cook, A., Rúa, R., Goodchild, A., Gunn, J., . . . Wool, J. (2019). Metaanálisis de la sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas ante mortem y post mortem para la tuberculosis bovina en el Reino Unido e Irlanda. *Elsevier.*
- Buddle, B., Vordermeier, H., Chambers, M., y Lorst, L. (2023). *Vacuna BCG para el control de la tuberculosis en el ganado.*

<https://axoncomunicacion.net/vacuna-bcg-para-el-control-de-la-tuberculosis-en-el-ganado/>

- Calle, M. (2020). *PRESENCIA DE Mycobacterium bovis EN GANADO FAENADO EN EL MATADERO MUNICIPAL DEL CANTÓN EL TRIUNFO*. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/CALLE%20DOMINGUEZ%20MARIA%20ELIZABETH.pdf>
- Cassidy, J. (2006). The pathogenesis and pathology of bovine tuberculosis with insights from studies of tuberculosis in humans and laboratory animal models. *Vet Microbiol*. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.031>
- Cervantes, M. (2023). *DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS CON LA PRUEBA DE TUBERCULINA (PPD) EN GANADERÍAS PRODUCTORAS DE LECHE*. UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR: <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/CERVANTES%20POLANCO%20MANUEL%20ALEJANDRO.pdf>
- Chávez, C., Díaz, F., Arriaga, C., Villegas, N., Pérez, R., y González, D. (2004). *Concordancia de la PCR y métodos rutinarios para el diagnóstico de tuberculosis bovina*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2004/vm043f.pdf>
- Cifuentes, J., y Murillo, A. (2021). *PREVENCIÓN Y DIAGNÓSTICO EN TUBERCULOSIS BOVINA*. Universidad Cooperativa de Colombia : <https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/25cbca48-ce9e-458d-9401-6fa503e9dd2f/content>
- Clarke, C., Patterson, S., Drewe, J., Helden, P., Miller, M., y Charles, S. (2017). *esarrollo y evaluación de un ensayo de diagnóstico de liberación de citocinas para la infección por Mycobacterium suricattae en suricatas (Suricata suricatta)*. *MC Vet Res*, 13(2). <https://doi.org/> <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0927-x>
- Coll, P., y García, D. (2018). *Epidemiología molecular de la tuberculosis*. *Elsevier*, 36(4). <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2018.01.001>
- Corner, L., y Gormley, E. (2012). *Mycobacterial infections in domestic and wild animals*. In Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. *John Wiley & Sons*.
- Cresa. (2017). *Tuberculosis bovina: retos y controversias (I)*. *Una enfermedad compartida*. <http://www.cresa.cat/blogs/sociedad/es/tuberculosis-ovina-reptes-i-controversies-i-una-malaltia-compartida/>
- Cruz, L., y Pozo, K. (2019). *Diagnóstico de mycobacterium bovis en bovinos faenados en el camal de Daule durante el mes de noviembre del año 2018*. *Universidad de Guayaquil - Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*.
- De Jong, B., M. A., y Gagneux, S. (2010). *Mycobacterium africanum--review of an important cause of human tuberculosis in West Africa*. *PLoS neglected tropical diseases*, 4(9). <https://doi.org/> <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000744>

- Del Portillo, P., Lorente, J., Tibata, A., Leon, V., Naranjo, C., De la Hoz, N., . . . A, J. (2019). Validación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el diagnóstico específico de la tuberculosis bovina.
- Diz, O. (2020). TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS. *NPunto, NPunto Volumen III*(30). <https://orcid.org/0000-0002-5408-6263>
- Elika. (2024). *Mycobacterium*. <https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/mycobacterium/>
- Flores, F., Delgado, A., González, A., y Rivera, H. (2019). Determinación de la presencia de tuberculosis bovina en la provincia de Canta, Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172005000100009
- Gaibor, K., y Miguez, G. (2024). DETERMINACIÓN DE BRUCELOSIS BOVINA (*Brucella abortus*) POR MEDIO DE LA TÉCNICA PCR EN LA PARROQUIA SALINAS . Universidad Estatal de Bolívar: <https://dspace.ueb.edu.ec/bitstream/123456789/7166/1/Tesis%20Final%20Kerly%20Gaby.pdf>
- García, K., y Vera, M. (2021). PREVALENCIA DE *Mycobacterium spp.* EN CANALES DE BOVINOS FAENADOS EN EL MATADERO MUNICIPAL DEL CANTÓN CHONE . ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ: <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1618/1/TTMV35D.pdf>
- Gómez, A., Molina, C., Vera, L., Bencomo, A., Muñoz, S., Sánchez, H., . . . Rodríguez, R. (2024). Diversidad genética del Complejo de *Mycobacterium tuberculosis*: implicaciones clínicas y epidemiológicas. *Scielo*, 26. <https://doi.org/https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2023.563>
- González, P. (2019). *Determinación de la Tasa de Prevalencia Predial de Tuberculosis Bovina mediante la Prueba de Tuberculina Cervical Simple en predio ubicado en la comuna de Curacaví*. UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS: <https://repositorio.udla.cl/xmlui/bitstream/handle/udla/289/pablo%20gonzalez%20cerda.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Guananga, B. (2020). *Determinación de la prevalencia de tuberculosis bovina mediante la reacción en cadena de polimerasa en el camal municipal de Riobamba*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo: <http://dspace.epoch.edu.ec/handle/123456789/17070>
- Guardiola, J. (2009). UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO" . DETECCIÓN DE MYCOBACTERIUM BOVIS EN PULMÓN Y NÓDULO LINFÁTICO MEDIANTE LA TÉCNICA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) : <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/2919/JOSE%20FINA%20GUARDIOLA%20SANDOVAL.pdf?sequence=1>

- Guimaraes, A., y Zimpel, C. (3 de Mayo de 2020). *Mycobacterium bovis: From Genotyping to Genome Sequencing*. *Microorganisms*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/microorganisms8050667>
- Gurrola, E., Santillán, M., Hernández, L., y Leal, M. (2018). Detección de *Mycobacterium bovis* en suero, mediante reacción en cadena de la polimerasa multiplex (PCR) y cultivo bacteriológico. *Academic Journals*. <https://doi.org/10.5897/JBR2018.0276>
- Hernández, A., González, M., Cicero, R., González, H., Colin, Y., Camerino, A., y Ramirez, E. (2019). Identificación de *Mycobacterium bovis* en pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. *Scielo*. Identificación de *Mycobacterium bovis* en pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar y extrapulmonar: <https://www.scielo.org.mx/pdf/gmm/v155n6/0016-3813-gmm-155-6-608.pdf>
- ICA. (2024). *Tuberculosis Bovina*. Instituto Colombiano Agropecuario : [https://www.ica.gov.co/getdoc/37fff3e7-2414-4129-a104-06f55f7f6c63/tuberculosis-bovina-\(1\).aspx](https://www.ica.gov.co/getdoc/37fff3e7-2414-4129-a104-06f55f7f6c63/tuberculosis-bovina-(1).aspx)
- INSST. (15 de Febrero de 2022). *Instituto Nacional de seguridad y salud en el trabajo* . *Mycobacterium bovis* : <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/mycobacterium-bovis>
- Jakes, A. (2022). *ANÁLISIS TEMPORAL DE LA EFICACIA DEL PROGRAMA DE ERRADICACIÓN DE LA TUBERCULOSIS BOVINA EN ESPAÑA* . Universidad de Zaragoza: <https://zaguan.unizar.es/record/124850/files/TAZ-TFG-2022-4694.pdf>
- Kon, K. (2023). *Bacterias Mycobacterium bovis*. <https://www.shutterstock.com/es/image-illustration/bacteria-mycobacterium-bovis-3d-illustration-causative-2231298021>
- Kosakovski, F. (2021). *Conoce al excéntrico científico detrás de las pruebas PCR*. <https://www.nationalgeographicla.com/ciencia/2021/02/conoce-al-excentrico-cientifico-detras-de-las-pruebas-pcr>
- Lojano, H. (2022). *Determinación de la prevalencia de la tuberculosis bovina mediante alergenización en el cantón Morona*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo: <http://dspace.epoch.edu.ec/handle/123456789/18417>
- Macalupú, C. (2021). *"Determinación de tuberculosis bovina mediante la prueba de intradermorreacción en granjas familiares del distrito de Huanchaco – Trujillo"*. UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO : https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12759/9587/REP_CRI-STHIAN.MACALUP%C3%9A_DETERMINACION.DE.TUBERCULOSIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Maldonado, M. (2020). *Análisis de Mycobacterium bovis en bovinos faenados en el camal privado Ronald ubicado en la parroquia Cone, Yaguachi*. Universidad Agraria del Ecuador :

<https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/MALDONADO%20PINEDA%20MIGUEL.pdf>

- Maulén, N. (2011). Factores de virulencia de *Mycobacterium tuberculosis*. *Scielo*, 139(12). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872011001200012>
- Murai, K., Tizzani, P., Awada, L., Mur, L., Mapitse, N., y Caceres, P. (2019). *Tuberculosis bovina: distribución mundial y aplicación de medidas de prevención y control según los datos de WAHIS*. <https://bulletin.woah.org/?panorama=wahis-tb-es&lang=es>
- OMSA. (2019). *Organización Mundial de la Sanidad Animal*. Tuberculosis bovina: distribución mundial y aplicación de medidas de prevención y control según los datos de WAHIS: <https://bulletin.woah.org/?panorama=wahis-tb-es&lang=es>
- Onelab. (2024). *Proceso de PCR: Pasos Clave Explicados*. <https://www.onelab.com.ar/proceso-de-pcr-pasos-clave-explicados#:~:text=El%20proceso%20de%20PCR%20se,los%20bloques%20b%C3%A1sicos%20del%20ADN>.
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2022). *Manual de pruebas de diagnóstico y vacunas para los animales terrestres: Tuberculosis en mamíferos*. https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.13_Mammalian_tuberculosis.pdf
- Padilla, C., Diez, J., Martínez, E., Bárcena, A., y Concepción, A. (s.f.). *Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización electroforética de DNA plasmídico*. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular: <https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/17%20ELECTROFORESIS%20ACS%20NUCLEICOS%20GELES%20AGAROSA.pdf>
- Paillacho, P. (2015). *PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA EN LA PARROQUIA SANTA*. Tulcán.
- Palmer, M., y Waters, R. (2006). Advances in Bovine Tuberculosis Diagnosis and Pathogenesis: What Policy Makers Need to Know. *Michigan Bovine Tuberculosis Bibliography and Database*, 69.
- Perera, C., y Acevedo, A. M. (2018). Nuevas tendencias en el diagnóstico de enfermedades virales en los animales. *Scielo*, 40(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2018000300007
- Pérez, A., y Gómez, L. (2019). *Electroforesis de ácido desoxirribonucleico (ADN) en gel de agarosa*. <https://dspace.tdea.edu.co/bitstream/handle/tdea/1468/Electroforesis%20de%20ácido%20desoxirribonucleico%20%28ADN%29%20en%20gel%20de%20agarosa.pdf?sequence=1>

- Pinedo, W. (2019). "Prevalencia de tuberculosis bovina (*Mycobacterium bovis*) utilizando la prueba de tuberculina ano - caudal simple en el distrito de Cuñumbuque, provincia de Lamas". UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA : <https://repositorio.unas.edu.pe/server/api/core/bitstreams/f8a8c360-bf93-4aa9-8e88-d5676c7518f6/content>
- Proaño, F., y Benítez, W. (2019). *Epidemiología de la Tuberculosis Bovina en Ecuador*. Universidad Central del Ecuador : https://quickvet.edifarm.com.ec/pdfs/articulos_tecnicos/EPIDEMIOLOG+%ECA%20DE%20LA%20TUBERCULOSIS%20BOVINA.pdf
- Rendón , M., Villasís , M., y Miranda, M. (2019). Estadística descriptiva. *Rev Alerg Mex*.
- Robinne, S., Saad, J., Morsli, M., Harouna, Z., Tazerart, F., Drancourt, M., y Barón, S. (2020). *Identificación rápida del complejo Mycobacterium tuberculosis mediante espectrometría de masas: una prueba de concepto*.
- Rosas, J. (2021). *Prevalencia de Tuberculosis bovina TBB mediante el uso de aislamiento microbiológico de lesiones compatibles de la enfermedad en animales faenados en el camal de Tulcán de la provincia del Carchi*. Repositorio UPEC. <http://181.198.77.137:8080/jspui/handle/123456789/1029>
- RumiNews. (2019). *Mycobacterium microti: la especie de tuberculosis detectada en España*. <https://rumiantes.com/rara-especie-tuberculosis-detectada-espana-mycobacterium-microti/>
- Sabando, L., y Zambrano, A. (2023). *DIAGNÓSTICO DE PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS Mycobacterium spp. EN BOVINOS DE EXPLOTACIÓN BAJO FILIACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE GANADEROS DEL CANTÓN*. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ: https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/2093/1/TIC_MV24D.pdf
- Sánchez, E., Nina, M., Aguirre, P., Arce, M., Toro, N., y Vilela, R. (2014). Amplificación isotérmica mediada por LOOP (LAMP) de ácidos nucleicos en el diagnóstico clínico. *Scielo*. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2310-02652014000100014
- Santos, N. (Marzo de 2023). *Introducción a la tuberculosis en animales*. <https://www.msdevetmanual.com/es/enfermedades-generalizadas/descripci%C3%B3n-general-de-la-tuberculosis-en-animales/introducci%C3%B3n-a-la-tuberculosis-en-animales>
- SOCIVESC. (2017). *La tuberculosis en mamíferos: Zoonosis*. Sociedad Científica Veterinaria de España : <https://www.socivesc.es/publicaciones/43-publicaciones-de-socivesc/280-la-tuberculosis-en-mamiferos-zoonosis> como citar esa pagina
- StudySmarter. (2023). <https://www.studysmarter.es/resumenes/biologia/celulas/fagocitosis/>

- Suárez, J. (2023). *Determinación de la prevalencia y factores de riesgo en tuberculosis bovina en la parroquia La Belleza*. (Tesis de Ingeniería, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). Repositorio DSpace ESPOCH : <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/18667>
- Suquilanda, R. (2015). "PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA (TBB), EN EL CANTÓN LOJA MEDIANTE INSPECCIÓN POST MORTEM EN EL CAMAL FRIGORÍFICO DE LOJA". UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10242/1/TESIS-%20Rober%20Luciano%20Suquilanda%20Ludeña>.
- Tamay de Dios, L., Ibarra, C., y Velasquillo, C. (2013). *Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/invdiss/ir-2013/ir132d.pdf>
- The Center for Food Security y Public Health. (2009). *Tuberculosis Bovina* . https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/bovine_tuberculosis-es.pdf
- Torres, P. (2019). LAS PRUEBAS TUBERCULINICAS EN EL GANADO BOVINO. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria: <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/file1014-1011.pdf>
- Vargas , O. (2020). TUBERCULOSIS BOVINA EN ANIMALES FAENADOS EN EL CAMAL DEL CANTÓN ARENILLAS PROVINCIA DE EL ORO. Universidad Técnica de Machala : <https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/15516/1/TTUACA-2020-MV-DE00003.pdf>
- Vatani, S., Azar, D., Mohammad , M., y Abbas , J. (2011). Study of genetic diversity in Mycobacterium tuberculosis by using mycobacterial interspersed repetitive unit: Variable number tandem repeat typing in Khuzestan Province, Iran. *African Journal* , 1551.
- Veliz, A. (2020). *Tuberculosis Bovina*. UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO.
- Villavicencio, D. (2021). "IDENTIFICACIÓN DE Mycobacterium bovis MEDIANTE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y MOLECULAR, EN BOVINOS FAENADOS EN LA CIUDAD DE LOJA". Universidad Nacional de Loja: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/23792/1/Daniela%20Cristina%20Villavicencio%20Villavicencio.pdf>
- Yáñez, V. (2015). *so y ventajas de amplificación isotérmica en la detección de 3M Food Safety microorganismos patógenos en alimentos y control ambiental 3M Health Care Academy © 3M 2015. All Rights Re. Health Care Academy*: <https://www.achipia.gob.cl/wp-content/uploads/2018/08/1-3M-Uso-y-ventajas-de-amplificacion-isot--mica-en-la-deteccion-microorganismos-004.pdf>
- Yang, R., Xi, C., Sita, D., Sakai, S., Tsuchiya, S., Hara, H., . . . Kawamura, I. (2014). El locus RD1 en el genoma de Mycobacterium tuberculosis contribuye a la maduración y secreción de IL-1a de los macrófagos infectados a través de la elevación de

los niveles de calcio citoplasmático y la activación de la calpaína. *Oxford Academic*, 70(1). <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12075>

Zambrano, C. (2023). PREVALENCIA DE TUBERCULOSIS (*Mycobacterium* ssp) EN CANALES DE BOVINOS FAENADOS EN EL MATADERO MUNICIPAL DEL CANTÓN JUNÍN . ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ .

VII. ANEXOS

Anexo 1. Acta de la sustentación de Predefensa del TIC



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE AGROPECUARIA

ACTA

DE LA SUSTENTACIÓN ORAL DE LA PREDEFENSA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

ESTUDIANTE:	Suarez Tarapues Deysi Dayana	CÉDULA DE IDENTIDAD:	040195145-4
PERÍODO ACADÉMICO:	2023B		
PRESIDENTE TRIBUNAL	DR. LUIS RODRIGO BALAREZO URRESTA	DOCENTE TUTOR:	MSC. EDISON MARCELO IBARRA ROSERO
DOCENTE:	MSC. NATALY TATIANA CORONEL MONTESDEOCA		
TEMA DEL TIC:	"Diagnóstico molecular de Tuberculosis Bovina [<i>Mycobacterium bovis</i>] de nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi"		
No.	CATEGORÍA	Evaluación cuantitativa	OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES
1	PROBLEMA - OBJETIVOS	7,00	REDACTAR BIEN LA FORMULACIÓN DEL PROBLEMA Y LAS PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN REDACTAR EN FUNCION DE LOS OBJETIVOS
2	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	7,00	ANTECEDENTES REDACTAR MEJOR, AGREGAR FIGURAS Y ORDENAR EL CONTENIDO
3	METODOLOGÍA	7,00	MEJORAR LA REDACCIÓN DE LA METODOLOGÍA, OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES
4	RESULTADOS	7,00	REDACTAR EN FUNCION DE LAS 45 MUESTRAS QUE TENÍAN LESIONES
5	DISCUSIÓN	7,00	ARGUMENTAR MEJOR LA DISCUSIÓN
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	7,00	CAMBIAR DEACUERDO A LOS RESULTADOS
7	DEFENSA, ARGUMENTACIÓN Y VOCABULARIO PROFESIONAL	7,00	
8	FORMATO, ORGANIZACIÓN Y CALIDAD DE LA INFORMACIÓN	7,00	CORREGIR EL FORMATO, REVISAR EL MISMO EN LA GUÍA METODOLOGICA

Conociendo una nota de: 7,00 Por lo tanto, **APRUEBA** : debiendo el o los investigadores acatar el siguiente artículo:

Art. 36.- De los estudiantes que aprueban el informe final del TIC con observaciones.- Los estudiantes tendrán el plazo de 10 días para proceder a corregir su informe final del TIC de conformidad a las observaciones y recomendaciones realizadas por los miembros del Tribunal de sustentación de la pre-defensa.

Para constancia del presente, firman en la ciudad de Tulcán el martes, 26 de marzo de 2024


DR. LUIS RODRIGO BALAREZO URRESTA
PRESIDENTE TRIBUNAL



MSC. NATALY TATIANA CORONEL MONTESDEOCA
DOCENTE


MSC. EDISON MARCELO IBARRA ROSERO
DOCENTE TUTOR

Anexo 2. Certificado del abstract por parte de idiomas



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI FOREIGN AND
NATIVE LANGUAGES CENTER

ABSTRACT- EVALUATION SHEET				
NAME: Deysi Dayana Suarez Tarapues				
DATE: Lunes, 7 de abril de 2025				
Topic: "Diagnóstico molecular de Tuberculosis Bovina (Mycobacterium bovis) de nódulos tuberosos de pulmones del centro de faenamiento de la ciudad de Tulcán, Carchi"				
MARKS AWARDED		QUANTITATIVE AND QUALITATIVE		
VOCABULARY AND WORD USE	Use new learnt vocabulary and precise words related to the topic	Use a little new vocabulary and some appropriate words related to the topic	Use basic vocabulary and simplistic words related to the topic	Limited vocabulary and inadequate words related to the topic
	EXCELLENT: 2 <input type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input checked="" type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
WRITING COHESION	Clear and logical progression of ideas and supporting paragraphs.	Adequate progression of ideas and supporting paragraphs.	Some progression of ideas and supporting paragraphs.	Inadequate ideas and supporting paragraphs.
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
ARGUMENT	The message has been communicated very well and identify the type of text	The message has been communicated appropriately and identify the type of text	Some of the message has been communicated and the type of text is little confusing	The message hasn't been communicated and the type of text is inadequate
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
CREATIVITY	Outstanding flow of ideas and events	Good flow of ideas and events	Average flow of ideas and events	Poor flow of ideas and events
	EXCELLENT: 2 <input type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input checked="" type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
SCIENTIFIC SUSTAINABILITY	Reasonable, specific and supportable opinion or thesis statement	Minor errors when supporting the thesis statement	Some errors when supporting the thesis statement	Lots of errors when supporting the thesis statement
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
TOTAL/AVERAGE	9 - 10: EXCELLENT 7 - 8,9: GOOD 5 - 6,9: AVERAGE 0 - 4,9: LIMITED		TOTAL 9	



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL
CARCHI- FOREIGN AND NATIVE LANGUAGES
CENTER**

**Informe sobre el Abstract de Artículo Científico o
Investigación.**

Autor: Deysi Dayana Suarez Tarapues

Fecha de recepción del abstract: Jueves, 3 de abril de 2025

Fecha de entrega del informe: Lunes, 7 de abril de 2025

El presente informe validará la traducción del idioma español al inglés si alcanza un porcentaje de: 9 – 10 Excelente.

Si la traducción no está dentro de los parámetros de 9 – 10, el autor deberá realizar las observaciones presentadas en el ABSTRACT, para su posterior presentación y aprobación.

Observaciones:

Después de realizar la revisión del presente abstract, éste presenta una apropiada traducción sobre el tema planteado en el idioma Inglés. Según la rúbrica de evaluación de la traducción en Inglés, ésta alcanza un valor de 9; por lo cual se valida dicho trabajo.

Atentamente



MA. Martha Viveros
Docente responsable del
CIDEN

Anexo 3. Inspección Veterinaria



Figura 9. Inspección veterinaria

Anexo 4. Laboratorio

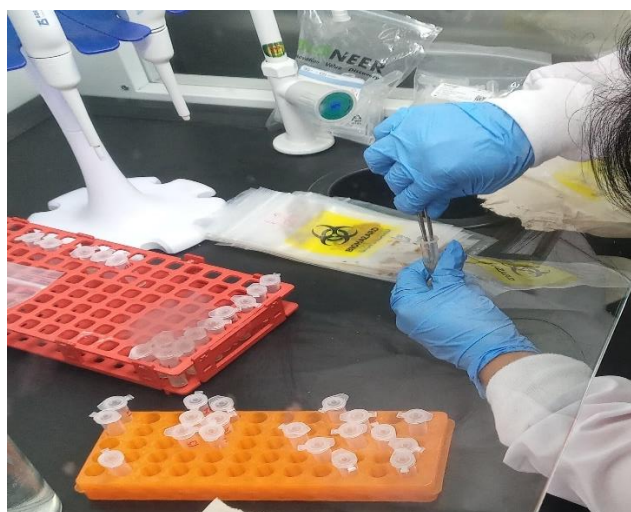


Figura 10. Muestras



Figura 11. Extracción de ADN



Figura 12. Reactivos para PCR