

## TUBERCULOSIS DE LA FAUNA SILVESTRE EN GANADERÍAS DE BOVINO DE LIDIA (*BOS TAURUS*)

Tuberculosis of wildlife in livestock of fighting bull (*Bos taurus*)

Miralles A., Mas A., Rosa A., Seva JI.

Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. 30100. Espinardo, Murcia, Spain.

**Autor para correspondencia:** Aída Miralles Chorro, Tel.: 00 34 965 692 184, 661 110 161. E-mail: aida.miralles@um.es

### RESUMEN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa causada por microorganismos del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB), principalmente compuesto por *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium caprae*. En el presente estudio se determinará la presencia de tuberculosis en dos especies de fauna silvestre: el jabalí y el ciervo, los cuales viven en contacto con ganado bovino de lidia. Para ello se estudiaron un total de 32 jabalíes y 8 ciervos, abatidos en dos monterías celebradas en fincas de ganado bovino de lidia. En la inspección *post-mortem* de dichos animales se tomaron muestras de nódulos linfáticos y pulmón, las cuales se procesaron en formol tamponado al 10% y fueron incluidas en parafina. Se realizaron secciones dobles de 4 µm de grosor que fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina (H-E) y Ziehl-Neelsen (ZN), junto con un análisis bacteriológico de cada una de las muestras. De los 32 jabalíes analizados, se observaron lesiones macroscópicas compatibles con tuberculosis en 16. De éstos, 13 animales presentaron lesiones microscópicas típicas que correspondían a granulomas con un amplio centro de necrosis y calcificación, todo ello rodeado de macrófagos y células gigantes multinucleadas. Externamente aparecían linfocitos y tejido conectivo. De estos 13 jabalíes, 6 fueron positivos a Z-N, de los cuales 5 presentaron crecimiento de bacterias del CMTB en el análisis bacteriológico. Sólo en un 38'46% de casos se identificaron bacterias del CMTB sobre el total de animales con lesiones compatibles observadas con el microscopio óptico. En el caso de los 8 ciervos chequeados, 4 de ellos presentaron lesiones macroscópicas compatibles con tuberculosis y fueron positivos en el resto de las pruebas realizadas. Siendo la prevalencia en este estudio del 50%. Cabe resaltar la importancia de la fauna silvestre especialmente jabalí y ruminantes silvestres en la epidemiología de la tuberculosis en las ganaderías de bovino de lidia.

**Palabras clave:** tuberculosis, fauna silvestre, inspección post-mortem, toro de lidia.

## ABSTRACT

Tuberculosis is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* complex's microorganisms (CMTB), mainly composed by *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae*. In this study we will determined the presence of tuberculosis in two species of wildlife: wild boar and deer, which live in contact with livestock of fighting bull. For this we studied a total of 32 wild boars and 8 beers, all of them were killed in two lumber camps held in farms of fighting bulls. In the *post-mortem* inspection of these animals samples were taken of lymph nodes and lung, which were processed in 10% buffered formalin and were embedded in paraffin. Sections were performed dual 4  $\mu\text{m}$  thick, which were stained with Hematoxylin-Eosin (H-E) and Ziehl-Neelsen (ZN) together with a bacteriological analysis of each of the samples. Of the 32 wild boars analyzed, macroscopic compatible lesions with tuberculosis at 16 were observed. Of these, 13 animals had microscopic typical lesions corresponding to a granuloma with large central necrosis and calcification, all surrounded by macrophages and multinucleated giant cells. Externally appeared lymphocytes and connective tissue. Of these 13 wild boars, were positive 6 to Z-N, of which 5 showed growth of bacteria in the bacteriological analysis CMTB. Only in a 38'46 % of cases were identified CMTB's bacteria on total animals observed with compatible lesions with optical microscope. In the case of the 8 deer checked, 4 of them had macroscopic compatible lesions with tuberculosis and were positive in the other tests. As the prevalence in this study of 50%. Worth noting the importance of wildlife especially wild boar and wild ruminants in the epidemiology of tuberculosis in livestock of fighting bull.

**Key words:** tuberculosis, wildlife, *post-mortem* inspection, fighting bull.

## INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una enfermedad de declaración obligatoria en España sujeta a un programa nacional de erradicación. Esta enfermedad infecciosa está causada por microorganismos del CMTB (Complejo *Mycobacterium tuberculosis*), principalmente compuesto por *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium caprae*. Esta enfermedad puede afectar a un amplio rango de mamíferos, incluyendo herbívoros domésticos y silvestres, como son el ciervo y el jabalí (Aranaz et al., 2004; Naranjo et al., 2008). En el caso de herbívoros domésticos en extensivo, está el toro de lidia, el cual se produce actualmente en numerosas zonas con grandes extensiones que aparecen próximas a reservas y parques naturales donde la presencia de fauna silvestre es abundante (Vicente et al., 2006). Por ello el toro de lidia puede estar expuesto a las patologías que afectan a estas especies de fauna silvestre como son las micobacteriosis (Aranaz et al., 2004). La tuberculosis también afecta a carnívoros, incluso al hombre tratándose de una grave zoonosis (Naranjo et al., 2008; Gortázar

et al., 2005). En los casos típicos suele cursar de forma crónica y se acompaña de procesos inflamatorios específicos. La distribución de las lesiones depende del grado de control que se lleve a cabo contra la enfermedad. Así, cuando no hay control, las lesiones son más avanzadas y aparecen lesiones en órganos y tejidos no linfoides como en pulmón, serosas, hígado, intestino, glándulas mamarias, etc. en diversa proporción (Moyano et al., 1900). Además de las anteriores, un número determinado de casos muestra lesiones tuberculosas en localizaciones únicas especialmente en nódulos linfáticos retrofaríngeos (Cuezva, 1966) y con frecuencia descendente se dan en nódulos linfáticos bronquiales, mediastínicos, mesentéricos y en parénquima pulmonar (Lepper et al., 1973). Las lesiones pulmonares se caracterizan según los distintos periodos, en lesiones primarias de tipo proliferativo y postprimarias donde predominan los fenómenos exudativos (Dannenberg, 2001).

El objetivo del presente estudio es determinar la presencia de tuberculosis en dos especies de fauna silvestre: el jabalí y el ciervo, que viven en estrecho contacto con ganado vacuno en

extensivo, en este caso ganado bovino de lidia, y su posible papel como reservorios de la enfermedad en este tipo de explotaciones.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para ello se estudiaron un total de 40 animales, 32 jabalíes y 8 ciervos, abatidos en dos monterías celebradas en fincas de ganado bovino de lidia situadas en la Sierra de Andujar (Jáen). Ambas ganaderías presentaban positividad a Tuberculosis en las Campañas de Saneamiento Ganadero. Tras la recogida de los animales, se procedió a la inspección *post-mortem* (figuras 1.a y 1.b) de los mismos para determinar la presencia de lesiones macroscópicas compatibles



Figura 1.a: Inspección *post-mortem* de los animales cinegéticos abatidos tras una cacería.



Figura 1.b: Inspección *post-mortem* de un jabalí y toma de muestras.

con tuberculosis. Se tomaron muestras de nódulos linfáticos mandibulares, retrofaaríngeos, mediastínicos, mesentéricos y pulmón, las cuales se procesaron en formol tamponado al 10% y fueron incluidas en parafina. Se realizaron secciones dobles de 4  $\mu$ m de grosor que fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina (HE) y Ziehl-Neelsen (ZN). Igualmente se tomaron muestras de nódulos linfáticos mandibulares, mediastínicos, mesentéricos y pulmón que fueron mantenidas en  $-20^{\circ}$  C, hasta la realización del análisis bacteriológico de cada una de las muestras en el laboratorio de vigilancia sanitaria VISAVET (Madrid).

## RESULTADOS

De los 32 jabalíes analizados, se observaron lesiones macroscópicas compatibles con tuberculosis en 16 animales (figura 2.a y 2.b). De éstos, 13 presentaron lesiones microscópicas típicas que correspondían a granulomas, con un amplio centro de necrosis y calcificación, todo ello rodeado de macrófagos dispuestos en empalizada, y gran cantidad de células gigantes multinucleadas. Externamente aparecían linfocitos y abundante tejido conectivo (figura 2.c). Respecto a la localización de estas lesiones fue variable, ya que en algunos animales aparecían lesiones en varias localizaciones y en otros eran únicas las lesiones. Así aparecían localizadas pulmón (3), nódulos linfáticos mediastínicos (6), mesentéricos (4) y mandibulares (3). Apareciendo en ocasiones varios órganos como pulmón y nódulos linfáticos mediastínicos (2) y nódulos mesentéricos y mediastínicos (2). De estos 13 jabalíes, 6 fueron positivos a ZN (figura 2.d), de los cuales 5 presentaron crecimiento de bacterias del CMTB en el análisis bacteriológico. Estos datos indican un 15'6% de prevalencia de esta enfermedad, si consideramos los animales en los que se ha identificado micobacterias del Complejo *Mycobacterium tuberculosis*. No en todas las lesiones observadas microscópicamente que presentaban caracterís-



Figura 2.a: Lesión macroscópica de tuberculosis en nódulo linfático de jabalí.



Figura 2.b: Lesión macroscópica de tuberculosis en pulmón de jabalí.

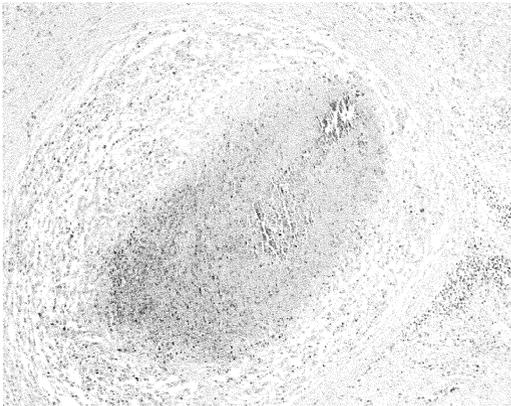


Figura 2.c: Lesión microscópica granulomatosa fibrocalcificada en jabalí (HE x 10).

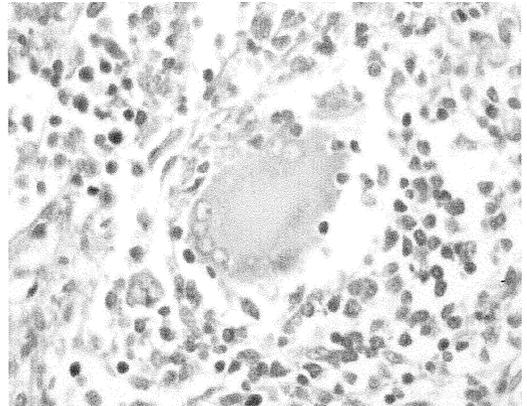


Figura 2.d: Detalle de una célula gigante multinucleada con un BAAR aislada en jabalí (ZN x 63).

ticas compatibles con tuberculosis se identificaron o fueron positivas al cultivo microbiológico (38'46%). En los 3 restantes animales con lesiones macroscópicas compatibles con tuberculosis donde no se confirmó la enfermedad microscópicamente se identificaron procesos bacterianos y parasitarios (figura 3.d).

Ocurre algo muy distinto en el ciervo, ya que de los 8 animales chequeados, 4 de ellos presentaron lesiones macroscópicas compati-

bles con tuberculosis (figura 3.a) y en todos aparecían lesiones microscópicas (figura 3.b) y fueron positivos tanto al ZN (figura 3.c) como al cultivo microbiológico. Siendo la prevalencia en este estudio del 50%. Estas lesiones aparecían localizadas pulmón (3) y nódulos linfáticos mediastínicos (2) y en pulmón y nódulos mediastínicos la vez (1). Las lesiones microscópicas se caracterizaban por la presencia de abundantes macrófagos, células gigantes multi-



Figura 3.a: Lesión macroscópica de tuberculosis en pulmón de ciervo.

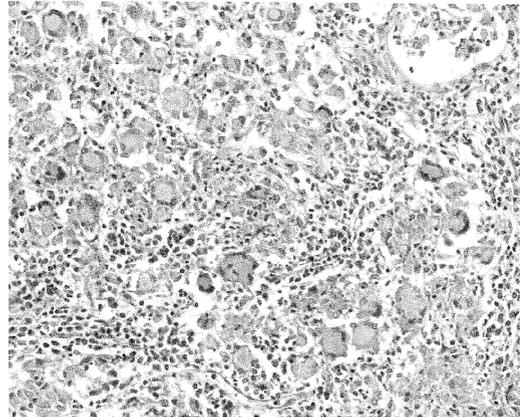


Figura 3.b: Lesión microscópica con abundantes macrófagos y células gigantes multinucleadas en ciervo (HE x 20).

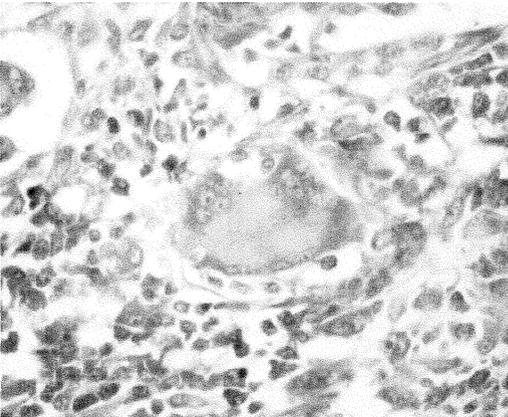


Figura 3.c: Detalle de una célula gigante multinucleada con varios BAAR aislada de ciervo (ZN x 63).

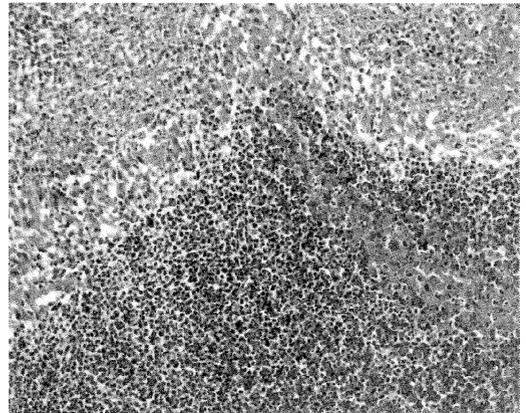


Figura 3.d: Lesión microscópica de un proceso bacteriano (HE x 20).

nucleadas con gran cantidad de BAAR (Bacilos Ácido Alcohol Resistentes) y escasa reacción conectiva. Estas lesiones aparecían en pulmón en tres animales y nódulo mediastínico en dos animales.

## DISCUSIÓN

En los últimos años la prevalencia de tuberculosis en España se ha reducido pero no

se ha llegado a erradicar (Aranaz et al., 2004; Naranjo et al., 2008), en especial en el sur de la península donde existen altas prevalencias a diferencia del norte donde existe una baja prevalencia (Aranaz et al., 2004). En el año 1995, las tasas de infección de tuberculosis bovina eran las más altas de toda Europa (1'4%) aunque se consiguió reducir hasta 0'3% en 2005 (Naranjo et al., 2008). Del mismo modo existen estudios que revelan una alta prevalencia de *Mycobacte-*

*rium bovis* en animales silvestres (Aranaz et al., 2004; Naranjo et al., 2008; Vicente et al., 2006) aun estando aislados de animales domésticos y ganaderías por largos períodos de tiempo (Naranjo et al., 2008; Gortázar et al., 2005), hechos que hacen reflexionar sobre la gran capacidad del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* para sobrevivir en estas poblaciones (Gortázar et al., 2005).

En el presente estudio hemos encontrado una alta prevalencia de tuberculosis en dos especies cinegéticas importantes como son el jabalí y el ciervo, lo que está en consonancia con los datos obtenidos en diversos estudios previos (Aranaz et al., 2004; Naranjo et al., 2008; Vicente et al., 2006). Aunque esta prevalencia es más elevada en el caso del ciervo (50%), el jabalí, con un 15'60% de prevalencia, puede constituir un mayor problema en la difusión de la enfermedad debido a sus hábitos y al papel que desempeña frente a la infección por *Mycobacterium bovis*. El jabalí es una especie, que debido a sus características, puede consumir carroña y despojos de animales cazados que pudieran estar infectados por micobacterias, al igual que otros gérmenes. Se ha demostrado que el jabalí comparte genotipos del CMTB con otros animales tanto salvajes como domésticos (Aranaz et al., 2004; Naranjo et al., 2008; Gortázar et al., 2005; Santos et al., 2009). Todos estos factores indican que el jabalí actúa como un verdadero reservorio de tuberculosis en la fauna silvestre. Aunque el jabalí adulto es más resistente y tiene mayor habilidad para controlar la infección tras continuas exposiciones, es la población joven, sin embargo, la que probablemente represente la principal fuente de infección ya que existe un mayor contacto entre individuos y las lesiones que presentan son más extensas y afectan a más de una región anatómica (Naranjo et al., 2008).

Además, son de gran importancia algunas de las actividades que se llevan a cabo en las fincas de ganado bovino de lidia como el aporte extra de agua y alimento no sólo de esta especie sino también de animales silvestres en

determinadas zonas de España, especialmente en el sur. Esto implicaría unas altas densidades de fauna tanto en su medio natural como en explotaciones ganaderas, lo que favorecería la difusión de la tuberculosis. Todo ello nos lleva a pensar que probablemente las formas de transmisión de la enfermedad más efectivas sean la vía aerógena y la vía oral tanto al consumir carcasas infectadas (estas dos más relevantes en la transmisión entre especies salvajes) como al compartir comederos y abrevaderos (de mayor importancia entre especies domésticas) (Naranjo et al., 2008). La vía aerógena cobra importancia en la transmisión de la enfermedad de especies silvestres a domésticas especialmente cuando las explotaciones de ganado (en nuestro caso, ganado de lidia) están ubicadas en zonas próximas a espacios protegidos con abundante fauna silvestre.

En todas las lesiones macroscópicas con sospecha de tuberculosis de los ciervos estudiados, se identificaron micobacterias del CMTB. Al realizar la técnica ZN en las muestras se obtuvo un resultado positivo con aparición de gran cantidad de BAAR. No ocurre lo mismo en el jabalí, donde la mayoría de las lesiones macroscópicamente compatibles con tuberculosis dieron resultados negativos en el resto de pruebas. Esto fue debido, entre otras causas, a la presencia de bacterias y parásitos, con el desarrollo de granulomas similares a los tuberculosos. Además, es preciso destacar la dificultad con la que nos encontramos en esta misma especie para la detección de micobacterias ya que se obtuvieron casos confirmados de tuberculosis con crecimiento de bacterias del CMTB en los cuales donde fueron muy pocos los BAAR hallados, lo que podría en determinadas ocasiones impedir la identificación del agente. Es trascendente citar algunos estudios que indican un alto porcentaje de lesiones tuberculosas en la población de jabalíes (75%), así como un aumento en la prevalencia de las lesiones conforme avanza la edad del animal (Vicente et al., 2006). Todo ello nos lleva a pensar que la

respuesta inmune del jabalí es más eficaz en el control de la proliferación de las micobacterias que en el ciervo, así como que se trata de una diferente respuesta inmunitaria con escaso desarrollo y crecimiento de BAAR y por tanto mayor resistencia a la enfermedad.

Podemos concluir destacando la importancia epidemiológica que representa la fauna silvestre especialmente jabalí y rumiantes silvestres en la difusión de la tuberculosis en las ganaderías de bovino de lidia.

## AGRADECIMIENTOS

A los miembros del laboratorio de vigilancia sanitaria VISAVET (Madrid) por los análisis microbiológicos de las muestras. A los miembros del laboratorio de Histopatología del Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica de la Universidad de Murcia por el procesado de las muestras para el estudio histopatológico.

## BIBLIOGRAFÍA

- ARANAZ A., DE JUAN L., MONTERO N., SÁNCHEZ C., GALKA M., DELSO C., ÁLVAREZ J., ROMERO B., BEZOS J., VELA A. I., BRIONES V., MATEOS A., DOMÍNGUEZ L. 2004. Bovine Tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in wildlife in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*. 6 (42): 2602-2608.
- ARANAZ A., DE JUAN L., BEZOS J., ÁLVAREZ J., ROMERO B., LOZANO F., PARAMIO J. L., LÓPEZ-SÁNCHEZ J., MATEOS A., DOMÍNGUEZ L. 2006. Assessment of diagnostic tools for eradication of bovine tuberculosis in cattle co-infected with *Mycobacterium bovis* and *M. avium subsp. paratuberculosis*. *Veterinary Research*. 4 (37): 593-606.
- CUEZVA J. 1966. Erradicación de la tuberculosis bovina. Avigan. Valencia.
- DANNENBERG A.M. 2001. Pathogenesis of pulmonary *Mycobacterium bovis* infection: basic principles established by the rabbit model. *Tuberculosis*. 81: 87-96.
- DELAHAY R. J., DE LEEUW ANS., BARLOW A. M., CLIFTON-HADLEY R. S., CHEESEMAN C. L. 2002. The status of *Mycobacterium bovis* infection in UK wild mammals: A review. *Veterinary Journal*. 2 (164): 90-105.
- DELAHAY R. J., SMITH G. C., BARLOW A. M., WALKER N., HARRIS A., CLIFTON-HADLEY R. S., CHEESEMAN C. L. 2007. Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the South-West region of England: A survey of prevalence and a semi-quantitative assessment of the relative risks to cattle. *Veterinary Journal*. 2 (173): 287-301.
- GORTÁZAR C., VICENTE J., SAMPER S., GARRIDO J. M., GARCÍA FERNÁNDEZ DE MERA I., GAVÍN P., JUSTE R., MARTÍN C., ACEVEDO P., DE LA PUENTE M., HÖFLE U. 2005. Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates from wild ungulates in South-Central Spain. *Veterinary Research*. 36: 43-52.
- LEPPER A.W.D., PEARSON C.W. 1973. The route of infection in tuberculosis of beef cattle. *Aust. Vet. J.* 49: 266-267.
- MATHEWS F., MACDONALD D. W., TAYLOR G. M., GELLING M., NORMAN R. A., HONESS P. E., FOSTER R., GOWER C. M., VARLEY S., HARRIS A., PALMER S., HEWINSON G., WEBSTER J. P. 2006. Bovine tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) in British farmland wildlife: the importance to agriculture. *The Royal Society*. 1584 (273): 357-365.
- MOYANO Y MOYANO P. 1900. Discurso. Real Academia de Medicina y Cirugía. Zaragoza.
- NARANJO V., GORTÁZAR C., VICENTE J., DE LA FUENTE J. 2008. Evidence of the role of European wild boar as a reservoir of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Veterinary Microbiology*. 1-2 (127): 1-9.

- SANTOS N., CORREIA-NEVES M., GHEBREMICHAEL S., KÄLLENIUS G., SVENSON S. B., ALMEIDA V. 2009. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in wild boar (*Sus scrofa*) from Portugal. *Journal of Wildlife Diseases*. 45 (4): 1048-1061.
- VICENTE J., HÖFLE U., GARRIDO J. M., GARCÍA FERNÁNDEZ DE MERA I., JUSTE R., BARRAL M., GORTÁZAR C. 2006. Wild boar and red deer display high prevalences of tuberculosis-like lesions in Spain. *Veterinary Research*. 37: 107-119.