

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**Detección del complejo *Mycobacterium tuberculosis* en primates
decomisados y procedentes del tráfico ilegal en Perú**

Tesis para optar el título profesional de:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Katerine Xiomara Zavala Peña
Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Lima-Perú
2025

A mi familia por el apoyo, a Duly por su compañía

AGRADECIMIENTOS

- A mis padres, en especial a mi madre, por apoyarme y darme todo para salir adelante
- A Fernando Vílchez Delgado por brindarme el tema y enseñarme lo necesario para poder realizar este proyecto
- A Maskaf S.A.C. por la donación de los kits de PCR utilizados en este proyecto
- A la Unidad de Epidemiología Molecular del Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt por brindarme acceso a sus laboratorios
- A mi asesor el doctor Luis Jara Salazar, por guiarme y tenerme paciencia en todo el proceso de este proyecto
- A la doctora Patricia Mendoza por permitirme usar sus muestras y llevar a cabo este estudio
- A Gabriela Cáceres Palomino por ayudarme a procesar las muestras utilizadas.
- A los evaluadores que me brindaron sus correcciones y sugerencias, gracias a las cuales se pudo concretar una mejor versión de este estudio.
- A Paz Bringas por presionarme para lograr finalizar la redacción de este proyecto
- A mis gatos por acompañarme durante todo el tiempo que pasé leyendo y redactando.
- A Duly por su compañía durante 15 años y por ser mi principal fuente de inspiración para estudiar veterinaria. Siempre te recordaré.

Katerine Xiomara Zavala Peña

Detección del complejo Mycobacterium tuberculosis en primates decomisados y procedentes del tráfico ilegal en Perú...

- Proyectos de Tesis
- Proyectos y Tesis
- Universidad Peruana Cayetano Heredia

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::1:3152537715

Fecha de entrega

11 feb 2025, 12:25 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

11 feb 2025, 12:26 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

Detección_del_complejo_Mycobacterium_tuberculosis_en_primates_decomisados_y_procedente....docx

Tamaño de archivo

204.3 KB

32 Páginas

6,694 Palabras

36,458 Caracteres

13% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado

Fuentes principales

- 13%  Fuentes de Internet
- 5%  Publicaciones
- 3%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
MATERIALES Y MÉTODOS	12
1. Lugar de Estudio	12
2. Diseño y población de estudio	12
3. Tamaño y Conservación de Muestras	13
4. Criterios de Inclusión	13
5. Extracción de ADN de las muestras	13
6. Prueba de PCR en tiempo real	14
7. Consideraciones Éticas	14
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN	18
CONCLUSIONES	23
BIBLIOGRAFIA	24
ANEXOS	32
BANCO DE MUESTRAS	32

RESUMEN

La tuberculosis es una enfermedad causada por un grupo de bacterias conocido como el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), considerada de importancia mundial debido a los más de 5 millones de casos nuevos detectados por año. Bacterias pertenecientes al MTBC se han reportado en primates del viejo y nuevo mundo, con evidencia de contagio entre individuos de distintas especies y seres humanos, representando un riesgo para la conservación y la salud pública. El objetivo del estudio fue detectar la presencia de bacterias del MTBC en muestras de primates del nuevo mundo procedentes del tráfico ilegal en Perú. Para ello se utilizó un banco de muestras de hisopados orales congelados (n= 226) recolectadas entre los años 2017 y 2022 de animales procedentes de distintos centros en Lima (n=37), Madre de Dios (n=142), Loreto (n=14) y Piura (n=33). Las muestras se evaluaron usando el kit comercial Logix Smart™ MTB de la empresa Co-Diagnostics, Inc, que amplifica los genes IS6110 y MPB64 específicos para bacterias pertenecientes al MTBC mediante la técnica de PCR en tiempo real. En total 7 muestras resultaron positivas (3.1%), procedentes de Lima (n=1) y Madre de Dios (n=6). Los individuos positivos pertenecen a las familias *Atelidae* (n=6) y *Cebidae* (n=1). Estos resultados demuestran la presencia de bacterias del MTBC en primates en contacto con poblaciones humanas y con riesgo de propagar estos agentes a especies en riesgo ante una eventual reintroducción a la naturaleza.

Palabras claves: *Mycobacterium tuberculosis*, primates, MTBC, tráfico ilegal

ABSTRACT

Tuberculosis is a disease caused by a group of bacteria known as *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC), considered to be of global concern due to more than 5million new cases per year. Bacteria belonging to the MTBC have been reported in Old World primates and New World primates, with evidence of transmission between members of different species and human beings, representing a threat to conservation and public health. The objective of this study was to detect the presence of bacteria of the MTBC in samples from New World primates rescued from illegal wildlife trade in Peru. To achieve this, a frozen oral swab sample bank (n=226) collected from 2017 to 2022 was used. Samples were taken from animals of different centers in Lima (n=37), Madre de Dios (n=142), Loreto (n=14) and Piura (n=33). The samples were evaluated using the commercial Logix Smart™ MTB kit of Co-Diagnostics, Inc, which amplifies the genes IS6110 and MPB64 specific to bacteria of the MTBC using real-time PCR. In total, 7 samples were found to be positive (3.097%), from specimens from Lima (n=1) and Madre de Dios (n=6) belonging to the *Atelidae* (n=6) and *Cebidae*(n=1) families. This result demonstrates the presence of MTBC bacteria in primates in close contact with human communities and at risk of spreading these infectious agents to vulnerable species in the case of an eventual reintroduction to the wild.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, primates, MTBC, illegal trafficking

INTRODUCCIÓN

El complejo *Mycobacterium tuberculosis*, MTBC por sus siglas en inglés, está compuesto por un diverso grupo de especies de micobacterias tales como *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. suricattae*, *M. dassie*, *M. mungi* y *M. oryx* (Desmond et al., 2004; CDC, 2021). Estas micobacterias son responsables de producir la enfermedad conocida como tuberculosis en humanos y en otros mamíferos (Huard et al., 2003; Velayati & Farnia, 2016).

La tuberculosis es una enfermedad que viene afectando a la humanidad por siglos. Es causada por los bacilos ácido-alcohol resistentes que son diseminados por un individuo con tuberculosis activa por medio de aerosoles. Al ser inhalado, el bacilo se aloja en los alvéolos respiratorios en donde pueden ser contenido por el sistema inmune mediante la formación de granulomas, dándose lo que se conoce como tuberculosis primaria (CDC, 2021; Maison, 2022). La infección puede ser subclínica o con síntomas leves llegando a curarse o evolucionar a la fase latente, pero en personas inmunodeficientes se desarrolla la enfermedad activa con síntomas severos y capacidad de diseminación del agente infeccioso (WebPath, 2024). En caso de la fase latente, las bacterias permanecen inactivas en el organismo hasta que ocurre una disminución en la respuesta inmune por diversos factores, reanuda su replicación y puede desarrollar una enfermedad pulmonar o extra pulmonar, pudiendo llegar a afectar huesos, aparato genitourinario, sistema nervioso central, sistema digestivo, entre otros (CDC, 2021; Maison, 2022; WebPath, 2024).

El método de diagnóstico más utilizado es la prueba cutánea de tuberculina. Ésta consiste en la inyección intradérmica de un preparado peptídico conocido como derivado proteico purificado (PPD), para provocar una reacción de hipersensibilidad en caso de que el individuo haya tenido contacto previo con una micobacteria (CDC, 2024). Sin

embargo, esta prueba puede presentar falsos positivos y negativos debido a diferentes factores. Por ejemplo, repeticiones en cortos periodos de tiempo pueden aumentar la reacción provocando un falso positivo (CDC, 2024), así como infecciones causadas por micobacterias no tuberculosas (MNT) ya que estas pueden compartir antígenos con las bacterias del MTBC (Dorman et al., 2013). La vacuna del bacilo de Calmette-Guérin (BCG) también puede provocar falsos positivos hasta por 2 años post inoculación, por lo que en individuos vacunados se recomienda la prueba sanguínea de ensayo de liberación de interferón-gamma. Adicionalmente, se pueden coleccionar muestras de esputo o tejidos para la identificación visual del bacilo con la tinción Ziehl-Neelsen. Las mismas muestras también pueden ser sembradas en agares microbiológicos especiales, como el Löwenstein Jensen (Carrol et al., 2016; WebPath, 2024).

Actualmente la tuberculosis está considerada dentro de las 10 principales causas de muertes en el mundo y, hasta la aparición del COVID-19, lideraba la lista de causas de muerte por un solo agente infeccioso (WHO, 2021). El Perú es uno de los 30 países más afectados por la tuberculosis (WHO, 2020), teniendo un mayor riesgo los estratos socioeconómicos bajos en las ciudades más pobladas (MINSa, 2012; Alarcón et al., 2017). Esta enfermedad es la decimoquinta causa de muertes en el país (MINSa, 2015), teniéndose 31026 casos nuevos en el año 2016 con una tasa de mortalidad del 4% (MINSa, 2016).

Bacterias pertenecientes al MTBC se han visto reportadas también en animales como primates, tanto del viejo mundo (Michel et al., 2003; Michel et al., 2013) como del nuevo mundo (Alfonso et al., 2004; Barragán y Brieva, 2005; Rocha et al., 2011; Rosenbaum et al., 2015). La tuberculosis es considerada la enfermedad bacteriana más importante en primates no humanos por su rápida diseminación y los problemas que

ocasiona en poblaciones en cautiverio (Thoen, 2016), más aún en países con una alta presencia de tuberculosis humana (Mätz-Rensing et al., 2015) como es el caso del Perú.

La tuberculosis es adquirida por primates no humanos por vía aérea al convivir con individuos infectados, ya sean estos otros primates, humanos u otras especies susceptibles de adquirir la enfermedad y desarrollarla, como ganado bovino y caprino, gatos, perros o aves (Alfonso et al., 2004; Une & Mori, 2007; Mätz-Rensing et al., 2015). También puede adquirirse por medio de fómites dentro de las instalaciones en las que habitan los animales, como máquinas de tatuajes o tubos para lavado gástrico, los cuales transmiten el patógeno por vía oral. La presentación clínica es variable, en algunos casos se puede observar un deterioro progresivo de la salud mientras que en otros se encuentra al animal muerto sin signos previos hallándose múltiples granulomas al momento de la necropsia (Une & Mori, 2007).

Sobre las pruebas diagnósticas en primates, la prueba de tuberculina es obligatoria durante un periodo de cuarentena de los animales recién llegados a una nueva locación, siendo necesarias tres pruebas negativas antes de finalizar los 42 días de cuarentena y debe ser repetida semi anualmente en caso de primates del nuevo mundo (Lecu et al., 2013).

En la actualidad, las técnicas de detección molecular están siendo más usadas debido a su capacidad para identificar infecciones tempranas y casos subclínicos (Rosenbaum, 2015), sumado al rápido diagnóstico en un periodo de horas comparado con otras técnicas (Pfyffer & Wittwer, 2012). Estas pruebas se basan en la detección y amplificación de secuencias específicas en el ADN para el MTBC en muestras de sangre, hisopados orofaríngeos o lavados gástricos del animal infectado (Wilbur et al., 2012; Rosenbaum et al., 2015; Wood et al., 2015).

Es importante mencionar también que los protocolos de salud indican que ante un caso positivo de tuberculosis en animales exóticos o silvestres no se procede con tratamiento debido a que este da pocos resultados y contribuye con el aumento de la resistencia a antibióticos, por lo que se debe proceder a la eutanasia para evitar la diseminación de la enfermedad (Johnson et al., 1994; Frost et al., 2014).

En estudios realizados en primates alrededor del mundo se han documentado casos de contagios de tuberculosis entre primates no humanos y personas. Mätz-Rensing et al., (2015) reportaron un brote de tuberculosis en una colonia de macacos criados con fines de investigación en Alemania que afectó al 42.3% de individuos después de que un trabajador del centro donde habitaban presentara una reactivación de la enfermedad. Igualmente, en el reporte de Michel et al., (1998) un mono tití común (*Callithrix jacchus*) que era mantenido como mascota en Sudáfrica presentó signos de la enfermedad producto del contacto con la familia de los propietarios con historial de tuberculosis. Se evidencia también contagios entre animales pertenecientes a un mismo grupo como en el estudio de Alfonso et al. (2004) en un zoológico colombiano en donde se halló presencia del MTBC en 51.1% de monos. Mientras que en el reporte de Michel et al. (2003) un chimpancé de un zoológico sudafricano desarrolló la enfermedad 29 meses después de que el compañero con el que compartía el hábitat dio positivo. Asimismo, en el reporte de Panarella y Bimes, 2010, donde en un grupo de macacos de un laboratorio en Estados Unidos se halló 41.3% de individuos positivos a tuberculosis.

Se tienen también reportes de zoonosis con origen en primates no humanos, en donde los principales afectados son cuidadores de zoológicos y veterinarios (Kauffman & Anderson, 1978; Montali et al., 2001; Burgos-Rodríguez, 2011; Stephens et al., 2013). Por ejemplo, trabajadores y veterinarios de un zoológico que realizaron necropsia de animales afectados dieron positivo a tuberculosis y uno de los veterinarios desarrolló la

enfermedad, aislándose el mismo bacilo que en los monos analizados (Une & Mori, 2007).

Los estudios realizados hasta el momento con enfoque en la detección del MTBC en primates del nuevo mundo han dado casos positivos de hasta 13.6% de frecuencia con respecto al total de animales muestreados, siendo este un estudio realizado en el Perú entre diciembre del 2010 y abril del 2012 con primates mantenidos en cautiverio (Rosenbaum et al., 2015). Esto es un indicativo de reservorio potencial de la enfermedad y la existencia de riesgos de contagio entre los mismos animales y con el ser humano, sobre todo en países con alto tráfico ilegal de especies silvestres e incidencia de tuberculosis humana, como es el caso del Perú (Barragán et al.; 2005; Rosenbaum et al., 2015).

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la presencia del MTC en muestras de hisopados orales de primates del nuevo mundo provenientes del tráfico ilegal en Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de Estudio

Las muestras utilizadas en este estudio provinieron de un criobanco perteneciente a la Unidad de Virología del Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. El procesamiento de las mismas se realizó en los laboratorios de la Unidad de Epidemiología Molecular del Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

2. Diseño y población de estudio

El estudio realizado fue de tipo observacional descriptivo retrospectivo. Las muestras fueron hisopados orales recolectados previamente en el periodo 2017-2021 bajo el proyecto “Detección de flavivirus en muestras sanguíneas de primates neotropicales confiscados por el Servicio Nacional Forestal y de Fauna silvestre (SERFOR)”, SIDISI 103076.

Las muestras de primates procedieron de las Administraciones Técnicas Forestales y de Fauna Silvestre del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre en Lima (n=37) y Loreto (n=14), el Zoológico Cecilia Margarita en Piura (n=33) y el Centro de Rescate Taricaya y Centro de Rescate Amazon Shelter en Madre de Dios (n=142). La colecta se realizó en varias visitas a estos centros en el periodo previamente estipulado, durante controles sanitarios periódicos y a partir de animales recién llegados procedentes de decomisos.

3. Tamaño y Conservación de Muestras

Las muestras del criobanco a estudiar fueron en total 226 (Anexo 1). Estuvieron conservadas en tubos de plástico de 1 ml con tapa rosca conteniendo 0.5 ml de solución estabilizadora RNAlater ® (Thermo Scientific™, USA) a -20°C.

4. Criterios de Inclusión

Las muestras correspondieron a hisopados orales de todos los primates disponibles en cada centro, independientemente de especie, sexo, grupo etario y condición de salud. Se consideraron dentro del estudio a aquellas muestras de ADN extraído con las siguientes características: Presencia de al menos 1 ng/ul de ADN detectado mediante espectrofotometría, NanoDrop™ (Thermo Scientific™, USA) y presencia de amplificación en el control interno durante la prueba de PCR en tiempo real.

5. Extracción de ADN de las muestras

Las muestras se descongelaron lentamente colocándolas en un envase con hielo durante 15 minutos. Antes de iniciar con el proceso de extracción se homogenizó cada tubo usando un vórtex (homogenizador) durante 10 segundos. La extracción del ADN se realizó utilizando el kit comercial High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche®, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Al finalizar se obtuvieron 200 µl de ADN puro y se realizó una cuantificación colocando 1 µl en un equipo NanoDrop™ (Thermo Scientific™, USA). Se evaluó la pureza de la muestra corroborando que la ratio de 260/280 sea ≥ 1.8 .

6. Prueba de PCR en tiempo real

Se utilizó el kit comercial Logix Smart™ MTB (Co-Diagnostics, Inc, USA) que amplifica los genes IS6110 y MPB64 específicos para los miembros del complejo *M. tuberculosis*. El kit contiene una mezcla de master mix previamente preparada, RNasaP como control positivo interno y agua libre de nucleasa como control negativo.

De acuerdo con las especificaciones del fabricante se consideró un resultado positivo si hubo amplificación para los genes IS6110 y/o MPB64 con un mínimo de umbral de ciclo (Ct) a partir de 21.00 y 21.50, respectivamente. Amplificaciones de Ct mayores a 40.00 se consideraron negativas. Adicionalmente, el límite de detección del kit fue de 10 copias/5 µL para IS6110 y de 40 copias/5 µL para MPB64.

La prueba de PCR en tiempo real se llevó a cabo en un termociclador LightCycler® 480 (Roche®, USA) a partir de las instrucciones del fabricante. Asimismo, el control interno de amplificación se hizo con dos primers para el gen RNaseP en el master mix del kit comercial utilizado, ya que al ser este un componente de las células, se obtendría una amplificación ante la presencia de ADN, validando la calidad de la muestra y la estabilidad del kit. El control interno debe presentar una amplificación a partir del Ct 15.00.

7. Consideraciones Éticas

El presente estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales de la UPCH bajo constancia de aprobación CONSTANCIA-CIEA-045-10-24.

8. Análisis de datos

Los resultados del PCR se clasificaron como positivos o negativos mediante el software CoDx MIC desarrollado por BioMolecular Systems para Co-Diagnostics e incluido en el kit Logix Smart™ MTB.

Los datos pertenecientes a los individuos de los cuales proceden las muestras se organizaron en una hoja de cálculos de Microsoft Excel (2021) tomándose en cuenta por cada individuo las siguientes características como variables:

- Familia: Aotidae, Atelidae, Callitrichidae, Cebidae o Pitheciidae
- Especie: Nombre científico de los primates evaluados
- Sexo: Macho o hembra
- Lugar de procedencia de la muestra: Lima, Madre de Dios, Piura o Loreto
- Grupo etario: Infante, juvenil o adulto
- Resultado de amplificación: umbral de ciclo menor o igual al ciclo 45 "Positivo"; umbral de ciclo mayor al ciclo 45 "Negativo"

Posteriormente, se ordenaron los resultados de la presencia o ausencia de ampliación del ADN de nuestro interés con respecto a las otras variables en una tabla de distribución de frecuencias absolutas y relativas.

RESULTADOS

Se procesaron hisopados orales de primates neotropicales pertenecientes a individuos machos y hembras, infantes, juveniles y adultos pertenecientes a las familias Atelidae, Aotidae, Callitrichidae, Cebidae y Pitheciidae.

Se obtuvo amplificación para MTBC en el 3.1% de las muestras (7/226). (Cuadro 1). Entre los positivos 2.38% fueron hembras (3/126) y 4% machos (4/100). Se vio una mayor cantidad de positivos entre los juveniles con un 6.58% (5/76) seguidos de los infantes con 4.17% (1/24) y adultos con 0.86% (1/116).

Se observó que el 4.2% (6/142) de los individuos pertenecientes a la familia Atelidae y el 1.96% (1/51) de los individuos pertenecientes a la familia Cebidae resultaron positivos. Entre estos se tuvieron monos de las especies *Ateles chamek* (n=5), *Lagothrix lagotricha* (n=1) y *Saimiri sp.* (n=1).

Las muestras positivas provienen de los departamentos de Lima en un 2.7% (1/37) y de Madre de Dios en un 4.2% (6/142).

Cuadro 1. Frecuencia de resultados de positividad a MTB estratificado por grupo etario, sexo, familia taxonómica y departamento de procedencia.

Variables/categorías	Total de muestras (N)	Muestras PCR positivas	
		n	%
Sexo			
Hembra	126	3	2.38
Macho	100	4	4
Grupo etario			
Infante	24	1	4.17
Juvenil	76	5	6.58
Adulto	116	1	0.86
No determinado	10	0	0
Familia de primate			
Aotidae	10	0	0
Atelidae	142	6	4.23
Callitrichidae	20	0	0
Cebidae	51	1	1.96
Pitheciidae	3	0	0
Lugar de procedencia			
Lima	37	1	2.7
Madre de Dios	142	6	4.23
Piura	33	0	0
Loreto	14	0	0
Total	226	7	3.1

Entre las muestras con resultados positivos se halló amplificación de la secuencia IS6110 en seis de los casos (85.71%), con Ct de una media de 36.8 y una desviación estándar de ± 0.67 . La amplificación de la secuencia MPB64 se dio en tres casos (42.86%) con Ct de una media de 39.0 y una desviación estándar de ± 0.9 .

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio demuestran la presencia presuntiva de bacterias del MTBC en primates del nuevo mundo en el Perú, con una frecuencia baja pero relevante dado que provienen de animales decomisados que han estado en contacto con personas. Este resultado es similar al obtenido en Bogotá en el año 2005 mediante PCR-spoligotyping, en donde la prevalencia hallada fue de 2.4% (Barragán et al., 2005), y a su vez menor que el hallado en 2004 en una población perteneciente a un zoológico en Cali mediante PCR y cultivo, en donde la prevalencia fue de 13.6% (Alfonso et al., 2004). Esta mayor frecuencia puede deberse a que los primates evaluados pertenecen a un zoológico, el cual presenta un flujo constante de personas externas al centro que podrían traer con ellas al patógeno. Por el contrario, los centros de rescate suelen ser frecuentados por personal establecido el cual debe someterse a chequeos de salud preventivos, minimizando la posible ruta de contagio de origen humano. Adicionalmente, las muestras evaluadas en el estudio colombiano pertenecen exclusivamente a individuos de las familias Atelidae y Cebidae, las cuales podrían tener cierta predisposición para infectarse (Alfonso et al., 2004).

Estudios previos realizados en el Perú tuvieron resultados variados. En el estudio realizado en el año 2014 con 56 primates pertenecientes a centros de rescate en los departamentos de Loreto y San Martín, mediante técnicas serológicas y de detección de bacilos ácido resistentes en hisopados orales no se detectó ningún caso (Navarrete et al., 2014). Por el contrario, otros estudios realizados con muestras de hisopados orales colectadas entre los años 2010-2012 y mediante el uso de PCR obtuvieron una prevalencia total de 10.47% (Mendoza et al., 2024) y 13.6% (Rosenbaum et al., 2015), mayor en comparación con lo obtenida en el presente estudio. Este resultado mayor pudo verse

influenciado por los lugares de procedencia de las muestras, ya que se evaluaron primates procedentes de una mayor cantidad de departamentos, incluyendo Ucayali, departamento con la mayor tasa de morbilidad en tuberculosis humana en el año 2023 (MINSA, 2023).

Entre los individuos hallados positivos en el presente estudio, la mayoría perteneció a la familia Atelidae y Cebidae, Coincidentemente, la literatura indica la existencia de mayor susceptibilidad en especies perteneciente a las familias Atelidae y Cebidae (Fortman et al., 2001; Alfonso et al., 2004). Sin embargo, no existen reportes de bacterias del MTBC en primates de la familia Pitheciidae. Asimismo, la importancia de los resultados se relaciona también con las especies identificadas como positivas en este estudio, *Ateles chamek*, *Lagothrix lagotricha* y *Saimiri sp.*, las cuales se encuentran clasificadas en el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) y, las dos primeras, figuran como "En peligro" en la clasificación de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (SERFOR, 2020).

Por otro lado, se pudo apreciar que los individuos positivos pertenecían en su mayoría a las categorías de "juvenil" e "infante". En humanos se observa lo contrario, ya que la incidencia de tuberculosis aumenta con la edad debido a la mayor exposición y riesgo de comorbilidades (CDC, 2022). Sin embargo, los individuos jóvenes están en mayor riesgo al convivir con personas infectadas, pudiendo ser este el caso ya que los juveniles proceden del mismo centro de rescate.

La media de los Ct obtenidos por PCR en donde se obtuvo las amplificaciones para los primers resultó cercana al límite máximo de 40 ciclos, lo cual podría tratarse de trazas de ADN bacteriano o bacterias vivas en un menor número, por lo que es recomendable realizar el cultivo para poder comprobar la viabilidad del patógeno. Si una muestra contiene ≥ 10 bacilos vivos, se obtiene crecimiento de colonias en los cultivos

(Khairullah Sedeeq et al., 2022). El método Gold estándar para la identificación de una infección activa en primates es el cultivo de esputo (American Thoracic Society, 2000), sin embargo, esta técnica diagnóstica puede tomar entre 3 y 8 semanas para brindar resultados y debe ser realizado en laboratorios BSL3 y BSL4. En los últimos años la popularidad de las pruebas moleculares ha ido en aumento debido a la rapidez con la que se obtienen resultados, permitiendo una pronta respuesta inicial. En un estudio realizado en Turquía en el año 2022 se obtuvo como resultado que el valor predictivo positivo y negativo para una prueba de PCR en comparación al cultivo, fue de 81.3% y 99.3% respectivamente (Khairullah Sedeeq et al., 2022). Sin embargo, se debe tomar en cuenta que, a pesar de los beneficios del PCR, el cultivo aporta información valiosa como la identificación de la especie del patógeno y realizar pruebas de sensibilidad antimicrobianas, por lo que ambas técnicas diagnósticas deben ir de la mano.

La detección de ADN de bacterias del MTBC por medio de PCR, usada en el presente estudio, tiene la ventaja de ser rápida en comparación con otras técnicas, además de tener menor posibilidad de falsos positivos y negativos en comparación a técnicas serológicas y PPD, ya que estas pueden tener problemas a la hora de diferenciar una respuesta frente a bacterias del MTBC de una respuesta frente a Micobacterias no tuberculosas (MNT) o pueden no detectar infecciones latentes (Lerche et al., 2008; Wachtman et al., 2011; Obaldía et al., 2018).

La secuencia del IS6110 utilizada en el presente estudio suele ser la más utilizada para la detección de bacterias del MTB en PCR, sin embargo, estudios realizados comprobaron que usar secuencias adicionales como la MPB64 aumenta la sensibilidad de la prueba (Therese et al., 2013; Lekhak et al., 2016). Incluso se tiene información de la existencia de ciertas cepas de MTB en la India que no presentan la secuencia IS6110 en su genoma, pero si MPB64 (Kusum et al., 2012; Lekhak et al., 2016). Debido a sus

beneficios y a que se desconoce la diversidad genética de las bacterias del MTB en primates del nuevo mundo, se sugiere por tanto el uso de esta técnica de PCR múltiple en futuras investigaciones.

La importancia de la detección temprana de estos patógenos recae en el riesgo de transmisión a humanos y a otros primates en vida libre ante la eventual liberación de un individuo primate infectado. Los encargados del manejo de primates, tales como cuidadores y médicos veterinarios, tienen un riesgo mayor de contagio y pueden presentar PPDs positivos más frecuentemente que el resto de la población (Montali et al., 2001). La tuberculosis en primates es considerada principalmente como un problema de poblaciones en cautiverio ya que se sabe muy poco de su impacto en vida libre (Coscolla et al., 2013; Mätz-Rensing et al., 2015; Mendoza et al., 2024). Los primates hallados positivos en este estudio y en similares provienen en su mayoría de zoológicos y centros de rescate (Rosenbaum et al., 2015; Mendoza et al., 2024), a donde llegan tras ser víctimas del tráfico ilegal, por lo que están en frecuente contacto con humanos durante extensos periodos de tiempo, sometidos a situaciones que generan estrés y expuestos a diversas comorbilidades (Mendoza et al., 2021; Mendoza et al., 2024) que debilitan su sistema inmune, volviéndose más propensos a infectarse, convertirse en portadores y diseminar el patógeno en poblaciones cerradas (Wolf et al., 2014; Rosenbaum et al., 2015; Mendoza et al., 2024). Por lo que, a raíz de los resultados, se recomienda reforzar el uso del equipo de protección personal para el personal de los centros en donde se encuentren individuos positivos o sospechosos y realizar un descarte de MTBC anual tanto a los primates como a los operarios, poniendo especial énfasis en aquellos primates que se esté considerando reintroducir a la naturaleza.

Por otro lado, es posible encontrar una mayor cantidad de casos positivos a MTB en primates que habitan zonas con alta presencia de tuberculosis humana, como lo es la

selva del Perú, en donde se ven tasas de morbilidad de hasta 218,81 por 100 000 habitantes (MINSA, 2023), que es de donde provienen 85.7% de los primates positivos en este estudio. Es importante resaltar que varios departamentos de la selva del Perú como Ucayali, Loreto y Madre de Dios han visto incrementos en la morbilidad de tuberculosis en el año 2022 con respecto al 2018 (MINSA, 2023). Por tanto, se recomiendan más estudios en estas regiones para determinar el impacto de la tuberculosis humana en las poblaciones de primates del nuevo mundo.

El presente estudio contribuye a los esfuerzos para lograr un mayor entendimiento del impacto de las bacterias del MTBC en primates del nuevo mundo, brindando información sobre la presencia del patógeno en poblaciones en cautiverio y como esta ha variado en el tiempo transcurrido desde la última investigación en condiciones similares. Sin embargo, se deben tener en cuenta las limitaciones del estudio. No se contó con información adicional de los individuos positivos, por lo que se desconoce su estado de salud o antecedentes al momento de la toma de muestra y posteriormente. La mayor cantidad de muestras analizadas pertenecen a las familias Atelidae y Cebidae, lo cual pudo haber influido a la hora de detectar más positivos lo que hace que los resultados no sean extrapolables a toda una población. Una mayor población muestral de las otras familias de primates del nuevo mundo podría ayudar a determinar si alguna familia es más susceptible. De igual forma, no se pudo confirmar la especie de la bacteria MTB detectada, por lo que sería ideal realizar la secuenciación genética para descartar la presencia de *M. bovis* o *M. tuberculosis*, ya que estas son las que presentan más riesgo zoonótico.

CONCLUSIONES

- Se detectó ADN de MTB en una frecuencia de 3.1% en muestras de hisopados orales de primates del nuevo mundo mediante la técnica de PCR en tiempo real.
- El Ct promedio en donde se realizó la amplificación fue alto con 36.8 para el gen IS6110 y 39.0 para el gen MPB64.
- La mayor cantidad de primates positivos fueron los juveniles (n=5) y pertenecieron a la familia Atelidae (n=6) seguido de la Cebidae (n=1).
- La procedencia de la mayoría de individuos positivos fue de Madre de Dios (n=6).

BIBLIOGRAFIA

- Alarcón V, Alarcón E, Figueroa C, & Mendoza-Ticona A. 2017. Tuberculosis en el Perú: Situación epidemiológica, avances y desafíos para su control. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, vol.34, n.2, pp.299-310.
- Alfonso R, Romero R E, Diaz A, Calderón M N, Urdaneta G, Arce J, *et al.* 2004. Isolation and identification of mycobacteria in New World primates maintained in captivity. *Veterinary microbiology*, 98(3-4), 285–295.
- American Thoracic Society. 2000. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. *Am J Resp Crit Care Med* 161:1376–1395
- Barragán K & Brieva C. 2005. Tuberculosis y micobacteriosis en primates neotropicales en cautiverio: Un enfoque desde la conservación. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 52(II),128-143. ISSN: 0120-2952.
- Barragán K, Brieva C, & Guerrero M. 2005. Estudio preliminar de especies de micobacterias en primates colombianos no humanos en cautiverio en dos centros de rescate de fauna silvestre de Bogotá. *Acta Biológica Colombiana*, 10(1), 79.
- Burgos-Rodriguez A G. 2011. Zoonotic diseases of primates. *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice*, 14(3), 557–viii.
- Carroll K C, Hobden J A, Miller S, Morse S A, Mietzner T A, Detrick B, *et al.* (eds). 2019. “Mycobacteria” en *Jawetz, Melnick, & Adelberg’s medical microbiology*, 27e (New York, NY: McGraw-Hill Education)
- [CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2021. *Core Curriculum on Tuberculosis: What the Clinician Should Know* (7th ed.).

- [CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2022. Reported Tuberculosis in the United States, 2022; [Internet]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/tb/statistics/reports/2022/demographics.htm>
- [CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2024. Clinical Testing Guidance for Tuberculosis: Tuberculin Skin Test; [Internet]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/tb/hcp/testing-diagnosis/tuberculin-skin-test.html>
- Coscolla M, Lewin A, Metzger S, Maetz-Renning K, Calvignac-Spencer S, Nitsche A, et al. 2013. Novel Mycobacterium tuberculosis complex isolate from a wild chimpanzee. *Emerging infectious diseases*, 19(6), 969–976.
- CO-DIAGNOSTICS, INC. 2018. Logix Smart™ MTB. [Internet]. Disponible en: <https://codiagnostics.com/products/diagnostic-solutions/logix-smart-mtb/>.
- Desmond E, Ahmed A, Probert W, Ely J, Jang Y, & Sanders C, et al. 2004. *Mycobacterium africanum*: Cases, California. *Emerging Infectious Diseases*,
- Dorman S E, Belknap R, Graviss E A, Reves R, Schluger N, Weinfurter P, et al. 2014. Interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for diagnosis of latent tuberculosis infection in healthcare workers in the United States. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 189(1), 77–87.
- Fortman J D, Hewett T A, Bennett B T, 2001. *The Laboratory Nonhuman Primate*. CRC Press, Boca Raton
- Frost P A, Calle PP, Klein H, Thoen CO. 2014. Zoonotic tuberculosis in nonhuman primates. En: Thoen C, Steele J, Kaneene J (eds) *Zoonotic Tuberculosis: Mycobacterium bovis and other Pathogenic Mycobacteria*, 3rd edn. Wiley-Blackwell, Chichester, pp 383–397
- Huard R C, Lazzarini L C, Butler W R, van Soolingen D, & Ho J L. 2003. PCR-based method to differentiate the subspecies of the Mycobacterium tuberculosis

complex on the basis of genomic deletions. *Journal of clinical microbiology*, 41(4), 1637–1650.

- Johnson C. Primates. En: Quesenberry K and Hillyer E. 1994. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice. Exotic Pet Medicine II* 4(1): 121-156.
- Kaufmann AF & Anderson DC. 1978. Tuberculosis control in non-human primate colonies. In *Proc. Symposium on mycobacterial infections in zoo animals* (R.J. Montali, ed.), 6-8 October 1976, Front Royal, Virginia. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, 227-234.
- Khairullah Sedeeq Z, Samadzade R, Maçın S, Turk Dagı H, Fındık D. 2022. Comparison of Culture, Direct Microscopy, and Polymerase Chain Reaction Results for Detection of *Mycobacterium tuberculosis* Complex in Clinical Specimens. *Genel Tıp Dergisi*. 2022; 32(5): 520-524
- Kusum S, Aman S, Pallab R, Kumar S S, Manish M, Sudesh P, et al. 2011. Multiplex PCR for rapid diagnosis of tuberculous meningitis. *Journal of neurology*, 258(10), 1781–1787.
- Lecu A, Knauf S, Matz-Rensing K & Kaup F J. 2013. Tuberculosis in non-human primates, an overview of diagnostic tools. [Internet] Disponible en: https://www.dpz.eu/fileadmin/content/Infektionspathologie/Bilder/Dokumente/L_ECU%20TuberculosisFORMAT%20COP_Korr.pdf
- Lekhak S P, Sharma L, Rajbhandari R, Rajbhandari P, Shrestha R, & Pant B. 2016. Evaluation of multiplex PCR using MPB64 and IS6110 primers for rapid diagnosis of tuberculous meningitis. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, 100, 1–4.

- Lerche N W, Yee J L, Capuano S V, & Flynn J L. 2008. New approaches to tuberculosis surveillance in nonhuman primates. *ILAR journal*, 49(2), 170–178.
- Maison DP. 2022. Tuberculosis pathophysiology and anti-VEGF intervention, *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*, Volume 27, 100300.
- Mätz-Rensing K, Hartmann T, Wendel G, Frick J, Homolka S, & Richter E, et al. 2015. Outbreak of Tuberculosis in a Colony of Rhesus Monkeys (*Macaca mulatta*) after Possible Indirect Contact with a Human TB Patient. *Journal Of Comparative Pathology*, 153(2-3), 81-91.
- Mendoza AP, Mitman S, Rosenbaum MH. 2021. *Mycobacterial infections in monkeys*. 1st ed. *Neglected Diseases of Monkeys: From: The Monkey-Human Interface to One Health*. 1st ed. Springer.
- Mendoza AP, Muñoz-Maceda A, Ghersi BM, et al. 2024. Diversity and prevalence of zoonotic infections at the animal-human interface of primate trafficking in Peru. *PLoS One*. 2024;19(2):e0287893.
- Michel A L, & Huchzermeyer H F. 1998. The zoonotic importance of *Mycobacterium tuberculosis*: transmission from human to monkey. *Journal of the South African Veterinary Association*, 69(2), 64–65.
- Michel A L, Hlokwe T M, Espie I W, van Zijll Langhout M, Koeppel K, & Lane E. 2013. *Mycobacterium tuberculosis* at the human/wildlife interface in a high TB burden country. *Transboundary and emerging diseases*, 60 Suppl 1, 46–52.
- Michel A, Venter L, Espie I, & Coetzee M. 2003. *Mycobacterium tuberculosis* infections in eight species at the National Zoological Gardens of South Africa, 1991–2001. *Journal Of Zoo and Wildlife Medicine*, 34(4), 364-370.

- [MINSA] Ministerio de Salud. 2012. Impacto socioeconómico de la Tuberculosis en el Perú 2010: documento técnico. Lima. [Internet]. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1820.pdf>.
- [MINSA] Ministerio de Salud. 2015. Principales causas de mortalidad por sexo Perú, año 2014. Ministerio de Salud, Oficina General de Tecnologías de la Información; [Internet]. Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/mortalidad/macros.asp?00.mins>
- [MINSA] Ministerio de Salud. 2016. Indicador: TBC, información preliminar. http://www.app.minsa.gob.pe/bsc/Detalle_IndBSC.asp?lcind=19&lcobj=4&lcper=1&lcfreq=3/1/2017
- [MINSA] Ministerio de Salud. 2023. Boletín epidemiológico del Perú. Perú. VOLUMEN 32 - SE 20, Semana Epidemiológica (del 14 al 20 de mayo del 2023)
- Montali RJ, Mikota SK, Cheng LI. 2001. *Mycobacterium tuberculosis* in zoo and wildlife species. *Rev Sci Tech*. Apr;20(1):291-303. doi: 10.20506/rst.20.1.1268.
- Navarrete M, Elias O, Morales S, Davila R, Ramos M, Zariquiey C et al. 2014. Evaluación de la tuberculosis en primates no humanos criados en semicautiverio en la selva peruana. *Theorema* 1(1):73–81
- Obaldía N, Nuñez M, Montilla S, Otero W, & Marin J C. 2018. Tuberculosis (TB) outbreak in a closed *Aotus* monkey breeding colony: Epidemiology, diagnosis and TB screening using antibody and interferon-gamma release testing. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 58, 1–10.
- Panarella M, & Bimes R. 2010. A Naturally Occurring Outbreak of Tuberculosis in a Group of Imported Cynomolgus Monkeys (*Macaca fascicularis*). *Journal Of The American Association For Laboratory Animal Science*, 49(2).

- Pfyffer G E, & Wittwer F. 2012. Incubation time of mycobacterial cultures: how long is long enough to issue a final negative report to the clinician? *Journal of clinical microbiology*, 50(12), 4188–4189.
- Rocha V, Ikuta C, Gomes M, Quaglia F, Matushima E, & Neto J. 2011. Isolation of *Mycobacterium tuberculosis* from Captive *Ateles paniscus*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(5), 593-594.
- Rosenbaum M, Mendoza P, Ghersi B M, Wilbur A K, Perez-Brumer A, Cavero Yong N, et al. 2015. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* Complex in New World Monkeys in Peru. *EcoHealth*, 12(2), 288–297.
- [SERFOR] Servicio Nacional Forestal y de Fauna silvestre. (2020). Plan Nacional de Conservación de los Primates Amenazados del Perú: Periodo 2019-2029 (1st ed.).
- Stephens N, Vogelnest L, Lowbridge C, Christensen A, Marks G B, Sintchenko, V, & McAnulty J. 2013. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* from an Asian elephant (*Elephas maximus*) to a chimpanzee (*Pan troglodytes*) and humans in an Australian zoo. *Epidemiology and infection*, 141(7), 1488–1497.
- Therese K, Gayathri R, Dhanurekha L, Sridhar R, Meenakshi N, & Madhavan H. 2013. Diagnostic appraisal of simultaneous application of two nested PCRs targeting MPB64 gene and IS6110 region for rapid detection of *M. tuberculosis* genome in culture proven clinical specimens. *Indian Journal Of Medical Microbiology*, 31(4), 366-369.
- Thoen C. 2016. Tuberculosis in Nonhuman Primates - Generalized Conditions - MSD Veterinary Manual. MSD Veterinary Manual. [Internet]. Disponible en: <https://www.msdrvetermanual.com/generalized-conditions/tuberculosis-and-other-mycobacterial-infections/tuberculosis-in-nonhuman-primates>

- Une Y, & Mori T. 2007. Tuberculosis as a zoonosis from a veterinary perspective. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 30(5-6):415-25. doi: 10.1016/j.cimid.2007.05.002.
- Velayati AA, Farnia P. 2016. *Atlas of Mycobacterium Tuberculosis*; 1st Ed, Elsevier Inc.: San Diego, CA, USA.
- Wachtman L M, Miller A D, Xia D, Curran E H, & Mansfield K G. 2011. Colonization with nontuberculous mycobacteria is associated with positive tuberculin skin test reactions in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Comparative medicine*, 61(3), 278–284.
- WebPath, The University of Utah. 2024. The Internet Pathology Laboratory for Medical Education: Pathology of Tuberculosis; [Internet]. Disponible en: <https://webpath.med.utah.edu/TUTORIAL/MTB/MTB.html>
- [WHO] World Health Organization. 2020. Global tuberculosis report 2020. [Internet]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>.
- [WHO] World Health Organization. 2021. Global tuberculosis report 2021. [Internet]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>
- Wilbur A, Engel G, Rompis A, Putra I, Lee B, & Aggimarangsee N et al. 2012. From the Mouths of Monkeys: Detection of Mycobacterium tuberculosis Complex DNA From Buccal Swabs of Synanthropic Macaques. *American Journal Of Primatology*, 74(7), 676-686.
- Wolf T M, Sreevatsan S, Travis D, Mugisha L, & Singer R S. 2014. The risk of tuberculosis transmission to free-ranging great apes. *American journal of primatology*, 76(1), 2–13.

- Wood R C, Luabeya A K, Weigel K M, Wilbur A K, Jones-Engel L, Hatherill M, & Cangelosi G A. 2015. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* DNA on the oral mucosa of tuberculosis patients. Scientific reports, 5, 8668.

ANEXOS

ANEXO 1

BANCO DE MUESTRAS

Las muestras de hisopados orales utilizadas en este estudio forman parte del criobanco administrado por la Unidad de Virología del Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt en colaboración con la doctora Ana Patricia Mendoza Becerra. A continuación, se detalla la distribución taxonómica de las 226 muestras incluidas en este estudio.

