

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**La respuesta inmune en pruebas a la  
tuberculina**

**Naman Eli Rodríguez Romo**

**MONOGRAFÍA**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**ASESOR:**

**MVZ. MC. FRANCISCO J CARRILLO MORALES**

**CO ASESOR**

**MVZ. JOSE VICTOR SANCHEZ MIJARES**

**TORREÓN, COAHUILA**

**AGOSTO 2012**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**La respuesta inmune en pruebas a la  
tuberculina**

**POR**

**Naman Eli Rodríguez Romo**

**MONOGRAFÍA**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA**

**AGOSTO 2012**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**  
*UNIDAD LAGUNA*

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**




**La respuesta inmune en pruebas a la  
tuberculina**

**MONOGRAFÍA**

Aprobada por el

**PRESIDENTE DEL JURADO**

  
MVZ. FRANCISCO J. CARRILLO MORALES

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL**

  
MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

**TORREÓN, COAHUILA**

**AGOSTO 2012**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**  
**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

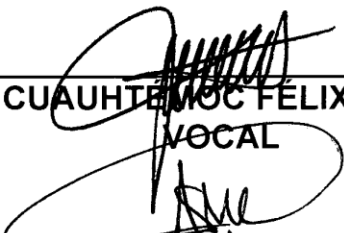


# **La respuesta inmune en pruebas a la tuberculina**

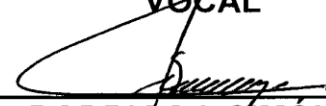
## **MONOGRAFÍA**

**Aprobada por el H. Jurado examinador**

  
\_\_\_\_\_  
**MVZ. MC. FRANCISCO J CARRILLO MORALES**  
**PRESIDENTE**

  
\_\_\_\_\_  
**MVZ. CUAUHTÉMOC FÉLIX ZORRILLA**  
**VOCAL**

  
\_\_\_\_\_  
**MVZ. JOSÉ LUIS FRANCISCO SANDOVAL EÍAS**  
**VOCAL**

  
\_\_\_\_\_  
**MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO**  
**VOCAL SUPLENTE**

**TORREÓN, COAHUILA**

**AGOSTO. 2012**

## Índice

Agradecimientos.....	6
Dedicatorias.....	6
Introducción .....	7
Transmisión.....	8
Diagnostico .....	9
Lesiones.....	9
Reactivo para la prueba Tuberculina.....	12
Patogénesis de la hipersensibilidad tardía de la piel.....	13
Interpretación de la Prueba Tuberculina .....	14
Prueba tuberculina cervical simple.....	16
Prueba tuberculina ano-caudal.....	16
Aislamiento .....	17
Control y erradicación.....	18
Hipersensibilidad de tipo IV.....	18
La reacción a la tuberculina.....	19
Hipersensibilidad cutánea basofila.....	21
Reacción a la tuberculina en bovinos.....	21
Prueba de comparación.....	23
Reacción a la tuberculina en otros animales.....	24
.- Estudio epidemiológico.....	31
.- Conocimientos de las condiciones sanitarias.....	32
.-Sensibilidad y Especificidad .....	34
.- manera de evaluar resultados.....	40
Referencias Bibliográficas.....	44

## Agradecimientos

A DIOS, Por darme salud, fuerza y así haber cumplido una meta tan importante en un momento de mi vida

A mi Alma Terra Mater. Por haberme brindado la oportunidad de prepararme como profesional y permitir que se cumplieran todas mis metas en esta noble institución.

De manera muy especial a MVZ. MC FRANCISCO J. CARRILLO MORALES por ser un amigo inigualable al ser asesor principal en este trabajo y brindarme su apoyo incondicional

A mi jurado de trabajo de tesis por participación en la revisión y el de estar presentes en mi examen profesional.

A todo el personal que labora en esta escuela (Directivos, Maestros, Administrativos, y manuales).

A toda aquellas personas que de algunas manera participaron desinteresadamente en la realización de este trabajo y de mi formación académica

A mis compañeros de grupo que convivimos a lo largo de 5 años en este proyecto

## Dedicatorias

A mi madre la Sra. Sofía Romo Lara por brindarme todo su apoyo esfuerzo y dedicación durante esta etapa tan importante de mi vida

A mi Padre. El Sr J. Trinidad Rodriguez Ramírez por brindarme su confianza esfuerzo. Cariño por hacer de mí una persona de provecho para la sociedad.

A mi Esposa. Cintia Stephany Negrete Gaytan, por apoyarme en la última etapa de mi preparación universitaria, la cual se la brindo con todo cariño.

A mi hijo Pedro Naman Rodriguez Negrete porque desde que Dios me lo dio mi vida cambio por completo y ahora todas las metas que me propongo se las dedico a el

## **La respuesta inmune en pruebas a la tuberculina.**

### **Introducción.**

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica causada por bacterias del genero *Mycobacterium*, las cuales presentan como rasgo característico el ser inmóviles, no esporulados y ácido-alcoholresistencia.

Esta enfermedad ha sido erradicada de los países desarrollados. En otros países en donde la enfermedad clásica se ha reducido, la enfermedad es producida por mico bacterias atípicas. Los niveles de infección de tuberculosis bovina es muy variable en cada país.

### **Etiología.**

Las micobacterias se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, incluyendo desde saprofitas, patógenas, oportunistas y estrictamente patógenas.

Los bacilos tuberculosos clásicos son:

*M. tuberculosis* (Hombre)

*M. bovis* (Bovinos)

*M. avium* (Aves)

También se incluye en este grupo el *Mycobacterium microti*, el cual a diferencia de los anteriores no afecta humanos, pero produce tuberculosis en las ratas.

Palabras claves. Tuberculina Respuesta inmune Diagnostico

Pruebas comparativa

## Transmisión.

Del 80% al 90% de los casos la transmisión ocurre por vía aerógena; con la tos o espiración de un animal infectado se expelen gran cantidad de microgotitas que contienen la bacteria las cuales al ser inhaladas por otro bovino llegan al sistema respiratorio dando comienzo a una nueva infección. Esto se ve favorecido por contacto directo diariamente de los bovinos en el pastoreo, comederos, corrales y salas de ordeño.

Otra vía de ingreso es la digestiva por el consumo de pastos y alimentos contaminados con secreciones nasales, materia fecal y orina que contienen el agente causal.

La vía digestiva es muy importante en terneros que se alimentan con leche cruda proveniente de las vacas enfermas, debido a que del 1% al 2% de las vacas infectadas eliminan el microorganismo en la leche. Otras vías no usuales pero probables son: la vía cutánea, congénita y genital.

## Patogenia

Factores de manejo, edad y nutrición son determinantes en la vía de infección, así como en el periodo de incubación, proceso de la enfermedad y diseminación.

A partir de la puerta de entrada los bacilos se localizan en el complejo primario de los ganglios linfáticos regionales, luego se diseminan por vía linfática a la cadena ganglionar. Posteriormente la diseminación se da por vía hematológica a órganos parenquimatosos por último el microorganismo es eliminado en exudados y secreciones de órganos infectados.

La eliminación de *Mycobacterium bovis* por parte de los animales infectados es intermitente y no está en relación con el grado de infección presente. Se ha comprobado que los animales infectados recientemente eliminan el



microorganismo en las etapas tempranas de la enfermedad cuando a veces no son detectadas por pruebas diagnosticas.

### Síntomas

Los síntomas son poco manifiestos en el bovino, pero en algunos puede presentarse. La vía de ingreso del M. bovis y la localización de la lesión están íntimamente relacionadas en esta enfermedad.

Las lesiones pueden localizarse en diferentes órganos y ganglios linfáticos, en forma de nódulos o tubérculos de material purulento-caseoso de color amarillento cuyo tamaño y cantidad varían.

### **Diagnostico.**

El diagnostico de la tuberculosis en hatos primo-infectados se hace por la caracterización macro y microscópica de las lesiones en animales muertos en la finca o remitidos al matadero, seguido del aislamiento y tipificación en el laboratorio.

En las áreas endémicas el diagnostico se hace antes de que muera el animal por dermoreacción, además debe hacerse vigilancia en los mataderos y hacer evaluación macro y microscópica de las lesiones compatibles con tuberculosis.

### **2. Lesiones**

- Macroscopicas:

Las lesiones pueden variar dependiendo de la localización anatómica y la forma de diseminación.

- a. Generalmente el hallazgo pulmonar es áreas de tamaño considerable con apariencia caseificada y zonas de mineralización.
- b. En las superficies serosas incluyendo las cápsulas de los órganos se observan nódulos firmes de superficie lisa, varían de 2 a 10 centímetros de

diámetro. También pueden presentarse zonas caseificadas en las áreas profundas (Tuberculosis perlada).

- c. Nódulos firmes de aspecto granulomatoso con áreas de calcificación y caseificación en ganglios linfáticos y órganos parenquimatosos como el hígado y el riñón.
  - d. Exudado de apariencia purulenta en meninges
  - e. Focos muy pequeños menores de 1cm de diámetro en cualquier órgano (Tuberculosis miliar).
- Microscópicas

En cualquiera de las formas en que se presenta la tuberculosis, esta se caracteriza por la formación de granulomas. Se pueden detectar bacilos ácido alcohol resistentes libres en el citoplasma de los macrófagos, histiocitos y células gigantes de la lesión granulomatosa.

La prueba tuberculínica constituye el instrumento básico para detectar la presencia de infección tuberculosa, por lo tanto, desempeña un papel fundamental en el programa de control y erradicación de la tuberculosis bovina.

El empleo de la prueba tuberculínica en el ganado bovino tiene ya una larga historia, que ha permitido acumular una gran cantidad de conocimientos y una amplia experiencia, especialmente en los países cuyos programas de control de la tuberculosis bovina han alcanzado la etapa de la erradicación.

Antes de describir las diferentes pruebas tuberculínicas actualmente utilizadas en medicina veterinaria para el control de la tuberculosis en las distintas especies que afecta, es importante realizar la revisión de conceptos básicos que nos permitirán comprender no solamente la razón de su utilización, sino también su capacidad para el diagnóstico, lo mismo que sus limitaciones.

El conocimiento de las herramientas disponibles para el control y erradicación del problema en los animales, nos dará la posibilidad para determinar, no sólo la prueba que utilizaremos, sino también cómo, donde y cuando la aplicaremos para lograr el mejor resultado.

La definición de la prueba tuberculínica, es sin duda el primer paso. Esta prueba consiste en la inoculación de un antígeno, la PPD (derivado proteico purificado) en forma intradérmica a un animal, con el objeto de poder establecer si el mismo fue infectado por el agente causante de la enfermedad.

La lenta y localizada respuesta del organismo al antígeno inyectado se debe a un mecanismo de hipersensibilidad de tipo IV (retardada), la cual se manifiesta durante las 72 horas posteriores a la exposición al antígeno.

Al contrario de lo que ocurre en otras formas de hipersensibilidad, la de tipo IV no puede ser transferida de un animal a otro mediante la transferencia de suero, sino que es necesario transferir células T (linfocitos), por lo que la respuesta inmune en tuberculosis se considera mediada por células.

Las células T que dan lugar a las respuestas de tipo retardado tienen que haber sido sensibilizadas previamente por exposición al antígeno, y su misión es atraer células de otros tipos hacia la zona de reacción.

Cuando el *Mycobacterium bovis* penetra en el organismo del huésped y las células del sistema inmunitario de éste se ponen en contacto con él, se produce la infección tuberculosa, paralelamente aparece la resistencia inmunitaria adquirida junto con la hipersensibilidad retardada o de tipo tuberculínico (fenómenos paralelos ambos mediados por células), y se pondrá de manifiesto después de transcurrido el período prealérgico de 4 a 5 semanas, pudiendo persistir durante toda la vida del animal.

Cuando el antígeno (PPD) se inocula en forma intradérmica en la piel de un animal sensibilizado, es decir expuesto al agente en un momento suficientemente

anterior a la prueba, como para que el animal pueda haber desarrollado su respuesta inmunitaria, se produce una reacción inflamatoria en el lugar de la inoculación. Esta respuesta inflamatoria tarda varias horas en desarrollarse y alcanzar su máxima expresión, variando según las especies. En los porcinos y aves, el punto máximo de la reacción en proceso se produce a las 48 horas, mientras que los bovinos y otros rumiantes a las 72 horas.

La reacción a la tuberculina es una reacción *in vivo*, sigue siendo una de las respuestas biológicas más interesantes, más estudiadas, que requiere del desarrollo de habilidades, y es la única forma práctica masiva que tenemos para demostrar el hecho más significativo en tuberculosis, que es la infección del ganado con el *Mycobacterium bovis*.

### **Reactivo para la prueba tuberculínica.**

El PPD, Derivado Proteico Purificado de tuberculina, es un extracto antigénico derivado del cultivo de un bacilo tuberculoso en un medio sintético.

Los Derivados Proteicos Purificados de tuberculinas que se producen son tres, utilizando ya sea *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium avium*. De ellas sólo las tuberculinas bovina y aviar tienen aplicación veterinaria.

De acuerdo con los diferentes métodos de elaboración, existían distintos tipos de tuberculina, incluyendo la tuberculina vieja de Koch (O.T y K.O.T) y la tuberculina de Medio Sintético concentrado por calor (H.C.S.M). En la actualidad solamente se usa el PPD por su mayor potencia y especificidad.

El empleo del derivado proteico purificado de tuberculosis, para el diagnóstico de la tuberculosis en los animales, es preparado de acuerdo con los requerimientos de la Organización Mundial de la Salud (OMS.,1968) y OMS/OPS (1972), en lo que respecta a orígenes de los materiales, métodos de producción,

precauciones, sustancias agregadas libres de contaminantes, identidad, seguridad, potencia, especificidad y ausencia de agentes sensibilizantes.

El bioensayo para la actividad biológica tiene especial importancia y la potencia se expresa en Unidades Internacionales (U.I).

Por lo tanto la calidad del PPD siempre debe ser controlada, no siendo digna de confianza ninguna prueba, si se desconoce la potencia de la tuberculina con la que se efectuó. Este PPD se inyecta a un animal o animales para determinar su situación de exposición con respecto al agente. De tal manera, cuando es inyectado intradermicamente a animales no expuestos a *Mycobacterias*, denominados vírgenes o sanos, no se observa ninguna respuesta inflamatoria local importante o que puedan clasificarse como sospechosas o positivas.

Por lo tanto, faltó en esos animales el estímulo previo que los sensibilizara y generen una respuesta frente al agente o sus productos.

De la otra manera, si se inyectara a animales infectados o enfermos, es decir ya anteriormente expuestos y sensibilizados al bacilo tuberculoso, aparecerá la reacción tuberculínica, siendo la misma un ejemplo destacado de una respuesta inmunológica específica de hipersensibilidad tardía de tipo IV, mediada por células.

### **Patogénesis de la hipersensibilidad tardía de la piel.**

I

En las primeras horas no se observan modificaciones apreciables en el lugar de inyección, pero luego se instala una vasodilatación con aumento de la permeabilidad vascular, con eritema e inflamación, que tiene como característica especial su **dureza**.

Microscópicamente la lesión presenta en las primeras cuatro horas una acumulación celular, transitoria de neutrófilos, pero a las doce horas pasan a ser principalmente mononucleares (monocitos y células T).

La reacción de hipersensibilidad alcanza su máxima intensidad a las 72 horas postinoculación y la lesión tuberculínica suele desaparecer gradualmente en el plazo de 5 a 7 días, dependiendo del grado de intensidad de la reacción.

En reacciones severas puede llegar a observarse necrosis en el sitio de inoculación, pero no se trata de un fenómeno común. La reacción tuberculínica es una reacción inmunológica específica mediada por linfocitos T. Estas células sensibles a los antígenos que se encuentran en la circulación, entran en contacto con el antígeno inyectado, respondiendo al mismo por movilización de otros linfocitos y por división, diferenciación y liberación de linfoquinas.

En el sitio de la inyección tuberculínica, se acumula el producto de la multiplicación de los linfocitos y de nuevas generaciones de células linfocitarias. Los macrófagos fagocitan el antígeno inyectado y finalmente lo destruyen, desapareciendo así el estímulo para que continúe la producción de linfoquinas, con lo cual los tejidos vuelven al estado normal.

Las pruebas tuberculínicas deben ser aplicadas a intervalos no menores de sesenta (60) días, ya que el sitio alrededor del tejido que se inoculó previamente con la tuberculina puede estar temporalmente desensibilizado. De manera tal, la reacción tuberculínica aparece sólo en animales que tienen o han tenido la infección tuberculosa y puede entonces emplearse para identificar animales con infección o enfermedad.

Este test ha servido como base para todos los programas de control y erradicación de la enfermedad en el mundo, a través de la identificación de animales infectados y de su eliminación y ha permitido alcanzar el objetivo de

erradicación en países como U.S.A, Canadá, Australia, Cuba y algunas áreas de Uruguay, Chile y Paraguay.

### **Interpretación de la prueba tuberculínica.**

Para la correcta interpretación de la prueba y sobre todo para que los resultados sean comparables, repetibles e igualmente interpretables por distintos profesionales, existen seis constantes que deben establecerse claramente con los resultados de cada prueba.

Estas constantes son:

1. Potencia de la PPD.
2. Dosificación del antígeno.
3. Sitio de la inoculación.
4. Tiempo de lectura.
5. Medición de las respuestas o reacciones para su interpretación.
6. Instrumental a utilizar.

No es suficiente clasificar a un animal o a un rebaño como reactor positivo, sospechoso o negativo, ya que la repetición del test por otro profesional que varíe cualquiera de las constantes, puede producir resultados dispares y ser motivo de situaciones conflictuantes a veces importantes.

Los criterios de cuantificación de estas variables pueden cambiar en distintos países y aún dentro de un mismo país, de acuerdo con distintas situaciones epidemiológicas y es correcto y lógico que eso suceda, pero es sumamente importante que cada diagnóstico, especialmente aquellos de animales que se mueven hacia otros países, se acompañen de las aclaraciones que permitan conocer todos los pasos seguidos para el mismo, al igual que los criterios de evaluación utilizados para el análisis.

El método clásico para la detección de la tuberculosis bovina es la prueba de la tuberculina.

- **Prueba Tuberculinica Cervical Simple**

En esta prueba el lugar de inoculación es el tercio medio del cuello. Esta zona se debe depilar con maquina o tijera a 5 cm. de diámetro aproximadamente. Se mide con un calibre el espesor de la piel previamente y se inyectan 0.1 ml de tuberculina PPD bovina de un miligramo por mililitro.

La lectura se hace mediante un calibre a las 72 horas (más o menos 6 horas). Cuando la lectura se ve impedida por razones climáticas u otras causas, esta puede hacerse hasta 24 horas mas tarde. Si la lectura se realiza mas tarde de esto la prueba no tiene validez por lo que el diagnostico no será confiable y debe repetirse la prueba a los 60 días.

Positivo: 3mm o mayor

Negativo: menos de 3mm

- **Prueba Tuberculinica Ano-Caudal**

Esta prueba se realiza en el pliegue ano-caudal interno a unos 6 cm. de la base de la cola y en el centro del pliegue. Esta zona es menos sensible a la tuberculina que la piel del cuello. Se inyectan 0.1 ml de PPD bovina de un miligramo por mililitro.

La lectura se hace mediante un calibre a las 72 horas (más o menos 6 horas). Positivo: 5mm o mayor

Sospechoso: 3mm/ mas o menos de 5mm

Negativo: menos de 3mm

Hay que tener en cuenta que todo animal sospechoso en un establecimiento donde se hayan detectado animales reaccionantes positivos en pruebas anteriores o en la que se esta realizando se le debe considerar positivo.



- Prueba tuberculínica comparativa

La prueba intradérmica comparativa se utiliza para la realización de un diagnóstico diferencial entre animales infectados por *Mycobacterium bovis* y aquellos sensibilizados a la tuberculina por exposición a otras micobacterias. Este tipo de sensibilización puede ser atribuido a la gran reactividad antigénica cruzada existente entre las especies de micobacterias y otros géneros afines.

Esta prueba consiste en la inyección de tuberculina bovina y tuberculina aviar en diferentes puntos del cuello y en la subsiguiente evaluación de la respuesta transcurrida 3 días.

Para esta prueba comparativa la dosis de tuberculina no debe ser inferior a 2.000 UI de tuberculina bovina ni a 2.00 UI de tuberculina aviar. La distancia entre ambas inyecciones debe ser de aproximadamente 12 a 15 cm.

Positivo: 4mm mayor que la tuberculina aviar

Dudoso: entre 1 y 4mm mayor que la tuberculina aviar

Negativo: cuando no hay reacción o cuando la reacción es igual o menor que la tuberculina aviar.

En toda la inyección se realiza introduciendo la aguja oblicuamente en las capas profundas de la piel e inyectando la dosis de tuberculina. Después se comprueba que la inyección ha sido bien realizada detectándose al tacto una pequeña inflamación en el lugar de la misma.

#### **4. Aislamiento**

Las micobacterias son bacilos ácido-alcohol resistentes, no formadores de esporas y no encapsulados, por lo que en la coloración de Ziehl-Neelsen se observan como bacilos rojo brillante sobre un fondo azul.

Estos microorganismos son aerobios obligados que crecen en medios sintéticos simples, pero para el aislamiento primario a partir de muestras clínicas se requiere de un medio más complejo con una base de papa y huevo como el medio Löwestein-Jensen, o con una base de agar y suero como el medio Middlebrook.

El cultivo se hace a 37° C con una atmósfera de 5-10 % de CO<sub>2</sub>, el

crecimiento es lento y dura de 3 a 6 semanas en desarrollarse, las colonias son pequeñas, secas y con aspecto escamoso.

### **Control Y Erradicación.**

Detección y eliminación de todos los animales infectados, control del movimiento de estos, vigilancia en mataderos y dermoreacción, y campañas de divulgación.

### **Programas de erradicación de la tuberculosis bovina.**

Para que la erradicación de la tuberculosis bovina tenga éxito, se requiere un programa de control a largo plazo y estrictamente controlado. Existen dos situaciones epidemiológicas principales: la tuberculosis bovina endémica y la tuberculosis bovina aislada. (Francis *et al.*, 1978).

### **HIPERSENSIBILIDAD DE TIPO IV:**

#### **HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA**

Ciertos antígenos, cuando se inoculan en la piel de animal sensibilizado, provocan una inflamación que se desarrolla lentamente en el sitio de inoculación. Puesto que esta reacción de hipersensibilidad <<retardada>> solo se puede transferir de un animal sensibilizado a otro normal por los linfocitos, debe estar mediada por células. Las reacciones de hipersensibilidad retardada se clasifican como hipersensibilidades de tipo IV, y resultan de las interacciones entre el antígeno inoculado, las células presentadoras de antígeno y los linfocitos. Un ejemplo importante de una reacción de hipersensibilidad retardada es la respuesta a la tuberculina, la reacción cutánea que se desarrolla en un animal infectado con tuberculosis después de la inoculación intradérmica de la tuberculina. Las reacciones de hipersensibilidad retardada pueden considerarse como una forma especializada de inflamación dirigida frente a microorganismos que son resistentes a la eliminación por los procesos inflamatorios convencionales.

## LA REACCION A LA TUBERCULINA

Se denomina tuberculina a los extractos de micobacterias empleados en las pruebas cutáneas en animales para identificar a los que padecen tuberculosis. Con este fin se ha empleado varios tipos de tuberculina, el más importante de los cuales es el derivado proteico purificado (PPD), que se obtiene cultivando los microorganismos en un medio sintético, destruyéndolos con vapor y filtrándolos. La tuberculina PPD se precipita de este filtrado con ácido tricloroacético, se lava, y se resuspende en un tampón con lo que queda lista para su uso. Por lo tanto, la tuberculina PPD es una mezcla de antígeno sin refinar, cuyo componente antigénico principal es probable que sea la proteína del choque térmico HSP 65. Muchas de estas proteínas son comunes entre las diferentes especies de micobacterias, por lo que las pruebas que emplean tuberculina PPD son relativamente inespecíficas.

Cuando se inocula la tuberculina en la piel de un animal normal, no hay respuesta aparente. Por el contrario, si se inocula en un animal infectado por micobacterias, se produce una respuesta de hipersensibilidad retardada, con el desarrollo de una lesión edematosa, indurada y enrojecida en el punto de inoculación. La inflamación se inicia entre 12 y 24 horas después, alcanza su máxima intensidad entre las 24 y las 72 horas, y puede persistir durante semanas antes de disminuir de forma gradual. En las reacciones muy graves puede haber destrucción del tejido y necrosis en el punto de inoculación. El examen histológico muestra que la lesión está infiltrada con células mononucleares (linfocitos y macrófagos), aunque también hay neutrófilos en las primeras horas de la reacción.

La reacción a la tuberculina está mediada por los linfocitos T. Cuando un animal se infecta con *Mycobacterium tuberculosis*, los microorganismos son fagocitados rápidamente por los macrófagos, y una parte de este antígeno micobacteriano desencadena una respuesta de Th1, generando células de memoria, las cuales podrán responder a antígenos de micobacterias inoculados,

como la tuberculina. Algunos de estos linfocitos T de memoria deben tener una vida muy larga, puesto que se puede obtener una prueba de la tuberculina positiva muchos años después de la exposición al antígeno.

Cuando se inocula por vía intradérmica, la tuberculina es captada por las células de Langerhans, que migran al nódulo linfático que drena la región y presentan el antígeno a los linfocitos T de memoria, que responden generando linfocitos efectoros Th1. Estos Th1 circulantes reconocen el antígeno cuando lo encuentran en la piel y se acumulan alrededor del depósito de antígeno. En los bóvidos, a las 12 horas el sitio de inoculación está infiltrado principalmente por linfocitos T  $\gamma/\delta$  WC1 (en los seres humanos y en el ratón predominan los linfocitos T  $\alpha/\beta$ , mientras que en óvidos y bóvidos predominan los linfocitos T  $\gamma/\delta$ ). No hay linfocitos B en la lesión.

Los linfocitos T  $\gamma/\delta$  ayudan a reclutar otros linfocitos Th1 y macrófagos a la zona. Estos linfocitos Th1 secretan interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), INTERLEUQUINA-2 (IL-2) e IL-6. Los dos primeros actúan sobre las células endoteliales incrementando la expresión de moléculas de adhesión. La IL-2 estimula la producción de las quimioquinas CXCL8, CCL5 y XCL1, que atraen y activan a más linfocitos T, y la IL-6 atrae más linfocitos T CD4. Los macrófagos también liberan serotonina y quimioquinas, como CXCL1 y CCL2, que atraen a los basófilos. La serotonina de los basófilos (en roedores) o la histamina (en seres humanos) causa todavía más inflamación y aumenta la migración de las células mononucleares a la lesión. Las quimioquinas de los linfocitos T CCL2 y CCL3, pueden inducir directamente la desgranulación de los mastocitos a través del antígeno unido a las moléculas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH).

Las quimioquinas de los linfocitos T causan inflamación y atraen todavía a más linfocitos T, la mayoría de los cuales no están sensibilizados específicamente por el antígeno inductor. Solo una pequeñísima proporción, quizá un 5% de los linfocitos que se encuentran en una reacción de hipersensibilidad retardada, son

específicos del antígeno. La gran mayoría son atraídos de forma inespecífica por XCL1. Entre las 60 y 72 horas, los linfocitos predominantes son  $\alpha/\beta$  T<sub>H</sub>1, CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>. Los macrófagos se acumulan en la lesión debido a la producción de CXCL8 y pueden ser activados por el IFN- $\gamma$ . Parte del daño tisular de las reacciones intensas de hipersensibilidad retardadas se puede deber a la liberación de proteasas y oxidantes por los macrófagos activados, que ingieren y finalmente destruyen el antígeno inoculado. Esto, junto con la aparición de células reguladoras en la lesión, permite finalmente que el tejido regrese a la normalidad.

### **HIPERSENSIBILIDAD CUTÁNEA BASÓFILA**

En ciertas circunstancias, los basófilos pueden ser las células predominantes en una reacción de hipersensibilidad retardada. Este tipo de reacción, denominada hipersensibilidad cutánea basófila (CBH), puede transferirse entre animales por medio de anticuerpos, linfocitos B purificados o incluso por linfocitos T. por tanto, la CBH está mediada por varios mecanismos diferentes. Esta reacción aparece en pollos como respuesta al virus del sarcoma de Rous inoculado por vía intradérmica, en conejos en respuesta a los esquistosomas, y en seres humanos en la dermatitis alérgica por contacto y en el rechazo a injertos renales. En los perros, las reacciones de CBH pueden contribuir al desarrollo de la dermatitis alérgica a las pulgas.

### **REACCIONES A LA TUBERCULINA EN BÓVINOS**

Como la reacción positiva a la tuberculina solo se produce en animales que tengan, o hayan tenido, tuberculosis, la prueba cutánea puede emplearse para identificar animales afectados por la enfermedad. De hecho, la prueba de la tuberculina ha sido la base de todos los esquemas de erradicación de la tuberculosis que implican la detección y posterior eliminación de los animales infectados.

### **Prueba intradérmica única (single intradermal, SID).**

En el ganado bovino la prueba cutánea puede realizarse de varias maneras. La más sencilla es la prueba intradérmica única (single intradermal, SID), que consiste en la inoculación de 0,05 ml de tuberculina PPD derivada de *M. tuberculosis* o *Mycobacterium bovis* en un pliegue anal, examinando el sitio de inoculación de 72 a 96 horas más tarde. La comparación entre los pliegues inoculados y sin inocular es fácil, y una reacción positiva consiste en una tumefacción firme en el sitio de inoculación, que se detecta rápidamente.

En los Estados Unidos se realizan dos pruebas separadas, con dos inoculaciones de tuberculina, una en la unión mucocutánea de la vulva y otra en un pliegue anal. En otros países, la tuberculina normalmente se inyecta en la piel de uno de los laterales del cuello. Esta zona es más sensible que los pliegues anales, pero la sujeción del animal puede ser más difícil y es fundamental disponer de una buena técnica de inoculación.

La ventaja de la prueba SID es su simplicidad; su principal desventaja es que, debido a las reacciones cruzadas, no se puede distinguir entre tuberculosis e infecciones por micobacterias relacionadas, como *Mycobacterium avium* o *M. avium paratuberculosis*, o por *Nocardia*. Una segunda desventaja es que algunos animales reaccionan positivamente a la prueba, pero en la necropsia no se aprecian lesiones detectables de tuberculosis. Las razones para esto se desconocen, pero podría ser debido a la exposición a micobacterias no patógenas, como *Mycobacterium phlei*.

Las pruebas SID con resultados falsos negativos pueden aparecer en animales con tuberculosis avanzada, con una infección muy inicial, en hembras con un parto en las 4 a 6 semanas previas, en vacas muy viejas y en los animales que se sometieron a la prueba entre una y diez semanas antes. La ausencia de reacción (anergia) que se ve en los casos avanzados de tuberculosis se ha observado también en la enfermedad clínica de Johne (paratuberculosis) y parece

ser debida a la presencia de un “factor bloqueante” en el suero de estos animales, que podrían ser un anticuerpo que evita que los linfocitos T reaccionen con el antígeno. También hay evidencias de la implicación de las células reguladoras en la energía. Debido a estos defectos en la SID, se han desarrollado varias modificaciones de esta prueba. Por ejemplo:

### **Prueba de comparación.**

La prueba de comparación implica la inoculación tanto de la tuberculina aviar como la bovina, cada una en uno de los laterales del cuello en sitios separados, examinándose tras 72 horas. En general, si el sitio de inoculación de la tuberculina aviar muestra la reacción más intensa, el animal se considera que está infectado con *M. avium* o *M. avium* paratuberculosis. Por el contrario, si el sitio de inoculación de *M. bovis* muestra la mayor reacción, se considera que el animal está infectado con *M. tuberculosis*. Esta prueba es útil cuando se prevé una alta prevalencia de tuberculosis aviar o de la enfermedad de Johne. La PPD de *M. bovis* es más específica de bóvidos que la de *M. tuberculosis*, dando menos reacción cruzada con *M. avium*, además de ser más apropiada para uso en bóvidos, por lo que es la de elección. En la práctica, datos recientes sugieren que la prueba de comparación tiene una sensibilidad del 90% (10% de falsos negativos) y una especificidad superior al 99% (menos de un 1% de falsos positivos); sin embargo, depende del criterio seguido para interpretar los resultados.

### **Prueba térmica breve**

Otra prueba modificada de la tuberculina es la prueba térmica breve, en la que se administra un gran volumen de solución de tuberculina por vía subcutánea y se examina al animal en busca de un aumento de la temperatura de 4 a 8 horas más tarde (se supone que la tuberculina actúa sobre los linfocitos T, provocando la liberación de IL-1 y otras citoquinas a partir de los macrófagos).

### **La prueba de Stormont.**

La prueba de Stormont se basa en la mayor sensibilidad que se presenta en el sitio de la prueba después de una sola inoculación: se realiza inoculando dos dosis de tuberculina en el mismo sitio de inoculación, con una diferencia de 7 días. Ambas pruebas son relativamente sensibles, por lo que pueden usarse en vacas después del parto así como para analizar a los animales muy infectados. La repetición de la prueba de la tuberculina da lugar a un periodo de reactividad disimulada y la formación de anticuerpos frente al antígeno HSP 70 de *M. bovis*.

### **REACCIONES A LA TUBERCULINA EN OTROS ANIMALES.**

La prueba de la tuberculina nunca ha sido un procedimiento muy empleado de los animales domésticos aparte de los bóvidos, por lo que la información en estos animales es escasa. Sin embargo, parece que es muy variable la capacidad de las diferentes especies para desarrollar una reacción clásica a la tuberculina.

Por ejemplo, en los cerdos y los gatos, la prueba de la tuberculina es poco fiable, ya que es positiva solo durante un periodo breve después de la infección.

En los cerdos y los perros, la mejor prueba es una SID, realizada en la piel de detrás de la oreja, mientras que en los gatos se obtiene mejores resultados la prueba térmica breve. En las ovejas y las cabras el antígeno generalmente se aplica en el pliegue anal, pero los resultados son pocos fiables también en estas especies. Los caballos aparecen ser extremadamente sensibles a la tuberculina, por lo que debe reducirse la dosis empleada. Sin embargo, los resultados obtenidos no siempre se correlacionan bien con el estado de enfermedad del animal. En las aves se pueden obtener buenas reacciones inoculando la tuberculina en la membrana del ala.

#### ***Tuberculosis bovina endémica.***

En el caso de la tuberculosis bovina endémica, la sensibilidad del método Diagnóstico puede ser relativamente baja, debido a que el elevado número de animales infectados provocará unos resultados positivos. Se recomienda el uso de tuberculina PPD bovina 3000 UI/dosis. Sin embargo, el ganado suele



estar infectado con micobacterias distintas a la *M. bovis*, pudiendo provocar en resultados positivos falsos al usar sólo tuberculina PPD bovina. (Francis *et al.*, 1978).

Por lo tanto, se recomienda realizar un test cervical comparativo intradérmico único (SICCT, por sus siglas en inglés), usando tuberculina PPD bovina y tuberculina PPD aviar en dos puntos de inyecciones distintos. La realización del test con tuberculina PPD bovina 3000 UI/dosis y tuberculina PPD aviar 2500 UI/dosis permite diferenciar entre las infecciones con *M. bovis* y con otras micobacterias.

### ***Tuberculosis bovina aislada***

En el caso de la tuberculosis bovina aislada, se recomienda el uso de tuberculina PPD bovina de elevada potencia, a fin de aumentar la sensibilidad de la prueba, ya que ello permite detectar virtualmente todo el ganado infectado, una condición indispensable para poder erradicar hasta el último foco de infección. 1 los viales se llenan con 2,2 ml a fin de garantizar un volumen suficiente para la aplicación de 20 dosis de 0,1 ml (Francis *et al.*, 1978).

El derivado proteico purificado de tuberculina bovina y aviar

Presentación del producto (1 dosis = 0,1 ml) Tuberculina PPD Bovina 5000 (50.000 UI/ml).

Tuberculina PPD Bovina 3000 (30.000 UI/ml) Viales de 2,2 ml, 5000 UI/dosis  
Viales de 2,21 ml, 3000 UI/dosis.

Tuberculina PPD aviar 2500 (25.000 UI/ml)  
Viales de 2,2 ml, 2500 UI/dosis.

Para el test cutáneo cervical comparativo intradérmico único (SICCT):

Caja de 20 viales de Tuberculina PPD Bovina 3000 (30.000 UI/ml) y  
20 viales de Tuberculina PPD aviar 2500 (25.000 UI/ml)

**La potencia de una tuberculina**, es la medida de su actividad biológica en animales previamente sensibilizados con un organismo específico, valorada de acuerdo con patrones y un estándar internacional establecido.

De acuerdo a lo establecido por la World Health Organization (WHO), el PPD bovino deberá contener 1 mg de proteínas por mililitro de antígeno para una potencia de 32,500 U.I./mg/ml. La potencia estimada de tuberculina bovina deberá ser, no inferior al 66% ni mayor del 150% de la potencia indicada en el prospecto.

El PPD aviar con 0,5 mg de proteína por mililitro de antígeno deberá alcanzar 25,000 U.I./0.5mg/ml. La potencia estimada para las tuberculinas aviares no deberá ser inferior al 75% ni superior al 133% de la indicada en la etiqueta. Las tuberculinas PPD deberán conservarse al abrigo de la luz y a una temperatura de 2°C a 8°C, descartando el sobrante que quede en el frasco, sino se va a utilizar en el mismo día. Francis,J., Seiler,R., Wilkie,W., *et al.*, 1978

Por lo tanto, cuando utilizamos antígenos de distintas potencias biológicas no hay duda que aquel de mayor potencia nos dará la máxima sensibilidad en las pruebas, por lo que los animales y rodeos testeados con resultados negativos utilizando una PPD de baja potencia, pueden dar resultados muy diferentes a una nueva prueba en la que se cambie el antígeno.

Cuando utilizamos el lugar de inoculación más sensible, que es *la tabla del cuello*, si la potencia de la PPD es baja, los resultados que se obtengan en la identificación animales infectados, podrían ser iguales o aún menor que los que se podrían registrar utilizando un área menos sensible, como ser *el pliegue ano caudal* y una PPD de adecuada potencia. Francis,J., Seiler,R., Wilkie,W., *et al.*, 1978.

Al utilizar el sitio de inoculación menos sensible y una PPD de baja potencia, la veracidad de los resultados podría alterarse seriamente, sobre todo cuando se desconoce el verdadero diagnóstico de situación sanitario del rodeo.

Una segunda constante mencionada, **la dosificación del antígeno**, es otro dato imprescindible de consignar en un diagnóstico. Manteniendo invariables las cinco constantes, el volumen de antígeno inoculado no importa el sitio, hará variar la sensibilidad de la prueba, que puede aumentar en una cierta proporción de acuerdo al volumen de PPD inyectado. Francis,J., Seiler,R., Wilkie,W., *et al.*, 1978

Existen trabajos que muestran que no hay una diferencia significativa en sensibilidad y especificidad para el test ano caudal, utilizando 0.2 ml y 0.4 ml de dosis de PPD de 0.1 mg/ml, aunque el tamaño de la reacción de los animales infectados sería mayor con la dosis de 0.4ml, no observándose la diferencia en los animales no infectados (Francis *et al.*, 1978).

Otros estudios muestran escasa diferencia entre la sensibilidad del test cervical simple con 0.1ml de dosis y el test ano caudal con 0.2ml a igual potencia (Kantor *et al.*, 1984).

En este último trabajo tuvo como conclusión , que la prueba ano caudal utilizando 0.2 ml de PPD de 1mg/ml de alta potencia, era más sensible que la prueba cervical comparativa y tan sensible como la prueba cervical simple utilizando 0.1ml de PPD de potencia moderada.

Por lo tanto, es claro entonces la necesidad de registrar esta información en el diagnóstico de situación.

En la actualidad y de acuerdo al manual de normas y procedimientos en vigencia, las dosis correspondientes a las pruebas tuberculínicas en el ganado bovino y en otras especies animales, se hará inoculando *0.1ml de tuberculina PPD*

*bovina de 1.0 mg/ml* de concentración (Secretaría de Agricultura, Dirección Nacional de Sanidad Animal, Argentina., 1999).

La tercera constante en estudio es el **sitio de inoculación**, siendo posiblemente el dato más comúnmente registrado, ya que sirve para identificar el tipo de prueba utilizada. Algunas veces no se hace la distinción entre prueba cervical simple o cervical comparativa. Sin embargo no faltan ocasiones en que la única información disponible es de un resultado negativo a la prueba tuberculínica, sin ningún otro dato adicional.

La implementación de una prueba de alta sensibilidad, hace que las posibilidades de que surjan inconvenientes con una nueva prueba no importa cual, son escasas al igual que cuando se utiliza una prueba de menor sensibilidad en un rodeo controlado.

Los problemas se presentan generalmente cuando luego de una primera prueba de baja o mediana sensibilidad en rodeos infectados o no controlados, se pasa a una prueba muy sensible. Existen otros factores que intervienen en el resultado de un re-test y que luego consideraremos, pero es de suma importancia conocer la prueba inicialmente utilizada para poder evaluar el resultado que se recibe y decidir que se hará posteriormente. (Francis *et al.*, 1978).

Actualmente no existen prácticamente discrepancias en el **tiempo de lectura de la prueba**, que es la cuarta constante y debe realizarse a las 72 horas, más/menos 6 horas, post- inoculación en el bovino y a las 48 horas en el porcino y las aves. Existen trabajos que demostraron que las reacciones a PPD bovina en animales tuberculosos, están bien avanzadas a las 48 horas y alcanzan su máxima expresión a las 72 horas (Lepper *et al.*, 1977) y (Francis *et al.*, 1978). Por este motivo es importante registrar cualquier alteración en el tiempo de lectura, cuando situaciones imprevistas dificultan efectuarla en el momento adecuado, en virtud de que reactores en el umbral de las 72 horas, pueden ser erróneamente clasificados 24 horas mas tarde.

Por lo tanto, sería sumamente importante consignar cualquier tipo de reacción encontrada al momento de la lectura y no simplemente la categoría de clasificación del animal.

La quinta constante a considerar es **la medición de las respuestas o reacciones postinoculación.**

En los animales domésticos, cuando a los reaccionantes a la prueba tuberculínica, pretenden otorgarle una clasificación cuantitativa, criterios como tamaño de un grano de arroz, de maíz, de un huevo o de una naranja, son totalmente inservibles, ya que se modificarán con cada observador.

Por supuesto que no existirán dudas respecto a la clasificación de reactores de un animal con una reacción del tamaño del huevo o una naranja, pero sí aparecerían juntamente con serios inconvenientes, con las reacciones pequeñas.

La alternativa vigente es el uso del instrumento de medida, que permita cuantificar en forma correcta y en la misma escala, la reacción localizada a través de la medición del aumento del grosor de la piel en el sitio de inoculación, por cualquier profesional en cualquier lugar. Por lo tanto, en un diagnóstico de estas características, es aconsejable eliminar todo tipo de subjetividades en la lectura e interpretación de la prueba y para ello el uso del **calibre** es el procedimiento adecuado, si se pretende algo más que un diagnóstico cualitativo (reaccionante o no reaccionante).

Excepto cuando se utilicen calibres automáticos, las medidas del espesor de la piel previa y posterior inoculación, variarán de observador a observador y es usual que esto suceda en virtud de la diferente presión que cada profesional de acuerdo con la aplicación de su fuerza, ejerza sobre la boca del calibre. No obstante, esto no constituye ningún problema, en virtud de que el diagnóstico

surge de la diferencia de medidas del pliegue de la piel previa y posterior inoculación, y siempre que el veterinario acreditado que realice ambas lecturas sea el mismo, la diferencia medida en milímetros será la misma.

En el manual de normas y procedimientos de la resolución vigente, se describen los criterios de interpretación, en forma individual para cada una de las pruebas tuberculínicas, pero es importante recalcar que **la simple observación sin proceder a la palpación**, se debe considerar el procedimiento de la técnica de lectura en forma incorrecta.

En algunos países como por ejemplo Estados Unidos, no se considera actualmente adecuado el uso del calibre en la *prueba ano caudal*, mientras que en otros, sí se lo utiliza para cuantificar y eliminar toda subjetividad de la prueba.

La diferencia se debe a que en USA, con cualquier reacción a la palpación, se considera al animal como positivo, en tanto en los otros países, lo hacen de acuerdo a una escala con umbrales en milímetros, en donde se clasifican a los animales reactivos en positivos, sospechosos y negativos, surgiendo ambos criterios de situaciones epidemiológicas totalmente diferentes.

La sexta constante es **el instrumental a utilizar**, variable de suma importancia en la obtención del éxito o el fracaso del saneamiento del rodeo.

Es necesario utilizar jeringas de uso veterinario de 1 a 2 ml de volumen, automáticas o manuales graduadas en 0.1 mililitros.

Las agujas serán hipodérmicas, calibre 6, con una longitud de la cánula de 5 milímetros y bisel corto. En el caso de animales difíciles de inmovilizar, se podrán usar agujas más cortas.

Los calibres deberán estar graduados al 0.1 milímetro, pudiendo ser metálicos o de plásticos. La falta de calidad instrumental, puede llevar aparejado una disminución en la dosis aplicada, debido a una pérdida de tuberculina, como

también una disminución de la tasa de cobertura o inoculación de los animales en tiempo y forma, teniendo como resultado una disminución de la eficacia o efectividad en el cumplimiento de los objetivos propuestos.

En los sistemas productivos intensivos, con especial referencia a los tambos de alta producción, tales circunstancias pueden tener implicancias directas en la eficiencia o rentabilidad empleada para llevar a cabo el programa de saneamiento o monitoreo del rodeo.

Es precisamente el **estudio epidemiológico de cada situación en particular**, la variable que inevitablemente tendremos siempre que analizar, cuando antes de iniciar cualquier diagnóstico de situación por medio de la prueba tuberculínica, nos planteemos cinco preguntas básicas:

1. Cuál es el objetivo del trabajo?
2. Qué sabemos de la condición sanitaria del rodeo respecto a la enfermedad?
3. Cuál de las pruebas tuberculínicas vamos a utilizar?
4. Qué categorías vamos a testear?
5. Cómo vamos a evaluar los resultados?.

La definición del **objetivo** constituye sin duda el punto de partida y es de fundamental importancia para la programación de las actividades posteriores.

El deseo por parte del productor y veterinario acreditado, de conocer la posible existencia de la tuberculosis bovina en el rodeo, con el único fin por ejemplo, de definir el origen y los costos de futuros reemplazos en el manejo de la reposición de hembras, o tal vez para contar con otro elemento de juicio en el momento de descartar animales para venta, hace que la organización de las tareas posibles de realizar, será muy diferente a la que se programe cuando se desea eliminar la enfermedad en el rodeo.

Es posible que la prueba tuberculínica que utilicemos puede ser la misma, pero los animales a inocular y la evaluación de los resultados obtenidos serán totalmente diferentes.

Por lo tanto, es una necesidad iniciar las tareas de saneamiento a partir de un diagnóstico de situación transparente, en el cual el productor pueda reconocer el problema concreto de la enfermedad en su rodeo y el profesional crear las alternativas posibles.

Es necesario crear un equipo con las personas que son responsables en las diversas tareas. Esto se realiza con las prácticas y las relaciones de motivación y comunicación constante que el veterinario acreditado debe transmitir al personal de campo y el desempeño de las actividades se refleja en los indicadores que serán analizados, valorados e interpretados.

Toda la información analizada, debe pasar por los mecanismos de retroalimentación y estar a disposición permanente de los propietarios del establecimiento.

Es fundamental para el logro de las metas y objetivos propuestos, desarrollar las actitudes y habilidades del personal a cargo, a través de charlas de actualización en los diferentes temas de la problemática a resolver.

De tal manera, se podría afirmar, que es muy difícil que exista una planificación coherente, si no sabemos para qué estamos trabajando y esa es la importancia de este primer paso, definir que es lo que esperamos obtener con la utilización de éste método de diagnóstico.

La segunda pregunta, correspondiente **al conocimiento de la condición sanitaria del hato respecto a la enfermedad**, merece un análisis detallado de la historia del hato, como se fue formando, la situación de la tuberculosis en los



rebaños adyacentes, en áreas vecinas, basándose para ello en resultados tuberculínicos confiables y/o en los datos disponibles que surjan de la vigilancia epidemiológica en faena, los resultados de pruebas anteriores y el origen de los animales que a él ingresen dentro del marco local o regional, que nos permitirá tener una visión global de la historia natural de la enfermedad en el rodeo.

Los datos que se obtengan por medio de una detallada anamnesis, en algún grado nos permite análisis, que no se limitará a medir el problema presente y los riesgos de introducción o reinfección, sino que deberá abarcar aspectos mucho más amplios, bajo un enfoque sistémico, en la que no podrán dejarse de lado aspectos sociales, culturales y fundamentalmente económicos del establecimiento en estudio y del área o región en que se encuentre.

Del correcto análisis de esa situación, **depende la adecuada selección de la prueba tuberculínica a utilizar que se planteó en tercer lugar.**

Cuando hablamos de un estricto análisis de diagnóstico de situación, debe quedar claro que el mismo no se limita a presencia o ausencia de la enfermedad o a su grado de difusión en el rodeo, sino que contempla otros aspectos, como las posibilidades de eliminación de los reactores, en el caso de rodeos infectados, en forma tal que su número y el momento de su segregación afecten en la menor proporción posible el esquema productivo del establecimiento.

Es sabido que la erradicación de la tuberculosis bovina, es sin duda una acción sanitaria redituable, pero debe tenerse en consideración todas las alternativas posibles de aplicación, para que en el proceso se afecten lo menos posible los ingresos del establecimiento, hasta el punto de no hacer peligrar la continuidad del programa de saneamiento.

Por lo tanto, juntamente con el diagnóstico de situación inicial y con el resultado de una prevalencia de infección, debe evaluarse también la capacidad

económica y financiera de cada establecimiento en particular, ajustando las acciones a las posibilidades reales del propietario.

De acuerdo con el sitio de inoculación, podemos clasificar a las pruebas tuberculínicas en ano-caudal y cervicales.

Las cervicales a su vez pueden ser de dos tipos: cervical simple y cervical comparativa, según se utilice un antígeno PPD bovino o dos, PPD bovino y PPD aviar respectivamente.

La exactitud de una prueba puede medirse y expresarse, en base a su habilidad de clasificar correctamente animales de acuerdo a su situación sanitaria. Estas medidas son la *sensibilidad (Se)* y *especificidad (Ep)*.

Debido a que sobre estas dos propiedades esenciales, se basa la decisión del tipo de prueba a utilizar en cada una de las distintas situaciones que pueden presentarse, al igual que los criterios utilizados en la interpretación de los resultados de la lectura postinoculación, es importante dejar claro ambos conceptos.

**La *sensibilidad*** es la probabilidad de que una prueba identifique correctamente aquellos animales infectados y enfermos.

**La *especificidad*** es la probabilidad de que una prueba identifique correctamente aquellos animales no infectados o sanos. Se evaluará, primero el riesgo de que la tuberculosis esté presente y segundo, Para establecer estos dos atributos, se debe aplicar la prueba en muestras de animales cuya situación respecto a la enfermedad es conocida y los resultados pueden tabularse en cuadro 2 x 2, del cual pueden calcularse la **Se** y **Ep**. En el caso de la tuberculosis bovina, la prueba utilizada es *la prueba tuberculínica* que es un test indirecto, ya que no se utiliza para detectar al agente de la enfermedad, sino para evidenciar en los animales en estudio una reacción inmunitaria contra el mismo

Esta reacción que representa la manifestación de la capacidad individual para producir defensas detectables y mensurables contra el *mycobacterium*, no diferencia infección ni enfermedad, sino simplemente mide la exposición del huésped al agente con el correspondiente desarrollo del proceso inmunitario. Una prueba tuberculínica es tanto más sensible cuanto mayor es el número de respuestas positivas entre los animales infectados, y es tanto más específica cuanto menor es el número de respuestas positivas en animales no infectados o sensibilizados por otras micobacterias diferentes del bacilo bovino.

No existe actualmente ninguna prueba tuberculínica absolutamente sensible, capaz de detectar con una sola aplicación el 100% de los animales infectados; siempre habrá un cierto porcentaje de “*falsos negativos*”.

Tampoco existe la prueba absolutamente específica; todas las micobacterias poseen ciertos antígenos comunes y los animales sensibilizados por el *M.avium complex (MAC) Subsp.paratuberculosis*, o por una variedad muy grande de otras micobacterias generalmente saprófitas que se hallan en el medio ambiente, pueden dar también reacción tuberculínica positiva, son los denominados “*falsos reactores positivos*”

En las poblaciones de ganado bovino con altos porcentajes de infección, se deben preferir sistemas de saneamiento que utilicen pruebas tuberculínicas altamente sensibles, con el propósito de interrumpir lo más rápidamente posible la transmisión de la infección.

La prueba que detecta la mayor proporción de animales infectados con el menor número de repeticiones será la adecuada, aunque con ella se corra el riesgo de tener algunas falsas respuestas positivas.

Es conveniente utilizar *la prueba tuberculínica operativa ano-caudal*, de rutina, para determinar la presencia de infección tuberculosa en un rodeo o región, y *la prueba cervical simple*, más sensible, para eliminar los reactores de los rebaños infectados.

El criterio de interpretación podrá ser más o menos severo, según las condiciones de infección del rodeo o de la región en que se aplicará la prueba y el objetivo que se persigue con la misma.

En un rodeo con antecedentes de tuberculosis, será necesario emplear un criterio más estricto que en otro donde nunca se haya detectado un reaccionante.

De acuerdo a lo expresado anteriormente, de la **Se** de la prueba elegida, dependerá la mayor o menor proporción de enfermos y/o infectados detectados, mientras que la **Ep** determinará la proporción de falsos positivos que formarán parte de la *tasa de prevalencia aparente* de la enfermedad, surgiendo la misma, directamente de la práctica diagnóstica realizada por el profesional.

Los datos que se obtienen de esa práctica rural, están clasificados como **positivos** y **negativos** a la prueba diagnóstica e incluyen tanto *verdaderos positivos* y *verdaderos negativos* como *falsos positivos* y *falsos negativos*.

El profesional veterinario a pesar de no poder cuantificarlos, deberá estar prevenido sobre la posible inclusión de *falsos positivos* y *falsos negativos*, en la medida de la presencia de la enfermedad en el rodeo.

Los resultados en cada caso serán el producto de la **Se** y **Ep** del test diagnóstico que se utilice, que no siempre son exactamente conocidas.

Partiendo que la *prevalencia verdadera* esta calculada por aquellos animales probados y realmente infectados por la “prueba de oro”, determinándose normalmente por un método estándar (aislamiento bacteriológico), se puede inferir que la prevalencia aparente detectada es diferente a la verdadera.

Esto se debe a la capacidad diagnóstica de cada prueba, expresada como **Se** y **Ep**, que al aplicarse sobre una población animal la discrimina en los cuatro grupos mencionados. Si fuese la **Se** y **Ep** del ciento por ciento cada una, solo

existirían dos grupos, sanos y enfermos, que permitirían solucionar los problemas epidemiológicos y sin conflicto.

En la realidad esos grupos de superposición sí se presentan y su gravitación en el saneamiento y eliminación de la enfermedad en el rodeo, puede ser tan importante como detener todo el proceso del mismo, siempre y cuando el profesional acreditado no tenga en claro los conceptos anteriores que pueden sintetizarse en dos propiedades importantes de la pruebas, que son el **valor predictivo positivo (VP+)** y el **valor predictivo negativo (VP-)**

El primero también denominado *diagnosticabilidad*, indica que proporción de los animales positivos a la prueba están realmente infectados o enfermos. Es la probabilidad que un animal con resultado positivo a la prueba, sea correcto.

El valor predictivo negativo, indica la proporción de animales realmente sanos del total de animales que no reaccionaron a la prueba. Es la probabilidad que un animal no esté infectado si tiene un resultado negativo a la prueba. Los valores predictivos indican la exactitud de la prueba, por lo tanto, es la proporción de animales correctamente identificados por la prueba, ambos **VP** dependen de la prevalencia de la enfermedad en la población y de la *Se* y *Ep* de la prueba utilizada.

Existe una relación cercana entre **VP+** y la **Ep**, así como entre **VP-** y la **Se**. Cuando aumenta la **Ep** de la prueba, se incrementa el **VP+** y por lo tanto la probabilidad de que un resultado positivo sea verdadero, aumenta. Cuando aumenta la **Se** de la prueba, aumenta el **VP-** y por lo tanto la probabilidad de que un resultado negativo sea correcto, aumenta.

La **Se** permite una mayor confianza en un resultado de prueba negativo. Esto nos permite inferir, que una prueba tuberculínica negativa de mayor **Se** como la cervical simple, seleccionada para una eventual compra de animales, aquellos que fueron negativos a la prueba no diseminarán la enfermedad.

Es importante tener presente que si la **Se** y la **Ep** de la prueba no se modifican o sea se mantienen constante, su diagnosticabilidad variará directamente con el valor de la prevalencia de la enfermedad en el rodeo. A mayor prevalencia corresponderá una diagnosticabilidad del test más elevada y viceversa, cuando la prevalencia de la enfermedad disminuye, el **VP+** del test, se irá reduciendo y aumentará consecuentemente la eliminación de *falsos reactores positivos*.

El conocimiento de estos conceptos y su comprensión son fundamentales para el correcto uso de las distintas pruebas tuberculínicas, que se detallan en el manual de normas y procedimientos de la legislación vigente, ya que cada una fundamentalmente de acuerdo con su **Se** y **Ep** tendrá un uso adecuado o una contraindicación, de acuerdo con la situación sanitaria que se esté analizando. No existe una prueba aconsejable para todos los casos y la opción entre las distintas pruebas diagnósticas disponibles dependerá del análisis de las variables que se han mencionado anteriormente.

**Que categorías del rodeo vamos a testear**, nos indica la siguiente pregunta, la cual está relacionada con la edad de los bovinos a tuberculinizar.

En la primera prueba ano-caudal, cuando se desconoce si los animales están o no infectados, es conveniente aplicar la PPD bovina a todos los bovinos mayores de 3 meses de edad en las razas lecheras, ya que la leche es el vehículo ideal como vía de transmisión del bacilo tuberculoso, observándose en éstas categorías de terneros/as una mayor frecuencia de la infección por ingestión de leche que por vía aerógena.

Las ubres de vacas positivas a la tuberculina pueden eliminar bacilos en leche sin que exista mastitis tuberculosa.

La eliminación por leche es trascendente, siendo el vehículo ideal para la transmisión de los bacilos, ya que éstos se encuentran en emulsión en la grasa y ésta facilita su difusión por el tracto digestivo, cuando los alimentos son digeridos. Por lo tanto la medida de prevención es no dar más de doce horas de calostro y retirar las crías del contacto de su madre, para continuar con la crianza artificial de los terneros/as, utilizando sustitutos lácteos.

Dicha medida de manejo, contribuye de manera esencial, a que el núcleo genético de las futuras vaquillonas de reemplazo, en sus tambos, mantengan una sanidad de base óptima en el inicio de la reposición.

Es importante destacar que las vaquillonas preñadas, es una categoría sensible de contraer la infección, especialmente las que provienen con un origen libre de la infección tuberculosa, por lo tanto, la no separación de los animales por grupo de edad, es un factor de riesgo que contribuye a la propagación de la enfermedad.

En las razas de carne se puede iniciar el diagnóstico tuberculínico, a partir de los 24 meses de edad, si no existieron ingresos de animales en ese lapso. En cambio si hay en el establecimiento animales recientemente adquiridos, o se comprueba que el rodeo está infectado, en la siguiente prueba tuberculínica se deberá examinar a todos los animales a partir de los 6 meses de edad.

En el rodeo de carne con sistemas de producción extensiva, la propagación es lenta y la transmisión de la enfermedad de la vaca al ternero desempeña en ella un papel importante. En este tipo de rodeos, la tuberculosis bovina puede afectar a unos pocos animales sin que se difunda rápidamente entre los demás.

Solamente cuando las condiciones de crianza se realiza en los sistemas estabulados o semiestabulados, la propagación de la enfermedad puede incrementarse.

**Como vamos a evaluar los resultados**, es la pregunta que nos hacemos en la evaluación epidemiológica inicial de un establecimiento infectado.

El veterinario acreditado que realiza la prueba tuberculínica en un rodeo, tiene que actuar con criterio epidemiológico, tomando en cuenta la totalidad del rodeo y no interpretar los resultados en base a los animales considerados aisladamente.

Las pruebas tuberculínicas negativas no son garantía sanitaria suficiente, si se desconoce el estado sanitario del rodeo del cual provienen los animales, excepto cuando los mismos proceden de un rodeo certificado oficialmente libre, puede garantizar dicha condición. Por lo tanto, es un instrumento valioso en el control y erradicación de la tuberculosis bovina y con ese criterio deben manejarse.

La interpretación de los resultados de las pruebas tuberculínicas, están debidamente detalladas en la *guía de saneamiento de la tuberculosis bovina en un rodeo*(Torres.,2000).

Como expresamos anteriormente en la selección de la prueba tuberculínica, existen situaciones y factores que pueden impedir a la prueba diagnóstica clasificar correctamente al animal. De tal manera, deben tenerse siempre presente cuando se analizan los resultados de una prueba.

Positividad a la reacción tuberculínica no es sinónimo de enfermedad. Un resultado positivo sólo indica la exposición del animal en estudio al agente en algún momento de su vida, con un tiempo mínimo de incubación, anterior al estudio como para haber desarrollado la respuesta inmune.

En el momento de la prueba, el animal entonces puede encontrarse infectado en un período prodrómico, enfermo o inclusive sin desarrollo de lesiones granulomatosas.



La experiencia ha mostrado que no existe correlación entre el tamaño de la respuesta tuberculínica y la extensión de las lesiones que puedan ser encontradas en el examen post mortem del animal. Por el contrario, las reacciones suelen ser más importantes cuando la infección es reciente, pasado el período de incubación prealérgico.

Con otro enfoque, algunos resultados positivos, pueden deberse a la existencia de mecanismos de defensa contra agentes microbianos distintos al *M.bovis*, pero que tienen semejanza antigénica con él, generando reacciones cruzadas al PPD bovino.

Entre las especies de micobacterias más importantes que causan dicha sensibilidad tuberculínica, se pueden encontrar el *M.avium Complex (MAC)*, de los cuales ninguno de los serotipos reconocidos, es considerado patógeno importante en el bovino y son capaces de causar lesiones pequeñas no progresivas y circunscriptas particularmente a los linfonódulos mesentéricos

.  
El *M.avium Subsp. Paratuberculosis* es el agente causal de la enfermedad paratuberculosa en el bovino y puede ser una importante fuente de sensibilidad heteroespecífica.

Otras micobacterias no patógenas, como las especies que se encuentran en las lesiones de piel (dermatitis tuberculosa) Ej: *Complejo M.fortuitum, M.Kansasii, M.Phlei*, pueden producir sensibilidad tuberculínica.

En las etapas finales del control de la enfermedad en un rodeo o en una región, el problema de los “**falsos reactores positivos**” va cobrando mayor importancia. Estos animales generalmente reaccionan a la tuberculina bovina, dando respuestas pequeñas.

Los agentes sensibilizantes paraespecíficos son más comunes en algunas regiones que en otras, tal es el ejemplo de los resultados obtenidos en el estudio de las micobacterias no tuberculosas en los suelos de la Provincia de La Pampa (Oriani.; 2000).

En condiciones de muy baja prevalencia de infección y/o sensibilización, comprobada por micobacterias diferentes del *M.bovis* o del *M.tuberculosis*, es cuando la especificidad de la prueba adquiere particular relevancia, por lo cual se deben reducir al mínimo posible los “falsos positivos”.

El origen de la sensibilización de los reactores “**sospechosos**” a la prueba operativa de rutina, sólo se puede dilucidar cuando el criterio epidemiológico así lo aconseje, mediante el empleo de la prueba doble cervical comparativa, utilizando PPD bovino y PPD aviar.

La función de ésta prueba comparativa, es clarificar si la probabilidad de que la causa de la sensibilidad tuberculínica en un animal sospechoso, es debida a una infección con *M.bovis*.

Sin embargo, el uso de la prueba comparativa, como prueba única en los rodeos o en regiones altamente infectados es desaconsejable, porque es más compleja, tanto en su ejecución como en su interpretación, que las pruebas cervical simple o ano caudal y, si bien tiene una mayor especificidad, su sensibilidad es marcadamente inferior y ello restringe su aplicación en las áreas infectadas de tuberculosis.

También debe considerarse que un animal puede dar un resultado negativo, aún cuando pueda estar realmente infectado, si lo reciente de la infección no ha permitido el adecuado desarrollo del proceso inmunológico, cuando un fuerte shock de stress bloquea su sistema de defensa, o cuando en bovinos, como en humanos, la sensibilidad tuberculínica tiende a disminuir a medida que las

lesiones progresan y toda la sensibilidad puede desaparecer en las etapas avanzadas de la enfermedad, estado que se denomina **anergia tuberculínica**.

Otras causas de anergia son la infección muy reciente, como ser el período de incubación, y motivos fisiológicos, como es la preñez avanzada.

Las enfermedades virales, inmunodeficiencias y esteroides administrados, también disminuyen la capacidad del animal infectado para su respuesta a la tuberculina.

Por último hay que recordar que la anergia puede resultar el producto de una desensibilización local y sistémica, debida a una inoculación tuberculínica. Cuando se detecta la infección tuberculosa en un rodeo, ningún animal dentro de él podrá ser considerado con certeza como no infectado por el resultado de una sola prueba tuberculínica. Dado que todos los animales de ese establecimiento han estado expuestos a un foco de infección, es muy probable que entre ellos existan, casos de infección reciente, aún en la etapa prealérgica y que sólo se los pueda identificar mediante la repetición de las pruebas.

Los casos complicados de saneamiento son cuando aparecen los animales tuberculosos anérgicos, que se hallan en las últimas etapas de la enfermedad, con lesiones abiertas diseminadoras de bacilos. Una práctica que alienta la aparición de éstos animales, es la no eliminación a faena de los reactores positivos a la prueba tuberculínica.

Dichos animales dejan de responder a la prueba, pero continúan propagando la enfermedad. La prueba indicará la aparición de nuevos casos de infección en el rodeo a una tasa bastante constante, ocasionando una falta en el control de la enfermedad

## REFERENCIA BIBLIOGRAFICA.

Francis,J., Seiler,R., Wilkie,W., *et al.*, 1978. The sensitivity and specificity of various tuberculin tests using bovine PPD and other tuberculins. *Veterinary Record* 103, 420- 435.

Kantor, I., 1984. La prueba tuberculínica en el Ganado bovino. OPS/OMS.

Lepper,A., Pearson,C., Corner,L., 1977. Anergy to tuberculin in beef cattle. *Australian Veterinary Journal* 53, 214-216.

Organización Mundial de la Salud., 1968. Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos. Serie informe técnico N° 384, pp.23-42.

Oriani,S.,Bernardelli,A., Sagardoy,M.,2000. Micobacterias no tuberculosas (MNT) en suelos de la Provincia De La Pampa (Argentina). **Email. veter@teletel.com.ar**  
Secretaría de Agricultura, Dirección Nacional de Sanidad Animal, Argentina, 1999.  
Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina. Resolución N° 115/99 SENASA/SAGPyA.

Torres,P., 2000. Pruebas tuberculínicas (inoculación, lectura e interpretación). Preguntas y respuestas. SAGPyA, SENASA, OPS/OMS.

WHO Expert Comité on Biological Standardization Requirements for Tuberculins., 1968. Technical Report, Series N° 384, Geneva