

Pruebas diagnosticas de campo

Dr. Pedro M.Torres. Jefe de Programa de Tuberculosis (DNSA-SENASA)

Las pruebas tuberculínicas y su interpretación

La tuberculosis es una enfermedad crónica en la que debe considerarse al rodeo como una unidad epidemiológica.

No pueden tenerse en cuenta solamente animales enfermos y sanos individualmente, sino referirse a la situación sanitaria de la población como un todo.

Las pruebas tuberculínicas negativas, no son garantía sanitaria suficiente, si se desconoce el estado sanitario del rodeo del cual provienen el o los animales, excepto cuando los mismos proceden de un rodeo certificado 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 prueba tuberculínica es el procedimiento básico para reconocer los animales infectados en el rodeo, siendo la vía de aplicación intradérmica la única aceptada oficialmente y quedando por consiguiente excluidas la prueba oftálmica y la subcutánea.

Las pruebas tuberculínicas son tres:

- a) AC: Prueba ano-caudal de rutina (con DPP bovino)
- b) CS: Prueba cervical simple de saneamiento (con DPP bovino)
- c) CC: Prueba cervical comparativa (con DPP bovino y con DPP aviar)

Las dos primeras son de uso corriente, la tercera «**sólo**» se utilizará en situaciones especiales, cuando el criterio epidemiológico así lo aconseje.

La función del test CC 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 aun cuando esta prueba puede alcanzar alta especificidad, su sensibilidad no es mayor del 70 al 75% y ello restringe su aplicación en la áreas infectadas de tuberculosis.

Las tuberculinas a utilizar

Las tuberculinas que se deben utilizar en el diagnóstico de la tuberculosis en animales son el derivado proteico purificado de tuberculina bovina (DPP), elaborada con *Mycobacterium bovis* (cepa «AN5») de 1mg/mL de concentración y la DPP aviar, elaborada con una cepa de *Mycobacterium avium* (cepa «D4») de 0,5 mg/mL de concentración.

Se entenderá por Derivado Proteico Purificado de tuberculina (DPP) o (PPD) a una preparación obtenida a partir de productos solubles sometidos a tratamiento térmico del cultivo y la lisis de bacilos tuberculosos (*Mycobacterium bovis*) capaz de poner de manifiesto la hipersensibilidad tardía en un animal sensibilizado por microorganismos de la misma especie.

Las únicas tuberculinas DPP autorizadas en el país, son las elaboradas por el SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA y las producidas por los laboratorios particulares que fueron controladas y aprobadas por ese Organismo.

La tuberculina DPP debe ser transportada y conservada en frío (+2 C° a +8 C°) y protegida de la luz solar directa durante el trabajo de campo. Una vez utilizado parte del reactivo,

debe descartarse el resto que se halla en el frasco, si no se va a utilizar en el mismo día.

Procedimientos para la aplicación de las tuberculinas

Instrumental:

a) JERINGAS

Las jeringas serán de pequeño volumen, de 1 a 2 mL, graduadas en CERO COMA UN (0,1) mililitro.

b) AGUJAS

Las agujas serán hipodérmicas, conforme a normas IRAM 9031/78, calibre SEIS (6), longitud de la cánula CINCO (5) milímetros, punta tipo "b" (bisel corto). Podrán utilizarse agujas descartables de similares características o de mayor longitud de cánula.

Para las pruebas tuberculínicas de animales difíciles de inmovilizar, podrán usarse agujas más cortas.

c) CALIBRES

Los calibreadores metálicos o plásticos deberán estar graduados al CERO COMA UN (0,1) milímetro.

Técnica de aplicación, lectura e interpretación de los resultados de las pruebas tuberculínicas

PRUEBA ANOCAUDAL

A) Aplicación:

La prueba tuberculínica básica operativa o de rutina será la intradérmica, aplicada en el tercio medio del pliegue ano-caudal interno, a unos SEIS (6) centímetros. de la base de la cola y en el centro del pliegue siendo la correcta norma para su aplicación la siguiente:

- 1) Sujetar correctamente el animal en la manga apretando a este contra los otros animales, para que no se muevan o mediante el cepo.
- 2) Anotar en el protocolo el número de identificación del animal a tuberculinizar (caravana, tatuaje, etc.)
- 3) Conservar la tuberculina al resguardo del sol dentro de una heladera con refrigerantes.
- 4) Anotar en el protocolo de tuberculinización la marca, serie y fecha de vencimiento de la tuberculina.
- 5) Se deberá limpiar con un algodón embebido en alcohol de 70° la aguja de inoculación cada vez que se cargue la jeringa o entre animal y animal inoculado.
- 6) Utilizar jeringas y agujas limpias y sanas.
- 7) Levantar la cola del animal mediante un ayudante, hasta estirar ligeramente el pliegue ano-caudal.
- 8) Limpiar previamente a la inoculación, con un trapo limpio o toallas de papel descartable, la zona de aplicación.
- 9) No se deben utilizar desinfectantes o productos químicos que irriten la piel de la región.
- 10) Medir con el calibre el grosor del pliegue anocaudal interno y anotar en el protocolo la medida. Generalmente se utiliza el pliegue anocaudal interno izquierdo del animal por ser más cómodo cuando se trabaja en la manga, antes de la aplicación se debe visualizar si la

zona de inoculación no tiene alguna lesión o tumoración que pueda interferir en la posterior lectura, en ese caso se debe aplicar en el pliegue opuesto y anotar en la planilla dicha modificación.

Cuando la cantidad de animales a tuberculinizar es numerosa se podría acelerar la tarea sin medir previamente el pliegue anocaudal cuando se tuberculiniza y durante la lectura, si existiera alguna tumoración se medirá el pliegue opuesto ya que el mismo es simétrico en casi el 100% de animales.

11) Aplicar mediante la inserción intradérmica de la aguja lo más paralelo posible al pliegue en toda su longitud, en las capas superficiales de la piel retirando un poco la jeringa e inyectar CERO COMA UN (0,1) mililitro de tuberculina.

Se debe tener cuidado de no traspasar la piel con la punta de la aguja. La misma será retirada cuidadosamente y si es necesario apretando entre el pulgar y el índice la región inyectada, para prevenir la pérdida de alguna parte de la dosis. Si la inyección fue bien aplicada, en el lugar inoculado debe aparecer una pápula.

12) No se deben utilizar sobrantes de tuberculina de un día para el otro.

B) Lectura:

1) La lectura debe realizarse a las SETENTA Y DOS (72) horas (más o menos 6 horas) después de la inoculación. En los casos de impedimento por razones climáticas u otras causas, la misma podrá hacerse hasta VEINTICUATRO (24) horas más tarde, dejando constancia en el protocolo de dicha demora.

2) Inmovilizar el animal y verificar su identidad, ya sea por el número de tatuaje, número a fuego u otra identificación indeleble.

3) La lectura de la tuberculina se hará levantando la cola del animal hasta estirar ligeramente el pliegue anocaudal.

4) Con el índice y el pulgar de la otra mano, se **PALPA** el pliegue inyectado para comprobar si hay engrosamiento.

5) Medir el pliegue inoculado con la induración característica con el calibrador y anotar en el protocolo el engrosamiento, comparando con la medida previa del pliegue, se calculará por diferencia el aumento del grosor. En caso de no haber realizado la medición del grosor de la piel previamente a la inoculación se toma como referencia el pliegue opuesto a la aplicación.

Toda reacción observada (de cualquier grosor) debe ser anotada en el protocolo de tuberculinización. El registro de las respuestas a la tuberculina es importante para realizar el seguimiento de las pruebas ulteriores del mismo rodeo, la evaluación del plan en el establecimiento y del programa erradicación en el área.

6) Seguir las pautas de interpretación de la prueba para clasificar los animales, ver cuadro N° 1.

C) Interpretación

El veterinario que realiza la prueba tuberculínica de rutina 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.

Clasificación de las reacciones:

En la primera prueba, cuando se desconoce si el rodeo esta infectado o no, se aplicará el siguiente criterio general:

P = POSITIVO: un engrosamiento de la piel de igual o mayor de CINCO (5)

milímetros.

S = SOSPECHOSO: un engrosamiento de TRES (3) milímetros o más, y menos de CINCO (5) milímetros.

N = NEGATIVO: un engrosamiento menor de TRES (3) milímetros.

Las pautas de interpretación de la prueba anocaudal de rutina figuran en el cuadro N°1, del presente anexo.

En un rodeo pueden presentarse las TRES (3) situaciones siguientes:

1) En ninguno de los animales del rodeo se observan reacciones mayores de TRES (3) milímetros. Se considerara el rodeo no infectado.

2) En el rodeo hay solamente animales reaccionantes de TRES (3) milímetros a CINCO (5) milímetros y no hay animales con una reacción mayor de CINCO (5) milímetros. En tal caso se clasificará el rodeo como Rodeo Sospechoso. Para dilucidar su estado podrá optar por remitir los animales sospechosos a sacrificio y si no se comprobaran lesiones macroscópicas tuberculosas en el post-mortem, ni diagnóstico positivo histopatológico y/o bacteriológico, se considerará el rodeo como no infectado, o proceder a una segunda prueba ano-caudal a los SESENTA (60) días de la primera, en todos los animales que acusaron reacción, siendo la interpretación la siguiente:

2.1. Si estos animales acusaron una pronunciada reducción en el tamaño de las reacciones, se los podrá clasificar como negativos, y se considerará el rodeo como no infectado, siempre que en el grupo no hubiera ningún animal reaccionante positivo.

2.2. Si los animales presentaron el mismo tamaño de reacción se mantendrá la clasificación de sospechosos hasta un tercer examen definitivo a los SESENTA (60) días del segundo.

2.3. La tercera prueba será concluyente y todo animal que tuviera una reacción de TRES (3) milímetros o mayor, será clasificado reaccionante y el rodeo como infectado, a menos que los animales sospechosos fueran sacrificados y no se comprobaran lesiones macroscópicas tuberculosas, ni diagnóstico positivo histopatológico y/o bacteriológico.

3) Si se observara en el rodeo animales con reacciones grandes, tales como CINCO (5) milímetros o más, o si existieran antecedentes de infección en el rodeo, se considerará éste como infectado y se aplicará un criterio estricto, clasificando todos los animales con TRES (3) milímetros o más, como positivos.

Prueba cervical simple

A) APLICACIÓN

La sensibilidad de la prueba cervical es superior a la del pliegue ano-caudal, ella se aplica con el fin de obtener una mayor seguridad en la eliminación de bovinos infectados en rodeos en los que ya se ha comprobado la infección.

Para la prueba, el establecimiento necesita contar con instalaciones adecuadas que aseguren una correcta sujeción de los animales (preferiblemente un cepo).

1) Sujetar correctamente el animal en la manga apretando a este contra los otros animales, para que no se muevan o mediante el cepo, dejando visible la tabla del cuello del lado izquierdo.

2) Anotar en el protocolo el número del animal a tuberculinizar.

- 3) Conservar la tuberculina al resguardo del sol dentro de una heladera con refrigerantes.
- 4) Anotar en el protocolo de tuberculinización la marca, serie y fecha de vencimiento de la tuberculina.
- 5) Utilizar jeringas y agujas limpias y sanas.
- 6) En el caso de la prueba cervical simple antes de la aplicación de la tuberculina verificar por palpación sino existe ningún nódulo en la piel del cuello que dificulte su posterior lectura en el lugar de inoculación. (ej. nódulo postvacunal).
- 7) El lugar de inoculación es el tercio medio del cuello. Se corta el pelo con tijera curva o maquina para indicar el lugar donde se aplicó la inyección, en un área de unos CINCO (5) centímetros de diámetro, se mide con un calibre el espesor de la piel y se registra en el protocolo.
- 8) Inyectar mediante la inserción de la aguja a 45° de la piel en toda su longitud en las capas superficiales de la piel CERO COMA UN (0,1) mililitro de tuberculina. Si la inyección fue bien aplicada, en el lugar inoculado debe aparecer una pápula.

B) Lectura

- 1) La lectura debe realizarse a las SETENTA Y DOS (72) horas (mas o menos 6 horas) después de la inoculación. En los casos de impedimento por razones climáticas u otras causas, la misma podrá hacerse hasta VEINTICUATRO (24) horas más tarde, dejando constancia en el protocolo de dicha demora.
- 2) Inmovilizar el animal y verificar su identidad, ya sea por el número de tatuaje, número a fuego u otra identificación indeleble.
- 3) Sujetar el animal a los efectos de una buena observación de la tabla del cuello, si es posible colocar al animal en el cepo.
- 4) Palpar la zona de inoculación (zona depilada) para ver si existe induración.
- 5) Medir con el calibre el espesor de la piel, anotar la misma en el protocolo y comparar con la lectura previa del pliegue calculando por diferencia el aumento del grosor.

Toda reacción observada (de cualquier espesor) en las pruebas tuberculínicas debe ser anotada en el protocolo de tuberculinización. El registro de las respuestas a la tuberculina es importante para realizar el seguimiento de las pruebas ulteriores del mismo rodeo, la evaluación del plan en el establecimiento y del programa de erradicación en el área.

- 6) Seguir las pautas de interpretación de la prueba para clasificar los animales, ver Cuadro N° 1.

C) Interpretación

En esta prueba existen sólo DOS (2) clasificaciones:

P = POSITIVO: un engrosamiento de la piel de igual o mayor de TRES (3) milímetros.

N = NEGATIVO: un engrosamiento menor de TRES (3) milímetros.

No existe la clasificación de sospechoso.

PRUEBA CERVICAL COMPARATIVA

A) Aplicación

Para esta prueba, el establecimiento necesita contar con instalaciones adecuadas que aseguren una correcta sujeción de los animales (preferiblemente un cepo).

- 1) Sujetar correctamente el animal en la manga apretando a este contra los otros animales, para que no se muevan o mediante el cepo, dejando visible la tabla del cuello del lado izquierdo.
- 2) Anotar en el protocolo el número del animal a tuberculinizar.
- 3) Conservar la tuberculina al resguardo del sol dentro de una heladera con refrigerantes
- 4) Anotar en el protocolo de tuberculinización la marca, serie y fecha de vencimiento de la tuberculina.
- 5) Utilizar jeringas y agujas limpias y sanas
- 6) Antes de la aplicación de la tuberculina verificar por palpación sino existe ningún nódulo en la piel del cuello que dificulte su posterior lectura en los lugares de aplicación. (ej. nódulo postvacunal)
- 6) El lugar de inoculación es el tercio medio del cuello. Se corta el pelo con tijera curva o máquina para indicar el lugar donde se va a aplicar las inyecciones en un área de unos CINCO (5) centímetros de diámetro para cada una a 10 cm del ligamento nuchal (DPP Aviar) y 12 cm por debajo del mismo (DPP Bovina), se mide con un calibre el espesor de la piel y se registra en el protocolo.
- 7) Inyectar mediante la inserción de la aguja a 45° de la piel en toda su longitud en las capas superficiales de la piel CERO COMA UN (0,1) mililitro de tuberculina. De DPP. aviar y 0,1 mL de DPP bovina biológicamente balanceadas, en los sitios depilados. Se deben utilizar dos jeringas, una para cada tuberculina. Si la inyección fue bien aplicada, en el lugar inoculado debe aparecer una pápula.

B) Lectura

- 1) La lectura debe realizarse a las SETENTA Y DOS (72) horas (más o menos 6 horas) después de la inoculación. En los casos de impedimento por razones climáticas u otras causas, la misma podrá hacerse hasta VEINTICUATRO (24) horas más tarde, dejando constancia en el protocolo de dicha demora.
 - 2) Inmovilizar el animal y verificar su identidad, ya sea por el número de tatuaje, número a fuego u otra identificación indeleble.
 - 3) Sujetar el animal a los efectos de una buena observación de la tabla del cuello, si es posible colocar al animal en el cepo.
 - 4) Palpar las zonas de inoculación (zonas depiladas) para ver si existe induración.
 - 5) Medir con el calibre el espesor de la piel de cada una de las inoculaciones, anotar las mismas en el protocolo y comparar con la lectura previa de los pliegues calculando por diferencia el aumento del grosor. Toda reacción observada (de cualquier espesor) en las pruebas tuberculínicas debe ser anotada en el protocolo de tuberculinización.
- El registro de las respuestas a la tuberculina es importante para realizar el seguimiento de las pruebas ulteriores del mismo rodeo y la evaluación del plan en el establecimiento y del programa de erradicación en el área.

C) Interpretación

Por diferencia en milímetros anterior y posterior a la inoculaciones determina la respuesta final de cada DPP.

La interpretación del test CC esta basada en el tamaño de la respuesta a la tuberculina bovina comparada con la aviar.

A nivel individual, para interpretar la prueba comparativa, se considerará reaccionante positivo, aquel vacuno con 4 mm o más de respuesta a la DPP bovina que a la DPP aviar

(Commission of the European Communities, 81-611, Brussels, 1981).

DPP Bovino	DPP Aviar	Respuesta
Más de 4 mm	0	Positiva
Más de 2 mm	0	Sospechosa
Igual o menor 2 mm	0	Negativa

A nivel rodeo, se utilizará el diagrama de puntos (scattegram), colocando en las coordenadas los reaccionantes a DPP aviar y en las ordenadas los reaccionantes a la DPP bovino.

La clasificación de cada animal dependerá en qué zona del diagrama de puntos son graficados los resultados:

- Zona Negativa para *M. bovis* (N)
- Zona de sospechosos (S)
- Zona de reactores (R)

Esta prueba se utiliza cuando detectamos en un establecimiento animales sospechosos con la prueba ano-caudal y cervical simple en un área en erradicación o libre.

Asimismo, esta prueba se puede aplicar también en la situación de no encontrar lesiones macro compatibles con TBC en establecimientos libres o en su última etapa de erradicación.

Factores a considerar en la interpretación de las pruebas

- a) Motivo de su realización (objetivos).
- b) Comportamiento de la prueba en el rodeo y la distribución de las reacciones según el tamaño.
- c) La historia del rodeo: cómo fue formado, su origen, y los resultados de las pruebas anteriores.
- d) Información de los exámenes post-mortem en el matadero.
- e) La situación de la tuberculosis en los rodeos vecinos.
- f) Edad de los animales reaccionantes.
- g) Presencia de otros animales en el establecimiento y su situación frente a la tuberculosis.
- h) Presencia de paratuberculosis y tuberculosis aviar.

El diagnóstico tuberculínico en otras especies animales

La prueba tuberculínica en porcinos

- a) **Tipo de animales a someter a la prueba:** la prueba tuberculínica en porcinos se limita generalmente a los planteles.
- b) **Identificación de los animales:** los animales que se someten a la prueba deben identificarse en forma indeleble.
- c) **Tuberculina a utilizar:** los cerdos son susceptibles a la infección con *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis* y *M. avium* complex (MAC) por lo que en la prueba deben usarse ambas tuberculinas, DPP de origen bovino y DPP de origen aviar.
- d) **Cantidad y lugar de la tuberculina a inocular:** se inyecta 0,1 mL de tuberculina bovina y 0,1 mL de tuberculina aviar, con dos jeringas reservadas específicamente para

cada una de las tuberculinas.

El lugar de la inyección intradérmica, es la piel de la base de la oreja. Si esta región estuviera traumatizada o tuviera algún otro defecto, se pueden hacer las pruebas en los labios de la vulva de la cerda o en la conjunción de la piel y mucosa del ano del macho. La tuberculina bovina se inyecta habitualmente del lado derecho y la aviar en el izquierdo.

e) **Lectura y criterio de diagnóstico:** la lectura se hace a las 48 horas, y toda reacción tisular comprobada por palpación se clasifica como reaccionante, debiéndose anotar si la misma se debe a la tuberculina bovina o aviar.

f) **Medidas de control:** el veterinario acreditado debe ejercer una vigilancia epidemiológica continua, para prevenir la infección o su introducción.

Los principales puntos a tomar en cuenta son: a) el manejo de la piara. Esta debe estar separada de otros animales domésticos y aves, así como de sus excrementos y b) la alimentación. Los cerdos no deben ser alimentados con productos lácteos no pasteurizados, desechos de mataderos, residuos domiciliarios, hospitalarios o de restaurantes, no sometidos a esterilización.

La prueba tuberculínica en aves

Si hay sospecha de tuberculosis y se comprobaran lesiones tuberculosas por necropsia, la prueba tuberculínica no es necesaria, ya que todas las aves de criadero deben ser sacrificadas y la repoblación debe ser hecha con aves procedentes de un criadero libre de la infección.

Las aves nuevas deben ser puestas sobre un terreno no contaminado.

Sin embargo, la prueba tuberculínica puede ser útil en el comercio de aves y en las que concurren a exposiciones.

a) **La tuberculina, dosis y lugar de inoculación:** las aves son susceptibles solamente a *Mycobacterium avium* por lo que en la prueba se usa exclusivamente la tuberculina DPP aviar. El reactivo se inyecta vía intradérmica en una de las barbillas, la dosis es de 0,05 mL.

b) **Lectura e interpretación de la prueba:** la lectura de la prueba se hace a las 48 horas de aplicada la inyección y toda edematización de la barbilla inoculada se interpreta como reacción positiva.

La prueba tuberculínica en equinos

Esta prueba no debe ser aplicada a los equinos. Esta especie animal es hipersensible a la tuberculina y da resultados equívocos.

La prueba tuberculínica en perros y gatos

La misma no da resultados fidedignos en estas especies animales y no se aconseja su empleo. Si hubiera la sospecha clínica de infección tuberculosa en individuos de esa especie, los animales deben ser sacrificados y si se comprobaran en los mismos lesiones tuberculosas, se deberá recomendar que los dueños concurren a un examen médico para su estudio preventivo.

La prueba tuberculínica en caprinos

Los caprinos son susceptibles a *M. bovis*, *M. avium*, y *M. tuberculosis*.

Se puede aplicar satisfactoriamente en el pliegue anocaudal o en la tabla del cuello.

La técnica de aplicación, lectura e interpretación es similar a la de los bovinos.

La prueba tuberculínica en ovinos

Los ovinos demuestran ser un hospedador bastante resistente a la infección por *M. bovis*, aunque son susceptibles a la infección tuberculosa. El proceso del desarrollo tuberculoso en esta especie ha sido descrito en un reducido número de ocasiones, y además como casos puntuales, incluso en aquellas áreas donde la infección se encuentra muy extendida en otros hospedadores. Ej.: bovino, porcinos etc. En general por el tipo de explotación que se realiza con los ovinos, la exposición de éstos a fuentes de infección provenientes de animales enfermos es limitada. Esta situación hace que la tuberculosis sea poco común en esta especie, pero últimamente se están formando tambos ovinos, donde hay una tendencia a la semiestabulación, dejando de lado el manejo tradicional extensivo, aumentando la tasa de contacto entre animales, favoreciendo la transmisión del agente por vía aerógena y digestiva.

La prueba diagnóstica tuberculínica, se aplica intradérmica en la zona axilar, siendo la técnica de aplicación, lectura e interpretación similar a la de los bovinos.

Como el ganado ovino es también susceptible al *M. avium* subsp paratuberculosis, causante de la enfermedad de Jhone, se pueden utilizar las pruebas comparativas con tuberculinas DPP bovina y DPP aviar, con la inoculación de cada una de ellas en cada axila respectiva, siendo un instrumento valioso como prueba de screening en ésta especie para determinar sensibilidad paraespecífica.