

Capítulo 8

Tuberculosis

Carlos F. Amasino

Definición

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa, crónica, zoonótica, caracterizada por la formación de lesiones granulomatosas localizadas preferentemente en ciertos órganos (pulmón, ganglios, hígado) o diseminadas, acompañadas por caquexia progresiva, nódulos ganglionares, períodos febriles y lentitud del crecimiento, producida por micobacterias.

Presentación

En los bovinos adultos la tuberculosis es habitualmente de inicio pulmonar, transmitida entre ellos por las microgotas producidas al toser. Es mucho más frecuente en vacas de tambo debido a que tienen un período de explotación más largo que las de carne y la frecuencia de la tuberculosis aumenta con la edad, se reúnen dos veces por día en espacios reducidos para el ordeño, lo cual facilita la transmisión aerógena y soportan el esfuerzo de la producción láctea. En los terneros se puede presentar inicio digestivo intestinal si se infectan a partir de la leche.

En los porcinos el inicio de la tuberculosis es habitualmente digestivo, ya sea que ingieran vísceras con lesiones tuberculosas bovinas, aves con tuberculosis aviar o se infecten por micobacterias que se encuentren en el suelo por eliminación fecal de aves o expectoraciones humanas. También se infectan por el consumo de leche o suero de leche de residuos de quesería conteniendo el *Mycobacterium bovis*.

El hombre recibe habitualmente por vía aerógena el *Mycobacterium tuberculosis* transmitido por otras personas infectadas, pero puede recibir el *Mycobacterium bovis* por vía aerógena desde los bovinos si trabaja en un tambo o en la playa de un frigorífico y por vía digestiva si toma leche cruda o ingiere productos con lesiones tuberculosas.

El perro y el gato pueden infectarse por vía digestiva por ingestión de productos cárnicos contaminados (pulmón o «bofe» de vaca que se daba a los gatos antes de popularizarse el alimento balanceado) o por vía aerógena por convivencia con un humano tuberculoso. En las aves la tuberculosis por el *Mycobacterium avium* es digestiva.

Un caso especial es la infección con el *M. tuberculosis* de los papagayos mascotas a partir de los humanos y viceversa.

En las cabras la presentación es similar a la tuberculosis bovina, pero en las ovejas es una enfermedad de presentación muy poco frecuente.

Dentro de los animales silvestres es conocido que los tejones se infectan con el *Mycobacterium bovis* y presentan localizaciones renales, por lo cual lo eliminan por vía urinaria. También se ha detectado en zarigüeyas (comadreja).

Siempre la tuberculosis estará facilitada por la mala alimentación, el agotamiento, la sobreexplotación, la tensión o estrés y las malas condiciones de alojamiento. Se han estudiado también factores predisponentes genéticos.

Etiología

Las micobacterias son bacilos aerobios, inmóviles, no capsulados ni esporulados y miden 1,5 a 4 µm de largo x 0,3-0,5 µm de ancho. Son Gram positivos, aunque toman mal dicha coloración, siendo en cambio ácido-alcohol resistentes. Requieren para su desarrollo medios especiales y son de crecimiento lento (excepto el grupo de crecimiento rápido de las micobacterias atípicas).

Taxonómicamente pertenecen al orden *Actinomycetales*, familia *Mycobacteriaceae*, género *Mycobacterium*.

Las micobacterias productoras de tuberculosis son:

Mycobacterium tuberculosis: produce la tuberculosis humana, siendo responsable también de la producción de un porcentaje de las tuberculosis de otros animales (en monos, perros, cerdos, etc.).

Mycobacterium bovis: produce la tuberculosis bovina, interviniendo también en la producción de un porcentaje de las tuberculosis humanas y de otras especies animales.

Mycobacterium avium: produce la tuberculosis aviar y también un porcentaje de las tuberculosis de otros animales (cerdos) y se lo ha encontrado en algunas presentaciones humanas. También se lo denomina *Mycobacterium avium* subespecie *avium*.

Además de estas micobacterias, existe una amplia variedad de otras micobacterias que en unos casos se encuentran en procesos patológicos y en otros no producen alteraciones, pero se aíslan en algunas muestras y también pueden positivizar falsamente las pruebas tuberculínicas. Basándose en el estudio morfológico de los cultivos y considerando típico al *Mycobacterium tuberculosis*, Runyon designó a las otras micobacterias como micobacterias atípicas (o inespecíficas) ordenándolas en los siguientes grupos:

Típico: *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium bovis

Atípicos:

Grupo I: Fotocromógenos: son micobacterias cuyas colonias pigmentan en presencia de luz desarrollando color amarillo: *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium marinum*.

Grupo II: Escotocromógenos: son micobacterias cuyas colonias pigmentan aún en la oscuridad, desarrollando color amarillo anaranjado: *Mycobacterium scrofulaceum*, *Mycobacterium aquae*.

Grupo III: No cromógenos: son micobacterias cuyas colonias no pigmentan ni con luz ni en la oscuridad: *Mycobacterium battey* (o *intracellulare*), *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium ulcerans*, *Mycobacterium terrae*.

Grupo IV: Micobacterias de crecimiento rápido: son micobacterias cuyas colonias completan su desarrollo en 5 días (entre 48 horas y 5 días) a diferencia de las otras micobacterias que tardan en desarrollar 3 o más semanas: *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium thamnopheus*.

Resultan además importantes en infectología el *Mycobacterium paratuberculosis* o *Mycobacterium johnei* (o bacilo de Johne) actualmente considerado como una subespecie del *avium* (*Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis) productor de la paratuberculosis o Enfermedad de Johne y el *Mycobacterium leprae*, productor de la lepra humana. Estas micobacterias no fueron incluidas en el estudio de Runyon porque no se lograba su cultivo en los medios habituales para micobacterias. Luego se logró el cultivo del *M. paratuberculosis* agregando extractos de otras micobacterias a los medios (Micobactina de *Mycobacterium phlei*).

Especies susceptibles

La tuberculosis afecta a los bovinos, con mayor frecuencia a las vacas de tambo, con lesiones predominantemente de inicio pulmonar ya que la entrada es habitualmente aerógena, las cuales pueden luego generalizarse. En los terneros infectados por la leche el comienzo puede ser digestivo. La tuberculosis bovina es producida por el *Mycobacterium bovis*, siendo muy rara la provocada por otras micobacterias.

En los cerdos se puede producir con los tres tipos de micobacterias (*M. bovis*, *avium* o *tuberculosis*). Las lesiones iniciales son intestinales ya que la entrada de la infección es habitualmente digestiva.

En los perros y gatos es producida por el *M. bovis* y *M. tuberculosis*. En las aves es causada por el *M. avium* y la presentación es inicialmente digestiva. Se detecta en aves adultas.

En los ovinos es muy rara y es poco frecuente en equinos.

Los loros, papagayos y cacatúas puede infectarse a partir de sus propietarios con el *M. tuberculosis*, con desarrollo de lesiones cutáneas en la cabeza y en la parte superior del árbol respiratorio.

El hombre es infectado por el *M. tuberculosis*, pero es también susceptible al *M. bovis* (hasta un 2,5 % de casuística humana en la actualidad es por este microorganismo). Es más rara la presentación de otras micobacterias adquiridas desde un origen animal, pero se detectan infecciones por *M. avium* en pacientes inmunodeprimidos.

Los monos, especialmente los mantenidos en cautiverio, presentan tuberculosis similar a la humana.

Transmisión

La transmisión puede ser debida a las secreciones pulmonares de animales tuberculosos, que expulsan el agente en las microgotas producidas al toser, a material de ganglios o articulaciones ulceradas, materia fecal contaminada por eliminación hepática, intestinal o por deglución de productos pulmonares, orina, semen, secreciones genitales y leche de vacas tuberculosas, que resulta con frecuencia el vehículo de infección para los terneros o los cerdos alimentados con residuos de quesería o tambo (suero, leche total).

Para los carnívoros y cerdos también es importante la ingestión de vísceras con lesiones tuberculosas. El agua contaminada puede también vehiculizar el germen, así como la inhalación de polvo del suelo donde se han secado productos contaminados en ambientes cerrados, ya que el agente resiste bien la desecación.

Patogenia

Los agentes de la tuberculosis producen en el organismo animal un fenómeno inflamatorio exudativo con proliferación celular. Una vez en el organismo dichos gérmenes comienzan a multiplicarse y producir alteraciones en su localización inicial, por ej. en pulmón (chancro de inoculación). La reacción orgánica comienza a manifestarse y se organiza el granuloma característico de la infección por micobacterias, con una zona de central de caseificación y otra de células de la inflamación crónica, con linfocitos, macrófagos, células epitelioides y células gigantes, denominado folículo primario, a partir del cual (de acuerdo con la ley de localización de Cornet) se agrega una reacción ganglionar regional, constituyéndose así el complejo primario de Ranke. Si en cambio existiera inicialmente una lesión primaria sólo en los ganglios, sería un complejo primario incompleto. El complejo primario se encuentra generalmente en la zona pulmonar del hombre, del bovino adulto y del perro. En los terneros, cerdos y aves, en el tubo digestivo (faringe, intestino, hígado) y ganglios correspondientes. El complejo primario puede involucrar, quedar detenido en su evolución o curar definitivamente, pero si las defensas orgánicas no pueden lograrlo y son superadas, la infección suele sufrir una generalización precoz por vía linfática o sanguínea poco tiempo después de establecida la infección. En otros casos el organismo infectado logra retardar el progreso de la enfermedad

por un tiempo largo y luego, por causas que debilitan la resistencia orgánica, se produce la generalización. Esto se denomina generalización tardía. De generarse la diseminación por vía linfática se tendrá una tuberculosis nodular, si es por vía hemática una tuberculosis miliar y si es por la pleura una tuberculosis perlada.

Período de incubación

Es largo, variando entre dos y varios meses. En algunos casos, luego de la primoinfección, la enfermedad no se manifiesta hasta algunos años después.

Sintomatología

La presencia de una infección tuberculosa ocasiona en el animal que la padece la aparición de caquexia progresiva, baja en el rendimiento y la producción, en algunos casos aparición de alteraciones de la temperatura corporal y una sintomatología relacionada con la localización de lesiones en los diversos órganos afectados.

En los bovinos adultos se presenta tos ronca, en general frecuente cuando los animales toman agua o caminan. Es poco sonora, a veces en accesos, con estiramiento de la cabeza. También presentan mugidos roncacos, disfunción pulmonar con agitación al hacerlos correr, auscultándose ruidos de frote en los casos de localización pleural.

En algunos bovinos son evidentes abultamientos sólidos en los ganglios submaxilares, preescapulares, precurales y retromamarios. Si hay localizaciones mediastínicas (como puede suceder en la tuberculosis nodular) pueden presentarse alteraciones por compresión del esófago, la tráquea o los nervios que pasan por esta zona.

Resultan menos frecuentes las localizaciones hepáticas, uterinas, testiculares, óseas y articulares.

Desde aproximadamente 21 días posteriores a la organización del folículo primario el animal es hipersensible a los antígenos propios del *Mycobacterium*, condición que se utiliza en el diagnóstico por pruebas alérgicas (pruebas de tuberculina).

Patología

Las lesiones tuberculosas son predominantes en los pulmones de los bovinos adultos. Consisten en nódulos consistentes, de color amarillo. Al corte de las lesiones se aprecian zonas de caseificación y puede haber calcificación. La presencia de lesiones en los órganos va

acompañada en general de alteración en los ganglios regionales. En la pleura pueden encontrarse nódulos de superficie lisa correspondientes a la denominada tuberculosis perlada.



Lesiones tuberculosas en un pulmón bovino. © Amasino

Diagnóstico de la tuberculosis

Diagnóstico clínico

La tuberculosis puede ser sospechada en animales que presentan adelgazamiento progresivo, hipertrofia ganglionar, tos ronca y frecuente, poca resistencia al ejercicio, induraciones mamarias con hipertrofia de ganglios retromamarios no atribuible a otras causas, fiebre, rales respiratorios a la auscultación, etc. La radiología y otros métodos de diagnóstico por imágenes como la ecografía, resonancia magnética o tomografía computarizada pueden brindar importantes datos, especialmente en pequeños animales. Se deberá confirmar la sospecha de esta enfermedad con pruebas tuberculínicas y análisis bacteriológicos.

Pruebas tuberculínicas

Las pruebas de tuberculina se realizan tanto para confirmar un diagnóstico presuntivo de tuberculosis (prueba complementaria de la clínica) como para detectar reactivos en los controles rutinarios periódicos (planes oficiales de control y erradicación o exigencias de los

mercados, usinas lácteas, importadores, compradores, etc.). Para los tambos, las usinas lácteas comprueban que el establecimiento esté dentro de los Planes oficiales de control y erradicación de la Tuberculosis y Brucelosis para aceptarlos como proveedores.

Las pruebas de tuberculina están basadas en el “fenómeno de Koch”. Roberto Koch, buscando una vacuna antituberculosa inyectaba a cobayos cultivos de *Mycobacterium* y sus metabolitos en medio líquido, previa destrucción de los gérmenes por el calor. Observó así que si el cobayo inoculado no tenía tuberculosis, la inoculación del cultivo no le producía ninguna reacción, pero cuando inyectaba el cultivo a cobayos tuberculosos, se producía una gran reacción en el punto de inoculación con inflamación e intensa infiltración en la zona y en algunos casos necrosis, acompañada de reacción general (fenómeno de Koch). Por aparecer esta reacción en animales tuberculosos hipersensibilizados al *Mycobacterium* y a sus productos y no en animales sanos, se la comenzó a utilizar como método diagnóstico para detectar animales y personas enfermos de tuberculosis. Cabe acotar que como método de protección, el preparado de Koch no dio resultado, lo que se lograría después con la vacuna BCG para uso humano.

La reacción tuberculínica es empleada intensamente en el control de la enfermedad, si bien ha sido mas frecuentemente utilizada en los bovinos y en el hombre que en el resto de las especies animales.

La proteína tuberculosa que actúa como antígeno o alérgeno en esta prueba es capaz de provocar tres tipos de reacción en los animales tuberculosos:

1. Una reacción local, en el punto de inoculación, notable cuando se efectúa la inyección por vía intradérmica ya que la tuberculina queda localizada en el sitio de la inoculación. Dicha inflamación local se produce por infiltración de células sensibilizadas en el lugar donde se ha depositado la tuberculina y la reacción llega a su punto óptimo en 72 horas.

2. Una reacción general, que involucra a todo el organismo y se traduce por fiebre y en algunos casos hipotensión, inapetencia, escalofríos, erizamiento del pelo, taquicardia, taquipnea, disminución de la secreción láctea y diarrea, que se produce cuando la tuberculina se absorbe, como sucede cuando se inocula por vía subcutánea.

3. Una reacción focal de activación de los nódulos o focos tuberculosos, que en algunos casos puede favorecer la generalización de tuberculosis localizadas. Por la reacción focal puede haber dolor y tumefacción de los ganglios linfáticos y las mamas, o aumento de estertores y dificultad respiratoria marcada por exacerbación de la tuberculosis pulmonar. Se produce cuando hay absorción de tuberculina, por ej. inoculando por vía subcutánea.

Las pruebas de tuberculina investigan una reacción mediada por células (inmunidad celular), dado que en el animal con una infección tuberculosa existen células presensibilizados por la enfermedad que al reconocer a la tuberculina reaccionan específicamente. En cambio, para investigar anticuerpos en el suero de los enfermos deben usarse otras pruebas como el Enzimoimmunoensayo (Elisa).

La reacción tuberculínica es una reacción de hipersensibilidad de tipo retardado. Las células que intervienen en la producción de la reacción son:

1. Los macrófagos, que predigieren, procesan y presentan al antígeno y las células dendríticas, que solamente presentan al antígeno. Estas últimas son abundantes en la piel donde se las denomina también células de Langerhans.

2. Los linfocitos T (CD4) que reconocen al antígeno procesado y liberan mediadores (linfoquinas-citoquinas-gammainterferón, etc).

3. Los grupos de células que acuden al llamado efectuado por medio de los mediadores, que infiltran la zona (macrófagos, linfocitos, células NK, etc.). Esta reacción infiltrativa se desarrolla progresivamente hasta las 72 horas, luego se estabiliza y mantiene y después decrece.

Tuberculinas

Existen tres tipos de tuberculina. La tuberculina bruta o vieja de Koch y la tuberculina sintética o de medio sintético, ambas concentradas por calor, ya caídas en desuso y la tuberculina PPD (proteína pura derivada o derivado proteico purificado) concentrada por precipitación, de uso actual, que pueden ser preparadas con cultivos de *Mycobacterium tuberculosis* o *M. bovis* (tuberculina mamífera) o *M. avium* (tuberculina aviar). Cuando la tuberculina es preparada con *M. bovis* para uso animal se la conoce como tuberculina bovina. La tuberculina bovina puede colorearse de azul con Azul de Evans o no estar coloreada. La aviar se presenta coloreada con rojo Ponceau.

La Tuberculina PPD o DPP (proteína pura derivada o derivado proteico purificado), se prepara cultivando el *Mycobacterium* (cepa AN5) en un medio de cultivo sintético líquido (Dorset-Henley modificado). Se cultiva el germen 12 semanas y luego se esteriliza por vapor fluente durante 3 horas. Luego de enfriado a temperatura ambiente se deja 48 horas agitando periódicamente y se filtra para eliminar los somas bacterianos. El filtrado contiene elementos del medio sintético junto con los metabolitos eliminados por los gérmenes durante el desarrollo y los componentes proteicos liberados de los somas bacterianos por el calor durante la esterilización (conocidos como proteínas de Choque térmico o de shock térmico). Se precipita con ácido tricloroacético, se centrifuga, se elimina el sobrenadante, se resuspende con solvente de pH 7 con fenol y glicerol como conservadores y se conserva a 4 ° C. Se mide la concentración proteica por valoración de nitrógeno y la potencia por prueba biológica. Actualmente la tuberculina mamífera se ajusta a 1 mg de ppd x ml y la aviar a 0,5 mg x ml.

Pruebas de tuberculina

Son las pruebas con que se investiga si un animal es hipersensible a la tuberculina, condición que habrá adquirido por estar infectado con los agentes etiológicos de la

tuberculosis. Esta reactividad está presente mientras el animal mantenga una infección tuberculosa activa.

Las pruebas de tuberculina de uso actual son las pruebas intradérmicas, con algunas adaptaciones sobre las técnicas originales de acuerdo a los planes oficiales en que se usen. Han caído en desuso la prueba tuberculínica oftálmica y la prueba tuberculínica subcutánea o térmica.

Las pruebas intradérmicas toman su nombre de la vía de inoculación con que se administra la tuberculina. Al inocular por vía intradérmica, la tuberculina quedará retenida en el punto de inoculación, atrayendo hacia ese lugar las células sensibilizadas, que al infiltrar la zona, producen un aumento en el espesor de la piel en el punto de inoculación.

Las pruebas de tuberculina intradérmicas pueden ser:

Simples: son aquellas en que se administra la tuberculina y pasado el tiempo adecuado (72 horas) se lee la reacción.

Dobles: son aquellas en que se administra la tuberculina, se la vuelve a administrar en el mismo sitio 48 horas después y se lee a las 24 horas de la reinoculación (72 totales desde la 1ª inoculación). Las pruebas dobles son poco usadas.

Comparativas: son aquellas pruebas tuberculínicas en que se inoculan en dos sitios diferentes dos tuberculinas distintas (aviar y mamífera) para comparar sus resultados. A su vez una prueba comparativa puede ser simple comparativa: cuando se inoculan en sitios diferentes ambas tuberculinas y pasadas 72 horas se lee, o doble comparativa: cuando se inoculan las dos tuberculinas, se reinoculan ambas a las 48 horas y se lee a las 24 horas posteriores (72 totales). La utilizada actualmente es la simple comparativa.

Prueba intradérmica simple

En los bovinos, las pruebas intradérmicas se pueden practicar en el pliegue ano caudal (lo más habitual) o en la tabla del cuello. Estas pruebas fueron reajustadas en su metodología al ponerse en vigencia las técnicas adoptadas para la región de las Américas que utiliza el Plan nacional de control y erradicación de la tuberculosis bovina. Se describe la adaptación de uso actual.

Prueba de tuberculina básica operativa o de rutina en el pliegue ano caudal

Es una prueba intradérmica simple que se realiza en el pliegue anocaudal interno con el derivado proteico purificado de la tuberculina bovina (PPD) elaborada con *Mycobacterium bovis*, de 1 mg x ml de concentración.

1. Los animales deberán estar identificados. Se preparará una planilla de tuberculinización donde se anotará la identificación de cada bovino.

2. Se levanta la cola, se limpia la zona si fuera necesario, se ubica el pliegue interno a utilizar (los pliegues ano-caudales internos van desde la base de la cola al ano), se mide el espesor con un calibre tipo Vernier y se anota en la planilla al lado de la identificación del animal. Es conveniente utilizar siempre el pliegue del mismo lado para todos los animales.

3. Se inocula 0,1 ml de tuberculina por vía intradérmica. Se comprobará que en el sitio de inoculación se forme una ampollita.

4. A las 72 horas se comprueba manualmente si hay engrosamiento y se mide nuevamente el pliegue inoculado con el calibre. Se anota esta nueva medida en la planilla.

5. Luego de terminadas las lecturas se resta al valor de la medida post-reacción el valor de la medida pre-inoculación. La diferencia obtenida representa el aumento de espesor del pliegue debido a la reacción.

6. Interpretación:

- Si el aumento es menor de 3 mm = Negativo
- Si el aumento es de 3 hasta casi 5 mm = Sospechoso
- Si el aumento es de 5 o más mm = Positivo

Ventajas de esta técnica: No requiere encepar los animales sino que se hace con los mismos en la canaleta de la manga. Evita tener que prevenir los riesgos de cabezazos y la reacción de los animales indóciles. No requiere depilación de la zona.

Prueba cervical simple

1. Los animales deberán estar identificados. Se preparará una planilla de tuberculinización donde se anotará la identificación de cada bovino.

2. Se corta el pelo con máquina o tijera en un área de 5-6 cm de diámetro del tercio medio del cuello.

3. Se mide con un calibre el espesor del pliegue de la piel y se registra en el protocolo.

4. Se limpia con alcohol y se inocula por vía intradérmica 0,1 ml de PPD mamífera de 1 mg x ml.

5. Se lee a las 72 horas midiendo nuevamente el pliegue de la piel con el calibre. Se anota esta nueva medida en la planilla. Se le resta el valor preinoculación y se obtiene el aumento de espesor.

6. Interpretación:

- Todo aumento mayor de 3 mm = Positivo.
- Todo aumento menor de 3 mm = Negativo.

Dado que la tabla del cuello es el lugar topográfico del bovino que mejor reacciona, esta prueba es muy sensible. Como problemas, consume más tiempo de ejecución, requiere encepado y

sus resultados son Positivo o negativo (no reconoce sospechosos). Es aplicable en caso de animales dóciles o lecheros y contando con las instalaciones adecuadas y personal suficiente y en general cuando se busca acelerar el saneamiento.

Prueba intradérmica simple comparativa

Se practica en los bovinos en la tabla del cuello utilizando tuberculina aviar (arriba) y mamífera (abajo) para comparar sus resultados (prueba comparativa). Cada tuberculina se inyecta una sola vez (prueba simple) y a las 72 horas se lee. El parámetro de lectura es el aumento del espesor del pliegue de la piel en el lugar de inoculación con respecto a la medida inicial del pliegue antes de inocular. Permite diferenciar la reacción por tuberculosis mamífera (da positivo con la tuberculina mamífera y negativo con la aviar) de la reacción por tuberculosis aviar, infección con micobacterias atípicas o paratuberculosis (dan positivo a la tuberculina aviar y negativo a la mamífera dentro de ciertos límites).

La técnica consiste en identificar el animal. Si el pelo es largo, pelar y limpiar dos zonas de 5-6 cm de diámetro en la tabla del cuello (tercio medio).

Con un calibre tipo Vernier o un calibre especial para piel (cutímetro) tomar el espesor del pliegue de la piel en ambas zonas y anotarlos en una planilla al lado de la identificación del animal.

Inocular arriba 0,1 ml de ppd aviar y 10-12 cm por debajo 0,1 ml de ppd mamífera. Se puede rodear con un círculo de pintura roja la zona de inoculación de la tuberculina aviar y con un círculo de pintura azul la mamífera para su mejor ubicación.

A las 72 horas post-inoculación se lee la reacción midiendo nuevamente el pliegue de la piel en las zonas inoculadas con un calibre y anotando el resultado en la planilla. Se resta a esta última medida el valor del espesor obtenido antes de inocular y se obtiene así el valor del aumento producido por la reacción a cada tuberculina.

Luego se compara la reacción de la tuberculina bovina en relación a la aviar.

Con respecto a la tuberculosis, con cuatro (4 mm) mm o más de respuesta a la tuberculina bovina: Positivo, dos hasta cuatro (2 hasta 4 mm): Sospechoso, menos de dos (2 mm): Negativo.

La tuberculina aviar da reacción si el animal padece una infección por *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis (Paratuberculosis o Enfermedad de Johne) o infección por Micobacterias atípicas que presentan reacción con la tuberculina aviar.

Recomendaciones generales

La tuberculina se transportará y mantendrá refrigerada. Al terminar el trabajo se debe descartar la tuberculina de la jeringa que no fue usada.

La repetición de estas pruebas no debe hacerse antes de los 60 días.

Detección de anticuerpos

Son de aparición más lenta y de presencia y título más inconstante, por lo cual se los usa poco en la práctica clínica. Requieren una técnica de investigación sensible por lo cual la prueba habitualmente usada es el Enzimoimmunoensayo (Elisa).

Plan nacional de control y erradicación de la tuberculosis bovina

Para el saneamiento, certificación y obtención de establecimientos libres de tuberculosis, el SENASA ha organizado un sistema de acreditación de médicos veterinarios de la esfera privada, el cual está regido por la Resolución Número 128 del año 2012, los cuales, luego de cumplimentar los requisitos exigidos (Curso de Acreditación) y una vez obtenida su acreditación, suscribirán junto con los propietarios la inscripción de los establecimientos y efectuarán las acciones de diagnóstico y saneamiento. En el momento en que han alcanzado su objetivo solicitarán la verificación oficial de establecimiento libre de tuberculosis bovina. La duración de esta condición es de un año, debiendo renovarse al cabo del mismo.

Diagnóstico bacteriológico de la tuberculosis

Muestras

La coloración y observación microscópica y el cultivo e identificación del agente se llevarán a cabo con las siguientes muestras:

Secreciones respiratorias (espontáneas, hisopados, aspirados), líquidos de punción pleural, punciones ganglionares, orina (en caso de sospecha de tuberculosis renal), leche y semen. Materiales de necropsia con lesiones compatibles en el diagnóstico confirmatorio *post-mortem*.

Coloración

Extendidos de las muestras problema fijados por calor se colorearán por la técnica de Zielh-Neelsen para gérmenes ácido-alcohol resistentes: cubrir el extendido con fucsina fenicada (fucsina básica 10 g, fenol 50 g, alcohol de 96° 100 ml, agua destilada csp 1000 ml). Calentar con hisopo hasta emisión de vapores blancos. Repetir esta operación cuando se enfríe (3 ó 4 veces). Lavar con agua. Decolorar con alcohol-nítrico o alcohol-clorhídrico (ácido nítrico concentrado 50 ml, alcohol de 96° 950 ml; o bien ácido clorhídrico concentrado 30 ml, alcohol de 96° 970 ml) hasta que no se elimine color. Lavar con agua. Colorear con el colorante de contraste 30-60 segundos (azul de metileno al 0,3 % en agua). Las micobacterias se observan

al microscopio de color rojo brillante, sobre fondo azul. Las bacterias comunes también se tiñen de azul.

Cultivo

Las muestras problema se trituran asépticamente suspendiéndolas en solución fisiológica estéril. Si la muestra requiere decontaminación y fluidificación, como los esputos y secreciones bronquiales, se mezclan partes iguales de la muestra y de hidróxido de sodio (Na OH) al 4 %, en un tubo de centrifuga. Se lo tapa con tapón de goma. Se agita fuertemente y se incuba a 37 °C durante 20 minutos, realizando agitaciones periódicas cada 5 minutos. Luego se centrifuga a 3.000 rpm durante 20 minutos. Se descarta el sobrenadante en un recipiente con desinfectante y el sedimento se neutraliza a pH 7 con ácido clorhídrico 1 N, usando como indicador rojo de fenol, quedando así listo para sembrar. Esto se conoce como método de Petroff.

La siembra se efectúa en dos tubos de medio de Löwenstein-Jensen modificado (medio sólido que está compuesto por sales de potasio y magnesio, asparagina, glicerina, huevo y verde de malaquita) y en dos tubos de medio de Stonebrink (medio sólido que tiene sales de sodio y potasio, piruvato de sodio en lugar de glicerina, huevo y verde de malaquita).

En el medio de Löwenstein-Jensen crece el *Mycobacterium tuberculosis*, pues su desarrollo es favorecido por la glicerina que dificulta el desarrollo del *M. bovis*, el cual puede no crecer o hacerlo en forma disgónica (con desarrollo anormal y escaso). En cambio el medio de Stonebrink permite especialmente el desarrollo del *M. bovis* ya que tiene piruvato de sodio que le es favorable y no contiene glicerina.

Los tubos se tapan con tapón de goma y se incubarán a 37 ° C. En caso de positividad se apreciará desarrollo pasadas las 2 ó 3 semanas, con la aparición de colonias color crema, de aspecto rugoso, formadas por gérmenes ácido-alcohol resistentes. Si no hay desarrollo se esperarán 60 días antes de dar un resultado negativo.

Para acelerar la disponibilidad del resultado, en cuanto se aprecia un principio de desarrollo, se puede practicar una prueba de PCR a las colonias desarrolladas.

Inoculación

La muestra puede ser inoculada a cobayos por vía intramuscular (1 ml). A los 21 días puede practicarse al animal inoculado una prueba de tuberculina comparativa.

Los cobayos pueden desarrollar una tuberculosis progresiva y morir o en caso contrario a los 60 días se los sacrifica y se investigan lesiones en el punto de inoculación, ganglios, pulmones, etc. El cobayo desarrolla enfermedad progresiva con el *Mycobacterium tuberculosis* y *bovis* y lesiones localizadas con el *avium*. Cuando se busca mayor susceptibilidad para el bacilo bovino se emplea el conejo y para el aviar el pollo.

Prueba del gammainterferon

En la sangre de un animal sensibilizado a la tuberculina por la enfermedad se encuentran células sensibilizadas capaces de liberar citokinas ante la presencia del antígeno. Se toma sangre total con anticoagulante en forma aséptica. Se le agrega tuberculina. Los macrófagos presentes en la sangre la digieren, procesan, combinan con las moléculas de clase II del Complejo mayor de histocompatibilidad y la exponen en su superficie. Los linfocitos CD4 la contactan y al identificarla, reaccionan liberando interleukinas, citoquinas y gammainterferon, que aparecerá en el plasma de la muestra y se puede detectar con una prueba de Elisa.

La presencia del interferon gamma es un resultado positivo que indica que en esa muestra hay células sensibilizadas a los antígenos del agente de la tuberculosis.

Se debe recordar que para tomar las muestras de sangre para Gammainterferón, los animales no deben haber sido tuberculinizados recientemente.

Tratamiento

La tuberculosis de los animales se trata en general en especies mascotas de tamaño pequeño debido a que los tratamientos son largos y costosos. Siempre se advertirá al propietario acerca del riesgo de transmisión zoonótica de la enfermedad. En los animales de producción los animales tuberculosos se eliminan luego de la detección de la enfermedad. Los tratamientos se realizan empleando: Rifampicina, Isoniacida y Pirazinamida, pudiendo emplearse en segunda línea el Etambutol, la estreptomycin, la ciprofloxacina, etc. Se efectuará control radiológico periódico. La duración de los tratamientos es de 6 meses, si bien existen algunos esquemas de menor duración.

Profilaxis

Dentro de las medidas de profilaxis en los animales, las estrategias que se emplean son:

1. La estrategia de detección y eliminación de los reactores a la tuberculina, que es la más efectiva.
2. La estrategia de detección y segregación, en que los reactores se mantienen aislados del resto hasta terminar el ciclo productivo y luego se eliminan.

Aspectos zoonóticos. Transmisión al hombre.

La tuberculosis de los animales se transmite al hombre en forma directa mediata por microgotas, habitualmente por actividades laborales. La transmisión por vía alimentaria se da

por ingestión de productos cárnicos no cocidos con lesiones y por el consumo de leche de vacas infectadas no pasteurizada o hervida. Las medidas higiénicas laborales y alimentarias han disminuido la transmisión zoonótica de la tuberculosis al hombre. La inspección veterinaria en los frigoríficos y el decomiso obligatorio de las reses con tuberculosis y la pasteurización obligatoria de la leche para consumo han permitido importantes progresos, a los que se suman los planes de control y erradicación en animales y las medidas de control en el hombre de esta enfermedad que se convirtió en la más importante emergente humana de las últimas décadas del siglo XX.

Bibliografía

Alvarez Peralta, Eduardo. Tuberculosis bovina: ¿Que pasó después de Saltillo? INPPAZ, Año 2 N° 3. Abril de 1995 (6).

Amasino, C.F.; Zapata, J.R.; Stornelli, M.A.; Garbi, C.J.; Villat, M.C.; Losso, C.R.; Coll Cardenas, M.F. Las pruebas de tuberculina en el marco del Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina. Clínica & Producción Veterinaria. Número Mayo-Junio de 1996.

Amasino, C.F. Tuberculosis. Una enfermedad milenaria de candente actualidad. Datavet. Año I, N° 8, Nov-Diciembre de 2003.

Preparación y estandarización del derivado proteico purificado (PPD) de la tuberculina. Nota técnica N° 17. Centro Panamericano de Zoonosis. 1972.

Senasa. Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina. Buenos Aires. 1994.

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Plan nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis y Tuberculosis bovina - Etapa 1998 –2001. Resolución n° 115/99.

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Plan nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis bovina. Resolución N° 128/2012.