

# ACADEMIA NACIONAL DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

## ANALES TOMO LII - 1998

### DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA. COMPARACION DE TECNICAS IN VIVO E IN VITRO \*

#### RESUMEN

#### INTRODUCCION

La técnica por excelencia y que se aplica oficialmente en el país, para el control y diagnóstico de la tuberculosis bovina es la intradermoreacción con tuberculina PPD.

Esta prueba utilizada como único método diagnóstico, tiene ciertos inconvenientes reconocidos por profesionales y productores. Las limitantes residen en su capacidad para detectar una cierta proporción de animales gravemente enfermos que se vuelven anérgicos a la intradermoreacción. Esto se debe a que a la respuesta inmune celular, es reemplazada por anticuerpos de tipo IgG en estadios avanzados de la enfermedad. Estos animales PPD negativos, sin embargo, son eliminadores de bacilos y constituyen una fuente de contagio permanente dentro de un rodeo, entre rodeos de una región y/o entre regiones.

Por otra parte presenta limitaciones en cuanto a su especificidad, ya que pueden aparecer falsos reactores positivos que en realidad no están infectados con *M. bovis* sino con otras micobacterias antigénicamente semejantes. Esta situación es muy onerosa para el productor que debe eliminar de

sus rodeos animales reaccionantes a la PPD y que en realidad no son tuberculosos.

Asimismo, otra dificultad que se le atribuye está relacionada con el manejo del rodeo. Exige dos movimientos de los animales en un período de 72 horas desde la inoculación de la tuberculina hasta efectuar la lectura correspondiente. Esto trae aparejado dificultades no sólo desde el punto de vista operativo sino también por el factor stress que sufren los animales especialmente los de tambo con las consecuentes mermas en la producción láctea.

Dado los inconvenientes y limitaciones señalados que atañen a esta prueba diagnóstica y teniendo en cuenta la importancia de la tuberculosis bovina, se elaboró el presente proyecto de investigación conjunta entre INTA y la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, cuyo objetivo sustantivo es el de comparar pruebas indirectas como la intradermoreacción (PPD), ELISA y gamma interferon y su relación con el cultivo y aislamiento del bacilo tuberculoso de órganos obtenidos en frigorífico de animales positivos a las pruebas indirectas mencionadas.

\* Proyecto de Investigación financiado por la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria con participación del CICV-INTA-Castelar. Académico Responsable Dr. Bernardo J. Carrillo. Investigadores ejecutores del proyecto Dra. María C. Antognoli - Dr. Jorge Pereira - Dr. Lucio Villa - Dr. Sergio Garbaccio - Sr. Fernando Rodríguez.

## Metodologías y Resultados

En el laboratorio se procesaron para los fines de esta investigación 10154 pruebas indirectas provenientes

de un muestreo de campo que abarcó un universo de 3.619 bovinos.

Para una mejor interpretación de los datos obtenidos, los mismos se agruparon en cuatro (4) etapas.

### Etapa 1 - Actividades realizadas a campo

#### CUADRO 1

RODEO	TIPO DE EXPLOTACION	TOTAL ANIMALES ANALIZADOS	PREVALENCIA INICIAL %	PREVALENCIA ACTUAL
Suipacha 1	Tambo	202	3,5 %	0 %
Suipacha 2	Tambo	250	4 %	1 %
Suipacha 3	Cría	412	2 %	0,5 %
Suipacha 4	Tambo	221	1 %	0,5 %
Suipacha 5	Tambo	122	9,6 %	Disolución del sistema productivo
Suipacha 6	Tambo	501	6,2 %	0,2 %
Ituzaingó	Cría	307	9 %	0 %
Gral Belgrano	Tambo	562	14 %	0 % *
Gral. Pinto	Tambo	410	41 %	0 % *
Chascomús	Tambo	632	19,5 %	0 % *

\* Actualmente bajo control de SENASA para obtención de «establecimientos libres de TBC bovina»

### Etapa 2 - Actividades realizadas en laboratorio a partir del material proveniente de frigorífico

Del total de animales muestreados en frigorífico (240), 81 de ellos (34%) presentaron a la inspección veterinaria lesiones macroscópicas granulomatosas compatibles con TBC y con aislamiento en 56 de esos casos (69%). De los 159 bovinos restantes (66%) sin lesiones aparentes, hubo también aislamiento en 33 de ellos (21%). A partir de 175 bovinos PPD (+) analizados, se obtuvo aislamiento en 72 casos de los cuales 37 presentaron lesiones en sistemas respiratorios, tres (3) en digestivo y 10 en ambos aparatos.

De los 19 bovinos ELISA (+) enviados a faena, se obtuvo aislamiento en ocho (8) casos, de los cuales dos (2) además presentaron lesiones (uno en respiratorio y otro en digestivo) conciliables con esta noxa, mientras que en los seis (6) restantes no se advirtieron al control oficial evidencias de la misma.

De los seis (6) animales PPD y ELISA (+), se logró aislamiento en tres (3) de ellos, con cuadros granulomatosos compatibles con esta enfermedad (tanto en digestivo como respiratorio) en dos (2) de ellos.

### **Etapa 3- Laboratorio (gamma interferón en plasma, kits comerciales)**

De los 240 bovinos enviados a frigorífico, se analizaron por esta prueba un total de 114 plasmas. De ellos 17 que fueron negativos a PPD y ELISA, se registraron en tres (3) casos, resultados positivos a esta prueba. Estos plasmas se correlacionaron con tipificación, en dos (2) de ellos a *Mycobacterium bovis* (uno con lesiones

digestivas y el restante respiratoria) y un tercero *M. atípicas* (sin lesiones aparentes).

De los 175 animales PPD (+) fueron analizados por gamma interferon (Kitt IDDEX y CLS) 78 de ellos, habiéndose obtenido una correlación de positividad en un 20% de los plasmas analizados.

### **Etapa 4- Identificación de cepas**

A partir de los 35 animales negativos a las Pruebas PPD-ELISA, se obtuvieron nueve (9) aislamientos, es decir un 25,7 %, seis (6) a *M. bovis* y tres de *M. atípicas*. En cuatro de estos animales se observaron lesiones macroscópicas (dos (2) en sistema digestivo y dos (2) en respiratorio) con aislamiento a *M. bovis*.

De los 175 bovinos positivos a PPD, en 43 casos hubo aislamiento a *M. bovis* y en 18 a *M. atípica*. En cuanto a los 54 casos que fueron negativos a la intradermoreacción, se aislaron ocho (8) cepas de *M. bovis* y siete (7) de *M. atípicas*.

De los 203 casos negativos a ELISA se obtuvieron 46 cepas de *M. bovis* y 17 de *M. atípicas*. A partir de los 26 rumiantes positivos a este test, en cuatro (4) casos se tipificó *M. bovis* y en otros cuatro (4) *M. atípicas*.

Sobre el total de aislamiento a partir de órganos con lesiones (56 casos) en el 66 % de las tipificaciones se caracterizó *M. bovis* y en casos de aislamientos sin lesiones macroscópicas la relación sobre 33 cepas totales identificadas en 33% correspondió a *M. bovis* y un 45 % para *M. atípicas*.

### **Discusión y Conclusiones**

- La prevalencia registrada en la totalidad de los bovinos sometidos a este estudio, indicó que los animales de tambo están más expuestos a la infección por *Mycobacterium bovis* (9,5 %) que los de cría (5,2%), siendo uno de los factores de riesgo el manejo intensivo a que está sometido este tipo de rodeo para obtener una mayor eficiencia productiva.

- Sin ser la finalidad de este estudio el saneamiento de los establecimientos comprometidos en el proyecto, cabría señalar que en base a la experiencia adquirida en el manejo de esta enfermedad y mediante la aplicación de las técnicas diagnósticas in vivo e in vitro, utilizadas eficientemente con criterio técnico y sentido común, permitió el control de esta noxa en los mismos.

De esta manera los rodeos Suipacha 1 e Ituzaingó (con prevalencias iniciales de 3,5 % y 9 % respectivamente) presentan una prevalencia del 0 % encontrándose en condiciones de solicitar para el próximo control, la intervención del SENASA.

Asimismo, tres (3) rodeos, Chascomús, General Pinto y General Belgrano (con prevalencias iniciales de 19,5 %, 41 % y 14 %), se encuentran bajo el control oficial de SENASA para obtener el certificado de establecimiento libre de tuberculosis bovina.

- Hubo aislamiento y tipificación de *Mycobacterium bovis* a partir de material inspeccionado en frigoríficos, sin lesiones aparentes. Estos bovinos fueron remitidos en su mayoría (73 %), por ser reactores a la prueba tuberculínica (PPD)

-La prueba PPD sigue siendo la técnica de elección para el diagnóstico y saneamiento de la tuberculosis bovina.

- La complementariedad del ELISA con PPD permitió la detección de animales enfermos (PPD negativos) y cortar así con la fuente de infección, lo que facilitó el saneamiento de los rodeos en estudio. En lo referente a esta técnica, es recomendable continuar con los estudios de la misma, mediante metodología avanzada para la caracterización de nuevos antígenos.

Con el fin de lograr ensayos diagnósticos más efectivos en especificidad y sensibilidad se implementará una búsqueda de nuevas pruebas antigénicas a través de técnicas empleadas en Biología Molecular, el proyecto continúa.

## SUMMARY

### DIAGNOSIS OF BOVINE TUBERCULOSIS. IN VIVO and IN VITRO COMPARATIVE TECHNIQUE. \*

A total of 3619 dairy (2900) and beef (719) cattle were tested and compared with PPD-ID tuberculin, ELISA and Gamma Interferon test, with a total of 10.154 observations.

The results obtained and comparative studies indicated that PPD-ID is still the most reliable technique for TB diagnosis. ELISA

demonstrated good performance as a complementary test.

Using PPD and ELISA it was possible to lower the infection, to clean several farms to be able to obtain the «free status» by the regulatory authorities.

Further studies are under way using highly specific antigens by molecular biology techniques.

\* A research project financed by the National Academy of Agronomy and Veterinary Sciences. Authors: Dr. Bernardo J. Carrillo, Dr. María C. Antognoli, Dr. Jorge Pereira, Dr. Lucio Villa, Mr. Sergio Garbaccio, Mr. Fernando Rodríguez.