

Repetición de la prueba de intradermorreacción tuberculínica en bovinos naturalmente infectados y modificaciones del pliegue anocaudal

Schneider, M.¹; Magnano, G.¹; Bergamo, E.¹; Urbani, C.²; Herrera, P.²; Quiroga, A.²; Macías, A.¹; Meikle, V.³; Cataldi, A.³; Giraudo, J.¹

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la repetición de la prueba de intradermorreacción (IDR) en bovinos y comprobar la evolución en el tamaño y consistencia que se producen en el pliegue anocaudal en los días sucesivos a la aplicación del derivado proteico purificado (PPD). Se utilizaron 14 vaquillonas infectadas naturalmente con *Mycobacterium bovis* a las cuales se les repitió en tres oportunidades la IDR en el pliegue anocaudal analizando como se modificaban diariamente las características físicas del pliegue. El 92.2% de los animales fueron positivos en las tres repeticiones y se observó disminución en el tamaño de la reacción en las sucesivas repeticiones. Esto respalda la legislación nacional que indica no repetir la prueba en un animal positivo.

Palabras clave: (bovino), (tuberculosis), (intradermorreacción), (reacción tuberculínica).

¹Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. mschneider@ayv.unrc.edu.ar. ²Alumno Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. 3. Instituto de Biotecnología, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Bs As, Argentina.

Recibido: marzo 2007 - Aceptado:septiembre 2007 - Versión on line: diciembre 2007

Tuberculin skin test repetition naturally infected cattle and the modification of its caudal fold

SUMMARY

The objective of the present work is to evaluate the repetition of the tuberculin skin test (TST) in cattle infected by *Mycobacterium bovis* and to determine the evolution of the size and consistency occurring in the caudal fold after the application of PPD. Fourteen naturally infected heifers were used to which the TST was repeated three times in folds in the caudal fold evaluating if the positive reaction remain as well as the physical characteristics of the caudal fold. 92,2% of the animals were positive in three repetitions and decrease in reaction size was observed, along with the successive repetitions. This endorses the national legislation that indicates not to repeat the test in positive animals.

Keywords: (bovine), (tuberculosis), (skin test), (tuberculin test).

INTRODUCCIÓN

El plan nacional de control y erradicación de tuberculosis bovina en Argentina⁷ utiliza la técnica de intradermorreacción (IDR) para el diagnóstico en animales vivos y de ellas la Prueba Anocaudal (PAC) es la recomendada en la etapa de saneamiento de los rodeos en nuestro país. La lectura de los resultados se realiza a las 72 hs. y los animales reaccionantes positivos deben ser enviados a faena y no se les repite la prueba. La técnica tuberculínica se encuentra clasificada dentro de las reacciones inmunológicas mediadas por células de hipersensibilidad retardada, las que se evidencian macroscópicamente por eritema (enrojecimiento) e induración (engrosamiento y firmeza) en el sitio de inoculación^{1,9}.

Algunas de las inquietudes que plantean frecuentemente los médicos veterinarios sanitaristas que trabajan con esta técnica diagnóstica, son basadas en experiencias personales en las que repitieron la prueba a animales positivos y obtuvieron resultados contradictorios (especialmente animales positivos que se negativizaron en una prueba posterior), los cuales sirvieron para confundir y desprestigiar a la misma^{1,2}.

Dos estudios dirigidos a evaluar cambios en la respuesta inmune han observado modificaciones del tamaño de la reacción en las sucesivas repeticiones de la IDR. Ambos estudios fueron realizados con animales infectados experimentalmente con *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*)^{6,8}.

Otra cuestión que inquieta a los veterinarios sanitaristas es la relativa a la influencia del paso del tiempo en las características de la reacción, cuando circunstancias climáticas, o de otro tipo, impiden la lectura en el tiempo estipulado. Otra de las inquietudes frecuentes de estos profesionales es cómo varía la reacción en el período de tiempo planteado como válido para realizar la lectura⁴.

Con el presente trabajo se busca dar respuesta a estos interrogantes para que los profesionales que trabajan en el tema, tengan en la prueba tuberculínica una herramienta de utilidad y seguridad diagnóstica, ya que la misma es la prueba oficial en el país^{3,7}. El objetivo fue observar los resultados de la repetición de la prueba de intradermorreacción anocaudal en bovinos infectados naturalmente con *M. bovis* y registrar los cambios diarios de tamaño y consistencia que se producen en el pliegue

anocaudal. Estos resultados se relacionarán con la legislación vigente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 14 vaquillonas pertenecientes a un establecimiento lechero naturalmente infectado con *M. bovis* que mostraba una prevalencia de infección elevada (31,6%). El campo se encuentra ubicado al sur-este de la provincia de Córdoba. La presencia de tuberculosis en el rodeo fue determinada por IDR y confirmada por necropsias de animales que presentaron lesiones macro y microscópicas de características granulomatosas, cultivos positivos de micobacterias y resultados positivos a *M. bovis* por la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR)⁵.

Para el diagnóstico en los animales se utilizó la PAC aplicando 0,1 ml de derivado proteico purificado de *M. bovis* (PPD bovino), considerándose los resultados según lo establece el Plan Nacional de Control de Tuberculosis bovina⁷. Como los animales pertenecían a un establecimiento con antecedentes de tuberculosis, el resultado se consideró positivo cuando la diferencia entre la medición previa a la inoculación y a las 72 hs postinoculación, era de 3 o más milímetros. Además se registró si la reacción era de tipo induración (I), con engrosamiento y consistencia firme, o edema (E) con engrosamiento fluctuante.

Inicialmente se aplicó la prueba a todos los animales mayores de 6 meses del rodeo (27/08/2003) y se seleccionaron las 14 vaquillonas positivas a las que se les repitió la técnica en dos oportunidades con intervalo de dos meses entre ellos (21/12/2003 y 24/02/2004). Las lecturas de las reacciones, en cada repetición, se iniciaron a las 72 hs. posinoculación y se continuaron evaluando cada 24 hs. hasta cumplir los 12 días posinoculación.

En una tuberculinización posterior a este ensayo, en el mismo lote de animales, se realizó palpación-presión de las reacciones (utilizando los dedos índice y pulgar), con el fin práctico de observar las variaciones de la induración del pliegue anocaudal en tamaño y consistencia.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan los resultados de las repeticiones de la PAC, con las características en la reacción. Se puede observar como 13 animales (92,9%) fueron positivas en las tres oportunidades. Un solo animal (n° 14) reaccionó positivamente en la primer prueba y se negativizó en la segunda y tercera. Con respecto al promedio en el tamaño del pliegue de los reaccionantes, se observó un descenso en las repeticiones consecutivas (13.6; 9.8 y 7.1 mm respectivamente). Lo mismo sucedió con el rango, en especial el margen superior (24; 16 y 11 mm respectivamente).

Al analizar las características de consistencia al tacto de las reacciones en cada animal, encontramos que en la primer prueba todas presentaron induración, mientras que en la segunda y en la tercera hubo 3 y 6 reacciones edematosas respectivamente.

En la Tabla 2 se presentan los datos de variación en la diferencia del tamaño del pliegue y en las características de la reacción desde el 3er día y en los días posteriores de lectura. Obsérvese como la mayoría de las reacciones que comenzaron como induración, aunque disminuyeron el tamaño con el tiempo, se mantuvieron en esa categoría. Las reacciones inicialmente edematosas nunca cambiaron esa consistencia.

Con respecto al tamaño, todas las mediciones en las tres pruebas tuvieron diferencias mayores a 3 mm en la lectura de 72 hs pero fueron disminuyendo con cada repetición.

Tabla 1. Resultados de las repeticiones de la PAC por fecha, indicando promedios y rangos de las reacciones

Número de animal	27/08/03	21/12/03	24/02/04
1	17 I	15 I	4 E
2	18 I	9 I	10 I
3	24 I	9 E	5 E
4	5 I	10 I	7 I
5	8 I	9 I	10 I
6	17 I	7 I	7 E
7	11 I	9 I	6 E
8	7 I	10 I	10 I
9	11 I	10 I	4 E
10	14 I	9 I	6 I
11	17 I	16 I	7 I
12	15 I	8 E	11 I
13	17 I	6 E	6 E
14	9 I	0	0
Promedio (mm)	13,6	9,8	7,1
Rango (mm)	5 - 24	6 - 16	4 - 11

- los números indican la diferencia en milímetros del pliegue entre las lecturas preinoculación y a las 72 hs.
 - I: induración; E: edema.

En la Tabla 3 se presenta el número de animales que se negativizaron en los días posteriores a la lectura durante la segunda y tercera prueba realizadas en diciembre del 2003 y febrero del 2004 respectivamente. Obsérvese que al 4to día posterior a la inoculación ningún animal se negativizó. Al 5to día se presentaron 2 animales negativos. Esta negativización se fue produciendo gradualmente en el tiempo que duró el ensayo y al 12do día quedaban todavía 4 y 2 animales positivos en diciembre y febrero respectivamente.

Otras de las modificaciones observadas es que al comprimir la reacción con los dedos se va acelerando su reversión (datos no mostrados).

DISCUSIÓN

El 92.9% de los animales fueron positivos en las tres oportunidades, hallazgos que indican claramente la alta repetibilidad de los resultados de la prueba en los bovinos positivos. Estos datos no coinciden con lo planteado por algunos médicos veterinarios sanitaristas que indican una escasa repetibilidad de los resultados (datos recopilados de profesionales asistentes a cursos de actualización y no publicados).

El animal número 14 es el único que fue positivo en la primer prueba y luego

Tabla 2. Variación diaria en la diferencia del tamaño del pliegue y en las características de la reacción desde el 3^{er} día posinoculación y en los posteriores.

	Animal	Prein	3 días	4 días	5 días	#####	12 días
Dic	1	3	15 I	14 I	9 I	#####	2
Feb		4	4 E	3 E	3 E	#####	0
Dic	2	3	9 I	8 I	6 I	#####	1
Feb		2	10 I	6 I	6 I	#####	1
Dic	3	2	9 E	6 E	3 E	#####	1
Feb		4	5 E	3 E	2 E	#####	0
Dic	4	3	10 I	5 I	6 I	#####	1
Feb		3	7 I	10 I	8 I	#####	2
Dic	5	3	9 I	7 I	7 I	#####	2
Feb		4	10 I	9 I	9 I	#####	7 E
Dic	6	3	7 I	7 I	3 E	#####	0
Feb		3	7 E	4 E	1 E	#####	0
Dic	7	3	9 I	5 I	2 E	#####	1
Feb		3	6 E	5 E	4 E	#####	0
Dic	8	4	10 I	8 I	10 I	#####	4 I
Feb		4	10 I	8 I	8 I	#####	1
Dic	9	3	10 I	13 I	8 I	#####	5 I
Feb		3	4 E	7 E	5 E	#####	0
Dic	10	4	9 I	5 I	2 I	#####	0
Feb		4	6 I	6 I	4 E	#####	0
Dic	11	4	16 I	13 I	9 I	#####	5 I
Feb		3	7 I	7 I	7 E	#####	3 E
Dic	12	3	8 E	9 E	5 E	#####	3 E
Feb		3	11 I	5 I	3 I	#####	1
Dic	13	3	6 E	3 E	3 E	#####	0
Feb		3	6 E	4 E	4 E	#####	0
Dic	14	3	0	0	0	#####	0
Feb		3	0	1	1	#####	0

-Prein: son los milímetros del pliegue en la medición previa a la inoculación.

-Los números indican la diferencia en milímetros y se adjunta si presentaban induración (I) o edema (E). Los registros de los días 6, 7, 8, 9, 10 y 11 (#####) no se indicaron para favorecer la comprensión de la tabla

Tabla 3. Número de animales que se negativizaron en los días posteriores a las lecturas iniciales (72 hs.) durante las pruebas realizadas en diciembre del 2003 y febrero del 2004.

	4 ^{to} día	5 ^{to} día	6 ^{to} día	7 ^{to} día	8 ^{to} día	9 ^{to} día	10 ^{to} día	11 ^{to} día	12 ^{to} día
Dic	0	2	2	1	1	0	1	0	2
Feb	0	2	3	1	1	1	1	0	2

Datos Acumulados

Dic	0	2	4	5	6	6	7	7	9
Feb	0	2	5	6	7	8	9	9	11

-en la fila superior se indican los días posinoculación.

se negativizó en la segunda y tercera. Vale remarcar que a la necropsia este animal tuvo lesiones compatibles y aislamiento de *M. bovis*, sin presentar ninguno de los síntomas más frecuentes de la tuberculosis en los bovinos como son pérdida de la condición corporal y problemas respiratorios⁵. Los resultados obtenidos indicarían la presencia de un animal categorizado como anérgico; hay que remarcar que las lesiones observadas eran localizadas y no generalizadas, característica esta última más asociada al cuadro de anergia.

Con la sucesión de las pruebas disminuyó el tamaño de las reacciones. Esta desensibilización fue observada por Thom et al. (2004) y por Radunz y Lepper (1985), quienes evaluaron los cambios en la respuesta a la IDR utilizando la prueba cervical comparativa en la tabla del cuello. A diferencia de nuestro estudio, ellos trabajaron con animales inoculados experimentalmente con *M. bovis*. Estos cambios en el tamaño y en la característica de la reacción se deberían especialmente a modificaciones en la respuesta inmune celular.

Al evaluar la variación de los resultados a lo largo del tiempo, encontramos que el total de los animales reaccionantes a las 72 hs. continuaron siendo positivos a las 24 hs. posteriores. Estos resultados reafirman la

posibilidad de realizar la lectura un día después (al 4to. día posinoculación) ante situaciones que así lo justifiquen, como lo autoriza el Plan Nacional. No obstante hay que remarcar que en la mayoría (77%) se observó una disminución en el tamaño de la reacción, por lo tanto las 72 hs es el momento indicado de lectura tal como se indica en el Plan Nacional⁷. En la lectura realizada a los 5 días posteriores a la inoculación se encontraron 2 animales, en cada una de las repeticiones, que pasaron a la categoría de negativos por presentar diferencia menor a 3 mm (Tabla 3); esto determina que realizando la lectura a ese tiempo es posible encontrar falsos negativos. Dicho resultado también avala lo que plantea el Plan Nacional como momento límite de lectura⁷.

La reversión de las reacciones cuando se comprimen con los dedos debe tenerse en cuenta ya que es una alternativa para negativizar animales reaccionantes intencionalmente.

Si bien los datos de las necropsias y la identificación de micobacterias no son analizados en este trabajo ya que han sido publicados por Meikle y col. (2007), todos los animales presentaron lesiones macroscópicas y microscópicas compatibles con tuberculosis, y también un alto porcentaje de aislamientos y resultados positivos a PCR.

Las técnicas inmunoalérgicas de intradermorección son las pruebas oficiales en Argentina y con las que históricamente, y hasta la actualidad, se desarrollan los programas de saneamiento a nivel mundial. En Argentina estas técnicas son desacreditadas por algunos profesionales. Se pretende a través de estos resultados fortalecer los fundamentos científicos y técnicos de su utilización.

CONCLUSIONES

Se sugiere cumplir con la reglamentación nacional la cual indica que ante un resultado positivo no se debe realizar nuevamente la PAC de IDR, para no sumar variables a una técnica compleja en su ejecución. Se debe respetar además el tiempo de lectura recomendado (72 hs.) el cual puede extenderse hasta las 24 hs. posteriores. Después de ese período es posible encontrar animales que se negativizan.

BIBLIOGRAFÍA

1. Benjamini, E.; Sunshine, G.; Leskowitz, S. (ed.) *Immunology. A short course*. 3 Edition. Editorial Gili-Liss, Nueva York, USA, 1996.
2. Bérnago, E.; Schneider, M.; Magnano, G.; Navarro, F. Evaluación y análisis de los cursos de actualización para veterinarios sanitaristas. Acreditación de Veterinarios. Cursos de capacitación. *Plan Nacional de control y erradicación de tuberculosis bovina*. Torres, P. y col. Editorial de la U.N.R.C. ISBN 950-665-054-3, p: 84, 1997.
3. Jorge, C.; Alito, A.; Bernardelli, A.; Canal, A.; Cataldi, A.; Cicuta, M.; Gentile, F.; Kistermann, J.; Magnano, G.; Martínez Vivot, M.; Oriani, S.; Paolicchi, F.; Pérez, A.; Romano, I.; Schneider, M.; Torres, P.; Zumarraga, J. *Manual de Diagnóstico de Micobacterias de importancia en Medicina Veterinaria*. AAVLD. ISBN: 987-21667-1-4, 2005.
4. Magnano, G.; Schneider, M.; Urbani, C.; Herrera, P.; Macías, A.; Meikle, V.; Cataldi, A.; Giraudo, J. Tuberculosis bovina: repetición de la prueba de intradermoreacción anocaudal y modificaciones diarias en tamaño y consistencia de la reacción. *12ª Simposio Internacional de la Asociación de Laboratorio de Diagnóstico Veterinario, Montevideo, Uruguay*, 2005.
5. Meikle, V.; Schneider, M.; Azenzo, G.; Zumarraga, M.; Magnano, G.; Cataldi, A. 2007. Individual animals of cattle herd infected with the same Mycobacterium bovis genotype shows important variations in bacteriological, histopathological and immune response parameters. *Journal compilation, Zoonoses and Public Health*, 54: 86-93.
6. Radunz, B.; Lepper, A. 1985. Suppression of skin reactivity to bovine tuberculin in repeat tests. *Aust. Vet. J.*, 62(6):191-194.
7. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. República Argentina (SENASA). Plan Nacional de Control y Erradicación de Brucelosis y Tuberculosis Bovina en la República Argentina. *Resol. N° 115/99*, Buenos Aires, Argentina.
8. Thom, M.; Morgan, J.; Hope, B.; Villareal Ramos, M.; Howard, C. 2004. The effect of repeated tuberculin skin testing of cattle on immune responses and disease following experimental infection with Mycobacterium bovis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 102:399-412.
9. Tizard, I. (ed.) Type IV hypersensitivity: delayed hypersensitivity. *Veterinary Immunology: An introduction*. 6 Edition. W.B. Saunders Co., USA, 2000.

