

# ROL DEL LABORATORIO EN EL DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS

Dr. Luis Del Baglivi \*

C. I. Vet. Rubino, M. A. P.

## 1. IMPORTANCIA

En una campaña de control o erradicación, es fundamental realizar un correcto diagnóstico de la tuberculosis bovina.

Si bien la importancia del laboratorio es siempre de primer orden, ésta varía de acuerdo a la etapa en que se encuentra la lucha contra la enfermedad, aumentando a medida que la prevalencia disminuye. Se cree que sólo con la continuación de un programa de tuberculizaciones será fácil de erradicar la tuberculosis bovina, pero se debe tener presente que para cumplir tal objetivo, se deben realizar estudios epidemiológicos que necesitan de un importante apoyo de laboratorio.

## 2. FUNCIONES

### 2:1 APOYO AL EPIDEMIOLOGO

En este caso el laboratorio actúa como punto de apoyo de nuevos trabajos necesarios para la investigación de determinados problemas, pues cuando se realizan estudios epidemiológicos las sospechas más profundas son un pobre sustituto de un trabajo de laboratorio ordenado y eficiente. El hecho fundamental es que el veterinario clínico, el patólogo y el epidemiólogo, no pueden esclarecer las complejidades de las enfermedades a micobacterias a menos que el microbiólogo aisle e identifique el microorganismo actuante en cada caso. Es necesario que los métodos de diagnóstico cumplan con requisitos (nutricionales, de temperatura y condiciones atmosféricas) que permitan el crecimiento del más amplio número de microorganismos posibles, debido a que no sólo el *Micobacterium bovis* produce tuberculosis en los animales bovinos, sino también a que varias micobacterias con amplia adaptabilidad a diferentes huéspedes y gran variación en pa-

togenicidad y virulencia pueden afectar a los animales bovinos.

Generalmente los procedimientos de laboratorio usados para aislar estos microorganismos están afectados por ideas preconcebidas de los laboratoristas que usan dichos métodos. Por ej. si se supone que las infecciones humanas a *M. bovis* son casi inexistentes en determinado lugar, esta sola idea puede hacer que no nos preocupemos en encontrar *M. bovis* en el hombre, que tal infección exista y no se encuentre, pues como se tiene la idea de que no existe, en el laboratorio no se usan los métodos adecuados para aislar tal microorganismo.

Entre los laboratorios que trabajan en microbiología humana y animal debe haber una estrecha relación de manera de obtener una mejor información que permita a los epidemiólogos plantear los estudios necesarios sobre este complejo de enfermedad.

### 2:2 ESTUDIO DE REACTORES SIN LESIONES VISIBLES (non visible lesions NVL)

A medida que se progresa en la erradicación de la tuberculosis bovina, el problema de los reactores sin lesiones visibles (NVL) adquiere mayor importancia, aumentando el porcentaje de animales con NVL, a medida que baja la prevalencia de la enfermedad.

Si la mayoría de los animales NVL fueron debido a casos tempranos de tuberculosis bovina, sería correcto suponer que dicho número disminuiría en proporción a la disminución del número de casos de tuberculosis, pero como esto no ha ocurrido se impone la realización de un estudio de laboratorio minucioso a fin de determinar su causa.

Los exámenes llevados a cabo en los frigoríficos de los NVL no son muy detalla-

\* Médico Veterinario,- Director "C. Inv. Vet. Miguel C. Rubino" MAF. Pando, Uruguay.

dos, y pueden fallar en demostrar pequeñas evidencias de la enfermedad, debido a que el gran tamaño de los órganos bovinos hace difícil la realización del examen post-mortem, y el solo examen macroscópico no es siempre suficiente para establecer un diagnóstico. En el estudio de los NVL es esencial realizar un examen post-mortem detallado de cada animal individual más los exámenes de laboratorio correspondientes, debiéndose recoger ganglios linfáticos de diferentes partes del cuerpo, con los que es posible realizar un minucioso estudio macroscópico, histológico y bacteriológico.

Experiencia recogida en Inglaterra en el estudio de los NVL demostró que de cada 100 animales NVL, 15 de estos fueron positivos a *M. bovis* luego de un estudio minucioso de laboratorio presentando 1/3 de estos 15, pequeñas lesiones macroscópicas cuando se estudiaron cuidadosamente en el laboratorio, y los 2/3 restantes, fueron positivos solo luego de exámenes biológicos, culturales e histológicos.

### 2:3 ESTUDIO DE LESIONES AL EXAMEN POST-MORTEM

La técnica del rastreo (trace-back) para la localización de rodeos tuberculosos, ha adquirido importancia en muchos países, debido a que complementa y ahorra esfuerzos, en relación a la tradicional técnica de tuberculinización. Ranney en USA, cita un marcado contraste de 33 animales tuberculinizados para encontrar un reactor utilizando la técnica del trace-back, contra 919 pruebas para encontrar un reactor utilizando el criterio aplicado en nuestro país.

Ello demuestra la utilidad de este procedimiento pero debemos tener presente que existe la posibilidad de error si sólo nos basamos en la apariencia macroscópica de las lesiones para determinar si un animal está o no tuberculoso. Trabajos realizados en USA informan que aproximadamente el 50 % de las lesiones de apariencia tuberculosa encontradas en frigoríficos no tienen su origen en infección por *M. bovis*, por ello para prevenir tuberculinizaciones innecesarias antes de realizar el trace-back, es necesario verificar el diagnóstico macroscópico, con un diagnóstico de laboratorio concentrando los esfuerzos en aquellos rodeos o áreas donde se ha diagnosticado la enfermedad.

### 2:4 EVALUACION DE METODOS DE DIAGNOSTICO

El apoyo del laboratorio es importante para medir la eficacia de la prueba de tuberculina, bajo las condiciones cambiantes de las etapas de erradicación, permitiendo evaluar en forma constante los medios de diagnósticos usados.

### 2:5 CAPACITACION

El laboratorio tiene la responsabilidad de capacitar en la recolección, manejo y envío de materiales, siendo importante para esto que el epidemiólogo, veterinario clínico e inspector de carnes trabajen durante cortos períodos de tiempo con personal del laboratorio.

### 2:6 INVESTIGACION

Durante una campaña de erradicación pueden surgir muchos problemas que requieren investigación tales como: tipos de tuberculina a usar, dosis a emplear, utilización o no de pruebas comparativas, utilización de medios de cultivo de acuerdo a las micobacterias actuantes, etc., por lo que siempre será necesario contar con el apoyo del laboratorio.

## 3. METODOS DE TRABAJO EN EL LABORATORIO

Para que un laboratorio pueda obtener un resultado confiable, no sólo se necesita que ejecute las técnicas en forma correcta, sino que reciba una buena muestra proveniente del sitio de la lesión a investigar, obtenida en cantidad suficiente, colocada en un envase adecuado, bien identificada y transportada correctamente.

### 3:1 EXAMEN BACTERIOLOGICO

La inoculación al cobayo se ha usado tradicionalmente como el método de elección para el diagnóstico bacteriológico de la infección por *M. bovis*, pero en los últimos años se ha generalizado el empleo de métodos de cultivo a base de piruvato que permite un mejor desarrollo del bacilo bovino. Por otra parte la inoculación al cobayo en forma rutinaria presenta exigencias de orden económico, de instalaciones, de personal y de mantenimiento que resultan muy elevadas al compararlas con las que se requieren para la realización de cultivos. A continuación se citan los comentarios y conclusiones de un trabajo realizado en CEPANZO.

- a) Cuando se trabaja con materiales de origen animal, no sólo se aísla *M. bovis*, sino también *M. avium* y las llamadas micobacterias "atípicas". De no realizarse cultivos, tanto estas últimas como el bacilo aviar, no serían puestos de manifiesto por no ser patógenos para el cobayo.
- b) Los resultados relativos de la inoculación al cobayo, mejoran cuando se inoculan los especímenes sin previo tratamiento de decontaminación, ya que éste siempre elimina una proporción variable de bacilos tuberculosos, pero también se corre el riesgo de que se produzca la muerte de cobayos por causas diferentes a tuberculosis.

Se concluye que los laboratorios de diagnóstico bacteriológico pueden prescindir de la inoculación al cobayo y en su lugar realizar cultivos en medios que contienen piruvato.

### 3:2 EXAMEN HISTOLOGICO

La confirmación histopatológica de una lesión de apariencia tuberculosa, es un

factor importante en la determinación de rodeos tuberculosos y presta un diagnóstico rápido que ahorra esfuerzos, cuando se utiliza la técnica del trace-back.

Si bien macroscópicamente se puede determinar el origen de rodeos tuberculosos, el basar el diagnóstico solo en la apariencia macroscópica de las lesiones puede conducir a errores. El examen histológico de tales lesiones puede reducir aproximadamente en 50 % el número de animales que tendrán que ser rastreados si dicha operación se basase sólo en la apariencia macroscópica de las lesiones al examen post-mortem. Por el contrario debido a que muchos casos de lesiones tuberculosas no tienen la apariencia de tal, es importante un estudio histopatológico de la lesión.

La confirmación histopatológica de lesiones de tipo tuberculoso es útil aún cuando tales lesiones provienen de un animal reactor ya que se ha demostrado que en determinados estudios un 29 % de lesiones macroscópicas en animales reactores eran debido a otras causas. A continuación se exponen los resultados de un estudio

## EVALUACION HISTOPATOLOGICA DE 1.608 MUESTRAS BOVINAS SOSPECHOSAS DE TENER TUBERCULOSIS EN EL EXAMEN MACROSCOPICO

<u>Hallazgos Histopatológicos</u>	<u>Muestras de Ganado Reaccionante</u>	<u>Muestras de Ga- nado faenado en forma rutinaria</u>	<u>Total</u>
Tuberculosis confirmada *	489	312	801
Tuberculosis sospechada **	67	71	138
Actinobacilosis	33	75	108
Actinomicosis	7	13	20
Coccidiomicosis	2	24	26
Mucormicosis	1	12	13
Otros micosis	2	5	7
Abscesos	33	68	101
Neoplasmas	8	76	84
Parásitos	17	24	41
Varios	55	104	159
Lesiones no microscópicas	74	36	110
<b>TOTAL</b>	<b>788</b>	<b>820</b>	<b>1.608</b>

\* Lesiones tuberculosas en las que se demostraron organismos ácido-resistentes.

\*\* Lesiones tuberculosas en las cuales no se halló organismos ácido-resistentes u otros agentes etiológicos.

hecho por L. G. Morehouse y colaboradores.

### 3:3 EXAMEN SEROLOGICO

Varios tests serológicos tales como el de aglutinación, precipitación, fijación de complemento, hemoaglutinación, floculación con bentonita e inmunofluorescencia indirecta se citan en la literatura como útiles para el diagnóstico de la tuberculosis bovina pero en términos generales ninguno de ellos aprobó ser de mayor utilidad que la prueba de tuberculina.

Si contásemos con una técnica serológica eficiente se facilitaría la lucha contra la enfermedad en lugares donde se realiza cría extensiva del ganado, y las muestras de sangre remitidas para el diagnóstico de brucelosis, podrían procesarse para el diagnóstico de brucelosis y tuberculosis, ahorrando de esta manera esfuerzos de todo tipo.

Se debe tener presente que los anticuerpos humorales en tuberculosis son inconsistentes, que su presencia o ausencia no es indicación del estado de inmunidad y ellos son de un valor diagnóstico muy limitado.

### 4. ENVIO Y RECOLECCION DE MATERIAL DE LABORATORIO

Generalmente los materiales enviados para el diagnóstico de tuberculosis provienen del examen post-mortem de bovinos faenados debiéndose cumplir en dichos casos las siguientes operaciones:

4:1 TODAS LAS PARTES DEL ANIMAL (cabeza, carcasa, vísceras) deben identificarse con una misma marca, número, etc. de manera de no perder la identidad de ninguna de las partes.

4:2 TOMA DE GANGLIOS LINFATICOS de: (cabeza, tórax, abdomen, supramamario y examen general de carcasa. Estos materiales se remitirán en frascos correctamente individualizados de acuerdo a las regiones mencionadas.

4:3 LOS GANGLIOS se deberán cortar en finas rodajas con un instrumento bien afilado y examinar en búsqueda de pequeñas lesiones.

4:4 En caso de querer remitir material al laboratorio, porciones representativas de los ganglios a estudio, se enviarán en formol al 10 % (relación 1/10 entre órgano y fijador) y en frasco estéril refrigerado para estudio bacteriológico.

4:5 Durante la toma de materiales, debe asegurarse de que no habrá contaminación del ambiente y/u operador,

4:6 En una única hoja deberán anotarse las lesiones encontradas, computando las lesiones por animal, especificando su distribución y dando información detallada de todo lo que pueda ser de interés epidemiológico, con un criterio uniforme para todo el país.

4:7 Para la toma de materiales es necesario contar con lo siguiente: frascos con boca ancha y tapa rosca estéril; frascos con formol al 10 %; algodón estéril; bisturíes; pinzas; pescaderas; desinfectantes; refrigerantes; cajas aislantes. El material refrigerado debe llegar al laboratorio en un tiempo no mayor de 2 días.

### 5. LIMPIEZA Y DESINFECCION CONTRA EL BACILO TUBERCULOSO

#### 5:1 PARA FISOS, PAREDES Y OTRAS SUPERFICIES EN GALPONES DE ANIMALES

Se deben realizar las siguientes operaciones:

- Lavar con agua caliente conteniendo 0.5 % de detergente.
- Enjuagar completamente con agua limpia. La mayoría de los microorganismos son removidos con la tierra y materias orgánicas y después de una limpieza apropiada la población bacteriana residual es pequeña.
- Desinfectar. Para el bacilo tuberculoso los desinfectantes de tipo fenólico son los mejores; por ej: tricresol (ácido cresílico) al 3 % y fenol (conteniendo orto-fenil-fenol) al 5 %.

#### 5:2 PARA USO EN LABORATORIOS

Se recomienda:

- Acido peracético (peroxiacético) 0.5 - 1 %. Este es un fuerte agente oxidante con poco olor, útil para áreas pequeñas.
- Solución de formaldehido al 3 % (aproximadamente 8 % de formalina).

En áreas cerradas, por ejemplo, estufas de cultivo y cámaras frías se usará gas de

formaldehído, liberado de una solución acuosa de permanganato de potasio o cloruro de cal.

Para fumigación de rutina se necesitan 25 ml de formalina (40 % de solución de formaldehído) y 15 g. de permanganato de potasio por cada metro cúbico de capacidad, usándose cantidades dobles cuando se desea desinfectar luego de haber verificado la presencia de infección. La solución debe verterse sobre cristales de permanganato de potasio en un cubo de metal profundo ya que la reacción causa chisporroteo y libera bastante calor, dejando actuar al gas por lo menos durante 10 horas.

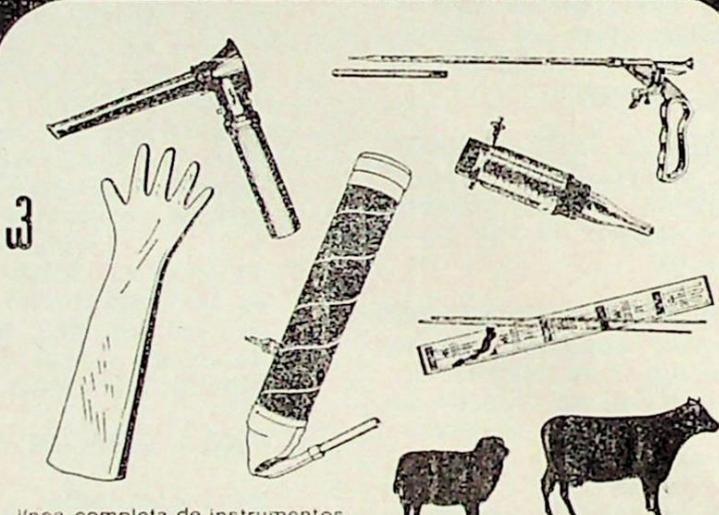
Este método de fumigación es también adecuado para desinfectar ropas, granos o forraje concentrado, en pequeños graneros o instalaciones de las granjas.

#### 5:3 PARA USO DE MANOS

Alcohol etílico al 80%, conteniendo 1% de benceno (benzol) y 5 % de glicerina (glicerol).

**NOTA:** La soda cáustica, el fosfato trisódico, los hipocloritos y amonios cuaternarios tienen poca acción germicida sobre el bacilo tuberculoso.

## INSEMINACION ARTIFICIAL



línea completa de instrumentos, aparatos y accesorios para inseminación y extracción de semen.

**FABRICACION Y EXPORTACION**



**WALMUR LTDA.**  
AV. GRAL. FLORES 2206 TEL. 2 60 13