

## POTENCIAL UTILIZACIÓN DE LA TERMOGRAFÍA INFRARROJA PARA LA LECTURA DE LA IDTB EN CABRAS

### POTENTIAL USE OF INFRARED TERMOGRAPHY FOR MEASUREMENT OF PPD TEST IN GOATS

**A. C. Pérez de Diego Camacho, C. Ortega Martín, L. Domínguez Rodríguez y J. M. Sánchez-Vizcaíno Rodríguez**

Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria VISAVET. Universidad Complutense de Madrid

#### **Resumen**

En este trabajo se pretende estudiar la potencial utilización de la TI (Termografía infrarroja) en la lectura de la IDTB (intradermotuberculinización) en cabras.

El análisis de las temperaturas mostró un aumento significativo a las 24h post-inoculación de la tuberculina en el conjunto de los individuos, no observándose influencia significativa de la capa de los animales sobre las temperaturas. La comparación de los resultados de ambas técnicas no evidenció asociación significativa.

#### **Summary**

The aim of this experiment is to study the potential use of IT (infrared termography) for measurement of PPD (Purified protein derivate) test in goats.

The study of the temperatures showed a significant increase at 24hours post-inoculation of the PPD in the set of all the individuals, not being observed significant influence of the colour of the animals on the temperatures. The comparison of the results from the PPD skin test, and IT did not demonstrate significant association.

**Palabras clave:** Termografía infrarroja; tuberculosis; intradermotuberculinización; cabras.

**Key Words:** Infrared termography, tuberculosis; Ppd skin test; goats

#### **Introducción**

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa de Declaración Obligatoria causada por *Mycobacterium Bovis* (OIE, 2004) y descrita en ganado caprino por *Mycobacterium Caprae* (Javed M.T et al ,2007) Su importancia radica en que produce grandes pérdidas económicas, y en que se trata de una zoonosis que cuenta con un amplio espectro de hospedadores; entre los que cabe destacar el ganado bovino y caprino; y en el caso de las especies silvestres los jabalíes y ciervos. (Philips C.J.C. et al. 2003)

La tuberculosis es una enfermedad que debe detectarse en los animales, para lo que existen diferentes técnicas de diagnóstico. Entre éstas pueden destacarse pruebas inmunológicas como la Intradermotuberculinización (IDTB), el gamma-interferón y el ELISA y técnicas convencionales como la observación directa de las lesiones en la necropsia o el cultivo del agente etiológico en el laboratorio siendo esta última el *Gold Standard* para esta enfermedad.

En saneamiento ganadero, regulado a través del RD 2611/96, se realiza la prueba de la IDTB que constituye la prueba oficial de diagnóstico.

La IDTB simple se realiza inoculando PPD (Derivado Proteico Purificado) de *M. bovis*, y en la IDTBC (intradermotuberculinización comparada) además se inocula PPD de *Mycobacterium avium*. Con la ayuda de un calibre, se mide el aumento del pliegue cutáneo de los animales causado por la reacción inflamatoria.

La TI (termografía infrarroja) se basa en que todos los cuerpos son capaces de emitir y reflejar radiación infrarroja y ésta es proporcional a la temperatura superficial de los cuerpos. Esta radiación es recogida por una cámara termográfica, y transformada en una imagen en la que la gama de colores se corresponde con un patrón de temperaturas. Por esta razón se aplica a diferentes procesos que cursan con cambios de temperatura como por ejemplo: calentamiento externo, traumatismos, infecciones, procesos neurológicos o inflamaciones. Por tanto, en este trabajo se pretende ensayar la potencial utilización de la termografía en la lectura de la IDTBC, ya que la reacción que se produce en el caso de la IDTB es una reacción de hipersensibilidad retardada tipo IV (Tizard, I. 1996), en la que se espera observar un aumento de la temperatura de los animales en el lugar donde se aplica la tuberculina. La inflamación local en esta hipersensibilidad comienza entre las 12 y las 24 horas tras la exposición.

## **Material y métodos**

### ***Instalaciones***

Este estudio tuvo lugar en las instalaciones de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid (UCM).

### ***Animales:***

Cincuenta y tres cabras de diferentes capas (28 negras, 14 castañas, 6 blancas y 5 rubias) procedentes de un rebaño con sospecha de una elevada prevalencia de Tuberculosis.

### ***Equipos de protección individual***

Todas las personas que participaron en el experimento con los animales utilizaron guantes, mascarilla, buzo, calzas y gorro desechables, como medida de bioseguridad, acorde a la normativa. (Real Decreto 773/1997)

### ***Prueba de la tuberculina***

Se depilaron ambas zonas escapulares y se inoculó PPD de *M. bovis* y *M. avium* del Laboratorio CZ Veterinaria S.A, en el lado derecho e izquierdo respectivamente. Para la medición del pliegue cutáneo a las 0 y 72 horas, utilizando como tiempo 0 el momento de la inoculación de la tuberculina, fue necesario un calibre.

### ***Toma de imágenes***

Se utilizó la cámara termográfica FLIR Therma Cam™ E45 y la cámara digital HP PhotoSmart E317. Las imágenes fueron tomadas a las 0, 24, 48 y 72 horas.

### ***Tratamiento informático de las imágenes***

Las imágenes obtenidas se trataron y analizaron mediante el software Therma Cam™ quick report 1.0, que nos permite conocer la temperatura en el área de inoculación.

Los valores obtenidos de cada imagen fueron ordenados a través de Microsoft Office Excel 2003.

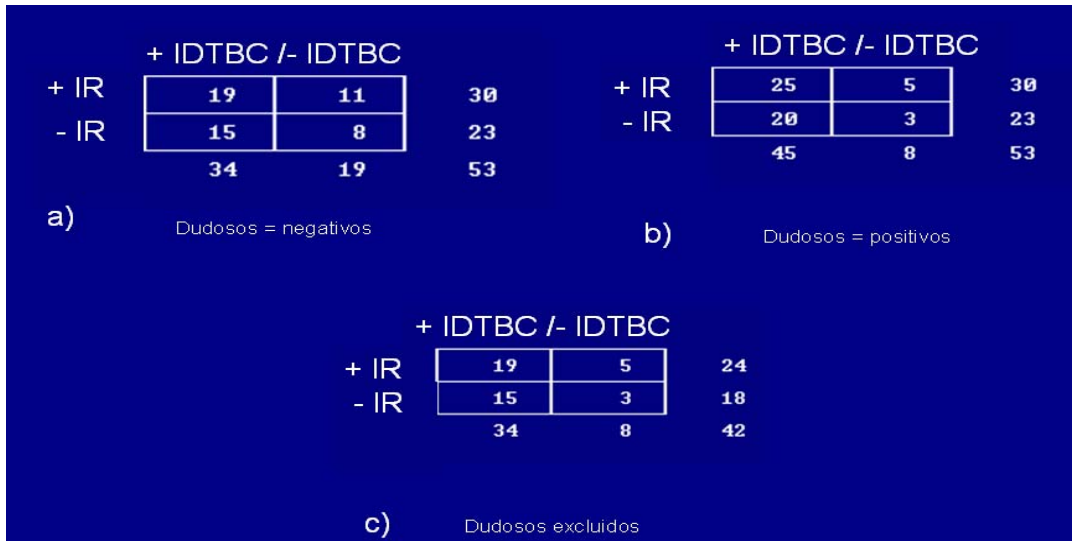
### ***Análisis estadístico de los datos***

Se realizó un modelo lineal general de medidas repetidas con el programa SPSS15.0, que fue ajustado en varias ocasiones para introducir variables tales como la capa de los animales.

Con el software Epi Info 3.3.2 se prepararon tablas de contingencia (*figura 1*) para comparar ambas técnicas (IDTBC y TI) en las que se enfrentaron los resultados a IDTBC y los de Termografía Infrarroja. A la hora de establecer el criterio para tomar una temperatura de TI como valor positivo o negativo, se calculó el incremento de temperatura de los animales a las 24h y tomando como referencia a los animales positivos a IDTBC se calculó la media; siendo este valor el elegido para establecer positivos y negativos a TI. A continuación, para evitar arrastrar el posible error de la IDTBC se calculó el mismo parámetro pero teniendo en cuenta el conjunto de los individuos sin atender a su resultado a la IDTBC. Además para evitar errores por los casos dudosos a IDTBC, se realizaron diferentes tablas en las que estos valores fueron asumidos como positivos, luego como negativos y finalmente se obviaron.

Finalmente se estudió la correlación entre ambas técnicas mediante una prueba no paramétrica (*test de Spearman*)

TABLAS DE CONTINGENCIA PARA ENFRENTAR RESULTADOS DE IDTBC Y DE TI

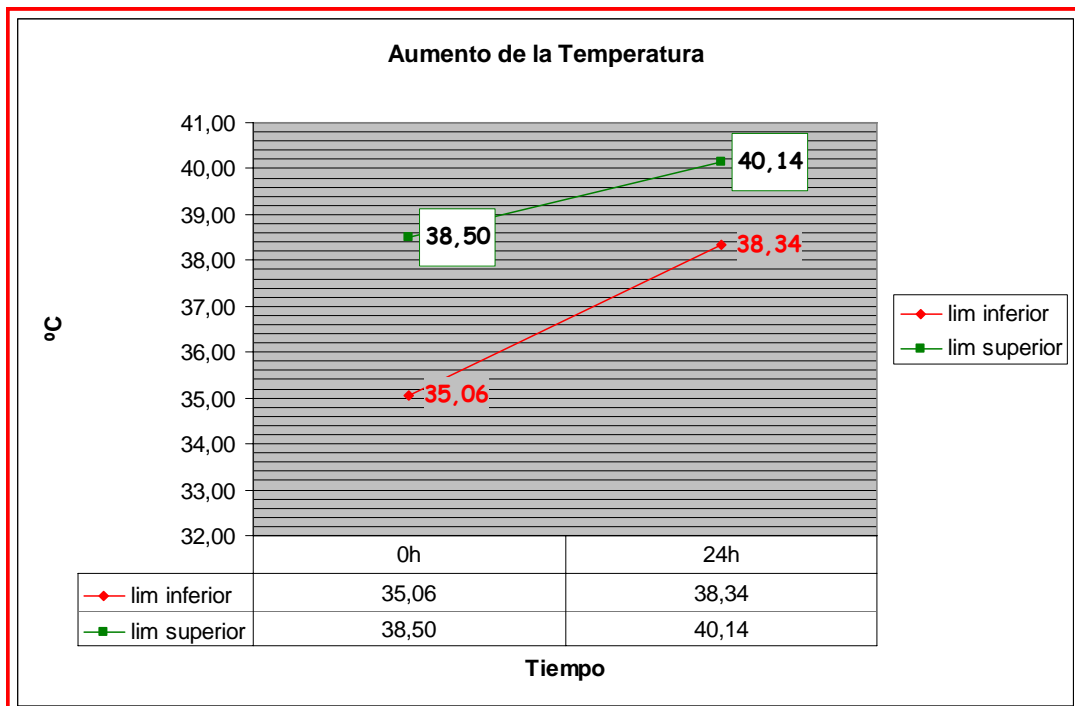


**Figura 1.** a) se enfrentan los datos de IDTBC y de TI, asumiendo aquellos animales con reacción dudosa a la IDTBC como negativos. b) en este caso se asumen los dudosos como positivos. c) Finalmente se excluyen los dudosos del estudio.

**Resultados**

El estudio de las temperaturas muestra un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) a las 24h en el conjunto de los individuos. (*Figura 2*)

EVOLUCIÓN DE LA TEMPERATURA EN EL CONJUNTO DE INDIVIDUOS A LAS 24H.



**Figura 2.** En el tiempo 0 la temperatura de las cabras en el punto de inoculación se encuentra entre 35.06°C y 38.5 °C, mientras que a las 24h el rango es: 38.34- 40.14°C, lo que supone un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de la Temperatura a las 24h.

El resultado de la IDTB comparando la reacción a PPD bovino y aviar, demuestra que 34 animales (64.15%) eran positivos y solo 8 negativos (15.09%) siendo 11 los casos dudosos (20.75%). Comparando estos resultados con los obtenidos mediante termografía infrarroja, no se observó una asociación significativa.

Cuando se estudia la correlación, el valor de Rs (Rho de Spearman) es 0.046, con  $p = 0.768$

Al incluir en el modelo la capa como variable, no se observó influencia significativa de la capa de los animales sobre las temperaturas.

### **Discusión**

La primera lectura termográfica se realizó a las 24 horas siendo la que mostraba un aumento de temperatura mayor. Al no haberse realizado lecturas anteriores, no se conoce si el mayor aumento se produce antes, entre las 0 y 24h, por tanto cabe pensar que el diseño del experimento no fue el más adecuado. En el futuro las mediciones deberían realizarse en este periodo de tiempo previo a las 24h para detectar el momento de mayor reacción térmica en la zona.

Tras este estudio no se puede aceptar ni desechar la TI como método de detección puesto que la técnica con la que se ha realizado la comparación no es el Gold Standard, de manera que el siguiente paso será realizar los análisis estadísticos con los resultados del cultivo microbiológico que es la técnica de referencia. Debemos añadir a esto, que el número de cabras negativas a IDTBC resultó insuficiente a la hora de realizar tests estadísticos, por tanto en futuros experimentos sería conveniente utilizar un control negativo compuesto por un mayor número de animales.

Tras conocerse que la capa no afecta a la temperatura se plantea una nueva cuestión, que hace referencia a porqué animales de diferente color en el pelaje no presentan diferentes temperaturas puesto que la emisividad de animales negros debería ser diferente a la de animales blancos. Esto puede deberse a que los animales fueron clasificados según su pelaje, pero la temperatura la tomamos directamente de la piel, esto sugiere que la diferencia de emisividad de la piel de cabras de diferente color de pelo, es mínima, pero deben realizarse mas estudios acerca de la emisividad de la piel de las cabras.

## **Conclusiones**

El momento de elección para realizar la lectura termográfica no es 24 horas post-inoculación.

No hay correlación significativa entre las dos técnicas estudiadas: IDTB y TI, pero esto no implica que la TI deba ser desechada como herramienta para la detección de animales infectados de Tuberculosis, sino que debe ser comparada con la técnica de referencia.

Cuando medimos directamente en piel, la temperatura no se ve afectada por la capa.

## **Bibliografía**

**Javed, M.T., Aranaz, A., de Juan, L., Bezos, J., Romero, B., Álvarez, J., Lozano, C., Mateos, A., Domínguez, L.** 2007. Improvement of spoligotyping with additional spacer sequences for characterization of Mycobacterium bovis and M. caprae isolates from Spain. Tuberculosis (Edinb)\_87(5), pp.437-45.

**OIE.** Bovine Tuberculosis in Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 5ª Edición.2004

**Philips, C.J.C., Fosterb, A.R.W., Morrisc, P.A., Teversond, R.** 2003. The transmission of Mycobacterium bovis infection to cattle. Research in Veterinary Science, 74: 1-15.

Real Decreto **2611/1996** de 20 de Diciembre, por el que se regulan los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales.

Real Decreto **773/1997**, de 30 de Mayo, sobre disposiciones mínimas de seguridad y salud relativas a la utilización por los trabajadores de equipos de protección individual.

**Tizard, Ian R.** Hipersensibilidad de tipo IV: hipersensibilidad retardada en Inmunología Veterinaria. Mc Graw-Hill Interamericana. México.5ª Edición.1996. 409-413