

Universidad Nacional de Río Negro.

Sede Alto Valle-Valle Medio, Choele Choel, Río Negro.

Medicina Veterinaria.



Trabajo Final de Grado para obtener el Título de Médico Veterinario.

**“Implementación de ELISA Indirecto como Herramienta Diagnóstica
complementaria de Tuberculosis en Bovinos”**

Autor: Joaquin Roumec.

Directora: Alicia Laura Reumann.

Diciembre de 2025.

Agradecimientos:

En primer lugar, quiero agradecer profundamente a mis padres y a mi hermana, que estuvieron a mi lado en cada momento, en cada parcial y final a lo largo de toda la carrera, y también en el día a día.

También agradezco a mis tíos y primos, tanto los de Villalonga como los de Beltrán, quienes fueron incondicionales en todo momento. Siempre me abrieron las puertas de su casa y me hicieron sentir parte de ella, brindándome un espacio de contención y cariño cada fin de semana.

A mis amigos, con quienes compartí estos años de cursada, gracias por haber hecho que cada clase, tarde de estudio, y exámenes fueran más llevaderos. Sin duda, sin ustedes esto no habría sido posible. Me llevo los recuerdos más lindos de esta etapa gracias a su compañía.

A mi novia, que me acompañó en el último tramo de la carrera y estuvo presente en cada tarde dedicada al trabajo final, gracias por tu paciencia y apoyo.

A cada persona que conocí y me ayudó a lo largo del camino, especialmente en el Valle Medio, gracias por su tiempo, sus consejos y su generosidad.

A mi directora de trabajo final, Alicia, gracias por estar presente desde el primer día en que elegí este tema. Tu compromiso y dedicación fueron fundamentales para que este trabajo se llevara adelante.

A cada profesor y ayudante que formó parte de mi formación, y a la Universidad Nacional de Río Negro, por brindarme la oportunidad de crecer tanto a nivel profesional como personal, mi más sincero agradecimiento.

INDICE

ÍNDICE DE IMÁGENES Y GRÁFICOS	4
ABREVIATURAS	5
RESUMEN	6
CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN	7
Descripción de la tuberculosis bovina	9
Definición	9
Historia	9
Etiología	10
Epidemiología.....	12
Patogenia	13
Signos clínicos y hallazgos patológicos	15
Respuesta inmune por tuberculosis	17
CAPITULO 2: TÉCNICAS DIAGNOSTICAS	19
Indirectas	20
Prueba de la tuberculina	20
Prueba del interferón gamma	21
ELISA para detectar anticuerpos contra <i>M. bovis</i>	22
Directas	22
Cultivo bacteriológico.....	22
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	22
CAPITULO 3: PRUEBA DE LA TUBERCULINA	24
Orígenes y Descubrimiento	25
Primeras Aplicaciones en el Diagnóstico	25
Fundamentos inmunológicos.....	27
Sensibilidad y Especificidad	29
Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina	29
Interpretación de resultados.	30
Saneamiento de establecimientos.....	32
Ventajas y Desventajas de la Prueba de la Tuberculina.....	34
CAPITULO 4: ELISA INDIRECTO	35
Fundamentos inmunológicos.....	36
Sensibilidad y especificidad.....	36
Ventajas y desventajas.....	38
CAPITULO 5: SANEAMIENTO DE RODEOS BOVINOS	39

Saneamiento en rodeos lecheros	41
Rodeo 1.....	41
Rodeo 2.....	42
Rodeo 3.....	43
Saneamientos en rodeos de carne	44
CONCLUSIONES	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

ÍNDICE DE IMÁGENES Y GRÁFICOS

Imagen 1: Epidemiología de la tuberculosis bovina.

Imagen 2: Vía de ingreso y diseminación de *Mycobacterium bovis* a nivel sistémico.

Imagen 3: Presencia de múltiples granulomas de distinto tamaño en la pleura parietal

Imagen 4: Múltiples granulomas en peritoneo y serosa diafragmática.

Imagen 5: Granulomas macroscópicos registrados en linfonódulo preescapular.

Imagen 6: Granulomas en cavidad abdominal.

Imagen 7: Respuesta inmune del bovino frente a *M. bovis* en diferentes fases de la infección.

Imagen 8: Esquema representativo del mecanismo de hipersensibilidad retardada.

Imagen 9: Bovino positivo a la prueba anocaudal (lecturas de las reacciones).

Imagen 10: Sitios de aplicación de la prueba cervical comparada.

Imagen 11: Plan de erradicación TBB en rodeo de carne.

Gráfico 1: Rodeo problema.

Gráfico 2: Rodeo con antecedentes de saneamiento.

Gráfico 3: Rodeo con saneamiento sostenido en el tiempo.

ABREVIATURAS

AAR:	Ácido-alcohol resistente
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
CMH:	Complejo mayor de histocompatibilidad
ELISA:	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
HSP:	Proteína del choque térmico
IDR:	Prueba cutánea de intradermorreacción
IFN-γ:	Interferón gamma
Ig-G:	Inmunoglobulina G
IL-1:	Interleucina 1
IL-2:	Interleucina 2
IL-6:	Interleucina 6
KOT:	Tuberculina antigua de Koch
MCP-1:	Proteína quimiotáctica de monocitos 1
MIP-1α:	Proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa
OMSA:	Organización Mundial de Sanidad Animal
PCR:	Reacción en cadena de la polimerasa
PPD:	Derivado proteico purificado
PPDB:	Derivado proteico purificado bovino
RIC:	Respuesta inmune celular
SENASA:	Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria
TBB:	Tuberculosis bovina
TFG:	Trabajo final de grado
TH-1:	Linfocito T colaborador tipo 1
TNF-α:	Factor de necrosis tumoral alfa
UP:	Unidades productivas
XCL1:	Linfotactina
VPN:	Valor Predictivo Negativo

RESUMEN

La tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad infectocontagiosa crónica, de curso lento, que afecta principalmente al ganado bovino y representa un riesgo sanitario y productivo relevante. El objetivo general de este trabajo fue evaluar el uso del ELISA indirecto como herramienta complementaria para mejorar la eficiencia del diagnóstico y acelerar el saneamiento de rodeos bovinos. La metodología consistió en una revisión actualizada sobre la enfermedad, las pruebas diagnósticas disponibles y el rol del ELISA, junto con la elaboración de propuestas de saneamiento aplicadas a un rodeo lechero y a un rodeo de carne. En el rodeo lechero, la incorporación estratégica del ELISA permitió identificar animales infectados no detectados por la PPD, reduciendo la persistencia de positivos crónicos y favoreciendo un avance más rápido en el saneamiento. En el rodeo de carne, la combinación ELISA–PPD mejoró la detección temprana y aceleró el proceso de saneamiento, posibilitando un plan de erradicación más eficiente.

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN



La Tuberculosis Bovina (TBB) causada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), es una enfermedad infecciosa crónica que afecta principalmente al ganado y se caracteriza por la formación de granulomas en pulmones y otros órganos. Esta enfermedad es zoonótica, ya que puede transmitirse a los humanos generalmente por consumo de leche no pasteurizada, causando tuberculosis pulmonar o extrapulmonar. El bacilo, perteneciente al complejo *Mycobacterium tuberculosis*, es resistente en el ambiente y representa un desafío tanto para la salud animal como humana debido a su alta patogenicidad, carácter zoonótico y evolución lenta, según Waard citado por Garbaccio y col. (2022).

En América Latina y el Caribe, el 70% de la población bovina, estimada en 374 millones, se encuentra en áreas donde la infección por *M. bovis* representa el 1% de prevalencia, mientras que el 30% de la población restante corresponde a zonas con menor prevalencia o libres de TBB. En Argentina, con 50 millones de bovinos, incluidos 3,5 millones de bovinos lecheros, la TBB ha disminuido en las últimas décadas, con un índice de decomiso del 0,34% en 2018. La Resolución de SENASA N° 128/2012 regula el plan de "Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina", habilitando a veterinarios para certificar el estado sanitario de los predios. En 2019 el 60,5% de las Unidades Productivas (UP) obligadas por normativa a estar bajo el plan (Establecimientos lecheros, Cabañas y Centros de inseminación artificial/transferencia embrionaria) reportaron estar libres mientras que, en la producción cárnica, de participación voluntaria, solo el 2% lo estaban (Garbaccio y col., 2022).

El programa de control y erradicación de la TBB en Argentina consiste en el testeo normativo y sacrificio (ante un resultado positivo) basados en la prueba cutánea de intradermorreacción (IDR), una reacción de hipersensibilidad retardada producida por la inoculación intradérmica de un derivado proteico purificado de *M. bovis*, denominado PPD. Según Borsuk y Mon citados por Griffa (2020), la prueba de la tuberculina tiene una sensibilidad (capacidad para detectar correctamente a los individuos positivos) del 80 al 85%. Es decir que puede haber entre 15 a 20% de resultados negativos por anergia cutánea (ausencia de respuesta inmunitaria en la piel ante la aplicación de antígenos) en animales infectados por diferentes motivos, como ser, reciente infección, estados de inmunosupresión, latencia, más allá de las cuestiones operativas relacionadas con su aplicación y/o lecturas incorrectas (Griffa, 2021).

El ELISA indirecto (del inglés Enzyme-Linked Immunosorbent assay) es otra prueba diagnóstica, en este caso de laboratorio, que no forma parte del plan de control y erradicación de TBB, la cual detecta la presencia de anticuerpos IgG específicos circulantes anti *M. bovis*, presentes en el suero extraído de sangre entera del bovino. Los anticuerpos reconocen al

antígeno adherido a una placa, sean proteínas purificadas del *M. bovis* o bien proteínas recombinantes específicas de esta bacteria o extractos sin purificar de *M. bovis*. Con este ELISA se detecta otro tipo de respuesta inmunológica, la respuesta de tipo humoral, que generalmente acompaña un estadio avanzado de la infección. Esto permite detectar animales anérgicos que probablemente sean los que están diseminando la enfermedad en el rodeo (Griffa, 2021).

Los objetivos del siguiente Trabajo Final de Grado (TFG) son:

- Realizar una revisión actualizada sobre TBB y de las técnicas diagnósticas PPD y ELISA indirecto.
- Identificar las ventajas y desventajas de la incorporación de ELISA indirecto como herramienta diagnóstica complementaria para Tuberculosis Bovina.
- Evaluar el potencial de la técnica de ELISA indirecto para acelerar el saneamiento del rodeo bovino.

Descripción de la tuberculosis bovina

Definición

Como se mencionará anteriormente la TBB es una enfermedad infecciosa crónica zoonótica producida por una bacteria denominada *M. bovis*. La signología es muy variable según la localización de las lesiones granulomatosas típicas (Cesar, 2016).

Historia

Joklik menciona en Zumárraga y Cataldi (2007) que la tuberculosis ha sido identificada en restos óseos de momias egipcias y fósiles de la Edad de Piedra, estimándose que el origen evolutivo de *M. tuberculosis* ocurrió en los pasados 15.000 - 20.000 años. La prueba más específica sobre la antigüedad de la tuberculosis en seres humanos, lo constituye el hallazgo de un esqueleto egipcio predinástico que exhibía una deformación de la columna vertebral compatible con tuberculosis, como mencionan Crubezy y col. (1998).

Daniel (2000) señala que evidencias arqueológicas, lingüísticas y genéticas, avalan la hipótesis que el hombre llegó a América desde Siberia en dos episodios migratorios ocurridos hace al menos 10.000 años, y a partir de allí se distribuyó por todo el continente. Aquel suceso explicaría la forma en que la tuberculosis fue introducida en el continente americano, mientras que su presencia en dimensiones epidémicas fue comprobada en el desierto peruano y norte de

Chile, al identificar secuencias de ADN específicas del complejo *M. tuberculosis* en momias peruanas de 1500 años de antigüedad. Sin embargo, continúa sin demostrarse el papel de *M. bovis* como agente causal de tuberculosis en la América prehistórica.

Según Iseman (2000), entre los años 400-350 a.c., Hipócrates realizó la primera descripción sistemática de las manifestaciones clínicas y epidemiológicas de la tuberculosis, conocida entonces como “*tisis*”, del griego *phthisis* “*consunción*”, calificada como la enfermedad más ampliamente diseminada en aquellos tiempos.

Davis (1980) menciona que la tuberculosis recién fue reconocida como enfermedad infecciosa en 1895, cuando Jean Antoine Villemin la reprodujo en un conejo, tras su inoculación con material proveniente de lesiones tuberculosas pulmonares y no pulmonares de humanos. En el año 1882, Robert Koch descubrió el agente causal de la tuberculosis, al encontrar un bacilo asociado constantemente con la enfermedad clínica, que aisló en cultivo puro y con el que reprodujo la enfermedad en cobayos y conejos, recuperándolo a su vez de éstos en cultivo puro. Estas condiciones a través de las cuales se puede reproducir una enfermedad experimentalmente se conocen con el nombre de postulados de Koch, los cuales proporcionan los criterios esenciales para la aceptación total de un microorganismo en particular como la causa de una enfermedad infecciosa específica (Joklik, 1989). Desde entonces la tuberculosis es una de las enfermedades infecciosas más intensamente estudiadas (Zumárraga, 2007).

Etiología

Como afirma Didier (2012), el agente causal de la TBB, *M. bovis*, junto a *M. tuberculosis*, *M. caprae*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti*, y *M. pinnipedii*, forman un grupo particular denominado complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Taxonómicamente las micobacterias se ubican en el orden *Actinomycetales*, dentro de la familia *Mycobacteriaceae*, género *Mycobacterium*. Son bacilos cortos, intracelulares, aerobios, inmóviles, no formadores de esporas y no flagelados (Kantor, 1988). Poseen una pared celular compuesta por múltiples capas, con abundancia de lípidos complejos, que constituyen entre el 20% y 40 % de su peso seco, diferenciándose químicamente de los microorganismos Gram positivos y Gram negativos. El esqueleto de la pared está formado por dos polímeros, un glicopéptido y un arabinogalactano, covalentemente unidos por puentes fosfodiéster (Rastogi, 2001). Entre los lípidos se encuentran los ácidos micólicos, ácidos grasos de alto peso molecular, ramificados e hidroxilados, cuya producción las diferencia del resto de los microorganismos que integran

el orden. *Mycobacterium* no se decolora con ácido-alcohol, por lo que se los denomina bacilos ácido-alcohol resistentes (AAR), por lo cual no pueden colorearse con la tinción de Gram. Por eso una de las propiedades más distintivas de este género es la coloración con Ziehl-Nielsen, ya que una vez que los ácidos micólicos fijan al colorante (fucsina básica fenolada) resisten la decoloración con ácido-alcohol. Por esta característica se los denomina bacilos ácido-alcohol resistentes (Joklik, 1989).

Aunque se describieron alrededor de 85 especies de micobacterias diferentes, son pocas las que cobran importancia en salud humana y veterinaria, pudiéndose clasificar de acuerdo a su importancia clínica en los siguientes tres grupos principales (Rastogi, 2001; Zumárraga, 2007):

a) Patógenos estrictos:

Humanos: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium ulcerans*.

Animales: *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*.

b) Patógenos oportunistas o potenciales:

Mycobacterium simiae, *Mycobacterium avium subsp. avium*, *Mycobacterium xenopi*.

c) Raramente patógenos (saprófitos):

Mycobacterium smegmatis, *Mycobacterium phlei*.

Soto Ranquena (2007) afirma que los productos relacionados con la virulencia de *Mycobacterium* son los complejos componentes de la pared celular, en la que destacan los siguientes:

a) Factor cordón: es producido por miembros de los géneros bacterianos *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* y *Rhodococcus*. El micósido más importante producido por las micobacterias, se denomina así porque hace que el microorganismo se desarrolle en forma de agregados laterales semejantes a cordones o cuerdas. Se ha demostrado que las micobacterias que carecen de este factor no son patógenas. El factor cordón es un ácido micólico (6-6'-dimicolato, la trehalosa), que inhibe la fusión de los lisosomas con los fagosomas de los macrófagos, fenómeno que se considera clave para la supervivencia de *M. bovis* dentro de los macrófagos.

b) Sulfátidos: son derivados aniónicos de sulfato de trehalosa que contienen ácidos grasos de cadena larga, ubicados en la superficie más externa de las micobacterias. Estudios acerca del sulfátido SL-1 más abundante en micobacterias demostraron que éste bloquea o invierte la activación de los monocitos por lipopolisacáridos o interferón gamma (IFN- γ), dando lugar a que los monocitos produzcan pocos radicales superóxidos y así el

Mycobacterium fagocitado puede sobrevivir dentro de la célula. Los monocitos expuestos al SL-1 tienen actividad limitada de cinasa de proteína C, pero producen altas cantidades de interleucina 1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).

c) Arabinogalactanos y lipoarabinomananos: producen una fuerte respuesta de anticuerpos, pero ineficaz. El lipoarabinomanano junto con el factor cordón producen granulomas tuberculosos y necrosis de los tejidos.

d) Cera D y proteínas: inducen la hipersensibilidad de tipo retardada, utilizada para el diagnóstico de infección por *Mycobacterium* citado por De la Parte-Pérez en Soto Requena (2007).

Epidemiología

La TBB es una enfermedad crónica que afecta principalmente al ganado bovino, aunque también puede infectar a una amplia gama de mamíferos, incluyendo especies domésticas (caprinos, ovinos, cerdos, equinos, perros y gatos) y silvestres (rumiantes, búfalos, llamas, alpacas, cerdos salvajes y primates no humanos), así como al ser humano (Imagen 1). Esta amplia gama de hospedadores complica los esfuerzos de control y erradicación de la enfermedad (Rivera, 2010).

La principal vía de transmisión de *M. bovis* en bovinos es la aerógena, a través de la inhalación de aerosoles contaminados. Además, la bacteria puede eliminarse mediante secreciones nasales, heces y leche, lo que facilita su propagación. La transmisión también puede ocurrir por la ingestión de alimentos o agua contaminada con estas secreciones, especialmente en condiciones de hacinamiento o manejo inadecuado según la Organización Mundial de la Salud Animal (OMSA, 2021).

El riesgo de contagio aumenta en sistemas de producción intensivos con alta densidad animal y en áreas donde el ganado convive con fauna silvestre susceptible. Factores como el estrés, la malnutrición y condiciones ambientales adversas pueden predisponer a los animales a la infección. Además, la presencia de reservorios en la fauna silvestre puede dificultar la erradicación de la enfermedad (OMSA, 2021).

La TBB impacta principalmente sobre las explotaciones ganaderas intensivas, donde las tasas de prevalencia son elevadas. Tiene una morbilidad en los bovinos de un 90%, y en los humanos entre un 5% y un 10%, según Gutiérrez citado por Esquivel (2012).

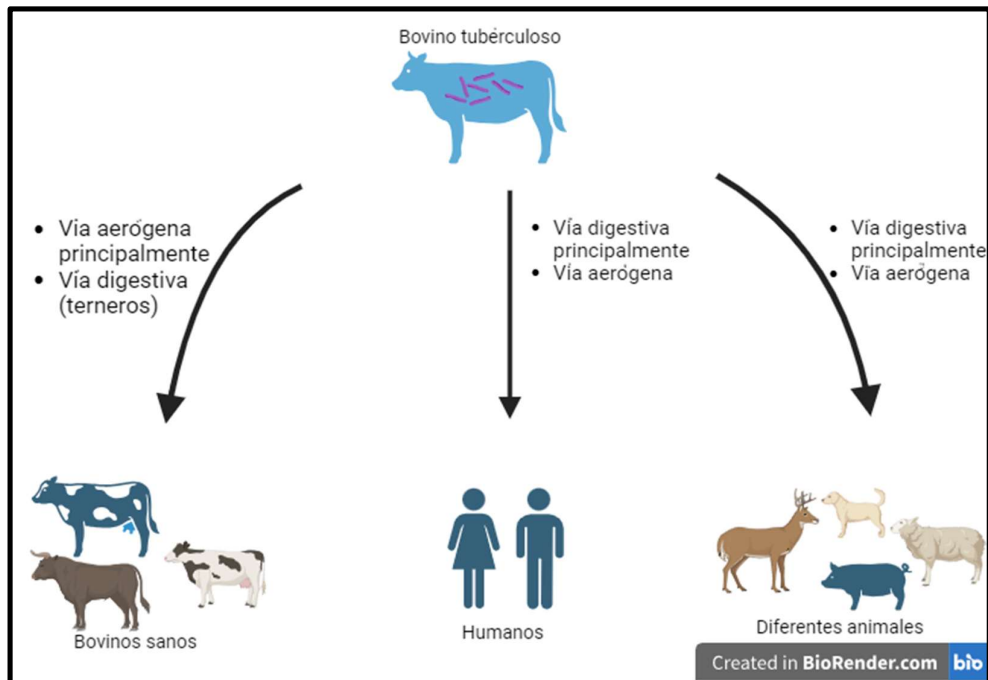


Imagen 1: Epidemiología de la tuberculosis bovina. Fuente: propia.

Patogenia

Cuando la infección ingresa por vía respiratoria, las micobacterias colonizan los espacios alveolares donde son identificadas por las células dendríticas que inician la respuesta inflamatoria. Así se produce el “foco primario” de la enfermedad, integrado tanto por las micobacterias como por los macrófagos alveolares pulmonares que las fagocitan, y por los monocitos y células inflamatorias que son atraídos por diferentes señales quimiotácticas en el sitio de infección (Arentz & Hawn, 2007).

Una vez fagocitadas, el patógeno dispone de diversos factores de virulencia que evitan su destrucción en el interior de los fagolisosomas de los macrófagos. Entre estos mecanismos se encuentran el factor cordón y sulfátidos, junto a una pared celular rígida (ácidos micólicos y peptidoglicanos) que aseguran su supervivencia. Gracias a estos elementos, las micobacterias son capaces de sobrevivir y de multiplicarse dentro de los fagosomas, y destruir a estos fagocitos. A continuación, nuevos macrófagos fagocitarán sucesivamente a las micobacterias con la finalidad de eliminarlas, dando lugar al granuloma tuberculoso o “folículo de koster” en el pulmón. Posteriormente, si la enfermedad progresa, las micobacterias que escapan de los macrófagos concentrados en el foco primario migran al intersticio desde donde son transportadas, principalmente por macrófagos, a través de los vasos linfáticos hacia los

linfonódulos de drenaje regionales, estableciéndose un nuevo foco de infección (citado por Orme & Cooper en Vera Salmoral, 2024). Este doble foco de infección, característico de la enfermedad, es lo que se denomina “complejo primario”, el cual se clasifica como “completo” si ambas localizaciones (pulmón y linfonódulos regionales) presentan daño en ambos sitios o “incompleto” si las lesiones se limitan sólo a los linfonódulos. Una vez que se ha producido la entrada del agente en el animal, en función de la respuesta inmune celular (activada por linfocitos T y macrófagos) puede darse el avance de las micobacterias hasta la circulación sistémica produciéndose una diseminación orgánica a través de vía hemática o linfática, o bien, puede producirse un periodo de latencia e incluso la recuperación del animal (Imagen 2) (mencionado por Domingo & Borham en Vera Salmoral, 2024).

En cuanto a la respuesta inmune desencadenada por el animal, al producirse la infección, es activada la respuesta inmune celular como mecanismo principal de defensa, mientras que la respuesta inmune humoral sólo es detectable en etapas avanzadas de la infección. Sin embargo, en casos de infección con una alta carga bacteriana, esta respuesta puede ocurrir de manera más temprana (Pollock & Neill y Rua-Domenech en Vera Salmoral, 2024).

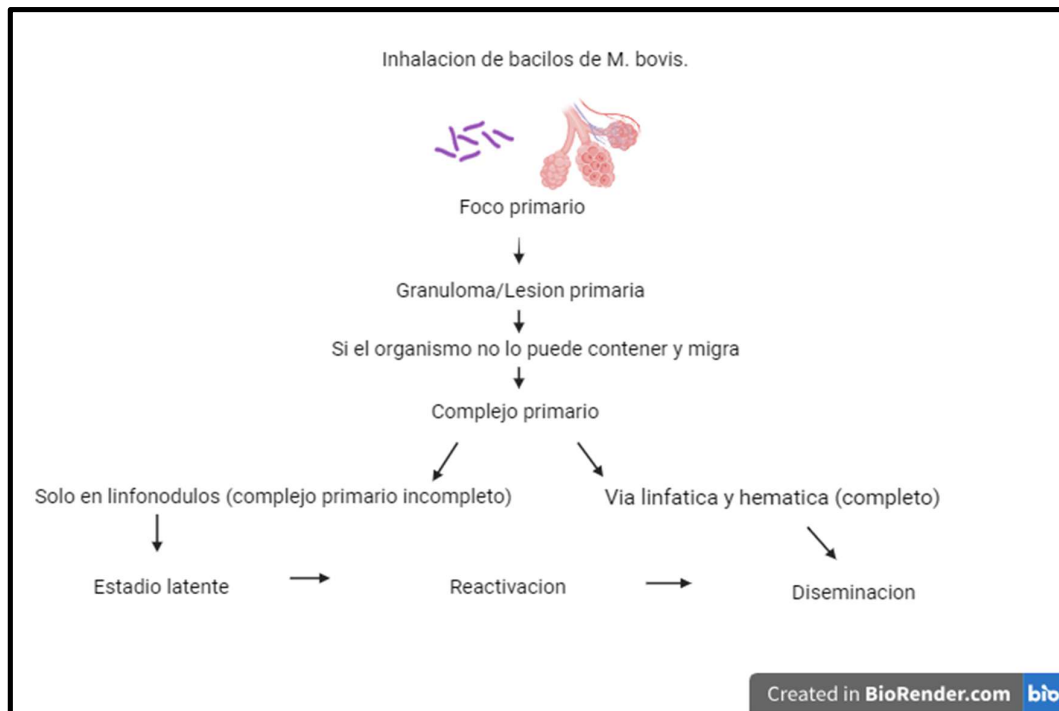


Imagen 2: Se representa la vía de ingreso y la diseminación de *Mycobacterium bovis* a nivel sistémico. Fuente: propia.

Signos clínicos y hallazgos patológicos

Respecto a los signos clínicos de la enfermedad, la TBB es una enfermedad crónica de curso lento con un período de incubación variable, entre los 2 meses y varios años (Vera Salmoral, 2024). Los animales infectados con tuberculosis suelen no presentar síntomas clínicos en etapas iniciales, evolucionando de manera lenta, con la posibilidad de mantenerse asintomáticos durante años. En fases avanzadas, se manifiestan signos como disminución del apetito, pérdida progresiva de peso, debilidad generalizada y fiebre intermitente. La signología varía según la localización de las lesiones: en casos de afectación pulmonar, predomina una tos húmeda persistente que puede derivar en dificultad respiratoria aguda en etapas terminales. Si los linfonódulos de cabeza o cuello están afectados, pueden aumentar de tamaño y, en algunos casos, obstruir estructuras anatómicas cercanas (vasos sanguíneos, vías respiratorias o digestivas). En animales con lesiones en el tracto digestivo, es común observar episodios alternantes de diarrea y estreñimiento (Cesar, 2016). Asimismo, pueden presentarse casos de timpanismo ruminal, mastitis persistente, hipertrofia mamaria, infertilidad, abortos y descarga vaginal crónica purulenta en casos de tuberculosis genital (citado por OMSA y Kuria & Borham en Vera Salmoral, 2024).

En cuanto a los hallazgos patológicos, estos varían según la fase de la enfermedad. En etapas iniciales, puede aparecer un único nódulo en el complejo primario, que puede medir de 0,3 cm hasta varios centímetros, con necrosis caseosa y posible calcificación, principalmente en el sistema respiratorio o digestivo. La diseminación del microorganismo genera tuberculosis miliar, manifestándose mediante múltiples nódulos caseosos en órganos como pulmón, hígado, bazo y pleura.

Las lesiones características de la tuberculosis pueden localizarse principalmente en peritoneo, pericardio y pleura (Imagen 3 y 4). La enfermedad puede progresar de diferentes maneras. En la tuberculosis precoz, se observan pocos nódulos (Imagen 5), mientras que en la tuberculosis perlada se identifican múltiples lesiones blanquecinas en las serosas, de entre 0,5 y 1 cm (Imagen 6). También pueden presentarse formas de tuberculosis lenta, con nódulos de mayor tamaño, o tuberculosis con grandes nódulos, producto de la fusión de lesiones.

En su etapa avanzada la TBB afecta varios órganos, con predominio en pulmones y vías respiratorias. Se observan grandes lesiones caseosas con fibrosis y calcificación. Dando lugar a la tuberculosis pulmonar acinosa o acino-nodular, caracterizada, formación de cavernas en el parénquima y lesiones ulcerativas en tráquea y bronquios (Vera Salmoral, 2024).

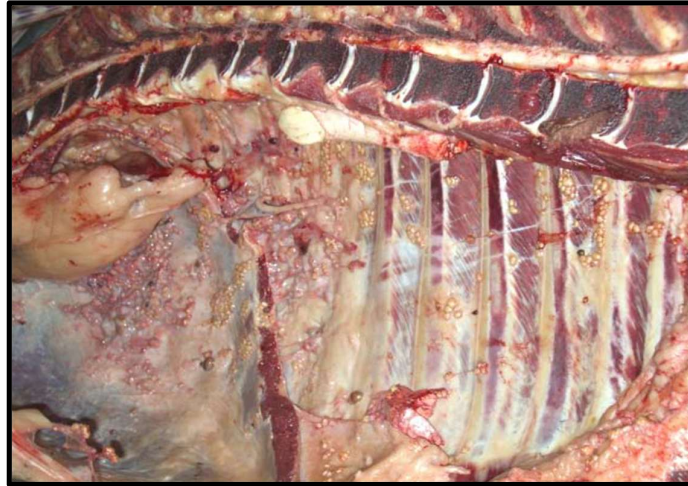


Imagen 3: Presencia de múltiples granulomas de distinto tamaño en la pleura parietal.

Fuente: Canal Didier, (2013)



Imagen 4: Múltiples granulomas en peritoneo y serosa diafragmática.

Fuente: Canal Didier, (2013)

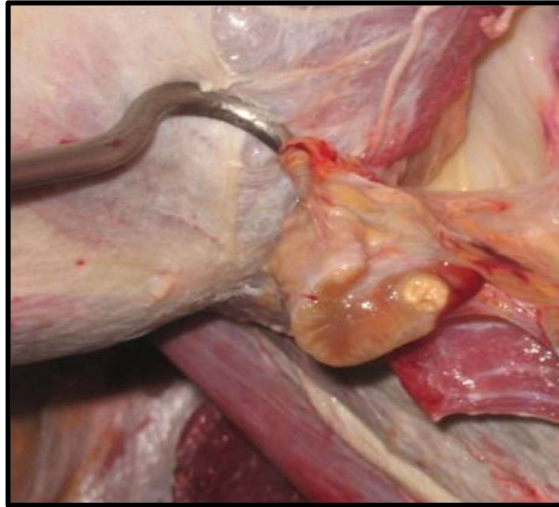


Imagen 5. Granulomas macroscópicos registrados en linfonódulo pre-escapular.

Fuente Garbaccio, (2022)

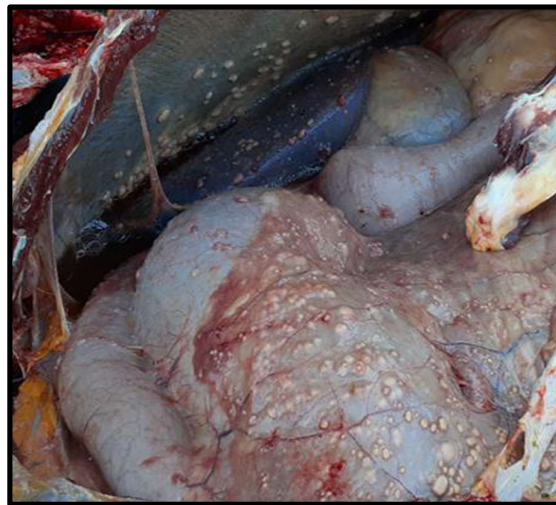


Imagen 6. Granulomas en cavidad abdominal.

Fuente: Garbaccio, (2022)

Respuesta inmune por tuberculosis

La infección por *M. bovis* desencadena una respuesta inmunológica compleja en el bovino, en la que inicialmente predomina la inmunidad mediada por células. Esta respuesta es esencial para contener la proliferación del patógeno en los primeros estadios de la enfermedad. Sin embargo, en fases avanzadas, este perfil puede modificarse, dando lugar a una disminución

de la respuesta celular y un aumento en la producción de anticuerpos, reflejo de una mayor actividad de la inmunidad humoral.

En la parte derecha de la figura (Imagen 7) se muestra una etapa avanzada o diseminada de la infección, en la cual los bovinos generalmente no reaccionan a las pruebas que evalúan la inmunidad mediada por células, como la prueba de la IDR o la detección de IFN- γ . Sin embargo, en estos animales se observa una concentración elevada de anticuerpos en sangre. Este tipo de respuesta inmunológica es típica de los animales denominados “anérgicos”, quienes, al estar enfermos y excretar gran cantidad de bacterias, representan un alto riesgo de contagio. Estos bovinos pueden dificultar o demorar los esfuerzos de saneamiento de la TBB en los rodeos, ya que actúan como una fuente persistente de infección (Garbaccio, 2022).

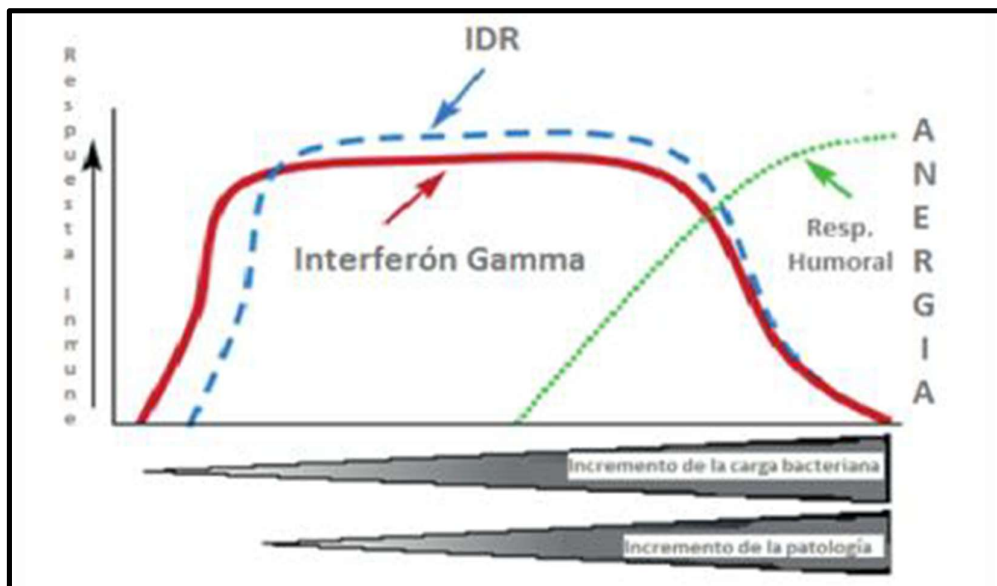


Imagen 7: Respuesta inmune del bovino frente a *M. bovis* en diferentes fases de la infección.

Fuente: Garbaccio, (2022)

CAPITULO 2

TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS



M. bovis es un patógeno intracelular lo cual determina que la respuesta inmunológica predominante se efectúe mediante Linfocitos T. Por tal motivo, el diagnóstico ante mortem se basa en pruebas que ponen en evidencia la respuesta inmune celular (RIC) de los animales infectados. Es por ello que las dos pruebas diagnósticas más utilizadas a nivel mundial son la intradermorreacción o prueba de la tuberculina (PPD) y el ensayo de liberación del IFN- γ , como menciona Garbaccio (2022).

Las técnicas diagnósticas actuales se dividen en: indirectas y directas.

A continuación, se llevará a cabo una explicación detallada de las técnicas más relevantes, destacando su importancia, aplicaciones y principios fundamentales, con el objetivo de proporcionar una comprensión clara y precisa de su funcionamiento, alcance y contribución en el diagnóstico.

Indirectas

Evalúan la respuesta inmune del organismo ante la infección. Incluyen la prueba de la tuberculina (PPD), ELISA para IFN- γ y ELISA para detectar anticuerpos contra *M. bovis*.

Prueba de la tuberculina

El método primario para la detección de infección tuberculosa en el ganado vivo, es la prueba intradérmica con PPD, utilizada desde hace más de 100 años (Monaghan, 1994) siendo protagonista del diagnóstico en los programas de control de la enfermedad, tanto a nivel nacional como internacional (Garbaccio 2023). En la Argentina, la PPD constituye el método estándar y la prueba oficialmente obligatoria para el plan nacional de control y erradicación de la TBB, conforme a la normativa sanitaria del SENASA, lo que la posiciona como herramienta de referencia para el saneamiento de los rodeos.

En el bovino la prueba consiste en su aplicación en el pliegue anocaudal interno del animal y examinación del sitio de la inyección 72 horas después. En ese momento se mide si hubo reacción en el lugar de inoculación generada como consecuencia de la RIC a los antígenos de la PPD (Wedlock, 2002).

En este capítulo se hace una breve mención a la prueba de la tuberculina como herramienta de diagnóstico. Su descripción detallada, aplicación e interpretación serán abordadas en el Capítulo 3.

Prueba del interferón gamma

El IFN- γ es una prueba de diagnóstico in vitro, que al igual que la PPD, mide la RIC del organismo. Esta técnica se fundamenta en la medición del IFN- γ producido, el cual es una citoquina liberada por los linfocitos T que han sido sensibilizados por la presencia de las micobacterias y que constituye el principal factor de activación de los macrófagos (de la Rua-Domenech et al., 2006).

Diversos estudios han analizado esta técnica mostrando datos de sensibilidad generalmente superiores (63,1-100%) a los obtenidos con la PPD (70-75%), aunque con una especificidad similar (85%-99,6%) (de la Rua-Domenech et al., 2006; Gormley et al., 2013; Clegg et al., 2019). Esta mayor sensibilidad de la técnica en comparación con la PPD es atribuida a su capacidad para detectar animales positivos tan solo 14 días después de la infección, lo que supone un diagnóstico más temprano (de 60 a 120 días antes) en comparación con la PPD (Lilenbaum et al., 1999). Sin embargo, al igual que ocurre con la PPD, la especificidad se ve limitada debido a la utilización de la PPD como antígeno. Dado que la PPD contiene antígenos compartidos con micobacterias ambientales no patógenas, algunos animales previamente expuestos a éstas pueden generar una respuesta inmune inespecífica. Esto puede dar lugar a falsos positivos, ya que la producción de IFN- γ no siempre indica infección con *Mycobacterium bovis*, sino que podría deberse a la presencia de otras micobacterias (Pollock, 2000).

Otra ventaja de la prueba del IFN- γ , es que al tratarse de una prueba in vitro, su realización no provoca ninguna reacción en el animal vivo, a diferencia de la PPD, lo que permite repetirla sin necesidad de esperar un período específico (Schiller et al., 2010).

Entre las desventajas de la técnica se destaca su mayor costo, lo que limita su uso a nivel mundial (de la Rua-Domenech, 2006). Este mayor costo va unido a una mayor dificultad para transportar la muestra de sangre para su análisis, la cual debe mantenerse estable a una temperatura entre 18-25 ° C. Además, el ensayo laboratorio debe llevarse a cabo en el mismo día, ya que se ha observado una reducción del 30% en la densidad óptica del ensayo inmunoenzimático (ELISA) a partir de las 24 horas de retraso (Rothel et al., 1992; de la Rua-Domenech et al., 2006; Gormley et al., 2006; Clegg et al., 2019). Por otro lado, al igual que en el caso de la PPD, en estadios avanzados de la enfermedad, la respuesta celular disminuye simultáneamente con el incremento de la inmunidad humoral, lo que reduce la probabilidad de detectar a los positivos (citado por de la Rua-Domenech y Borham en Vera Salmoral, 2024).

ELISA para detectar anticuerpos contra *M. bovis*

El ELISA indirecto es una herramienta diagnóstica utilizada para detectar anticuerpos específicos contra *M. bovis*. Esta técnica serológica se basa en la capacidad de los anticuerpos presentes en el suero de animales infectados para unirse a antígenos específicos de la bacteria, lo que permite identificar infecciones de manera indirecta. Esta técnica ha demostrado ser una opción complementaria a las pruebas intradérmicas tradicionales, especialmente en la detección de infecciones subclínicas, donde la prueba de la tuberculina puede no ser efectiva (Casal, 2014). Aunque se ha mencionado brevemente su funcionamiento y utilidad en la detección de infecciones subclínicas, la explicación detallada del ELISA indirecto se presentará en un capítulo exclusivo dedicado a esta técnica.

Directas

Permiten identificar el agente causal o sus componentes. Entre ellas se encuentran el cultivo bacteriológico y técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Cultivo bacteriológico

El cultivo bacteriológico sigue siendo la prueba principal para confirmar infecciones por el complejo *M. tuberculosis*, pero su uso presenta ciertas dificultades. Es un proceso lento que puede tardar semanas, requiere laboratorios con altos estándares de bioseguridad (por el riesgo de manipular patógenos peligrosos) y personal altamente capacitado. Además, no es suficientemente sensible, estudios como el de Courcoul y col. (2014) estiman que detecta sólo el 78,1% de los casos reales, lo que significa que algunas infecciones podrían pasar desapercibidas. Por otro lado, su especificidad es muy alta (99,1%), lo que garantiza que un resultado positivo confirma definitivamente la infección. Sin embargo, un resultado negativo no descarta la enfermedad, ya que factores como una baja cantidad de bacterias en la muestra o tratamientos previos pueden impedir el crecimiento de las micobacterias en el cultivo, como advierte Gormley y col. (2014). Para superar estas limitaciones, los expertos recomiendan combinar el cultivo con otras técnicas (como pruebas moleculares o serológicas) (Vera Salmoral, 2014).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Esta técnica permite amplificar fragmentos específicos de ADN, detectando genomas microbianos con alta sensibilidad y rapidez, sin requerir microorganismos viables. Se destacan

la PCR de punto final y la PCR en tiempo real, usadas en el diagnóstico de TBB. La eficacia depende de la extracción adecuada del ADN micobacteriano y de estandarizar el método según el tipo de muestra, ya que matrices complejas (como tejidos) o inhibidores de la polimerasa pueden afectar resultados.

En tejidos bovinos, las lesiones suelen tener baja carga bacteriana y una marcada fibrosis y calcificación, lo que dificulta la liberación del material genético. La técnica está regulada en Argentina por el Plan Nacional de Control y Erradicación de la TBB en el artículo N°63 de la Resolución N° 128/2012.

Como alternativa, la PCR en leche de tanque permite identificar rodeos infectados de forma rápida y no invasiva. Sin embargo, su limitación radica en la excreción intermitente de micobacterias por leche, ya que no todas las vacas infectadas las eliminan, ni lo hacen simultáneamente. Este enfoque es útil para auditorías rápidas en tambos, aunque requiere muestreos repetidos para mayor precisión (Garbaccio, 2022).

CAPITULO 3

PRUEBA DE LA TUBERCULINA



Orígenes y Descubrimiento

El primer gran avance en el desarrollo de la tuberculina se atribuye al bacteriólogo alemán Robert Koch, quien en 1890 anunció el descubrimiento de un extracto derivado de *M. tuberculosis*. Para obtenerlo, cultivó el bacilo en un caldo de glicerol al 5%, luego evaporó la solución en un baño de vapor hasta reducirla a una décima parte de su volumen y finalmente la filtró. El resultado fue la Tuberculina Antigua de Koch (KOT), un filtrado que contenía la fracción soluble del bacilo tuberculoso en una solución de glicerol al 50%. Koch, quien padecía tuberculosis, demostró las propiedades de la KOT para tratar y prevenir la enfermedad. Al inyectarse su propia tuberculina, experimentó un aumento significativo de la temperatura corporal y cuadros de fiebre intermitente. Situación que corroboró en muchos otros pacientes tuberculosos al causar reacciones sistémicas. Sin embargo, en un principio desestimó la reacción cutánea provocada por la KOT, considerándola insignificante y sin valor diagnóstico (Good, 2018).

Primeras Aplicaciones en el Diagnóstico

Bang introdujo la prueba de la tuberculina utilizando KOT como la herramienta diagnóstica de elección en el primer programa oficial de erradicación de la TBB en Dinamarca, a principios de la década de 1890. Este fue el primer programa a escala nacional que reconoció el potencial diagnóstico de la tuberculina, la cual Koch había intentado previamente utilizar con fines terapéuticos (Good, 2018).

El llamado "método Bang" consistía en la realización de pruebas repetidas cada seis meses para identificar animales con resultado positivo. Esto permitía separar a las vacas infectadas de aquellas sanas. De esta manera, se limitaba la transmisión de la infección a través de la leche.

Gracias a los informes que demostraban los logros obtenidos con este enfoque, el "método Bang" fue reconocido internacionalmente como la principal herramienta de diagnóstico para el control de la TBB. Hacia finales de 1891, las pruebas en ganado con KOT ya se realizaban ampliamente, y el profesor Eber, un veterinario de Berlín, reportó una especificidad de aproximadamente el 87% tras analizar datos recopilados sobre el ganado examinado.

Palmer y Waters (2011) presentan una revisión concisa e interesante sobre los orígenes del programa de erradicación de la TBB en EE. UU., así como de los numerosos factores

relacionados con la patogénesis y la epidemiología de la enfermedad, que ya en 1899 eran conocidos o al menos planteados con sorprendente precisión.

A principios del siglo XX, se certificaron las primeras granjas como libres de tuberculosis en Dinamarca, lo que representó un gran logro. Esto permitió asegurar una producción de leche de alta calidad, especialmente inocua para los lactantes, al tiempo que se preservaba la rentabilidad de la actividad ganadera. Dichas condiciones favorecieron la continuidad en la crianza de animales, incentivaron la participación activa de los productores en los programas de control y erradicación de la enfermedad, y resultaron determinantes para obtener el respaldo del sector lechero. Entre 1892 y 1915, los métodos de prueba comenzaron a variar drásticamente, lo que llevó a la preocupación de que "el valor de la prueba dependía demasiado de la capacidad, competencia y experiencia del examinador".

A pesar de la limitación por parte del examinador, el uso de la prueba de tuberculina subcutánea dentro de un programa de pruebas y sacrificio en el Distrito de Columbia (EE. UU) logró reducir la prevalencia de la enfermedad del 18,87 % en 1909 al 0,84 % en 1918.

Las primeras pruebas en ganado bovino consistieron en la inyección subcutánea de "tuberculina" en la región escapular derecha. Este procedimiento requería que el veterinario realizara varias mediciones de temperatura antes de la inyección y luego el monitoreo regular de la temperatura corporal durante 24 horas para detectar cualquier incremento (por efecto sistémico de la vía de aplicación subcutánea). La variabilidad en los cambios de temperatura asociados con esta prueba anticipó las dificultades que presentaría su aplicación. Además, la correcta evaluación de la reacción dependía en gran medida de la experiencia del veterinario, lo que generaba inconsistencias en los diagnósticos.

Debido a estas limitaciones, a principios del siglo XX se comenzaron a desarrollar nuevas técnicas de aplicación. Con el tiempo, la inoculación intradérmica se consolidó como el método estándar, ya que ofrece mayor precisión y reproducibilidad en la detección de la TBB (Good, 2018).

A su vez uno de los inconvenientes que tenía el uso de la tuberculina era la naturaleza cruda de la preparación y el hecho de que muchos de los componentes del medio eran concentrados junto con las proteínas micobacterianas. La producción de tuberculina ha sufrido diversas mejoras y en la actualidad se usa la PPD o "derivado proteico purificado" (Seibert & Munday, 1932). La preparación de Seibert fue aceptada en 1951 como estándar internacional (Bigi, 1998). Hasta la fecha, la prueba de la tuberculina sigue siendo la base de todos los programas de control de la enfermedad.

Fundamentos inmunológicos

La respuesta inmunológica frente a infecciones por micobacterias es la base de diversas pruebas diagnósticas utilizadas en medicina veterinaria. Entre ellas, la prueba de tuberculina es la técnica más utilizada para la detección y erradicación de la TBB. La tuberculina corresponde a extractos de micobacterias empleados en pruebas cutáneas para identificar animales infectados. Existen distintos tipos de tuberculina, siendo el más importante el derivado proteico purificado (PPD), obtenido a partir del cultivo de micobacterias en un medio sintético, seguido de un proceso de inactivación con vapor y filtración (Tizard, 2009).

La tuberculina PPD se precipita de este filtrado con ácido tricloroacético, se lava y se resuspende en un tampón. Por lo tanto, la tuberculina PPD es una mezcla de antígeno sin refinar, cuyo componente antigénico principal es probable que sea la proteína del choque térmico HSP 65. Muchas de estas proteínas son comunes entre las diferentes especies de micobacterias, como consecuencia, las pruebas que emplean tuberculina PPD son relativamente inespecíficas (Tizard, 2009).

Cuando se inyecta la tuberculina en la piel de un animal no infectado, no hay respuesta aparente. Por el contrario, si se inyecta en un animal infectado por micobacterias, se produce una respuesta de hipersensibilidad retardada, con el desarrollo de una lesión edematosa, fibrosa y enrojecida en el punto de inoculación. La inflamación se inicia entre 12 y 24 horas después, alcanza su máxima intensidad entre las 24 y las 72 horas, y puede persistir durante semanas antes de disminuir de forma gradual. Histológicamente, la lesión presenta un infiltrado de células mononucleares, principalmente linfocitos y macrófagos, con la presencia de neutrófilos en las primeras horas de la reacción (Tizard, 2009).

La reacción a la tuberculina está mediada por los linfocitos T. Cuando un animal se infecta con *M. bovis*, los microorganismos son fagocitados rápidamente por los macrófagos, y una parte de este antígeno micobacteriano desencadena una respuesta Th1 (Linfocito T colaborador), generando células de memoria, las cuales responderán ante la inoculación de antígenos de micobacterias como la tuberculina (Tizard, 2009).

Cuando se inyecta por vía intradérmica, la tuberculina es captada por las células de Langerhans, que migran al linfonódulo que drena la región (Imagen 8) y presentan el antígeno a los linfocitos T de memoria, que responden generando linfocitos efector Th1. Estos Th1 circulantes reconocen el antígeno cuando lo encuentran en la piel y se acumulan alrededor del mismo.

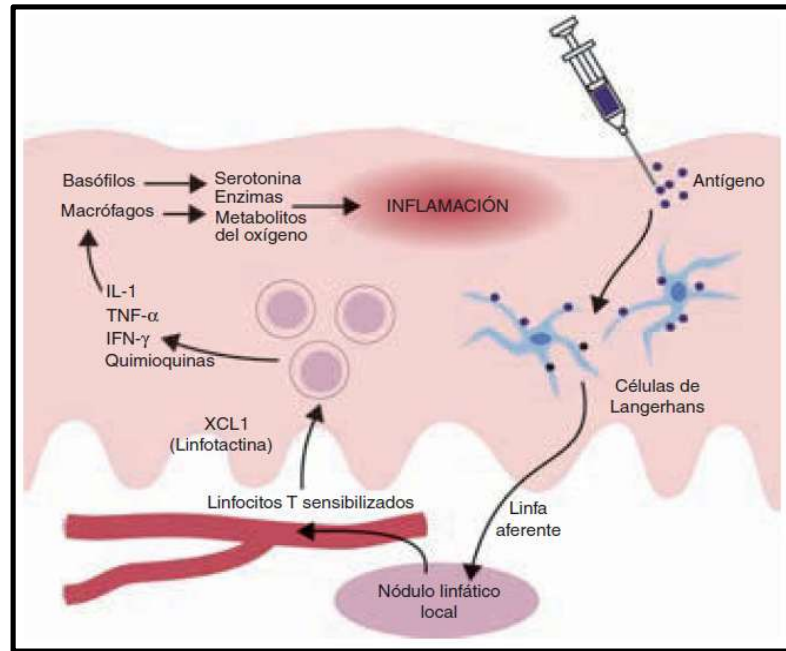


Imagen 8: Esquema representativo del mecanismo de hipersensibilidad retardada.

Fuente: Tizard, (2009.)

A las 12 horas el sitio de inoculación está infiltrado principalmente por linfocitos T γ/δ . A lo largo de toda esta respuesta inmunitaria no se observa la presencia de linfocitos B en la lesión.

Los linfocitos T γ/δ ayudan a reclutar otros linfocitos Th1 y macrófagos a la zona. Estos linfocitos Th1 secretan IFN- γ , interleuquina-2 (IL-2) e interleuquina-6 (IL-6). Los dos primeros actúan sobre las células endoteliales incrementando la expresión de moléculas de adhesión. A su vez la IL-2 estimula la producción de quimioquinas, que atraen y activan a más linfocitos T y la IL-6 atrae más linfocitos T.

Los macrófagos también liberan serotonina y quimioquinas, que atraen a los basófilos. La histamina de los basófilos causa todavía más inflamación y aumenta la migración de las células mononucleares a la lesión. Las quimioquinas de los linfocitos T, proteína quimiotáctica de monocitos-1, MCP-1 (CCL2) y MIP-1 α (CCL3), pueden inducir directamente la degranulación de los mastocitos a través del antígeno unido a las moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH).

Las quimioquinas de los linfocitos T causan inflamación y atraen todavía a más linfocitos T, la mayoría de los cuales no están sensibilizados específicamente por el antígeno inductor. Solo una pequeña fracción, quizás un 5% de los linfocitos que se encuentran en una

reacción de hipersensibilidad retardada, son específicos del antígeno. La gran mayoría son atraídos de forma inespecífica por la linfotactina (XCL1) (Tizard, 2009).

Entre las 60 y 72 horas, los linfocitos que predominan son $\alpha/\beta+$, CD4+ y CD8+. Los macrófagos se acumulan en la lesión debido a la producción de IL-8 y pueden ser activados por el IFN- γ . Parte del daño tisular de las reacciones intensas de hipersensibilidad retardada se puede deber a la liberación de proteasas y oxidantes por los macrófagos activados, que ingieren y finalmente destruyen al antígeno inoculado (Tizard, 2009).

Este complejo mecanismo inmunológico es la base de la respuesta observada en la prueba de la tuberculina, cuya efectividad diagnóstica depende directamente del adecuado desarrollo de esta reacción. Sin embargo, más allá de su fundamento biológico, es importante considerar diversos aspectos operativos y clínicos que influyen en su desempeño a campo.

Sensibilidad y Especificidad

La prueba de la tuberculina es segura y de bajo costo, con una sensibilidad que oscila entre 70 y 75% (Wedlock, 2002) y una especificidad estimada entre el 96 y 99% (Monaghan, 1994).

Sin embargo, la PPD puede ocasionar falsos positivos, por estar constituida por una gran variedad de antígenos, muchos de los cuales se encuentran altamente conservados en varias especies de micobacterias (Monaghan, 1994). También puede haber falsos negativos asociados a inmunosupresión inicial, estados caquéticos inmunodeficientes, presencia de otras infecciones concomitantes y otros factores como malnutrición, lactancia y gestación. Por otro lado, la prueba no debe ser repetida dentro de los 60 días desde su aplicación para evitar la anergia debido a la desensibilización del tejido presente durante ese periodo de tiempo (Wedlock, 2002). Además, se deben considerar los problemas de índole técnico como el uso de tuberculinas de baja potencia e incorrecta dosificación, aplicación y lectura.

Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina

La Resolución N° 128/2012 del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) establece el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina en Argentina. Dicha resolución establece los lineamientos técnicos y de manejo en los distintos tipos de explotaciones agropecuarias para, de forma gradual, alcanzar la erradicación de la enfermedad en todo el territorio nacional.

Es importante recalcar que la resolución especifica que la prueba de tuberculina intradérmica simple constituye el método estándar para el diagnóstico de TBB en la Argentina, situación que continúa siendo objeto de debates técnicos en la actualidad. Esta prueba consiste en la inyección intradérmica de un derivado proteico purificado de *M. bovis* (PPD bovina) y la evaluación de la reacción cutánea en el sitio de inyección tras un período de tiempo determinado.

Interpretación de resultados.

Sitios de aplicación de la tuberculina. Según la especie que se inocula y la finalidad para la cual se está realizando la prueba, debe seleccionarse el lugar adecuado de aplicación de la tuberculina. En tal sentido, para el caso de la especie bovina las opciones son las siguientes:

1. Prueba anocaudal:

- Es la prueba de rutina, empleada para iniciar los controles en rodeos, se aplica 0.1 ml de PPD bovina al 1% en el pliegue ano-caudal interno, a unos 6 cm de la base de la cola.
- La lectura se realiza a las 72 horas con un margen de tolerancia de +/- 6 horas.
- Existen tres alternativas de resultados:
 - a. Negativo: cuando no hay engrosamiento o el mismo es menor a los 3 mm.
 - b. Sospechoso: cuando el engrosamiento se encuentra entre los 3 y 5 mm.
 - c. Positivo: cuando el engrosamiento es igual o superior a los 5 mm (Imagen 9).

2. Prueba cervical simple:

- Se emplea para dar más seguridad a la eliminación de un positivo por la anterior prueba. Se realiza en el tercio medio de la tabla del cuello, se depila un cuadrado de 5x5cm.
- La lectura se realiza a las 72 horas.
- Existen dos alternativas de resultados:
 - a. Negativo: sin engrosamiento o con engrosamiento menor a los 3 mm.
 - b. Positivo: todo animal con engrosamiento igual o mayor a los 3 mm. En esta técnica desaparece la categoría de sospechoso ya que es confirmatoria de la prueba anocaudal.

3. Prueba cervical comparativa:

- Se emplea en áreas que están en erradicación o ya libres y aparece un animal positivo por las anteriores. Se realiza con ambas tuberculinas PPD bovina y PPD aviar, es para

diferenciar entre positivos por *M. bovis* respecto a los positivos por *M. avium* subesp. *paratuberculosis* o por otros *Mycobacterium*. La PPD aviar, se inocula a unos 10 cm por debajo del borde superior de la tabla del cuello. La PPD bovina se inocula a unos 10 cm más abajo que el punto dado para la PPD aviar y por sobre el surco yugular (Imagen 10).

- La lectura se realiza SETENTA Y DOS (72) horas.
- Existen tres alternativas de resultados:
 - a. Negativo: cuando la respuesta a la PPD bovina es igual o menor de 2 mm de la PPD aviar.
 - b. Sospechoso: cuando la respuesta a la PPD bovina es entre 2 y 4 mm superior que la PPD aviar.
 - c. Positivo: cuando la respuesta a la PPD bovina es igual o mayor a los 4 mm respecto de la PPD aviar. ( [Resolución 128/2012 - Argentina.gob.ar](https://www.argentina.gob.ar/salud/resoluciones/128-2012))



Imagen 9. Bovino positivo a la prueba anocaudal (lecturas de las reacciones).

Fuente: Garbaccio, (2022)

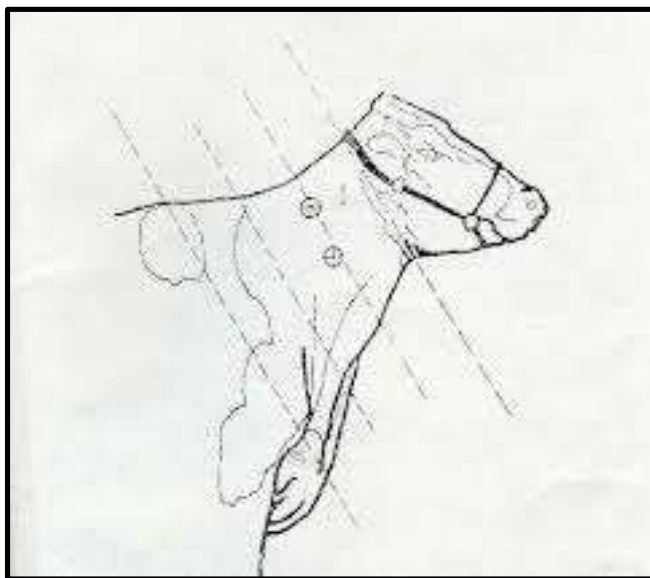


Imagen 10: Sitios de aplicación para prueba cervical comparada.

Fuente: Servicio Agrícola y Ganadero (SAG, 2009).

Saneamiento de establecimientos

El procedimiento de saneamiento de establecimientos es exactamente igual indiferentemente del tipo de actividad a la que se dedica el establecimiento, sólo variando la cantidad de pruebas a realizar en el mismo. Los pasos para alcanzar el estado de Establecimiento Libre de Tuberculosis son los siguientes:

1. Solicitud de inscripción y designación de un médico veterinario acreditado que realizará las pruebas diagnósticas.
2. Se debe informar a la Oficina de SENASA la fecha de realización de las pruebas diagnósticas con una antelación de como mínimo SIETE (7) y máximo de QUINCE (15) días corridos.
3. En el momento de la realización de las pruebas, el médico veterinario acreditado debe tomar todos los recaudos para inocular a la totalidad de los animales del predio, mayores de TRES (3) meses de edad en establecimientos lecheros y cabañas y DOCE (12) meses de edad en establecimientos de carne.
4. La cantidad de pruebas diagnósticas a realizarse para alcanzar el estado de Establecimiento Libre es variable en función de la actividad del establecimiento:
 - a. Sistema productivo de carne: deben realizarse DOS (2) pruebas consecutivas que arrojen resultados negativos (sin reaccionantes).

b. Sistema productivo de tambos y cabañas: deben realizarse TRES (3) pruebas consecutivas que arrojen resultados negativos (sin reaccionantes).

c. Intervalos entre pruebas: mínimo SESENTA (60) días y máximo NOVENTA (90) días, salvo en establecimientos de carne cuyo intervalo mínimo es de SESENTA (60) días y CIENTO OCHENTA (180) días como máximo.

5. En caso de que aparezcan animales positivos, se debe proceder de la siguiente forma:

a. No deben volver a testearse dichos animales, siendo su único destino posible la faena.

b. Los animales deben segregarse y remitirse a faena en un plazo no mayor a TREINTA (30) días. Durante el período que los animales permanezcan en el predio, no se podrán realizar movimientos a destinos diferentes de faena.

c. Los animales deben egresar del establecimiento acompañado del CERTIFICADO DE REACCIONANTES A FAENA, el cual debe contar con los números de identificación de los mismos y ser adjuntado al DT-e que acompaña a los animales.

6. En caso de la aparición de animales sospechosos, se debe proceder de la siguiente forma:

a. Realizar una nueva inoculación a los SESENTA (60) días de la prueba en la que obtuvieron dicho resultado.

b. En caso de persistir el resultado sospechoso, se debe realizar necropsia de dichos animales o remitirlos a faena, para la realización de un examen post-mortem y toma de muestra para diagnóstico bacteriológico/histopatológico.

c. En el caso de que se hayan detectado otros animales positivos durante las pruebas, los sospechosos se tienen que considerar como positivos.

7. Cuando en un establecimiento existan más de UNA (1) Unidad Productiva (UP), para certificar como libre al establecimiento, todas deben realizar las pruebas diagnósticas de sus animales con un intervalo entre las pruebas realizadas por cada UP no mayor a los TREINTA (30) días a contar desde la fecha en que se realizó la primera prueba por alguna de las UP.

8. Una vez realizadas las pruebas diagnósticas, el productor tiene un plazo de TREINTA (30) días para presentar la documentación que avale la realización de las mismas, caso contrario se procederá a la restricción de movimientos de dicho establecimiento.

Ventajas y Desventajas de la Prueba de la Tuberculina

Ventajas:

- Eficacia y practicidad en la detección de TBB: La PPD ha demostrado ser una herramienta eficaz y práctica para la detección de TBB, manteniéndose como el método de elección en muchos programas de control y erradicación (Garro, 2021).
- Capacidad para reducir la prevalencia de la enfermedad en rodeos: La implementación sistemática de la PPD, ha permitido reducir la prevalencia de la TBB en rodeos, facilitando la obtención del estatus de libre de la enfermedad (Carrillo, 1998).
- Aplicación oficial en programas de control y erradicación: La PPD es reconocida oficialmente y aplicada en programas nacionales de control y erradicación de la TBB, siendo una herramienta clave en la vigilancia sanitaria (Garbaccio, 2018).

Desventajas:

- Posibilidad de falsos positivos debido a reacciones cruzadas: La PPD puede generar falsos positivos debido a reacciones cruzadas con micobacterias no tuberculosas, lo que puede complicar la interpretación de los resultados (Oriani, 2021).
- Sensibilidad variable y posibilidad de falsos negativos: La sensibilidad de la PPD puede variar, y en algunos casos, animales infectados pueden no ser detectados, especialmente en etapas avanzadas de la enfermedad donde se presenta anergia (Carrillo, 1998).
- Requiere múltiples intervenciones del animal: La PPD exige al menos dos intervenciones: una para la inoculación y otra para la lectura de la reacción a las 72 horas, lo que puede ser logísticamente desafiante y estresante para los animales (Meikle, 2006).

CAPITULO 4

ELISA INDIRECTO



Fundamentos inmunológicos

La infección por *M. bovis* desencadena, como respuesta inicial en el sistema inmunológico del animal, una respuesta inmune de tipo celular, mediada principalmente por linfocitos T. Este principio inmunológico constituye la base para el uso de la prueba PPD, que representa la principal técnica diagnóstica utilizada en bovinos. A diferencia de esto la técnica de ELISA indirecto, es una técnica inmunológica utilizada principalmente para la detección y cuantificación de anticuerpos específicos frente a un antígeno determinado. Esta técnica permite identificar la presencia de anticuerpos circulantes específicos contra *M. bovis* en suero, proporcionando información útil sobre la exposición o infección activa del animal.

El procedimiento técnico inicia con el recubrimiento de las placas de poliestireno con una solución que contiene antígenos específicos de *M. bovis*, como las proteínas MPB70 y MPB83 (las más utilizadas). Estas proteínas se adhieren firmemente a la superficie del pocillo, formando una capa uniforme tras eliminar el exceso mediante un lavado. Posteriormente, se adiciona el suero del animal a analizar. Si el animal ha estado en contacto con *M. bovis*, el suero contendrá anticuerpos específicos que se unirán al antígeno fijado. Luego de una nueva etapa de incubación y lavado, se añade un anticuerpo secundario (anti globulina anti-IgG bovina) conjugado químicamente con una enzima. Este anticuerpo se reconoce y se une a los anticuerpos del animal que están unidos al antígeno.

A continuación, se incorpora un sustrato cromogénico que reacciona con la enzima, generando un producto coloreado. La intensidad del color desarrollado es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos presentes en la muestra. Esta señal puede evaluarse de forma visual o, preferiblemente, cuantificarse mediante un espectrofotómetro, que mide la densidad óptica de cada pocillo (Tizard, 2009).

Por tanto, aunque no sustituye a las pruebas celulares, el ELISA indirecto tiene un rol inmunológico y diagnóstico complementario crucial, ya que detecta un aspecto diferente de la respuesta inmunitaria frente a *M. bovis*, ayudando a identificar animales que podrían pasar desapercibidos en esquemas de diagnóstico basados únicamente en inmunidad celular.

Sensibilidad y especificidad

Uno de los principales desafíos en la detección de *M. bovis* radica en los falsos negativos obtenidos mediante la PPD, especialmente en animales en estadios avanzados de la enfermedad o con estados anérgicos. En este contexto, el uso del ELISA indirecto como

herramienta complementaria ha demostrado ser una estrategia diagnóstica valiosa, particularmente cuando se aprovecha el llamado "efecto booster" inducido por la PPD.

Este efecto de sensibilización previa, observado entre los días 15 y 20 posteriores a la aplicación de la PPD, consiste en una intensificación de la respuesta humoral, que incrementa la concentración de anticuerpos circulantes específicos contra *M. bovis*. Diversos estudios han evidenciado que la recolección de suero en este intervalo permite una mayor sensibilidad de las pruebas serológicas, posibilitando la detección de animales que, aun estando infectados, presentan resultados negativos a la PPD (Casal, 2014; Fontana, 2018; Souza, 2019). Este fenómeno es especialmente útil en contextos como el de Argentina, donde los animales positivos a la PPD son rápidamente eliminados del sistema productivo, reduciendo las oportunidades para confirmar la infección por métodos complementarios.

En cuanto a los antígenos utilizados en las distintas formulaciones de ELISA, los principales son proteínas recombinantes específicas como MPB70, MPB83, ESAT-6, CFP-10 y el derivado proteico purificado bovino (PPDB). Fontana (2018) incluyó estos antígenos en una prueba validada que alcanzó una sensibilidad del 74,2 % y una especificidad del 94,9 %, utilizando sueros recolectados entre los 15 y 20 días posteriores a la prueba de tuberculina (PPD). Estos resultados destacan la utilidad de combinar múltiples antígenos en la detección serológica de TBB, especialmente en el periodo posterior a la estimulación con tuberculina (Fontana, 2018).

Por su parte, Souza (2019) desarrolló un antígeno quimérico recombinante basado en la fusión de ESAT-6, MPB70 y MPB83. En este estudio, los sueros fueron recolectados 7 días después de la realización de una prueba PPD comparativa, permitiendo evaluar la respuesta inmunológica donde la prueba de ELISA reportó una sensibilidad de 79,5% y una especificidad de 75,5% (Souza, 2019).

Griffa basándose en los hallazgos de Casal (2014), demostró una mayor eficacia diagnóstica al aplicar un ELISA comercial entre 1 y 3 semanas después de la prueba de PPD, de esta manera, adaptó este enfoque estratégico para potenciar la respuesta serológica a través de un posible efecto booster. En su estudio, la prueba ELISA fue aplicada entre los días 15 y 17 posteriores a la PPD, empleando como antígeno una mezcla antigénica derivada de un extracto de la cepa de referencia AN5. Esta formulación permitió aumentar la detección de animales infectados, alcanzando una sensibilidad del 83,72% y una especificidad del 95,95%. Los resultados evidencian la eficacia de este enfoque combinado, destacando la utilidad del ELISA como herramienta complementaria para mejorar la detección de TBB en contextos donde la PPD presenta limitaciones diagnósticas.

En conjunto, estos resultados apoyan la utilización estratégica del ELISA indirecto como técnica complementaria a la PPD, especialmente cuando se considera el momento óptimo de recolección del suero para aprovechar el efecto booster. Su aplicación permite no sólo incrementar la sensibilidad del diagnóstico, sino también identificar animales infectados que escapen a la vigilancia oficial, contribuyendo significativamente al control de la TBB en escenarios de alta prevalencia (Griffa, 2021).

A pesar de estos avances, es importante señalar que el ELISA indirecto presenta, en términos generales, una menor sensibilidad que las técnicas que evalúan la respuesta inmunitaria celular. No obstante, diversos estudios han demostrado que los ensayos serológicos pueden constituir herramientas auxiliares valiosas, ya que permiten incrementar la detección de animales infectados y favorecer el control de la tuberculosis tanto en especies domésticas como silvestres (Casal et al., 2017; Thomas & Chambers, 2021). En particular, estos métodos resultan útiles para identificar animales anérgicos, que no responden adecuadamente a técnicas inmunológicas basadas en células, por lo que su incorporación como complemento diagnóstico adquiere especial relevancia.

Ventajas y desventajas

Ventajas:

- Permite evaluar la inmunidad humoral en etapas avanzadas de la enfermedad, complementándose con pruebas basadas en inmunidad celular (Pollock, 2002).
- Complementa la PPD mejorando su sensibilidad diagnóstica (Griffa 2021).
- Permite el procesamiento de grandes cantidades de muestras.

Desventajas:

- Baja sensibilidad en etapas tempranas de la enfermedad (Griffa 2021).
- Variabilidad de sensibilidad y especificidad según el antígeno utilizado (Souza, 2019).
- Resultados influenciados por el momento de aplicación respecto a la PPD (Casal, 2014).

CAPITULO 5

Saneamiento de rodeos bovinos



La TBB continúa siendo una enfermedad prevalente en numerosos rodeos del país. Para su control y saneamiento, la PPD constituye el método de diagnóstico estándar, dado que la enfermedad se encuentra regulada mediante normativa sanitaria nacional. Sin embargo, esta prueba presenta limitaciones diagnósticas, ya que no siempre permite identificar a todos los animales verdaderamente infectados, particularmente en casos de anergia o infecciones avanzadas.

En este contexto, la técnica de ELISA indirecto surge como una herramienta complementaria de interés. A diferencia de la PPD, que evalúa la respuesta inmune celular, el ELISA se basa en la detección de anticuerpos específicos contra *M. bovis*, es decir, mide la respuesta inmune humoral. Esta diferencia en el fundamento inmunológico permite abordar la infección desde otro enfoque y potencialmente mejorar la detección de animales infectados que evaden la prueba oficial.

En este marco, resulta relevante considerar que el presente trabajo también tiene como objetivo analizar el potencial del ELISA indirecto como herramienta complementaria a la PPD, evaluando en qué medida su incorporación podría mejorar la exactitud diagnóstica y contribuir al saneamiento del rodeo. Este enfoque permite discutir el rol del ELISA dentro de estrategias integradas de control, especialmente cuando la PPD presenta limitaciones para detectar todos los animales infectados. Resulta importante resaltar que el propósito de la combinación de pruebas diagnósticas es mejorar la exactitud del diagnóstico, minimizando la ocurrencia de falsos positivos y/o negativos.

En el diagnóstico de TBB, la combinación de pruebas PPD–ELISA se puede aplicar bajo un esquema en paralelo o en serie. En este caso en particular, el TFG propone una metodología en serie, utilizando en primera instancia la PPD como prueba estándar y posteriormente la prueba ELISA. Los animales positivos son eliminados del rodeo, y el ELISA se utiliza únicamente sobre los animales que resultan negativos. Esto diferencia a la TBB de otros esquemas en serie, donde solo se reevalúan los positivos de la primera prueba.

Debido a esta dinámica diagnóstica, el análisis se centra en el Valor Predictivo Negativo (VPN), entendido como la probabilidad de que un animal con resultado negativo esté realmente sano. El enfoque en el VPN permite evaluar cómo la combinación PPD–ELISA puede aumentar la sensibilidad y la especificidad del sistema diagnóstico, contribuyendo a reducir la prevalencia de la enfermedad en el establecimiento.

Se entiende por rodeo SENASA (2012), al conjunto de animales bovinos que coexisten en un mismo establecimiento, bajo un sistema de producción determinado. Dicho sistema define los manejos reproductivo, sanitario y nutricional que se aplican sobre los animales.

Saneamiento en rodeos lecheros

Con el fin de evaluar el comportamiento diagnóstico del ELISA indirecto frente a la prueba oficial PPD, se analizaron datos proporcionados por un laboratorio de diagnóstico veterinario “Diagnósticos NG”, procedentes de tres unidades de producción lechera bovina localizadas en el área de la Cuenca Lechera Central (Santa Fe Centro), provincia de Santa Fe, Argentina. Monitoreados a lo largo del tiempo, desde noviembre del 2022 hasta mayo de 2025. Estos rodeos presentan particularidades productivas y sanitarias propias, y fueron evaluados mediante ambas técnicas, PPD y ELISA indirecto, lo que permitió observar la evolución de la prevalencia de TBB en cada caso. A partir de estos datos, se describen brevemente las características de cada rodeo evaluado y, posteriormente, se presentan en forma gráfica los resultados obtenidos, destacando las proporciones de animales positivos detectados por cada prueba.

Los cálculos se realizaron en una cantidad aproximada de animales según el grado de encierre en cada momento de toma de muestra, ya sea aplicación de PPD o realización de toma de muestra de sangre para serología.

La PPD se llevó a cabo una vez realizado el protocolo de saneamiento cada 90 días y a los 15 días posteriores se procedió con la toma de muestra de sangre para la determinación de anticuerpos mediante la técnica de ELISA indirecto.

A continuación, se presentan y analizan los resultados obtenidos en tres rodeos bovinos con diferentes antecedentes sanitarios y grados de avance en el proceso de control de la TBB. Estos casos permiten contrastar distintas situaciones epidemiológicas y productivas, así como evaluar el potencial de la técnica de ELISA indirecto como herramienta complementaria dentro de los programas de saneamiento.

En este sentido, se describen los siguientes establecimientos: **Rodeo 1**, correspondiente a un rodeo problema con alta prevalencia inicial; **Rodeo 2**, con antecedentes de saneamientos recientes mediante la prueba de tuberculina; y **Rodeo 3**, con un largo historial de intervención y control sanitario sostenido.

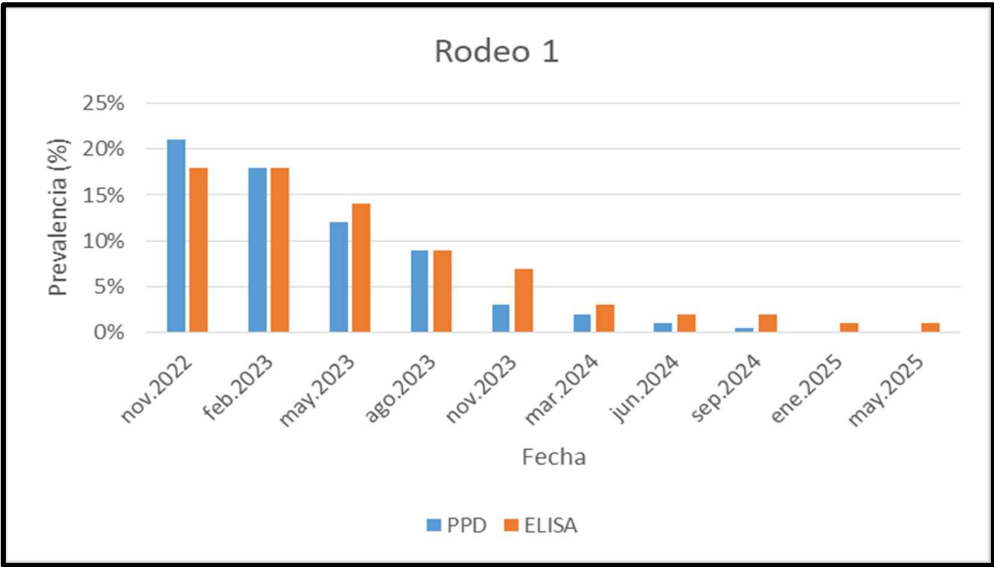
Rodeo 1

Corresponde a un establecimiento identificado como rodeo problema, caracterizado por presentar una alta prevalencia de TBB estimada en alrededor del 20% al inicio del estudio. A partir de esta situación inicial, se implementaron medidas de saneamiento activas, basadas en la aplicación sistemática de pruebas diagnósticas, como la PPD y el ELISA indirecto, con el

objetivo de reducir progresivamente la carga infecciosa del rodeo. Los gráficos correspondientes reflejan la evolución de los resultados de ambas pruebas a lo largo del tiempo, permitiendo visualizar el impacto del proceso de saneamiento sobre la dinámica de la enfermedad en el establecimiento (gráfico 1).

Gráfico 1. Seguimiento del saneamiento en rodeo con alta prevalencia de TBB: A partir de datos cedidos por Laboratorio “Diagnóstico NG”. Cantidad de animales: 450-500 aproximadamente.

Fuente: Elaboración propia.

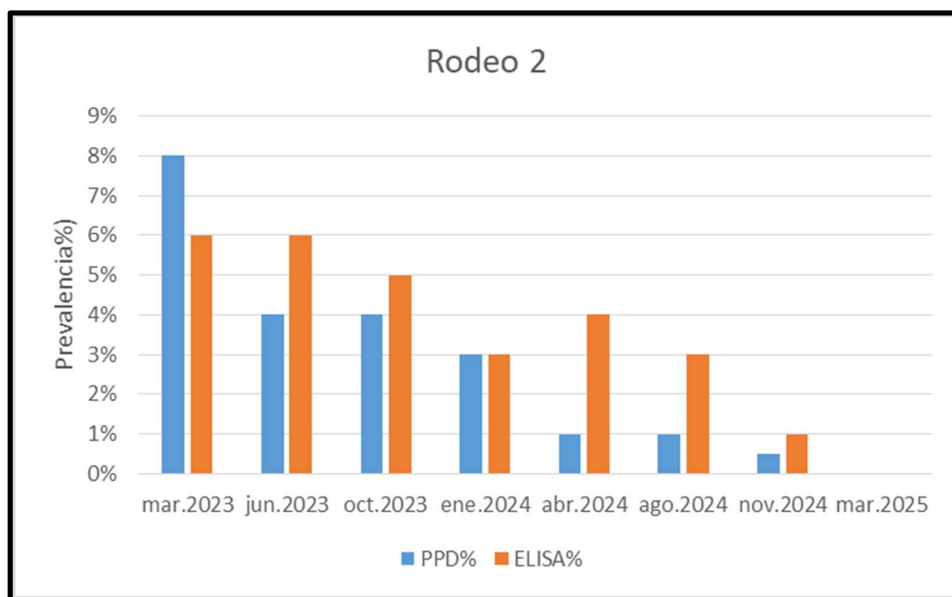


Rodeo 2

Representa un establecimiento con historial previo de saneamiento, en el cual ya se habían aplicado estrategias de control basadas en la PPD. Al momento de incorporar la prueba ELISA indirecto como herramienta complementaria, el rodeo presentaba una prevalencia intermedia (8-10%) de TBB, lo cual permite observar cómo esta técnica se integra en un contexto de control ya iniciado, reforzando el seguimiento y la identificación de animales reactivos. Los datos gráficos permiten analizar el efecto del uso combinado de pruebas en un rodeo en proceso de saneamiento (Gráfico 2).

Gráfico 2. Evolución del saneamiento en rodeos con historial de PPD: A partir de datos cedidos por Laboratorio “Diagnóstico NG”. Cantidad de animales: 200-300 aproximadamente.

Fuente: Elaboración propia.

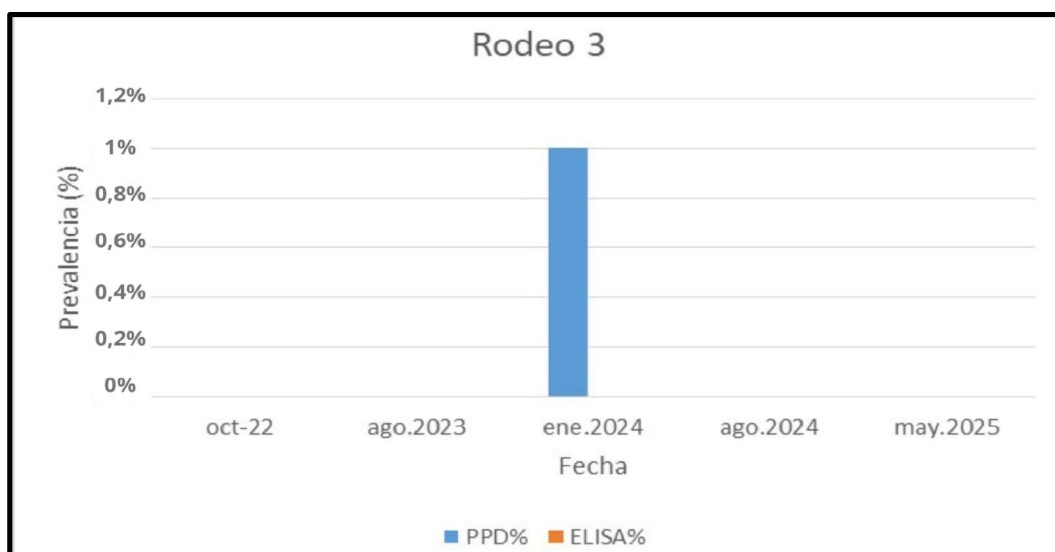


Rodeo 3

Corresponde a un establecimiento con una extensa trayectoria en acciones de saneamiento, donde la prevalencia inicial de TBB era relativamente baja (1%) al momento de implementar el ELISA. En este caso, el objetivo fue profundizar las acciones de control para reducir la prevalencia a valores mínimos, optimizando la detección de animales infectados residuales mediante el uso complementario del ELISA indirecto. Los datos mostrados en el gráfico 3 reflejan esta etapa avanzada del saneamiento, destacando la utilidad del enfoque serológico como refuerzo en situaciones de baja carga infecciosa.

Gráfico 3. Evolución del saneamiento en rodeos con historial sostenido de PPD: A partir de datos cedidos por “Laboratorio Diagnóstico NG”. Cantidad de animales: 1000-1200 aproximadamente.

Fuente: Elaboración propia.



Los resultados obtenidos en los tres rodeos lecheros evidencian que la aplicación conjunta de las pruebas PPD y ELISA indirecto ofrece ventajas concretas en contextos sanitarios diversos. En el rodeo problema, con alta prevalencia de TBB, esta estrategia contribuyó a disminuir la carga infecciosa y acelerar el proceso de saneamiento; en el rodeo con historial de saneamiento, reforzó la detección de animales positivos y consolidó el control ya iniciado; mientras que en el rodeo con baja prevalencia permitió identificar animales anérgicos, fortaleciendo la vigilancia en etapas avanzadas. En conjunto, estos resultados demuestran que la integración de ambas pruebas diagnósticas potencia las acciones de control y saneamiento, resultando útil y adaptable a diferentes realidades productivas dentro del sector lechero.

Saneamientos en rodeos de carne

En este apartado se propone un plan de saneamiento para un rodeo de carne, perteneciente a un establecimiento ganadero ubicado en la región patagónica, específicamente en el Departamento Avellaneda de la provincia de Río Negro. Se trata de un rodeo con servicio estacionado, con infraestructura adecuada para la aplicación de medidas sanitarias (corrales, manga, registros) y, fundamentalmente, con una predisposición activa por parte del productor para avanzar hacia la erradicación de la TBB.

Con la propuesta de saneamiento, el establecimiento realizó por primera vez la prueba de PPD, detectando una prevalencia inicial aproximada del 20%, a partir de la cual se estableció un protocolo de intervención sanitaria. A partir de este diagnóstico, se planteó la

implementación de un plan de manejo progresivo, que combinara el uso de PPD y ELISA indirecto como herramientas complementarias, con el objetivo de reducir significativamente la prevalencia de la enfermedad y avanzar hacia un rodeo libre de TBB.

El manejo reproductivo del establecimiento se organiza mediante un servicio estacionado en los meses de octubre, noviembre y diciembre para las vacas, mientras que las vaquillonas ingresan al servicio a los 24 meses, durante los meses de julio y agosto, lo cual permitió estructurar sanitariamente los lotes con base en categorías y momentos clave del ciclo productivo.

En función de esta dinámica de manejo, se diseñó un calendario estratégico de aplicación de técnicas diagnósticas, que contemplara los momentos más adecuados para realizar las pruebas sanitarias, facilitando la detección y eliminación de animales positivos, sin interferir con los eventos productivos críticos como el servicio, el tacto o el destete.

Este esquema de trabajo se presenta como una guía práctica de intervención, adaptada a las condiciones de producción locales, y contempla tanto las decisiones técnicas como la planificación estratégica necesarias para el saneamiento efectivo del rodeo.

Año 1 – Inicio del saneamiento (prevalencia inicial: 20%)

1. Marzo - Diagnóstico de gestación.

- Realización de PPD a la totalidad del rodeo (vaca y vaquillona que entra a servicio en julio-agosto).
- Eliminación del establecimiento de los animales positivos.
- Coincidencia con el diagnóstico de gestación, facilitando la logística del manejo.

2. Septiembre - Pre-servicio, con ternero al pie.

- Repetición de PPD a todos los animales (vaca con ternero al pie y vaquillona preñada).
- Eliminación del establecimiento de los animales positivos.
- Identificación y eliminación de cría hembra de cada vaca positiva, para evitar continuar con la infección en la reposición.

Año 2 – Ajuste según resultados.

Evaluación en enero: En caso de que la prevalencia se mantenga superior al 10%, se incorpora una tercera aplicación anual de PPD, realizada en el mes de enero a vacas y vaquillonas preñadas. Esta estrategia se implementa de forma transitoria, hasta alcanzar niveles de prevalencia inferiores al 10%, con el objetivo de acelerar la detección y eliminación de animales positivos.

A partir del segundo año (prevalencia >10%). Se establecen tres puntos de control anuales:

- Enero: Control sanitario estratégico utilizando PPD.
- Marzo: Tacto y diagnóstico de gestación.
- Septiembre: Pre-servicio.

En cada control:

- Realización de PPD a todo el rodeo.
- Eliminación de animales positivos a PPD.
- Identificación y eliminación de cría hembra de cada vaca positiva, la cual no se deja para reposición.

Reducción de prevalencia (<10%) e incorporación de ELISA.

- Incorporación de ELISA indirecto como técnica complementaria cuando la prevalencia de TBB descienda por debajo del 10%.
- Realización de ELISA a las vacas, a los 15 días posteriores a cada PPD.
- No se realiza ELISA en vaquillonas, ya que no está recomendada en animales jóvenes que aún podrían no haber desarrollado anticuerpos contra la enfermedad.
- Esta estrategia se mantiene de manera rutinaria en cada ciclo diagnóstico, hasta alcanzar prevalencias inferiores al 1% o la ausencia de positivos en diagnósticos consecutivos.

En la Imagen 11 se esquematiza la evolución esperada del proceso de saneamiento del rodeo. Según este modelo, el programa podría extenderse por aproximadamente cinco años, partiendo de una prevalencia inicial cercana al 20 %. Se proyecta una reducción progresiva, alcanzando alrededor del 5 % hacia el tercer año y valores inferiores al 1 % al finalizar el quinto año. Esta evolución refleja el impacto acumulativo de las pruebas sucesivas de PPD y la incorporación del ELISA indirecto como herramienta complementaria para acelerar la detección y eliminación de animales infectados.

Además, lo realizado en este establecimiento podría llevarse a cabo sin mayores dificultades a otros rodeos de la zona que tengan un manejo y una situación sanitaria parecida, siempre que se mantenga un esquema ordenado de diagnósticos y un seguimiento constante del plan de saneamiento.

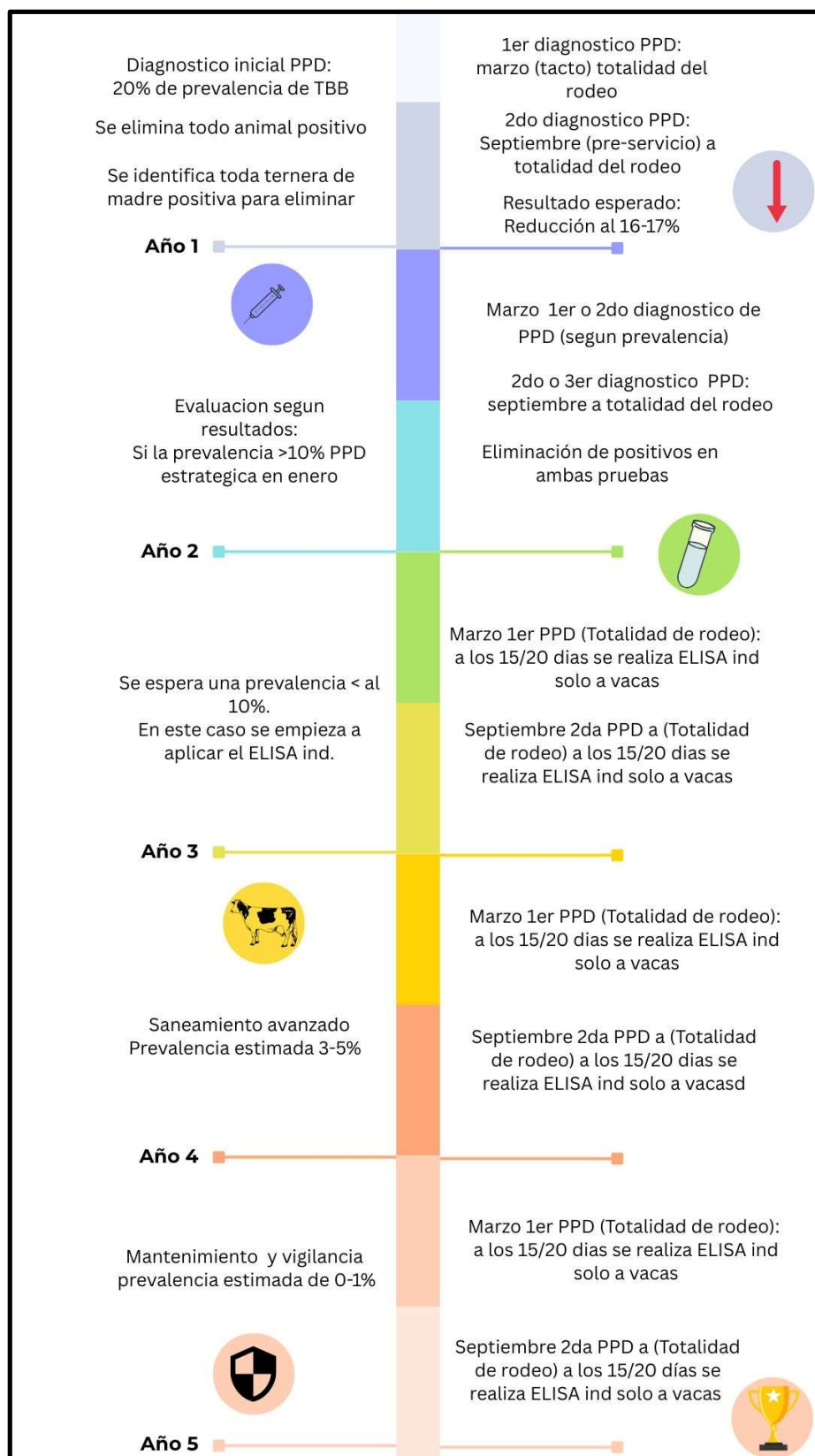


Imagen 11: Plan de erradicación TBB en rodeo de carne. Fuente: propia.

CONCLUSIONES

A lo largo del presente TFG se ha analizado la técnica de ELISA indirecto como una herramienta diagnóstica complementaria para la detección de TBB tanto en rodeos lecheros como de carne. Si bien la PPD continúa siendo el método de referencia, múltiples autores coinciden en que el uso del ELISA como complemento permite aumentar la sensibilidad diagnóstica, especialmente en animales en etapas avanzadas de infección o con respuestas inmunitarias comprometidas.

Entre las principales ventajas del ELISA se destacan su carácter no invasivo, la posibilidad de implementación de muestreos masivos y su potencial para acortar los tiempos de saneamiento al detectar animales que podrían pasar desapercibidos con el método tradicional. Esto representa una herramienta estratégica, sobre todo en rodeos donde la persistencia de animales positivos impide avanzar hacia un rodeo libre de TBB.

A su vez, la implementación requiere un laboratorio con capacidad técnica adecuada, personal entrenado y una logística organizada para el muestreo y transporte de las muestras, elementos que no siempre están disponibles en regiones alejadas o de baja densidad ganadera, como ocurre en algunas zonas de la Patagonia.

La incorporación del ELISA indirecto debe considerarse dentro de un enfoque integral de control y erradicación, especialmente en establecimientos donde la PPD por sí sola no ha logrado resultados satisfactorios. Su aplicación estratégica, acompañada por un plan sanitario bien estructurado, una adecuada planificación y el compromiso del equipo de trabajo, permite acelerar los tiempos de saneamiento y disminuir el impacto productivo de la enfermedad.

Asimismo, la adopción del ELISA indirecto como herramienta complementaria a la técnica de PPD representa una oportunidad para fortalecer las estrategias diagnósticas y reducir la persistencia de animales positivos en los rodeos. Para alcanzar resultados sostenibles, será fundamental generar confianza entre los actores del sistema productivo y continuar evaluando su desempeño en distintos escenarios. De este modo, el uso combinado de ambas metodologías diagnósticas no solo contribuye a mejorar el estatus sanitario, sino que también potencia la eficiencia y competitividad del sector ganadero a mediano y largo plazo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alonso, N., Griffa, N., Moyano, R. D., Mon, M. L., Olivieri, M. A. C., Barandiaran, S., ... & Romano, M. I. (2021). Desarrollo de una prueba de inmunocromatografía de flujo lateral para la detección rápida de tuberculosis bovina. *Revista de métodos inmunológicos*, 491, 112941.
2. Arentz, M., & Hawn, T. R. (2007). Infección tuberculosa: perspectivas desde la inmunogenómica. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 4(4), 231–236.
3. Bigi, F. (1998). Identificación y caracterización de antígenos de *Mycobacterium bovis* (Tesis doctoral). Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
4. Canal Didier, A. M. (2013). Tuberculosis bovina: vigilancia epidemiológica en mataderos de la provincia de Santa Fe (Argentina) y evaluación de la respuesta inmune en lesiones granulomatosas de animales infectados.
5. Carrillo, B. J. (1998). Diagnóstico de tuberculosis bovina: comparación de técnicas in vivo e in vitro. *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*, 52, 1–10.
6. Casal, C., Díez-Guerrier, A., Álvarez, J., Rodríguez-Campos, S., Mateos, A., Linscott, R., ... & Aranaz, A. (2014). Strategic use of serology for the diagnosis of bovine tuberculosis after intradermal skin testing. *Veterinary Microbiology*, 170(3-4), 342-351.
7. Casal, C., Infantes, J. A., Risalde, M. A., Díez-Guerrier, A., Domínguez, M., Moreno, I., ... & Bezos, J. (2017). Las pruebas de detección de anticuerpos mejoran la sensibilidad del diagnóstico de tuberculosis en bovinos. *Research in Veterinary Science*, 112, 214–221.
8. César, D., & Agropecuario, P. (2016). Tuberculosis bovina. No debemos descuidarla. *Bienestar y Salud Animal*, 42.
9. Crubézy, E., Ludes, B., Poveda, J. D., Clayton, J., Crouau-Roy, B., & Montagnon, D. (1998). Identificación del ADN de *Mycobacterium* en una enfermedad de Pott egipcia de 5400 años de antigüedad. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Serie III - Sciences de la Vie*, 321(11), 941–951.

10. Daniel, T. M. (2000). Los orígenes y la epidemiología precolonial de la tuberculosis en las Américas: ¿podemos comprenderlos? *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 4(5), 395–400.
11. Davis, B. D., Dulbecco, R., Eisen, H. N., Ginsberg, H. S., & Wood, W. B. (1980). *Tratado de microbiología: con inclusión de inmunología y genética molecular*.
12. De Kantor, I. N. (1988). Bacteriología de la tuberculosis. *Boletín Epidemiológico*, (11), 26–35.
13. De SOUZA, I. I. F., de Arruda Rodrigues, R., Jorge, K. S. G., Silva, M. R., Lilenbaum, W., Vidal, C. E. S., ... & Araujo, F. R. (2019). ELISA using a recombinant chimera of ESAT-6/MPB70/MPB83 for *Mycobacterium bovis* diagnosis in naturally infected cattle. *Journal of Veterinary Medical Science*, 81(1), 9-14.
14. Didier, A. M. C., & María, A. (2012). *Tuberculosis bovina: vigilancia epidemiológica en mataderos de la provincia de Santa Fe (Argentina) y evaluación de la respuesta inmune en lesiones granulomatosas de animales infectados (Tesis doctoral)*. Universidad Complutense de Madrid.
15. Esquivel Venegas, D., & Martínez Aranda, E. (2012). *Tuberculosis bovina*.
16. Fontana, S., Pacciarini, M., Boifava, M., Pellesi, R., Casto, B., Gastaldelli, M., ... y Boniotti, MB (2018). Desarrollo y evaluación de dos ensayos serológicos multiantígenos para el diagnóstico de tuberculosis bovina en ganado. *Journal of Microbiological Methods*, 153, 118-126.
17. Garro, C. J. (2021). Prueba de la tuberculina: eje central para la detección de tuberculosis en bovinos. *CDVet*, 7(13), 6–8.
18. Garbaccio, S. G., Benardelli, A., Zumárraga, M. J., Oriani, D. S., Magnano, G. G., Garro, C., ... & Traversa, M. J. (2022a). *Tuberculosis bovina: Aspectos sobresalientes*.
19. Garbaccio, S. G., Canal, A. M., Zumárraga, M. J., Benardelli, A., Garro, C., Paolicchi, F. A., ... & Eirin, M. E. (2022b). *Tuberculosis Bovina: Actualización en el diagnóstico*.
20. Garbaccio, S. G., Delgado, F. O., Zumárraga, M. J., Rodríguez, L., Huertas, P. S., & Garro, C. J. (2018). Diagnóstico bacteriológico de tuberculosis bovina en bovinos reactivos positivos a la prueba tuberculínica. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 44(1), 69–75.
21. Good, M., Bakker, D., Duignan, A., & Collins, D. M. (2018). Historia de la prueba de tuberculina in vivo en bovinos: tuberculosis, un problema de “Una Sola Salud”. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 59.

22. Griffo, N., Romano, M., Colombatti, A., Alonso, N., Moyano, R., Soutullo, A., Magnano, G., Zumárraga, M., Martínez Vivot, M., Traveria, G., & Alvarado Pinedo, F. (2021). Tuberculosis bovina: ¿Podremos erradicarla? InforTambo, 380, 32–43.
23. Iseman, M. D. (2000). Una guía clínica sobre la tuberculosis.
24. Meikle, M. V. (2006). Identificación de antígenos de *Mycobacterium bovis* para su aplicación en el diagnóstico de la tuberculosis bovina (Tesis doctoral). Universidad Nacional de La Plata.
25. Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA). (s.f.). Tuberculosis bovina. Recuperado de <https://www.woah.org/es/enfermedad/tuberculosis-bovina/>
26. Oriani, D. S., Gastaldo, M. F., Tortone, C. A., Saskevich, A. S., Ramirez, P., Valle, H., Fernández, E., Millahueque, Y., Lucero Arteaga, F., & Ciperiani, F. (2021). Reacciones inespecíficas de las micobacterias no tuberculosas (MNT) en el diagnóstico de la tuberculosis bovina. Vetec, 1(1), 1–10.
27. Pollock, JM, Rodgers, JD, Welsh, MD y McNair, J. (2006). Patogénesis de la tuberculosis bovina: el papel de los modelos experimentales de infección. Microbiología veterinaria, 112 (2-4), 141-150.
28. Rastogi, N., Legrand, E., & Sola, C. (2001). Introducción a la nomenclatura y la patogénesis de las micobacterias. Revista Científica y Técnica de la OIE, 20(1), 21–54.
29. Rivera, S., & Giménez, J. F. (2010). La tuberculosis bovina en Venezuela: patogénesis, epidemiología, respuesta inmune y nuevas alternativas para el diagnóstico. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 11(9), 1–27.
30. Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). (2019). Pruebas diagnósticas para la tuberculosis bovina.
31. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. (2012). Resolución 128/2012: Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina.
32. Soto Requena, L. R. (2007). Prueba de interferón gamma como prueba confirmatoria para el diagnóstico de la tuberculosis bovina.
33. Thomas, R., & Chambers, M. (2021). Review of methods used for diagnosing tuberculosis in captive and free-ranging non-bovid species (2012–2020). *Pathogens*, 10(5), 584.
34. Tizard, I. R. (2009). Inmunología veterinaria: Introducción (8.^a ed.). St. Louis, MO: Saunders.

35. Vera Salmoral, E. S. (2024). Estudio del rendimiento diagnóstico de diversas técnicas moleculares para la detección del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* en ganado bovino.
36. Zumárraga, M. J., & Cataldi, A. A. (2007). Epidemiología molecular de la tuberculosis bovina