





Estimación indirecta de las variaciones en la respuesta inmune celular y humoral en tuberculosis bovina; experiencia a campo

Indirect estimation of variations in cellular and humoral immune responses in bovine tuberculosis; field experience

DOI: <https://doi.org/10.63207/ai.v9i17.197>

Mauro Mació*¹ , Fernando Martino², Tomás Martino², Florencia Tonini², Gabriel Magnano¹ , Erika Sticotti¹ , Keisy Montechiari³, Analía Macias¹ 

1. Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina.
2. Estudio Veterinario AVIS, Suardi, Santa Fe.
3. Montechiari Agroindustria, Córdoba, Argentina.

Resumen. La tuberculosis bovina, causada por *Mycobacterium bovis*, presenta una dinámica inmunológica compleja en la cual la respuesta celular predomina en las etapas tempranas, mientras que la respuesta humoral se vuelve más evidente a medida que la infección progresa. Sin embargo, bajo condiciones de campo, estas respuestas pueden mostrar variabilidad e intermitencia. El objetivo de este estudio fue evaluar de manera indirecta la evolución de ambas respuestas mediante repeticiones periódicas de la intradermoreacción (IDR) y un ELISA indirecto (ELISAI) en el rodeo sanitario de un establecimiento lechero naturalmente infectado. Se conformaron dos grupos: animales que ingresaron positivos a IDR (n=79) y animales que ingresaron positivos a ELISAI (n=40). A cada grupo se le repitió la misma técnica en cuatro oportunidades durante diez meses. En el grupo IDR, solo el 20% mantuvo la positividad en todas las repeticiones, mientras que el 80% mostró negativización o patrones erráticos. En el grupo ELISAI, el 40% permaneció positivo, aunque el 60% evidenció fluctuaciones. Estos resultados indican que ambas técnicas pueden exhibir comportamientos no esperados en campo, reforzando la necesidad de interpretarlas de manera integrada y evitar su repetición en animales previamente clasificados como positivos.

Palabras clave: intradermoreacción, *Mycobacterium bovis*, ELISA indirecto, diagnóstico in vivo.

Abstract. Bovine tuberculosis, caused by *Mycobacterium bovis*, presents a complex immunological dynamic in which the cellular response predominates during the early stages, while the humoral response becomes more evident as the infection progresses. However, under field conditions, these immune responses may show variability and intermittence. The objective of this study was to indirectly evaluate the evolution of both responses through periodic repetitions of the tuberculin skin test (TST) and an indirect ELISA (iELISA) in the sanitary herd of a naturally infected dairy farm. Two groups were formed: animals that entered the sanitary herd as TST-positive (n = 79) and animals that entered as iELISA-positive (n = 40). Each group underwent four repetitions of the same diagnostic technique over a ten-month period. In the TST group, only 20% remained positive in all repetitions, while 80% showed negativization or erratic patterns. In the iELISA group, 40% remained positive, although 60% exhibited fluctuations. These results indicate that both techniques may display unexpected behavior under field conditions, reinforcing the need to interpret them in an integrated manner and to avoid repeating them in animals previously classified as positive by either method.

Keywords: Intradermal tuberculin test, *Mycobacterium bovis*, Indirect ELISA, In vivo diagnosis.

Recibido: 11/12/25 Aceptado: 13-5-26 Publicado: 25/6/2026

*Autor para correspondencia: Mauro Mació, mmacio@ayv.unrc.edu.ar; Ruta 36 Km 601, Río Cuarto Argentina (CP5800), Ruta Nacional 36, Km. 601, 5804 Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

Esta obra está bajo licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es_AR

La tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad crónica provocada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) (OMSA, 2025). Observaciones a campo y experimentales, demuestran un amplio espectro de la respuesta inmune en bovinos infectados. Se considera que inicialmente predomina la respuesta de tipo celular y a medida que la enfermedad progresa, se hace más evidente la respuesta humoral por anticuerpos (Pollock y Neill, 2002). Estudios posteriores coinciden que, con el avance de la infección, existe una tendencia a la baja en este tipo de respuesta con cierto grado de intermitencia (Welsh *et al.*, 2005; de la Rúa Domenech, 2006; Holder *et al.*, 2024).

Bajo determinadas circunstancias, en casos de TBB muy avanzada y posiblemente diseminada, el ganado puede volverse anérgico, condición durante la cual los animales no tienen respuesta inmune celular detectable, pero pueden tener altos niveles de anticuerpos circulantes (Welsh *et al.*, 2005). Por otro lado se ha demostrado en algunos trabajos que la repetición de la intradermorreacción (IDR) genera una desensibilización, con lo cual un animal infectado puede resultar falso-negativo tras sucesivas pruebas (Schneider *et al.*, 2007; Coad *et al.*, 2010); esto se traduce en la clara recomendación de no repetir el diagnóstico por IDR en animales positivos.

Durante muchos años, la investigación sobre la inmunología de la tuberculosis se ha centrado en el estudio de la respuesta celular mediante la utilización de la prueba cutánea de tuberculina o IDR. Este es el método estándar de diagnóstico en animales domésticos vivos (OMSA, 2025).

En los últimos años, se ha comenzado a desentrañar aspectos poco conocidos de la respuesta inmunitaria humoral y de células B en esta enfermedad. Las pruebas basadas en anticuerpos han surgido como herramientas potencialmente complementarias para la detección de animales infectados con tuberculosis (Casal *et al.*, 2017). Nuevas tecnologías, entre ellas las pruebas de ELISA indirecto (ELISAI), han permitido descubrir diversas funciones de las células B y los anticuerpos en la inmunidad. Las técnicas de diagnóstico serológico ofrecen la ventaja de poder detectar animales infectados que no se detectan con técnicas basadas en la respuesta inmunitaria celular (Klepp *et al.*, 2024).

En Argentina, la reglamentación vigente reconoce únicamente a la IDR como técnica oficial para el diagnóstico in vivo; indicando además que a todo animal positivo a la misma, debe ser enviado a faena (SENASA, 2012). En la actualidad se ofrece comercialmente el diagnóstico mediante técnicas de ELISAI como apoyo al saneamiento en animales IDR negativos. Aunque las mismas aún no han sido validadas en nuestro país (Garbaccio *et al.*, 2022).

Respecto a la respuesta humoral, hay pocos estudios sobre su comportamiento en infecciones naturales y condiciones de campo. Los estudios experimentales sugieren que una vez que la respuesta humoral se instala hacia la última etapa de la infección, los títulos de anticuerpos se sostienen e incluso aumentan (Welsh *et al.*, 2005; Carneiro *et al.*, 2021; Klepp *et al.*, 2024).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la dinámica de la inmunidad celular y humoral de manera indirecta mediante repeticiones periódicas de las pruebas de IDR y ELISAI en un establecimiento lechero con TBB.

El trabajo se desarrolló en un rodeo bovino lechero, de aproximadamente 500 vacas en ordeño, ubicado al suroeste de la provincia de Córdoba, Argentina, que contaba con diagnóstico de TBB confirmado por lesiones compatibles, aislamiento de *M. bovis* y PCR.

Se realizó inicialmente el diagnóstico por IDR, con 0.1 ml de derivado proteico purificado (PPD) bovino en el pliegue anocaudal interno a todas las vacas. Los resultados de la IDR se interpretaron según la reglamentación vigente; en campos infectados, animales con diferencias mayores a 3mm se consideran positivos (SENASA 2012). Aquellas que resultaron negativas, se les extrajo sangre a los 14 días pos inoculación del PPD y se les realizó una técnica de ELISAI desarrollada por Griffa *et al.* (2020). La muestra de sangre se recolectó en ese momento ya que varios estudios indican que es coincidente con la estimulación máxima de la respuesta inmune humoral (Casal *et al.*, 2017; Waters *et al.*, 2015; Griffa, *et al.*, 2020). Todos los animales positivos a alguna de las técnicas fueron trasladados a un campo colindante (rodeo sanitario) donde se realizó el presente ensayo.

Quedaron conformados dos grupos según ingresaron por ser positivas a IDR (n= 79) o a ELISAi (n= 40). A partir de este momento, se repitió a cada grupo la prueba diagnóstica correspondiente en 4 oportunidades (1ra, 2da, 3ra, 4ta) con un intervalo de 90 días entre cada repetición.

En cada grupo, se analizaron los resultados de las 4 repeticiones de la IDR o ELISAi a cada animal según correspondiera.

Sobre la base de las curvas inmunitarias descritas por Pollock y Neill (2002), lo esperado para el grupo IDR, es que los animales se mantengan como positivos o pasen a ser negativos de manera definitiva. Los ingresados por ELISA deberían mantenerse positivos en el tiempo (Figura 1). Para ambos grupos se consideró comportamiento errático aquellos animales que respondieron de manera impredecible o que reaccionaron diferente a la secuencia esperada en los 4 momentos de diagnóstico.

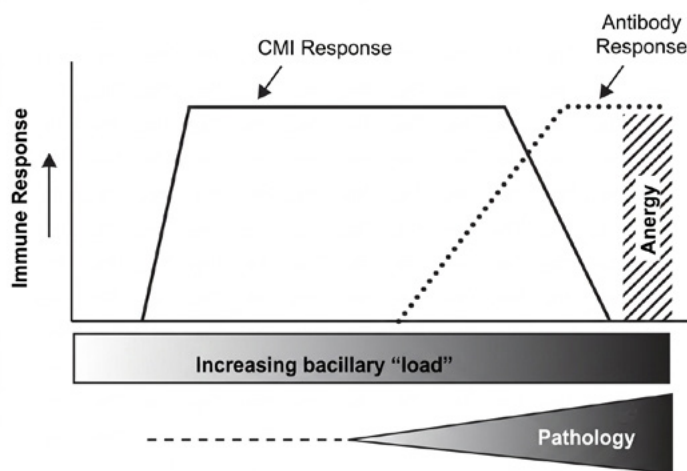


Figura 1. Evolución de las respuestas celular y humoral en animales infectados con *M. bovis*. Extraído de Pollock y Neill 2002

A continuación se presentan los resultados de las 4 repeticiones en ambos grupos. En cada fila se detalla el resultado (P: positivo o N: Negativo) junto al total y porcentaje de animales que tuvieron un mismo comportamiento (Tabla 1 y 3). En la Tabla 2 se detallan las secuencias que presentaron los erráticos del grupo IDR.

IDR n=79				
1ra	2da	3ra	4ta	total
P	P	P	P	16 (20%)*
P	P	P	N	4 (5%)**
P	P	N	N	5 (6%)**
P	N	N	N	6 (8%)**
N	N	N	N	18 (23%)**
Errático				30 (38%)***

Tabla 1. Resultados de la IDR (respuesta celular) durante las 4 repeticiones.

IDR				N
1ra	2da	3ra	4ta	
P	P	N	P	4
P	N	P	P	7
P	N	P	N	7
P	N	N	P	1
N	P	P	P	2
N	P	P	N	1
N	P	N	P	2
N	N	P	P	2
N	N	P	N	2
N	N	N	P	2
Total				30

Tabla 2. Secuencias diagnósticas de los Err ticos durante las 4 repeticiones, grupo IDR.

ELISA n=40				
1ra	2da	3ra	4ta	total
P	P	P	P	16 (40%)*
P	P	P	N	10 (25%)**
P	P	N	N	7 (17.5%)**
P	N	N	N	4 (10%)**
N	N	N	N	1 (2.5 %)**
Err�ticos				2 (5%)***

Tabla 3. Resultados de la prueba de ELISAi (respuesta humoral) en las 4 repeticiones.

Con respecto a la IDR (Tabla 1), se puede indicar que sólo 16 (20%)* animales fueron positivos en las 4 oportunidades. El resto (80%) presentó variaciones en el resultado, lo cual es un porcentaje elevado comparado con estudios similares previos (Schneider *et al.*, 2007; Coad *et al.*, 2010).

De los 33 (42%)** animales que se volvieron negativos y no tuvieron comportamiento errático, algunos lo hicieron desde la 1ra repetición (n=18) y los demás en los sucesivos muestreos (n=15). Estos resultados estarían indicando una disminución de la respuesta inmune celular con el avance de la infección tal como lo describen ciertos autores (Pollock y Neill 2002; Wells *et al.*, 2005; de la Rua Domenech *et al.*, 2006; Holder *et al.*, 2024). Otra explicación podría ser la desensibilización progresiva del pliegue ano caudal tras repetidas inyecciones de PPD como lo mencionan (Schneider *et al.*, 2007; Coad *et al.*, 2010). Esta situación refuerza la recomendación, para esquemas de saneamiento, de no repetir la IDR a animales previamente positivos por la posibilidad de que se generen resultados contradictorios. Esto resalta también la importancia de trabajar con una periodicidad corta (respetando un mínimo de 60 días) entre las IDR que se realizan en campos problema, ya que animales infectados pueden volverse negativos a la IDR en periodos relativamente breves.

Hubo 30 (38%***) animales que tuvieron comportamiento errático (Tabla 1 y 2). Esto podría explicarse por variaciones normales de respuesta inmune celular, por coinfecciones, afecciones patológicas o situaciones fisiológicas que generan inmunodepresión (Monaghan *et al.*, 1994; Wedlock *et al.*, 1999 Joardar *et al.*; 2002; Flynn *et al.*, 2007; Claridge *et al.*, 2012; Menin *et al.*, 2025).

Con respecto a las repeticiones en el grupo de ELISAI (Tabla 3), 16 (40%)* mantuvieron títulos positivos en todas las repeticiones del ensayo tal lo esperado. Hubo 22 (55%)** animales que se volvieron negativos en alguna de las repeticiones y se mantuvieron en esa categoría hasta el final del ensayo. Sólo 2 animales (5%***) tuvieron comportamiento errático. Esto no coincide con el comportamiento esperado de la inmunidad humoral y encontrado en estudios previos (Waters *et al.*, 2006; Casal *et al.*, 2017; Lyashchenko *et al.*, 2017; Griffa *et al.*, 2020).

De acuerdo a estos resultados se estaría evidenciando, para el rodeo estudiado, una caída o variación de la respuesta humoral con el avance de la enfermedad.

Cuando contrastamos el comportamiento de la respuesta inmune humoral con la celular, se observa que con la prueba de ELISAI el 40% mantuvo el resultado de positivos y en la IDR ese porcentaje fue del 20%. Hubo menos erráticos con ELISAI que con IDR. Ambos resultados indicarían que la respuesta inmune humoral sería más constante en el tiempo que la celular.

Este estudio muestra que, en situaciones de campo, y como ya mencionamos para la IDR, tampoco sería recomendable repetir la técnica de ELISAI a animales que fueron clasificados como positivos. Si bien un 40% de animales continuaron siendo positivos, un 60% tuvo resultados dispares.

No fue motivo de este estudio esclarecer o profundizar en los factores que expliquen la variaciones en el comportamiento de las técnicas diagnósticas en situaciones de campo; la descripción aquí presentada muestra una experiencia de lo que puede suceder con ambas técnicas diagnósticas en rodeos naturalmente infectados.

Con la tendencia actual de incorporar nuevas alternativas diagnósticas que complementen la IDR en Argentina, es necesario generar más estudios que evalúen la eficacia de la combinación de estas técnicas en planes de saneamiento en situaciones de campo.

Referencias bibliográficas

- Casal C., Infantes J.A., Risalde M.A., Díez-Guerrier A., Domínguez M., Moreno I., Romero B., de Juan L., Sáez J. L., Juste R., Gortázar C., Domínguez L., Bezos J. (2017). Antibody detection tests improve the sensitivity of tuberculosis diagnosis in cattle. *Research in Veterinary Science*. 112, 214–221.
- Claridge J., Diggle P., McCann C.M., Mulcahy G., Flynn R., McNair J., Strain S., Welsh M., Baylis M., Williams D.J.L. (2012). Fasciola hepatica is associated with the failure to detect bo-

vine tuberculosis in dairy cattle. *Nature Communications*. 3, 853.

Coad M., Clifford D., Rhodes S.G., Hewinson R.G., Vordermeier H.M., Whelan A.O. (2010). Repeat tuberculin skin testing leads to desensitisation in naturally infected tuberculous cattle which is associated with elevated interleukin-10 and decreased interleukin-1 beta responses. *Veterinary Research*. 41(2), 14.

de la Rúa-Domenech R., Goodchild A.T., Vordermeier H.M., Hewinson R.G., Christiansen K.H., Clifton-Hadley R.S. (2006). Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Research in Veterinary Science*. 81(2), 190-210.

Flynn R.J., Mannion C., Golden O., Hacariz O., Mulcahy G. (2007). Experimental Fasciola hepatica infection alters responses to tests used for diagnosis of bovine tuberculosis. *Infection and Immunity*. 75, 1373-1381.

Garbaccio S.G., Canal A.M., Zumárraga M.J., Benardelli A., Garro C., Oriani S., Magnano G., Gorla G., Policicchio F.A., Vivot M., Morcillo N., Abdala A., Colombatti A., Travería G., Gentile F., Tortone C., Alonso B., Barandiaran S., Cipollini F., Cataldi A., Errico M., Traversa M.J. (2022). Tuberculosis Bovina: Actualización en el diagnóstico. *Serie Monográfica Micobacterias de Interés Veterinario*. 2, 1-42.

Griffa N., Moyano R.D., Canal A.M., Travería G.E., Santangelo M.P., Alonso N., Romano M.I. (2020). Development and diagnostic validation of an ELISA based on an antigenic mixture for the detection of bovine tuberculosis. *The Veterinary Journal*. 256, 105426.

Holder T., Srinivasan S., McGoldrick A., Heeren S., Sharp B., Dale J., Smith N.H., Vordermeier H.M., Villarreal-Ramos B. (2024). Temporal dynamics of the early immune response following *Mycobacterium bovis* infection of cattle. *Scientific Reports*. 14, 2600.

Hunter R.L. (2020). The Pathogenesis of Tuberculosis—The Koch Phenomenon Reinstated. *Pathogens*. 9(10), 813.

Joardar S.N., Ram G.C., Goswami T. (2002). Dynamic changes in cellular immune responses in experimental bovine tuberculosis. *Medical Science Monitor*. 8(11), 471-80.

Klepp L.I., Vazquez C.L., Bigi F., Cataldi A.A. (2024). B cell and antibody responses in bovine tuberculosis. *Frontiers in Immunology*. 15, 1338458.

Lyashchenko K.P., Greenwald R., Sikar-Gang A., Sridhara A.A., Johnathan A., Lambotte P., Esfandiari J., Maggioli M.F., Thacker T.C., Palmer M.V., Waters W.R. (2017). Early Detection of Circulating Antigen and IgM-Associated Immune Complexes during Experimental *Mycobacterium bovis* Infection in Cattle. *Clinical and Vaccine Immunology*. 24(6), e00069-17.

Menin Á., Bueno N.M.M., Hindlmayer M.E., Reck C., de Lima Nogueira L., Pinto A.R., Báfica A. (2025). BLV coinfection impairs immunity and diagnostics in bovine tuberculosis. *Scientific Reports*. 15(1), 30286.

Monaghan M.L., Doherty M.L., Collins J.D., Kazda J.F., Quinn P.J. (1994). The tuberculin test. *Veterinary Microbiology*. 40(1-2), 111-24.

Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA). (2025). Tuberculosis mamífera. Disponible en: <https://www.woah.org/es/enfermedad/tuberculosis-mamifera>.

Pollock J., Neill S. (2002). *Mycobacterium bovis* Infection and Tuberculosis in Cattle. *The Veterinary Journal*. 163, 115-127.

Schneider M., Magnano G., Bergamo E., Urbani C., Herrera P., Quiroga A., Macías A., Meikle V., Cataldi A., y Giraud J. (2007). Repetición de la prueba de intradermorreacción y modificaciones del pliegue anocaudal en bovinos naturalmente infectados con *Mycobacterium bovis*. *Revista Invet*, Vol. 9 N°. Pp: 27-33. ISSN: 1514-6634

SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria). (2012). Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina. Buenos Aires.

Waters W.R., Palmer M.V., Thacker T.C., Bannantine J.P., Vordermeier H.M., Hewinson R.G., Greenwald R., Esfandiari J., McNair J., Pollock J.M., Andersen P., Lyashchenko K.P. (2006). Early antibody responses to experimental *Mycobacterium bovis* infection of cattle. *Clinical and Vaccine Immunology*. 13(6), 648-54.

Waters W.R., Palmer M.V., Stafne M.R., Bass K.E., Maggioli M.F., Thacker T.C., Linscott R.,

Lawrence J.C., Nelson J.T., Esfandiari J., Lyashchenko K.P. (2015). Effects of serial skin testing with purified protein derivative on the level and quality of antibodies to complex and defined antigens in *Mycobacterium bovis*-infected cattle. *Clinical and Vaccine Immunology*. 22(6), 641–649.

Wedlock D.N., Aldwell F.E., Collins D.M., de Lisle G.W., Wilson T., Buddle B.M. (1999). Immune responses induced in cattle by virulent and attenuated *Mycobacterium bovis* strains: correlation of delayed-type hypersensitivity with ability of strains to grow in macrophages. *Infection and Immunity*. 67(5), 2172-2177.

Welsh M.D., Cunningham R.T., Corbett D.M., Girvin R.M., McNair J., Skuce R.A., Bryson D.G., Pollock J.M. (2005). Influence of pathological progression on the balance between cellular and humoral immune responses in bovine tuberculosis. *Immunology*. 114, 101–111.