InVet. 2017, 19 (1-2): 131-138
ISSN 1514-6634 (impreso)
ISSN 1668-3498 (en línea)

Respuesta a la prueba tuberculínica comparativa en ovinos de establecimientos mixtos de la región norte de la provincia de La Pampa

Case-response to a comparative tuberculin test of sheep mix farms of north of La Pampa Province area

Castillo, M.; Gómez, M.B.; Cerutti, D.A. & Meglia, G.E.

[1]Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa

RESUMEN

La situación de la tuberculosis bovina se determina a través de la técnica diagnóstica intradérmica en los rebaños. Se ha aislado el agente causal y comprobado casos en ovinos, cuya producción en Argentina se orienta a un sistema más intensificado, con destino interno y externo. En el marco del Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis bovina, es necesario incorporar a los ovinos, puesto que ambas especies son huéspedes del mismo patógeno, actuando como reservorios y/o diseminadores de la infección para especies de interés productivo y el hombre. El diagnóstico en ovinos se realiza a través de la prueba tuberculínica comparativa, actuando a su vez, de screening para infecciones como pseudotuberculosis y paratuberculosis. En La Pampa, no existen datos sobre la presencia y prevalencia de tuberculosis en esta especie, ni de la repuesta a la prueba. El objetivo del presente trabajo fue analizar la respuesta a la prueba tuberculínica comparativa en ovinos de establecimientos mixtos del norte de la provincia de La Pampa y generar información básica, para diagramar futuros trabajos. Se examinaron 234 ovinos en 5 unidades productivas. Resultaron 16,66% de los animales reaccionantes a tuberculina Aviar, lo que se tomó como indicio de respuesta para-específica por otras infecciones, no obstante, se requerirá determinar la patología asociada. No se diagnosticaron ovinos positivos a tuberculosis bovina por lo que no se hallaron indicios de que estén interviniendo como reservorio y/o diseminadores de la infección.

Palabras clave: (Tuberculosis), (Prueba tuberculínica), (Ovinos), (norte de La Pampa)

Correspondencia e-mail: Melina Castillo melic23@yahoo.com.ar
Recibido: 02-09-2017
Aceptado: 01-02-2018

ABSTRACT

The situation of bovine tuberculosis in the herds is determined through individual inoculation intradermally of *Mycobacterium bovis* derivatives. The disease has been reported in sheep, whose production in Argentina is moved from extensive to a more intensified system. Within the framework of the National Plan for the Control and Eradication of Bovine Tuberculosis, it is necessary to incorporate the ovine species, since both bovine and sheep are the hosts of the same pathogen, acting as reservoirs and/or disseminators of the infection for species of productive interest and man. The diagnosis in sheep is made through the comparative tuberculin test, which also surveys for infections such as pseudotuberculosis and paratuberculosis. In La Pampa, there are no data on the presence and prevalence of tuberculosis in this species, nor on the response to the test. The objective of the present study was to analyse the response to the comparative tuberculin test in sheep from mixed farms in the north of La Pampa province and to generate basic information for future work. A total of 234 sheep were examined in 5 production units. 16.66% of the animals were reactive to Avian tuberculin, which is taken as an indication of the para-specific response by other infections, however, it will be necessary to determine the associated pathology. In the present trial, there were not observed any bovine tuberculosis positive sheep indicating that this species is not acting as either reservoir or disseminator of the infection.

Key words: (tuberculosis), (tuberculin assay), (ovine), (north of La Pampa)

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa de transmisión directa e indirecta, febril, de evolución crónica en los casos típicos y se acompaña de procesos inflamatorios específicos. Es producida por Actinobacterias del género *Mycobacterium*, pudiendo afectar al hombre, a todos los demás mamíferos y a las aves. Aunque algunas micobacterias patógenas tienen preferencia de hospedador, también pueden afectar a otras especies [1, 10, 15]. El complejo *Mycobacterium tuberculosis* incluye a *Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis* y *Mycobacterium africanum,* altamente emparentados entre sí, que causan Tuberculosis en seres humanos. El *Mycobacterium tuberculosis* cuyo reservorio es el hombre, tiene patogenicidad también en otros mamíferos, pero su virulencia es en general limitada en bovinos, porcinos y felinos; el *Mycobacterium bovis* tiene como reservorio a los bovinos y posee patogenicidad en todos los mamíferos incluso el hombre, y el *Mycobacterium africanum* tiene como reservorio al hombre y con patogenicidad reconocida en el mismo [1, 10, 15]. El complejo *Mycobacterium avium* incluye micobacterias genéticamente muy relacionadas, de las cuales la subespecie *avium* tiene como reservorio a las aves (excepto las psitácidas) y posee hospedadores ocasionales a porcinos y bovinos; la subespecie *paratuberculosis* afecta a los rumiantes. Por otra parte, estudios filogenéticos indican que el género *Mycobacterium* se halla íntimamente relacionado con los géneros *Corynebacterium*, *Nocardia* y *Rodococcus* [5, 7].

Las barreras de protección para el hombre, aun cuando la infección sea común en bovinos, son: las medidas higiénicas-sanitarias (limpieza, desinfección), la pasteurización de la leche y el control sanitario por parte de la inspección veterinaria en los frigoríficos y mataderos. Sin embargo, muchas veces, esas barreras no alcanzan a proteger a los grupos de riesgo, constituidos por quienes, por razones de trabajo, o de hábitos y residencia, están en contacto con el ganado. En Latinoamérica se han detectado casos de tuberculosis humana por *M. bovis*, la mayoría de estos en Argentina, donde el promedio de infección por este patógeno con respecto a *M. tuberculosis*, entre los años 2000 a 2006 tuvo un incremento en la variación porcentual de 0,34-1,00% [16].

La situación de la Tuberculosis bovina (TBB), se determina a partir de un diagnóstico inicial en los rodeos lecheros, de cría y mixtos. La prevalencia actualizada de la enfermedad en la República Argentina se obtiene en base a la realización de las pruebas tuberculínicas y con la detección de animales con lesiones compatibles con tuberculosis, en los frigoríficos con inspección federal y en los mataderos provinciales y municipales [20]. Trabajos realizados en bovinos de la provincia de La Pampa evidencian una prevalencia de Tuberculosis del 4% sobre las alteraciones anatomopatológicas [11].

Los ovinos son susceptibles a la infección tuberculosa, no obstante, los casos naturales son raros, demuestran ser un hospedador bastante resistente a la infección por *M. bovis*, en general por el tipo de explotación que se realiza. La exposición de los mismos a las fuentes de infección provenientes de animales enfermos es limitada, aunque últimamente existe una tendencia a la semiestabulación, dejando de lado el manejo tradicional extensivo, por lo que aumenta la tasa de contacto y favorece la transmisión del agente por vía aerógena y digestiva. Los casos de tuberculosis comprobados en ovinos se debieron unos a *M. bovis* y otros a *M. avium* [6, 20]. De manera tal que en el marco del Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis bovina, surge la necesidad de incorporar las especies ovina y caprina a los planes regionales de control y erradicación, con el fin de detectar la presencia de estos animales, que podrían transformarse en posibles reservorios y/o diseminadores de la infección para el ganado bovino y para el hombre, siendo importante el comienzo de las acciones de saneamiento a los fines de obtener la certificación oficial de los rodeos libres [20].

Para el diagnóstico de tuberculosis en animales, se utiliza la prueba tuberculínica, que consiste en la inyección del derivado proteico purificado de tuberculina (PPD) en la dermis, para la cual, si el animal está clínicamente sano, no presenta respuesta inflamatoria. Por el contrario, si es inyectada en un animal sensibilizado por infección de micobacterias, ocurre una respuesta de hipersensibilidad retardada o tipo IV [19]. La lesión se caracteriza por formación de edema, induración y rubor en el punto de inoculación y comienza entre 12 y 24 horas post inoculación, alcanza su máxima intensidad entre 24 y 72 horas, pudiendo persistir por varias semanas [19].

La prueba tuberculínica comparativa con derivado proteico purificado bovino (PPD Bovina) y derivado proteico purificado aviar (PPD Aviar), es de elección como un medio para estimar la prevalencia en una población determinada. Es simple, rápida, de bajo costo y alcanza una sensibilidad de 72 a 78% y una especificidad de 92 a 99%. Las reacciones para-específicas adquieren importancia en las zonas de baja prevalencia y en las fases finales de un programa de control [2]. El diagnóstico por prueba tuberculínica comparativa es un instrumento valioso como prueba de screening en los ovinos para determinar sensibilidad a *Corynobacterium pseudotuberculosis* y *M. avium* subespecie *paratuberculosis*, agentes causales de la Linfoadenitis Caseosa y Paratuberculosis o Enfermedad de Johne, respectivamente. Esta prueba debe ser aplicada a intervalos no menores de sesenta 60 días, porque el sitio alrededor del tejido que se inoculó con la tuberculina en forma previa, puede estar temporalmente desensibilizado [20].

Es reconocida la existencia de falsos positivos a la prueba tuberculínica, ya que especies de micobacterias, *Nocardia asteroides* y *Corynebacterium pyogenes*, comparten determinantes antigénicos que posibilitan la respuesta celular inespecífica [7].

Existe un interés creciente en el diagnóstico diferencial con las especies de micobacterias ambientales, como responsables de reacciones interespecíficas, tales como *Mycobacterium fortuitum* y *Mycobacterium phlei* que fueron aisladas en suelos pampeanos. Las mismas al ser inoculadas en el modelo animal murino, mostraron capacidad para producir lesiones granulomatosas, y cuyos derivados proteicos purificados aplicados en la dermis de bovinos produjeron respuesta [11, 12].

Si bien la prevalencia de la tuberculosis en pequeños rumiantes en el país es baja y a pesar de que los ovinos y caprinos son susceptibles a la infección, los casos naturales son raros y la tuberculosis puede ser confundida con otras enfermedades por falta de diagnóstico [9]. Dado a que, en la provincia de La Pampa, en ovinos la prueba diagnóstica tuberculínica no se hace de rutina y a que no existen datos sobre la presencia y prevalencia de tuberculosis en esta especie, ni de la respuesta a dicha prueba, se diseñó el presente trabajo, cuyo objetivo fue analizar la respuesta a la prueba tuberculínica comparada en ovinos de establecimientos mixtos del norte de la provincia de La Pampa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el norte de la provincia de La Pampa, en los departamentos Trenel, Maracó, Chapaleufú, Rancúl y Conhelo. Los establecimientos seleccionados para el estudio poseen entre 100 y 300 hectáreas, son mixtos y pertenecen a pequeños y medianos productores, cuyas majadas varían entre 50 a 600 ovinos.

El muestreo se realizó sobre unidades productivas, mediante la Técnica de Bola de Nieve [7, 3, 17]. Se utilizaron 5 unidades productivas, las cuales se denominaron por números: 1, 2, 3, 4 y 5, alcanzando en conjunto 234 ovinos para la práctica de la prueba diagnóstica de tuberculina.

Los ovinos para el testeo se seleccionaron en forma aleatoria, en algunos casos dentro del cuarteo de majada que realizó el responsable de la unidad productiva por razones zootécnicas de manejo. En las unidades productivas 1, 2, 3, 4 y 5 se testearon 43, 68, 70, 14 y 39 ovinos respectivamente. Se examinaron 92 hembras y 142 machos de las categorías borrego/a (hasta 2 dientes), carnero y oveja (4, 6, 8 dientes).

Los animales fueron identificados con caravanas y numerados a través de planillas.

A cada ovino relevado se le realizó el examen clínico general, para identificar síntomas compatibles con la patología a diagnosticar con la prueba complementaria en estudio.

Descripción de la Técnica Diagnóstica

A cada animal se le practicó la prueba de tuberculina con la PPD Bovina elaborado con *M. bovis* (Cepa «AN5») de 1 mg/ml de concentración y la PPD Aviar elaborada con una cepa de *M. avium* (Cepa «D4») de 0,5 mg/ml de concentración, autorizadas en el país por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, controladas y aprobadas por este Organismo. Se utilizaron las tuberculinas del laboratorio Sanidad Ganadera, en presentación de 10 ml.

Las tuberculinas PPD se transportaron y conservaron en frío, de 2 a 8 °C y se protegieron de la luz solar directa durante el trabajo de campo.

Se utilizaron jeringas de 1 ml, graduadas en 0,1 ml, agujas hipodérmicas, conforme a Normas IRAM 9031/78, calibre 6, longitud de la cánula 5 mm, punta tipo "b" (bisel corto). El calibre metálico graduado al 0,1 mm.

Prueba diagnóstica tuberculínica

Se higienizó la zona axilar con algodón humedecido en solución fisiológica y se procuró su secado previa aplicación de la tuberculina.

Prueba axilar comparativa con tuberculinas PPD Bovina y PPD Aviar.

Se aplicó en la zona axilar con la inoculación de cada una de ellas en cada axila respectiva, en forma intradérmica 0,1 ml de tuberculina bovina en la axila derecha y 0,1 ml de tuberculina aviar en la axila izquierda, con 2 jeringas reservadas específicamente para cada una de las tuberculinas.

Lectura y criterio diagnóstico.

La lectura se realizó a las 72 horas post inoculación por palpación y medida con calibre.

Interpretación.

A nivel individual, para interpretar la prueba comparativa, se tomó como referencia de base, el espesor de la piel inicial del pliegue axilar, medido con calibre cuando se aplicó la tuberculina. Se contempló la induración como

factor compatible al tipo de respuesta que debe manifestar un animal reaccionante a la tuberculina.

Se consideró reaccionante positivo, a aquel ovino con un espesor de más de 4 mm de respuesta a PPD Bovina que a PPD Aviar. Con un espesor de 2 a 4 mm de respuesta a PPD Bovina por sobre la de PPD Aviar se lo consideró reaccionante sospechoso y con una respuesta igual o menor a 2 mm reaccionante negativo, según lo establecido por la Comisión de la Comunidad Europea, (CCE, 1981) y tomado por SENASA, para el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis bovina en la República Argentina en su Resolución 128/2012 [18].

Para el análisis de los datos se utilizaron frecuencias absolutas y relativas. Para estas últimas el cálculo realizado fue x = a.100/b, donde *a* es la cantidad de animales reaccionantes y *b* es el total de animales a los que se les realizó la prueba.

RESULTADOS

De un total de 234 ovinos a los que se les realizó la prueba tuberculínica axilar comparada, resultaron:

- 11 ovinos reaccionantes con espesor ≥ 3 mm a PPD Bovina (hasta 11 mm) y también a PPD Aviar (hasta 14 mm) con las respectivas variaciones individuales, en los cuales la reacción a esta última superó a la de PPD Bovina (4,70%) Tabla 1.
  De los 11 ovinos reaccionantes, 7 de estos presentaron una reacción a PPD Aviar ≥ 3 mm respecto de la reacción a PPD Bovina (hasta 7 mm) con las respectivas variaciones individuales (negativos a Tuberculosis bovina) (2,99%). Además 2 ovinos reaccionantes a PPD Bovina y PPD Aviar, en los que la reacción a PPD Bovina superó a la de PPD Aviar con diferencia entre ambas < 2 mm (1 y 2 mm respectivamente) (negativos a Tuberculosis bovina) (0,85%). De estos 2 ovinos, 1 presentó ambas reacciones de espesor ≥ 3 mm (a PPD Bovina 4 mm y a PPD Aviar 3 mm) y el otro una reacción a PPD Bovina > 3 mm (4 mm) y a PPD Aviar de 2 mm.

- 28 ovinos reaccionantes solo a PPD Aviar con espesor ≥ 3 mm (hasta 17 mm) con las respectivas variaciones individuales (negativos a Tuberculosis bovina) (11,96%) Tabla 1. De estos ovinos, 2 presentaron también una reacción a PPD Bovina de 2,5 mm.

En total, 39 ovinos presentaron una reacción a PPD Aviar (16,66%), en 37 de ellos esta fue ≥ 3 mm respecto de PPD Bovina (negativos a Tuberculosis bovina) (15,81% del total de ovinos a los que se les realizó la prueba).

Las reacciones pertinentes, se manifestaron en ovinos pertenecientes a las diferentes unidades productivas relevadas, en todas se encontraron animales reaccionantes (al menos 2 ovinos, como sucedió en la unidad productiva 5).

Dentro del total de los ovinos reaccionantes, se hallaron individuos pertenecientes a las categorías, oveja, carnero, borrego/a.

Los 234 ovinos testeados resultaron negativos a Tuberculosis bovina.

PPD Aviar ≥ 3 mm FR %	PPD Bovina y PPD Aviar ≥ 3 mm FR %	Total
11,96	**4,70**	**16,66**

PPD: derivado proteico purificado de tuberculina.

Tabla 1. Frecuencias relativas (%) de ovinos reaccionantes a la PPD

DISCUSIÓN

En la mayor parte de los países donde se han caracterizado las micobacterias aisladas de seres humanos, se ha identificado a *M. bovis* [14]. La frecuencia de la Tuberculosis pulmonar en el hombre es mayor en áreas donde las personas viven en condiciones que favorecen el contacto directo con animales o productos de los mismos [14]. En Argentina, la infección por *M. bovis* predomina en zonas rurales y agroindustriales como Santa Fe, con una disminución lenta en su prevalencia de 2.3% en el período 1977-2001 a 1.6% entre 2002 y 2011. El porcentaje de casos ha ido disminuyendo tanto allí como en Buenos Aires, según lo informado por el Hospital Muñiz de 1.75% en 1971 a 0.22% en 2006. No obstante, la infección sigue presente y una alta proporción de pacientes con tuberculosis debida a *M. bovis* presentan antecedentes de exposición ocupacional, con infección adquirida por vía aerógena [4]. Tal vez, uno de los resultados de mayor relevancia de los programas de erradicación de la Tuberculosis bovina ha sido el descenso en los casos de enfermedad y de muerte en la población humana [4, 13]. En trabajos realizados sobre bovinos en La Pampa evidencian una prevalencia de Tuberculosis bovina del 4% [11] y si bien la prevalencia de la tuberculosis en pequeños rumiantes en el país es baja y los casos naturales son raros, la tuberculosis puede ser confundida con otras enfermedades por falta de diagnóstico [9]. Sin embargo, en este trabajo no se diagnosticaron ovinos positivos a Tuberculosis bovina por lo que no se hallaron indicios de que estén interviniendo como reservorio y/o diseminadores de la infección. Aunque si se encontraron reacciones a PPD Bovina y/o PPD Aviar que pueden estar indicando presencia de otras micobacterias, como *M. paratuberculosis* (agente causal de la Paratuberculosis) u otros agentes etiológicos como *C. pseudotuberculosis* (agente causal de la Linfoadenitis Caseosa). Dicha presunción se basa en estudios que demuestran que, entre las especies de micobacterias, *N. asteroides* y *C. pyogenes* poseen determinantes antigénicos compartidos, que posibilitan la respuesta celular inespecífica [8]. Además, dado que PPD Aviar se produce con *M. avium*, cabe considerar ensayos realizados para diagnóstico de *M. paratuberculosis* (que integra el mismo complejo de micobacterias con el microorganismo antes mencionado), que evidenciaron respuestas para-específicas con *M. bovis, N. asteroides* y *C. pseudotuberculosis* [21].

También es posible la interferencia de *Mycobacterium* ambientales (que están presentes, pero no afectan al ovino), tales como *M. fortuitum* y *M. phlei* que fueron aislados en suelos pampeanos, capaces de producir lesiones granulomatosas en ratones [12]. En bovinos, la aplicación de PPD de micobacterias ambientales, indujeron respuesta, aunque no mayor a 3 mm y sin induración, no obstante, los animales resultaron negativos a la bacteriología e histopatología [11], lo cual, motiva a la realización de otros estudios respecto de la especie ovina y de su asociación a las reacciones a PPD Aviar.

CONCLUSIÓN

Los ovinos del norte de la provincia de La Pampa relevados no están interviniendo como reservorio y/o diseminadores del *M. bovis* para transmitir la infección a los bovinos y a los seres humanos.

Hay que considerar la reacción tuberculínica a PPD Aviar como indicio de respuesta para-específica a otras infecciones, y prestar atención a los individuos que la presentan, para un diagnostico posterior de los microorganismos mencionados y de las patologías que causan.

En una posterior profundización de los estudios se debe demostrar la correlación de dicha reacción con el diagnóstico definitivo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Beer, J. Enfermedades Infecciosas de los animales domésticos. Ed. Acribia. Zaragoza. 1983. Tomo II. Cap. 54. pp. 229-255.

2. Cicuta, M. E.; Boehringer, S. I.; Roibón, W. R.; Benitez, M. C. y Barceló, M del C. Validez de la prueba tuberculínica para el diagnóstico de paratuberculosis ovina. Universidad Nacional del Nordeste. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Resumen: V-016.* 2003. Disponible en http://www.unne.edu.

ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2003/comunicaciones/04-Veterinarias/V-016.pdf. Extraído el 3 de marzo de 2014.

3. Cochran, W. G. Técnicas de muestreo. Compañía Editorial Continental, México D. F. 1974. 507 p.

4. De Kantor, I. N.; Torres, P. M.; Morcillo, N.; Imaz, M. S. y Sequeira, M. D. La Tuberculosis zoonótica en la Argentina. MEDICINA (Buenos Aires). 2012; 72: 514-520.

5. Estevao Belchior, S.; Gallardo, A.; Abalos, A.; Jodor. N. y Jensen. O. Actualización sobre Linfoadenitis caseosa: el agente etiológico y la enfermedad. *Veterinaria Argentina.* 2006; 23 (224): 258-278.

6. Garbaccio. S. Instituto de Patobiología-INTA-CICVyA. "Tuberculosis animal". Disponible en http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/vet_enf_inf_tripod/tbc/tbc.html. Extraído el 14 de marzo de 2014.

7. Goodman, L. A. Snowball Sampling. The Annals of Mathematical Statistics. 1961; 32 (1): 148-170.

8. Harboe, M.; Wiker, H.; Nagai, S. Protein Antigens of Mycobacteria Studied by Quantitative Inmunologic Techniques. Clinical Infectious Diseases. 1992; 14: 313-319.

9. Jorge, M. C.; Schettino, D. M.; Torres, P. y Bernardelli, A. Revue scientifique et technique. Office International of Epizootics. 2000; 19 (3): 800-809.

10. Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Dunlap, P. V. y Clark, D. P. Brock. Biología de los microorganismos. 12 ed. Pearson Educación, S. A. Madrid. 2009. Cap. 16. pp. 491-536.

11. Oriani, S. D.; Dubarry, J. R.; Errea, A. R.; Vear, O. A, María, A. E.; Cavagión, L. J.; Staskevich, A. S.; Tortone, C.; Buey, V.; dos Santos Sismeiro, M. I.; Mascaro, D. E. y Bernardelli, A. Asociación entre el diagnóstico de Tuberculosis bovina por intradermorreacción, la anatomopatología, la bacteriología y la posible interferencia con micobacterias ambientales. Revista Ciencia Veterinaria. 2011; 13 (1): 42-47.

12. Oriani, D. S.; Sagardoy, M. A. Lesiones en *Mus musculus* inoculados con *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium kansasii* y *Mycobacterium fortuitum* aislados de suelos pampeanos (República Argentina), In Vet. 2007; 9 (1): 43-51.

13. Office International Des Epizooties (OIE). Manual de la OIE sobre animals terrestres. 1994. Cap. 2.3.3. pp. 499-502.

14. Olea-Popelka, F.; Muwonge, A.; Perera, A.; Dean, A. S.; Mumford, E.; Erlacher-Vindel, E.; Forcella, S.; Silk, B.J.; Ditiu, L.; El Idrissi, A.; Raviglione, M.; Cosivi, O.; LoBue, P and Fujiwara, P.I. Zoonotic tuberculosis in human beings caused by Mycobacterium bovis—a call for action' The Lancet Infectious Diseases. Edinburgh Research Explorer. 2016, 17 (1):21-25.

15. Quinn, P. J.; Markey, B. K.; Carter, M. E.; Donnelly, W. J. y Leonard, F. C. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. 1 ed. Acribia, S. A. Zaragoza. 2008. Cap. 17. pp. 115-124.

16. Revista Panamericana de Salud Pública. Infección por *Mycobacterium bovis* en humanos en diez países de América Latina, 1970-2007. Washington. 2008; 24 (1). ISS N 1020-4989.

17. Sandoval Casilimas, C. A. Investigación Cualitativa. En Briones, G. (Ed.) especialización en Teoría, Métodos y Técnicas de investigación social. ICFES, Colombia. 2002. En: http://www.es.scribd.com/doc/7634389/Casilimas-Sandoval-Investigacion-Cualitativa. Extraído el 1 de marzo de 2014.

18. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. 2012. Disponible en http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=1526&io=20050. Extraído el 2 de marzo de 2014.

19. Tizard, I. R. Introducción a la Inmunología veterinaria. Ed. Elsevier S. A. España. 8va ed. 2009. Cap 28. pp. 369-379.

20. Torres, P. M. Programa de control de la TBC. SENASA. 2012. Disponible en http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File1013-tuberculosis.pdftuberculosis@senasa.gov.ar. Extraído el 2 de marzo de 2014.

21. Yokomizo, Y., Yugi, H.; Merkal, R. S. A method for avoiding false-positive reactions in an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the diagnosis of bovine paratuberculosis. Japanese Journal Veterinary Science. 1985; 47 (1): 111-119.