

## CAUSAS DE ABORTO: BRUCELOSIS – LEPTOSPIROSIS

Luna, Fernando; García, Alejandro y Conigliaro, Susana

Durante los últimos dos años se ha observado, en nuestro país, un significativo aumento en la prevalencia de Leptospirosis bovina sobre la de Brucelosis.

En el quinquenio 1995 – 2000, según los datos obtenidos en el laboratorio de diagnóstico a partir de las muestras de fetos abortados remitidos para investigación de causa de aborto, la prevalencia de Brucelosis alcanzó el 23 %, mientras que la de Leptospirosis llegó al 15%.

Esta situación se ha invertido prácticamente en los últimos dos años, encontrándose actualmente Leptospirosis en el 22% de los fetos estudiados y Brucelosis en el 14 % de los mismos.

La metodología utilizada para el diagnóstico de ambas enfermedades fue el cultivo para aislamiento del agente causal de aborto y la inmunofluorescencia directa a partir de muestras fetales.

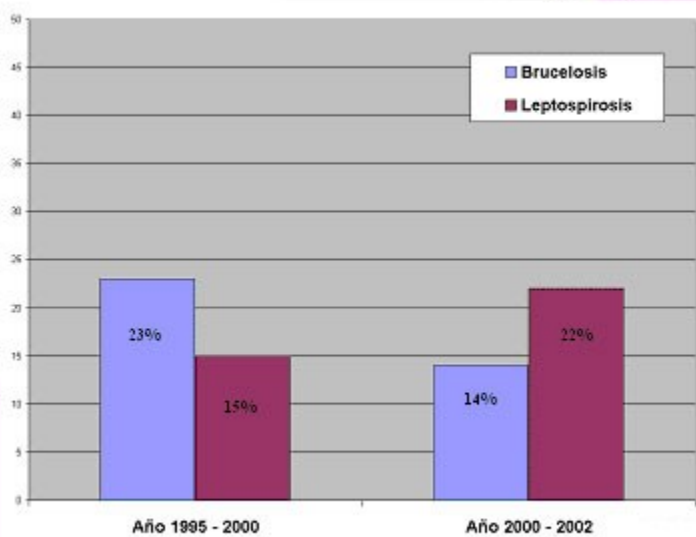
Para el diagnóstico de Leptospirosis se sembraron medios de EMJH y Kortoff a partir de muestras de riñón, humor acuoso y líquido pleural, incubándose en cámara de 28-30 °C. Con las mismas muestras se realizan improntas sobre portaobjetos y se enfrentaron con anticuerpos específicos marcados con fluoresceína para observar luego por microscopía de inmunofluorescencia con luz ultravioleta.

Para el diagnóstico de Brucelosis se sembraron medios de Agar *Brucella* a partir de muestras de líquido abomasal y pulmón fetales, incubándose con atmósfera de CO<sub>2</sub> a 37°C. Con las mismas muestras se realizan improntas para inmunofluorescencia directa, utilizando anticuerpos anti *Brucella* conjugados con fluoresceína.

Es importante recordar que estos órganos son los más adecuados para realizar un diagnóstico diferencial entre ambas enfermedades, para lo cual deben ser enviados rápidamente al laboratorio una vez producida la muerte del animal y refrigerados.

Una posible causa de disminución de la prevalencia de Brucelosis es la implementación del Plan Nacional de Erradicación y Control, que se basa en la vacunación de las terneras y el estudio serológico de las hembras a partir de los 18 meses de edad, con eliminación de los animales positivos. En cuanto al aumento de la prevalencia de Leptospirosis, podemos considerar las causas que figuran a continuación del cuadro de resultados de la prevalencia serológica.

### Fetos abortados: *Brucella* vs. *Leptospira*



## PREVALENCIA SEROLÓGICA DE LEPTOSPIROSIS

Luna, Fernando y Majó María Cruz

Durante los años 2001 y 2002 se recibieron en el laboratorio de diagnóstico 8.175 muestras de sangre remitidas para análisis de Leptospirosis. Las mismas se procesaron según la técnica de microaglutinación de Martín y Pettit utilizando las serovares, *pomona*, *wolffi*, *tarassovi*, *icterohaemorrhagiae* y *canicola* de *Leptospira Interrogans*.

En el año 2001 se analizaron 3642 muestras de suero bovino, alcanzándose una prevalencia del 6,94 %, mientras que en el año 2002 se analizaron 4533 muestras de suero anotándose una prevalencia del 24, 33 %.

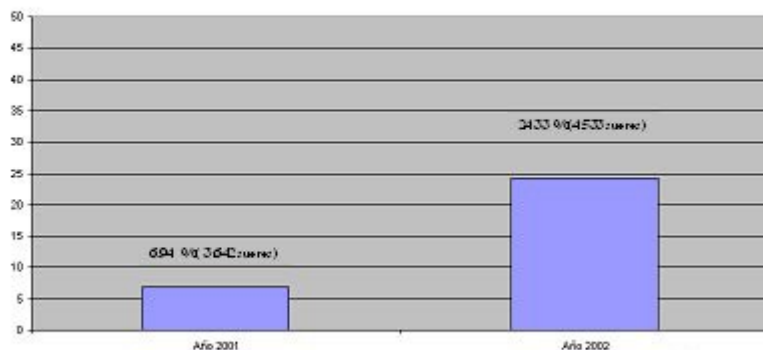
Según los resultados obtenidos se aprecia un significativo aumento de la prevalencia de Leptospirosis sobre las muestras estudiadas. Consideramos que el aumento observado puede deberse a las siguientes causas:

- 1- Cambio de los regímenes de lluvia en las diferentes zonas del país.
- 2- Aumento de la rentabilidad en la explotación agrícola.
- 3- Al destinar las zonas altas (potreros) para la siembra (soja), se margina a la ganadería a las zonas más bajas e inundables donde sobrevive mejor la *Leptospira*.
- 4- Falta de obras hídricas serias o efectivas en las distintas provincias.
- 5- Falta de control sobre los roedores que son diseminadores de la bacteria por orina.

6- No es una enfermedad que se toma en cuenta para los planes sanitarios de rutina.

7- La enfermedad se encontró con una población bovina sin inmunización, por ende no libre de anticuerpos protectores.

## Prevalencia serologica de Leptospiriosis Bovina



## **PREVALENCIA DE NEOSPOROSIS BOVINA EN ARGENTINA**

Luna, Fernando, Majó Maria Cruz y Conigliaro, Susana

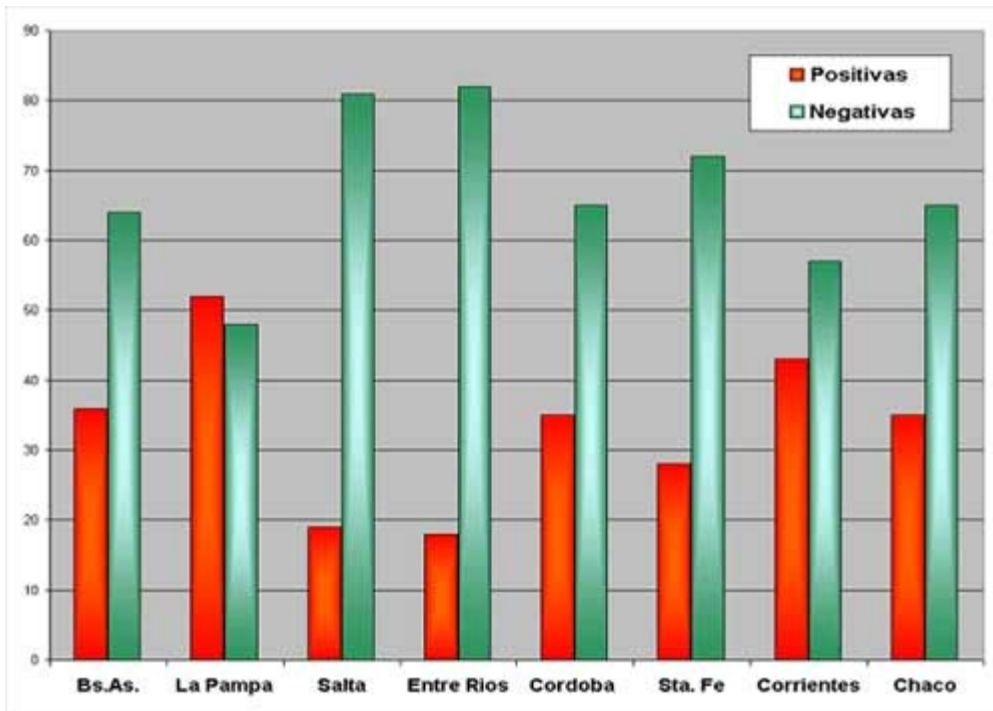
La neosporosis bovina ha adquirido gran importancia en los últimos años. Es la principal causa de aborto en los rodeos bovinos de Norteamérica y Europa. En nuestro país existen durante los últimos años, evidencia serológica e identificación del parásito en distintos rodeos.

Durante el Julio 2001 a Julio del 2003, se analizaron 4.414 muestras de sueros bovinos, remitidas al laboratorio de diagnóstico para investigación de anticuerpos anti *Neospora Caninum*. Los mismos provenían de diferentes provincias del país y generalmente correspondían a vacas que no presentaron su ternero al terminar la parición y/o vacas abortadas. La metodología utilizada fue la técnica de inmunofluorescencia indirecta.

Según los resultados obtenidos de las muestras analizadas, La Pampa y Corrientes son las provincias con más alta prevalencia en el país, seguidas por Buenos Aires, Córdoba y Chaco. Es posible que esto se encuentre influenciado por la presencia de huéspedes definitivos como cánidos domésticos (perros) y salvajes (zorros).

Recomendaciones generales de manejo ante un rodeo con Neosporosis bovina:

- 1- Identificación, aislamiento y sangrado de las vacas abortadas.
- 2- Eliminación de los animales reaccionantes positivos.
- 3- Reponer con terneras serológicamente negativas.
- 4- Sangrar todos los animales que entren al campo (incluidos los perros)
- 5- Confirmar el diagnóstico de preñez cada 30 días entre el cuarto y sexto mes de gestación.
- 6- Enviar fetos refrigerados para diagnóstico.



## VIRUS DE DIARREA VIRAL BOVINA

*Simposio sobre Virus de Diarrea Viral Bovina - Septiembre de 1996*

## CONTROL DE DIARREA VIRAL BOVINA - 50 AÑOS DESPUES DE SU APARICIÓN

*Robert Tremblay, DVM, DVSc Dipl ACVIM  
Ontario Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs  
Wellington Place, Fergus, Ontario, Canada*

En 1996 se cumplieron 50 años de la primera descripción del virus de Diarrea Viral Bovina. Si bien al principio se reconoció como agente causal de gastroenteritis aguda, el virus infecta casi todos los órganos, especialmente los del sistema reproductivo e inmunitario. Está ampliamente diseminado en la población bovina de la mayoría de los países y su impacto económico es suficientemente importante como para justificar los programas de erradicación utilizados por varios países Europeos. Este Simposio fue diseñado para ayudar a los Médicos Veterinarios a comprender el uso de las herramientas disponibles para el manejo de la infección por virus de BVD en diferentes situaciones.

Se describen los métodos de transmisión y los factores que influyen en la diseminación del virus. La principal fuente de transmisión de la enfermedad es el animal persistentemente infectado, pero hay también otras vías de transmisión cuyo conocimiento es esencial para el control de la enfermedad.

También se comenta el papel de la vacunación para la prevención de la diarrea viral bovina. Los Médicos Veterinarios deben diseñar los programas de vacunación para optimizar la protección de los animales del rodeo.

## TRANSMISIÓN DEL VIRUS DE DIARREA VIRAL BOVINA

*Robert Tremblay, DVM, DVSc, Dipl ACVIM  
Ontario Ministry of Agriculture  
Food and Rural Affairs Wellington Place  
Fergus, Ontario, Canadá*

La diarrea viral bovina es un complejo de enfermedades asociadas con la infección ampliamente diseminada del virus de BVD. La enfermedad clínica se observa frecuentemente en el ganado bovino, pero también puede aparecer en otras especies tales como pequeños rumiantes y cerdos. Aquí se describe cómo se transmite el virus de BVD entre rodeos y dentro de un mismo rodeo y las propiedades del virus que influyen sobre la tasa de diseminación.

## CARACTERÍSTICAS GENERALES

El virus de BVD es un virus RNA, de cadena simple, envuelto, que pertenece al género Pestivirus. El virus del Cólera del Cerdo y el de la Enfermedad de Border, son otros miembros de este género. Los Pestivirus han sido reclasificados desde la familia Togaviridae a la familia Flaviviridae.

Hay dos biotipos de virus de BVD, citopáticos y no citopáticos, basados en el desarrollo sobre los cultivos celulares y por lo menos dos genotipos, Tipo 1 y Tipo 2, basados en la secuencia de los ácidos nucleicos. Ni el biotipo ni el genotipo están relacionados directamente con la virulencia.

## SUPERVIVENCIA VIRAL

La sobrevivencia del virus de BVD en el ambiente y fuera del huésped es muy importante para su diseminación. En general, los pestivirus

están muy limitados en cuanto a su capacidad para mantener la infectividad fuera del huésped. El virus de BVD pierde rápidamente su poder infectante en contacto con solventes orgánicos y pH fuera del rango de 5.7 a 9.3. Su sensibilidad a pH bajo aumenta a medida que la temperatura ambiente lo hace de 4°C a 37°C. Ambos biotipos son igualmente susceptibles.

## ENFERMEDAD CLÍNICA Y TRANSMISIÓN VIRAL

La infección natural con el virus de BVD es fundamentalmente por vía oral y nasal. Los animales que eliminan virus como resultado de una infección aguda o persistente son fuente de infección primaria.

La infección del virus de BVD está asociada con varios síndromes clínicos que pueden ir desde una infección inaparente a una enfermedad clínica aguda, severa y muerte.

El desarrollo de la enfermedad en el animal depende de su edad, presencia de inmunidad específica para el virus infectante, virulencia del virus y dosis infectiva.

La infección aguda en bovinos después del nacimiento, se manifiesta a menudo como una infección leve o inaparente, con seroconversión. Algunos virus de BVD pueden causar brotes severos con mortalidad de terneros y adultos. Aún en ausencia de cuadros clínicos, los animales infectados con el virus de BVD lo eliminan en sus secreciones y líquidos orgánicos.

Si una vaca preñada se infecta en forma aguda, el feto puede infectarse por vía transplacentaria. La infección fetal puede ser causa de muerte embrionaria temprana, aborto, defectos congénitos, detención del crecimiento, nacimiento de terneros normales pero seropositivos, o nacimiento de terneros persistentemente infectados con virus e inmunotolerantes para esa cepa específica de virus de BVD.

Si el feto se infecta entre los 60 y los 120 días de gestación aparecen los infectados persistentes. Estos terneros persistentemente infectados pueden parecer normales al nacer, aunque a veces no se desarrollan tanto como sus congéneres. A menudo mueren de enfermedad de las mucosas u otras causas antes de los 18-24 meses de edad, pero muchos pueden sobrevivir hasta la edad reproductiva. Los terneros nacidos de vacas persistentemente infectadas son siempre infectados persistentes.

## TRANSMISIÓN DEL VIRUS DE BVD ENTRE RODEOS

Animales infectados y persistentes

Los animales persistentemente infectados eliminan continuamente gran cantidad de virus en sus líquidos orgánicos. Ellos son la fuente más importante de virus y el principal reservorio del mismo. La importancia del rol que tienen los portadores persistentemente infectados está demostrado por el éxito que se alcanza identificando y erradicando los portadores cuando se intenta controlar la Diarrea Viral Bovina. Una vez que se eliminan del rodeo los animales portadores persistentemente infectados, la tasa de seroconversión entre los animales que permanecen en el rodeo y el riesgo de nacimiento de terneros persistentemente infectados baja a cero aunque el virus de BVD se reintroduzca en el rodeo.

La prevalencia de animales persistentemente infectados en el rodeo varía entre el 0,5 y el 2 %, pudiendo ser aún mayor (27%) en rodeos con historia clínica de BVD. Sin embargo muchos rodeos están libres de portadores persistentemente infectados.

La prevalencia relativamente baja de portadores persistentemente infectados hace difícil demostrarle al productor el nivel de riesgo al que se expone cuando incorpora animales a su rodeo. La probabilidad de introducir animales persistentemente infectados puede estimarse conociendo la prevalencia de animales persistentemente infectados en el rodeo de origen.

Un modo de reducir el riesgo de introducir virus de BVD es seleccionar animales a partir de un pool de rodeos que tengan una baja prevalencia de persistentemente infectados. Seleccionando hembras de reemplazo a partir de rodeos bien manejados se puede minimizar el riesgo.

En un estudio reciente realizado en Michigan sobre 20 tambos con excelente manejo, se encontró solo el 0.13 % de animales persistentemente infectados.

Si se desconoce el origen de los animales, investigando la viremia de todos los animales a incorporar, antes de introducirlos en el rodeo, se pueden reducir los portadores persistentemente infectados.

Aunque el ganado persistentemente infectado es el principal reservorio de virus de BVD no es el único modo de introducción de virus en el rodeo. El animal infectado en forma aguda elimina virus durante un corto periodo de tiempo diseminándolo así en el rodeo. Las ovejas también pueden ser portadoras del virus de BVD y transmitirlo cuando se ponen en contacto con bovinos u otras ovejas. Los bovinos también pueden transmitir el virus de BVD a las ovejas, cabras y cerdos. Existen además otras vías de transmisión del virus de BVD:

## SEMEN

El semen es una fuente potencial de introducción de virus de BVD. Los toros infectados en forma aguda o persistente lo eliminan en su semen y el semen de toros persistentemente infectados contiene virus de BVD aunque no necesariamente reducen su fertilidad. Como consecuencia de ello, en Canadá, Estados Unidos y Europa, los toros destinados a inseminación artificial, se analizan rutinariamente para detectar la presencia de infectados persistentes. Pero esto no siempre fue así; la importancia de los animales persistentemente infectados fue reconocida recién hacia fines de 1980.

Los toros infectados en forma aguda eliminan virus de BVD en su semen durante por lo menos dos semanas después de la infección. El virus se replica en las vesículas seminales y la glándula prostática. Los animales infectados en forma aguda pueden eliminar virus aún cuando no manifiesten otros signos de infección. Al igual que en los persistentemente infectados, la eliminación no siempre va acompañada de disminución de la calidad seminal.

## TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

La transferencia embrionaria es otro modo de introducción de virus de BVD en un rodeo sin movimiento de animales. Las hembras persistentemente infectadas siempre tienen crías persistentemente infectadas, de modo que el embrión de una donante persistentemente infectada puede diseminar el virus. Con una técnica de transferencia embrionaria apropiada el riesgo es probablemente muy bajo. Si la zona pelúcida está intacta y el embrión se lava adecuadamente antes de la transferencia, el trasplante del embrión de una vaca persistentemente infectada puede dar terneros no persistentemente infectados.

Hay cierto riesgo de introducir virus de BVD por la técnica de transferencia en sí misma, aún si una vaca donante no es persistentemente infectada. Lamentablemente, el suero fetal bovino de origen comercial, está frecuentemente contaminado con virus de BVD no citopático. El suero fetal utilizado en la recolección del embrión, procesamiento y transferencia debe estar libre de virus de BVD. El suero fetal puede irradiarse antes de su uso para eliminar el riesgo.

Las receptoras infectadas en forma aguda o persistentemente infectadas representan un riesgo aún mayor en el proceso de transferencia embrionaria. Este riesgo puede reducirse si se analizan las receptoras antes de usarlas. Esto permite separar con tiempo las portadoras persistentemente infectadas y vacunar contra virus de BVD a las receptoras antes de su uso.

## TRANSMISIÓN DEL VIRUS DE BVD DENTRO DEL RODEO

Luego de la introducción del virus de BVD en el rodeo, la infección se mueve lentamente y los animales en contacto directo con el infectado se infectan primero. La tasa de diseminación depende de cómo el virus entró en el rodeo. Si lo hace a través de un infectado en forma aguda, la diseminación es más lenta que si lo hace por un portador persistentemente infectado, ya que este elimina frecuentemente mayor cantidad de virus.

El nivel de inmunidad influye en la eliminación del virus. Los animales que tienen anticuerpos específicos contra el virus de BVD eliminan menos virus, y aún aquellos que lo eliminan, lo hacen durante un periodo más corto. Como resultado de ello, la infección no se disemina tan eficientemente a través de grupos de animales vacunados.

La diseminación está relacionada también con la oportunidad de contacto entre el eliminador de virus y el animal susceptible. A medida que el número de animales susceptibles disminuye, la posibilidad de diseminación de la enfermedad es menor.

Durante brotes agudos de enfermedad la diseminación es más rápida. Aun así, estos brotes no son tan explosivos y a menudo aparecen varias semanas o meses después. Por lo general solo unos pocos animales se afectan clínicamente al mismo tiempo. La tormenta de abortos que sigue a la enfermedad clínica, aparece luego de un periodo adicional de varios meses después del brote inicial.

Si bien el contacto directo es la vía más importante hay otras formas de diseminación. El virus de BVD puede transmitirse por medio de los guantes de tacto rectal cuando se utiliza el mismo guante para revisar animales susceptibles inmediatamente después de revisar uno persistentemente infectado. Esto ocurre aún cuando no se observe la presencia de sangre en el guante. El virus de BVD también puede transmitirse utilizando la misma aguja para inyectar diferentes animales. La descarga nasal y otros líquidos orgánicos también pueden transmitir virus. La experiencia adquirida durante brotes de la enfermedad indica que los bebederos, comederos y baldes utilizados recientemente por animales infectados pueden servir como transmisores. En condiciones experimentales, los insectos transmiten virus de BVD. Las moscas picadoras solo unos pocos animales se afectan clínicamente al mismo tiempo. La tormenta de abortos que sigue a la enfermedad clínica, aparece luego de un periodo adicional de varios meses después del brote inicial.

## VÍAS DE INTRODUCCIÓN Y TRANSMISIÓN DEL VIRUS DE BVD

- Incorporando al rodeo animales persistentemente infectados\*.- Incorporando al rodeo animales infectados en forma aguda o exponiendo el rodeo a ovejas infectadas.\*.- Usando semen de toros infectados en forma aguda ó persistentemente infectados para inseminación artificial.\*.- Utilizando embriones de donantes persistentemente infectados o por uso de suero fetal bovino contaminado para la transferencia embrionaria. Además el virus de BVD puede introducirse a través de la transferencia embrionaria si se utilizan como receptoras vacas infectadas en forma aguda o persistente.
- A través de elementos tales como guantes de tacto, agujas endovenosas, mochetas.
- A través de bebederos, comederos, etc., utilizados recientemente por animales infectados.
- A través de insectos picadores (demostrado experimentalmente).

## RESUMEN

La incorporación de animales persistentemente infectados representa el riesgo más importante de introducción de virus de BVD en el rodeo. El aislamiento del virus a partir de sangre para detectar viremia sirve para prevenir la introducción de estos portadores. El animal infectado en forma aguda también puede transportar el virus y se considera una fuente potencial de introducción de virus, particularmente cuando los animales están mezclados en el momento de la compra. El aislamiento de los animales recién comprados durante 3 semanas limita el impacto que produce el virus de BVD incorporado por animales infectados en forma aguda. Una vez que el virus entra en el rodeo, la infección se diseminará lentamente por contacto directo. Esta baja tasa de diseminación hace que el aislamiento de los animales sirva para prevenir futuras transmisiones.

El nivel de inmunidad influye en la eliminación del virus. Los animales que tienen anticuerpos específicos contra el virus de BVD eliminan menos virus, y aún aquellos que lo eliminan, lo hacen durante un periodo más corto. Como resultado de ello, la infección no se disemina tan eficientemente a través de grupos de animales vacunados.

## EFFECTOS DE LA INFECCIÓN DEL VIRUS DE BVD EN EL RODEO

*Clyton L. Kelling, DVM  
Department of Veterinary and Biomedical Sciences  
University of Nebraska*

Lincoln, Nebraska El modelo clínico de enfermedad producida por el virus de BVD dentro de un rodeo y el impacto económico subsiguiente, dependerá de la interacción de varios factores, que incluyen cepa de virus, edad del animal, inmunidad y estrés.

## FALLAS REPRODUCTIVAS

La enfermedad en vacas preñadas dependerá del estado inmunitario de esas vacas, de la cepa de virus infectante y la edad del feto. Experimentalmente la introducción de virus de BVD en el útero de una hembra durante la inseminación artificial demostró interrumpir la fertilización. La infección congénita es el resultado de la replicación viral en la placenta y la infección del feto. Si la infección con virus de BVD ocurre durante el primer o segundo trimestre de gestación, puede haber aborto o muerte del embrión. Si la infección ocurre a los 120 - 180 días de gestación aparecen defectos congénitos. Estos defectos pueden ser microcefalia, hipoplasia cerebelar, hidrocefalia, hidrocéfalo, defecto de mielinización del cordón espinal, cataratas, degeneración de la retina, neuritis del nervio óptico, microftalmia, aplasia del timo, hipotricosis, alopecia, e hipoplasia pulmonar.

## INFECCIÓN PERSISTENTE

Si el feto se expone al virus entre los 60-120 días de gestación, antes de desarrollar inmunocompetencia (por lo general luego de los 120 días de gestación) se infectará persistentemente. El virus se replica en los tejidos fetales, el feto se vuelve inmunotolerante y no hay respuesta inmune. Los terneros persistentemente infectados son inmunotolerantes para la cepa de virus persistente de BVD y presentan viremia de por vida, con el riesgo de desarrollar la forma fatal de enfermedad de las mucosas. Los animales persistentemente infectados con el virus de BVD son portadores. Los animales inmunocompetentes producen anticuerpos neutralizantes que limitan la eliminación de virus. El animal inmunotolerante no produce anticuerpos contra el virus persistente, de modo que el animal persistentemente infectado es un diseminador de virus dentro del rodeo. El ganado persistentemente infectado puede responder inmunológicamente y producir anticuerpos para otra cepa antigénica de virus. Esta es probablemente una respuesta a epitopes no compartidos.

Los síntomas clínicos y lesiones causadas por la infección persistente de virus de BVD en el ganado son variables. El tropismo del

virus por los tejidos nerviosos lesiona el sistema nervioso central lo que puede manifestarse como incoordinación o depresión de los terneros recién nacidos. Los terneros persistentemente infectados tienen comúnmente menor tasa de crecimiento y son más susceptibles a las enfermedades de las guacheras como por ejemplo neumonía.

## **BVD AGUDA**

La forma aguda de diarrea viral bovina es una infección post natal de los animales seronegativos, inmunocompetentes. El virus de BVD aumenta la posibilidad de aparición de enfermedades causadas por otros patógenos y es un componente importante del complejo respiratorio bovino. Los animales inmunocompetentes que después del nacimiento se infectan con biotipos no citopáticos de virus de BVD, cursan enfermedad clínica de severidad variable.

La diarrea viral bovina adquirida naturalmente se caracteriza por alta morbilidad, baja mortalidad, respuesta inmune del huésped normal y lesiones mucosas mínimas. Frecuentemente puede haber pirexia, descarga nasal y leucopenia transitoria.

Los biotipos no citopáticos, pueden aislarse a partir de sangre de animales infectados en forma aguda durante 10 días después de la infección, y los títulos de anticuerpos aumentan lentamente durante 3 meses después de la infección. Este aumento lento del título puede deberse al efecto inmunosupresor del virus. Según algunos trabajos, la infección aguda de virus de BVD es causa de agalaxia y diarrea en ganado lechero. El virus también se asocia a problemas de enteritis en terneros recién nacidos. Con el tipo II de virus de BVD se ha descrito recientemente una enfermedad fatal en terneros que consiste en marcada trombocitopenia y hemorragias. El virus que se utilizó experimentalmente se aisló de un caso natural en el que los terneros infectados presentaban diarrea sanguinolenta, epistaxis, petequias y hemorragias equimóticas. Las lesiones de los terneros infectados con virus de BVD tipo II son semejantes a las de la Enfermedad de las Mucosas y pueden ser lesiones extensas e imperceptibles. No todos los tipos II de virus de BVD aislados causan enfermedad severa.

## **ENFERMEDAD DE APARATO RESPIRATORIO**

El virus de BVD es un factor predisponente importante para el desarrollo de enfermedad respiratoria en terneros susceptibles. Durante el primer año de vida es bastante frecuente la infección por virus de BVD junto con otros patógenos pulmonares y las pérdidas económicas por esta causa son grandes. Estas infecciones pueden deberse a la inmunosupresión transitoria causada por el virus de BVD, que predispone la infección con patógenos pulmonares y entéricos. El virus de BVD se replica en los monocitos, células B, células T y células epiteliales del aparato respiratorio superior y gastrointestinal. Se piensa que el virus causa inmunosupresión, por anular la función de linfocitos, neutrófilos y monocitos.

## **ENFERMEDAD DE LAS MUCOSAS**

La Enfermedad de las Mucosas es una enfermedad mortal caracterizada por diarrea profusa y severas erosiones y úlceras de la mucosa del aparato intestinal y aparece habitualmente en animales de 6 a 18 meses de edad. Experimentalmente, la enfermedad sobreviene en animales persistentemente infectados con biotipo no citopático, que se infectan con biotipo citopático. A campo, el biotipo citopático puede originarse por mutación del biotipo no citopático del virus persistente.

## **PROGRAMA DE VACUNACIÓN DE DIARREA VIRAL BOVINA**

*Clayton L. Kelling, DMV  
Department of Veterinary and Biomedical Sciences  
University of Nebraska  
Lincoln*

Las pérdidas producidas por acción del virus de Diarrea Viral Bovina se deben fundamentalmente a inmunosupresión, fallas reproductivas o muerte. La inmunosupresión causada por infección aguda del virus de BVD es un factor predisponente importante para el desarrollo de enfermedades del aparato respiratorio de los terneros y las cepas de virus de BVD altamente virulentas son las responsables de grandes pérdidas por muerte de los animales infectados en forma aguda.

Implementar medidas de control para reducir la enfermedad en el rodeo, evita pérdidas de producción de los animales afectados.

La principal medida de control en ganado lechero es prevenir la infección fetal para eliminar las pérdidas reproductivas asociadas (previniendo el nacimiento de terneros persistentemente infectados), y reducir las pérdidas producidas por la infección aguda de virus de BVD.

El control se realiza generalmente por medio de la vacunación y cuando se puede, por eliminación del rodeo de los animales persistentemente infectados, previniendo la introducción de estos animales en el rodeo.

El control de la Diarrea Viral Bovina por medio de la vacunación es compleja debido a la gran diversidad antigénica entre los virus aislados. Los datos sobre la eficacia comparativa de las distintas vacunas son limitados, de modo que la decisión acerca de qué vacuna usar, y en qué momento está basada en la propia experiencia.

## **CONTROL POR VACUNACIÓN**

Características biológicas del virus de BVD que complican la eficiencia de las vacunas.

El virus de BVD pertenece a la familia Flaviviridae y al género Pestivirus. Son virus pequeños, envueltos, de una sola cadena RNA, antigénicamente relacionados. Sobreviven en el ambiente durante no más de 2 semanas y se inactiva rápidamente por medio de desinfectantes comunes. El virus se transmite por inhalación o ingestión de material contaminado con secreciones orgánicas infectadas (saliva, descargas oculonasales, orina, semen, heces, secreciones uterinas, placenta y líquido amniótico), a partir de animales infectados o por transmisión vertical.

Aunque existe un serotipo de virus de BVD, en los aislamientos de campo se ha demostrado por medio de anticuerpos monoclonales una antigenicidad heterogénea. Esta diversidad antigénica es importante para el desarrollo de inmunidad cruzada. Los aislamientos de virus de BVD varían en su patogenicidad relativa, lo que se manifiesta en la variabilidad de las lesiones y en la enfermedad clínica que produce. Los virus de BVD aislados se dividen en dos biotipos/grupos de virus con igual constitución genética basándose en su comportamiento en cultivo celulares que se refleja en su capacidad para causar cambios microscópicos (vacuolización y lisis) en las células huésped in vitro. Los aislamientos de virus que pueden lisar las células huésped se denominan biotipos citopáticos. Los aislamientos de cepas que perdieron esta capacidad se denominan biotipos no citopáticos. Los biotipos no citopáticos son más comunes en bovinos, aunque se pueden encontrar ambos. Los biotipos no pueden distinguirse antigénicamente. Ambos biotipos infectan al bovino y causan enfermedad pero solamente los biotipos no citopáticos causan infecciones persistentes. Recientemente, se ha dividido a las cepas de virus de BVD en dos grupos genéticos o genotipos: el genotipo I o tipo I que es el virus de BVD clásico y el genotipo 2 o Tipo 2 que es la cepa descrita recientemente asociada con una alta tasa de mortalidad, trombocitopenia y hemorragias. Se han realizado aislamientos de biotipos citopáticos y no citopáticos en cada genotipo. Las diferencias antigénicas entre los aislamientos de los tipos 1 y 2 y el reconocimiento de la importancia del tipo 2 de virus de BVD dieron las bases para sugerir que las nuevas vacunas deben incluir las nuevas cepas de modo de obtener una protección cruzada eficiente. Los virus RNA, como el

virus de BVD, tienen alta capacidad de mutación en respuesta a la presión inmune selectiva. La mutación es la estrategia usada por el virus de BVD para escapar de la respuesta inmune del huésped, y para persistir en la población bovina. Por experimentación in vitro se ha demostrado este mecanismo de supervivencia viral.

## RESPUESTA INMUNE

El principal objetivo de la respuesta inmune es inactivar el virus libre y eliminar las células infectadas que tienen la capacidad potencial de liberar virus infectante. El éxito de la inmunización sería estimular ambas respuestas: la inmunidad tisular y la mediada por células. La respuesta inmune humoral tiene como principal responsabilidad la inactivación del virus libre o circulante. Los anticuerpos logran este objetivo, neutralizando el virus de BVD y también aglutinándolo de lo que se aumenta la eliminación. Aún no se estableció el rol directo de la inmunidad mediada por células debido a las células T citotóxicas en la recuperación de la infección por el virus de BVD.

## VACUNA DE BVD

Las vacunas a virus vivo modificado y a virus inactivado (muertas) ayudan a controlar la infección por virus de BVD. Elegir una u otra vacuna sobre la base de su mérito individual es tema de controversia. Las vacunas deberían seleccionarse combinando las condiciones individuales del rodeo donde se van aplicar con las ventajas y desventajas de los dos tipos de vacunas.

La principal ventaja de las vacunas a virus vivo modificado es que activan todas las fases del sistema inmune, obteniéndose una respuesta inmune balanceada. A diferencia de las vacunas inactivadas, en las que los antígenos pueden destruirse, las vacunas a virus vivo estimulan una respuesta inmune para cada parte antigénica del virus. La inmunidad estimulada por las vacunas a virus vivo modificado produce una inmunidad cruzada mayor que la de las vacunas a virus inactivado. Esta reacción cruzada es muy importante en la infección con virus de BVD debido a la variación que hay entre las cepas aisladas. Otra ventaja de las vacunas a virus vivo modificado es que induce una gran respuesta de anticuerpos neutralizantes, produce mayor duración de la inmunidad y necesita aplicaciones menos frecuentes. La desventaja de las vacunas a virus vivo modificado es su propiedad inmunosupresora y su capacidad potencial de causar infección fetal y enfermedad. Otra desventaja de las vacunas a virus vivo modificado es su potencial capacidad para restablecer la virulencia del virus durante la infección.

El mayor riesgo de reversión de la virulencia existe en los animales inmunocomprometidos, tales como los animales estresados, terneros de destete, o animales que se trasladan de un lugar a otro. Los anticuerpos maternos limitan la replicación del virus vivo modificado y reducen la respuesta inmune a la vacuna. La inmunidad producida por el virus de BVD no es para toda la vida y su duración es limitada después de la vacunación. Esta observación refuerza la necesidad de aplicar una vacunación de refuerzo anual. Las vacunas inactivadas no son inmunosupresoras y no infectan al feto. Además tienen la ventaja de inmunizar con un riesgo mínimo de infección. La desventaja de estas vacunas es que inducen una respuesta de anticuerpos neutralizantes débil y de corta duración, lo que implica la necesidad de repetirlas más frecuentemente. Además tienen la desventaja con respecto a las vacunas a virus vivo modificado, de ser incapaces de estimular la respuesta de células citotóxicas T, que juegan un papel importante en la recuperación y resistencia a la enfermedad.

Se vio que la vacuna a virus inactivado (Tipo 1) no estimula la inmunidad cruzada contra una variante antigénica (tipo 2) del mismo modo que las vacunas a virus vivo modificado.

## PROGRAMA DE VACUNACIÓN

### Vacunación en rodeos de cría

La mejor recomendación general para controlar la infección por virus de BVD es:

- 1.- Evitar la entrada de animales de reemplazo persistentemente infectados, o hembras preñadas seropositivas portadoras de fetos persistentemente infectados.
- 2.- Eliminar del rodeo los animales portadores.
- 3.- Implementar un programa de vacunación adecuado.

Es importante destacar que si se identifican y eliminan los animales portadores persistentemente infectados, se pierde la fuente endógena de virus de BVD dentro del rodeo.

Los portadores persistentemente infectados pueden estimular la inmunidad de todo el rodeo o por lo menos de ciertos animales. Al eliminar del rodeo los portadores persistentemente infectados, que eliminan virus, se pierde el efecto "vacunador", por lo cual aumenta el porcentaje de animales seronegativos en riesgo, lo que demuestra la importancia de establecer un mecanismo de inmunización estable o sistemático.

El objetivo de la vacunación de las hembras es prevenir la infección del feto. Sin embargo debido a la diversidad antigénica entre las cepas de virus de BVD aisladas, hay ciertas dudas sobre si la vacunación realmente protege al feto. El virus de BVD entra primariamente en el huésped susceptible por vía oronasal y se replica en las tonsilas, tejidos linfoides y epitelio de orofaringe. Las células fagocíticas toman al virus o las células infectadas con virus y los transportan a los tejidos linfáticos. Tres días después de la exposición hay una viremia transitoria evidente que se mantiene durante 11 días. Los anticuerpos neutralizan efectivamente la infección viral, promueven la eliminación del virus y previenen la infección de los órganos susceptibles y el feto.

Las vacunas, en teoría deberían promover una inmunidad tal que proteja al

feto de todas las cepas de campo de virus de BVD.

Los datos obtenidos de los estudios realizados demuestran que tanto las vacunas a virus vivo modificado (VVM) como las de virus inactivado (VI) previenen en forma limitada la infección transplacentaria.

Las vacunas a virus vivo (VV) tienen propiedades que las hacen capaces de estimular una protección completa contra la infección transplacentaria. Por esta razón una de las recomendaciones es vacunar con vacunas a virus vivo modificado (VVM), animales sanos, no estresados.

La aplicación de la vacuna debe programarse cuidadosamente de modo tal que las hembras obtengan el pico máximo de respuesta inmune coincidentemente con los 4 primeros meses de gestación que es el período crítico. Esto se hace para maximizar el potencial de una inmunidad adecuada para proteger la infección fetal y las fallas reproductivas o el nacimiento de terneros persistentemente infectados. Si las hembras no fueron vacunadas previamente, la primera serie debe consistir en dos vacunaciones. La primera dosis debería administrarse cuando las hembras tienen 6 meses de edad o más, y la segunda dosis debería darse tres ciclos estrales (dos meses) antes del servicio.

Si se utilizan vacunas a virus inactivado, la vacunación de las hembras debería programarse cuidadosamente de modo de alcanzar la máxima respuesta inmune, reconociendo que la duración de la inmunidad después de la vacunación con vacunas inactivadas es más corta que con las vacunas a virus vivo modificado (VVM). Las hembras deberían vacunarse por lo menos dos veces antes del servicio aplicando la primera dosis 5 semanas antes del mismo y la segunda dosis 2 semanas antes. Los animales de carne deben revacunarse anualmente con vacunas inactivadas (VI) 2 semanas antes del servicio. Las vacunas a virus inactivado (VI) se prefieren para la revacunación booster anual para evitar los riesgos asociados a las vacunas a virus vivo modificado (VVM). La mejor recomendación es seguir cuidadosamente las instrucciones del rótulo de las vacunas.

## VACUNACIÓN EN RODEOS LECHEROS

La medida práctica de manejo recomendada para ayudar a controlar la infección por virus de BVD en rodeos lecheros es evitar la entrada de animales de reemplazo persistentemente infectados, eliminar los animales persistentemente infectados del rodeo e implementar un programa de vacunación. Las vacas de tambo están por lo general en varios estadios del ciclo estral al mismo tiempo. Esto complica la vacunación porque si se usa vacuna a virus vivo modificado(VVM) es imposible aplicarla a vacas preñadas dado que estas vacunas pueden infectar el feto. Las vacunas a virus inactivado (VI) tienen sus ventajas en rodeos lecheros. Las hembras sanas de reemplazo, aisladas de las vacas preñadas, pueden vacunarse con vacunas a virus vivo modificado(VVM) antes del servicio. La vacunación debe programarse para que la máxima protección se alcance durante los cuatro primeros meses de gestación. La primera serie debe consistir en dos dosis. La primera dosis se aplica después de los 6 meses de edad pero por lo menos 80 días antes del servicio y la segunda dosis se da 60 días (tres ciclos estrales) antes del servicio. Si se usan vacunas a virus inactivado (VI), la vacunación de las hembras antes del servicio debe programarse de modo de alcanzar la máxima respuesta para proteger la infección del feto durante los dos primeros trimestres de gestación. Si bien deben seguirse las recomendaciones de los elaboradores de vacunas, se necesitan un mínimo de dos dosis en la primera serie de vacunación. La primera dosis de una vacuna a virus inactivado(VI) de la primera serie se aplica 5 semanas antes del servicio y la segunda, dos semanas antes del servicio. Las vacas lecheras deben revacunarse anualmente con vacuna a virus inactivado(VI) dos semanas antes del servicio.

## **VACUNACIÓN DE TERNEROS DE RODEOS DE CARNE**

Los terneros de rodeos de carne deben vacunarse a edad temprana, cuando los anticuerpos maternos aún están elevados. Aunque éstos pueden comprometer la respuesta inmunológica, se ha detectado respuesta inmune en terneros vacunados en presencia de anticuerpos maternos. La ventaja de vacunar terneros de guachera en rodeos donde se vacunan a las madres es cuestionable ya que los anticuerpos maternos protegen al ternero de la enfermedad clínica.

En teoría, la protección más completa se alcanza vacunando terneros nacidos de vacas vacunadas, utilizando una vacuna con una cepa antigénicamente diferente de la utilizada en las madres.

Los terneros deben vacunarse 3 a 4 semanas antes del destete de modo que el sistema inmune se estimule antes de entrar a los lugares de concentración y hacinamiento donde el riesgo de infección por virus de BVD es mayor. Los terneros destetados a las 5 - 7 meses son altamente susceptibles a la infección de virus de BVD ya sea porque son seronegativos o porque tienen bajos títulos de anticuerpos maternos en ese momento. Las vacunas a virus inactivado (VI) se recomiendan para vacunar terneros lactantes antes del destete. Esta recomendación se basa en medidas de seguridad ya que en condiciones experimentales, tanto las vacunas a virus vivo modificado(VVM) como las vacunas a virus inactivado(VI) son efectivas para prevenir la infección respiratoria de la descarga con virus de BVD.

El uso de vacunas inactivadas para terneros recién destetados se recomienda debido al aumento de mortalidad de terneros asociado al uso de vacunas a virus vivo modificado(VVM). El aumento de mortalidad se atribuye a la acción inmunosupresora de la vacuna a virus vivo modificado (VVM) en animales estresados.

## **VACUNACIÓN DE TERNEROS DE TAMBO**

La prevención de las enfermedades neonatales de los terneros de rodeos lecheros depende del manejo. La práctica de manejo determina la cantidad de calostro que maman los terneros durante las críticas primeras horas de vida. La resistencia de los terneros recién nacidos a la infección con el virus de BVD depende de la cantidad de calostro ingerido y de la concentración de anticuerpos presentes en ese calostro. La vacunación de terneros jóvenes contra virus de BVD es parte de la recomendación del plan sanitario de los terneros dado que la cantidad de calostro que ingieren a menudo es desconocida. Esta incertidumbre se magnifica cuando los terneros se compran en lugares sin antecedentes conocidos. Los terneros deben vacunarse a edad temprana para compensar títulos calostrales inadecuados. Los anticuerpos calostrales de los terneros jóvenes interfieren con la respuesta inmune a la vacunación, sin embargo, se demostró que vacunando terneros jóvenes seropositivos con vacuna de virus de BVD, se obtiene respuesta inmunológica.

Se recomienda la vacunación de terneros durante los primeros semanas de vida. Los datos comparativos de la eficiencia de uso de vacunas a virus vivo o inactivado en terneros no están disponibles, como para influenciar el uso de una u otra, pero si bien pueden usarse ambas, se prefiere el uso de vacunas a virus inactivado, para evitar el efecto inmunosupresor de las vacunas a virus vivo. La inmunosupresión en este periodo de vida del animal puede marcar consecuencias adversas ya que el sistema inmune del ternero aún está en desarrollo. En este momento hay un gran riesgo de exposición a patógenos que pueden desencadenar neumonía o diarrea. Es esencial administrar una doble dosis inicial y un booster a los 5-6 meses de edad cuando los anticuerpos calostrales disminuyen o desaparecen.

## **CONCLUSIÓN**

Es importante para el Médico Veterinario implementar medidas de control para reducir las pérdidas producidas por la infección con el virus de BVD, ya que esas pérdidas son una preocupación económica para el productor.

El control se logra elaborando un programa de vacunación individual para cada rodeo y no usando un mismo programa para todos ellos.

Diseñar un adecuado programa de vacunación dependerá del conocimiento específico de los parámetros del rodeo (productividad y estado de infección) usado en conjunto con el conocimiento de la patología y los factores epidemiológicos de la infección por virus de BVD

## **LA MUESTRA: CLAVES PARA EL DIAGNÓSTICO**

El esfuerzo de un veterinario de levantarse temprano un domingo, para hacer una investigación y recuperar muestras, sangrar animales, viajar distancias, comprar material, empacar las muestras, llevarlas a la compañía transportadora y hacer varias llamadas telefónicas deja exhausto a cualquiera.

Sin embargo, resulta frustrante cuando después, el laboratorio, nos comunica que las muestras no eran adecuadas, que llegaron en malas condiciones o que los envases se rompieron. La próxima vez mejor ni salir a investigar. ¡No! A continuación repasamos la forma ideal de tomar muestras y la mejor manera de enviarlas.

La muestra sanguínea: suero, plasma, sangre: las muestras deben ser recolectadas usando recipientes estériles (aguja, jeringa, tubo, etc. ) uno por animal, e identificados (especie, edad, sexo, fecha). En el caso de usar jeringa, la sangre puede hemolizarse al meter la muestra en el tubo de ensayo si no se toman ciertas medidas:

Hay que remover la aguja, reposar la punta de la jeringa contra la pared interior del tubo estéril y lentamente expulsar la muestra de sangre, asegurando que así resbale contra el fondo del tubo. En un lugar seguro y sombreado se puede dejar reposar el tubo de sangre para que coagule y se pueda extraer el suero. Si el animal esta en periodo febril, sería ideal tomar una muestra de sangre completa o sea sin coagular, para que el laboratorio intente identificar un agente causal en la sangre directamente. Los

anticoagulantes más comunes son el EDTA y Heparina. La toma de muestra se haría igual que con el suero, pero tomando mas precauciones de que la muestra se mantenga siempre esteril. Esta muestra de sangre entera nunca debe congelarse, ya que se destruirían los glóbulos y limitaría la posibilidad de aislar un agente. En el laboratorio al centrifugar la muestra completa se podría separar plasma de la parte celular de esta muestra. El plasma, así como el suero obtenido después de la coagulación, sirve para estudios serológicos.

Muestras de tejidos: haga necropsias en toda oportunidad. No solamente podra hallar macroscópicamente posibles causas del problema y obtener un informe más completo. sino también sirve para repasar conocimientos de anatomía, fisiología y mejorar habilidades en el empleo del cuchillo en la disección.

## **MUESTRAS PARA MICROBIOLOGÍA**

- 1) Problemas vesiculares: tome muestras de la lesión. A veces hay que raspar (tijera abierta o con cuchilla) el epitelio y arrancar una muestra suficientemente grande para su mejor rendimiento en diferentes pruebas de laboratorio. Una costra que cubra la herida NO es buena muestra ya que contiene células muertas, pus, etc. Las muestras deben enviarlas en glicerina o refrigeradas. Si hay líquido vesicular, use una jeringa esteril para su colección.
- 2) Frotis de sangre deben ser secados al aire: envueltos en papel y encintados.
- 3) Efusiones, exudados u otros líquidos corporales pueden envasarse en tubos estériles o en la misma jeringa en que se tomaron asegurandose de que estén bien tapados (quemando y hermetizando la punta) y que el embolo no se mueva. Mandelos refrigerados.
- 4) Organos en bloque de 50-150 gr. (higado, bazo, riñón, pulmón, corazón, encefalo, etc.) separados en diferentes bolsas de plástico. Mandelos refrigerados.
- 5) Si fuera necesario tome muestras de secciones de intestino con su contenido de 10-20 cm. de longitud. Esta muestra debe ser la ultima para estudios microbiológicos, ya que el peligro de contaminar los otros organos es alto. Sin embargo, para evitar que los contenidos seleccionados cambien de ubicación haga una doble ligadura en los extremos antes de continuar con la necropsia.

## **MUESTRAS PARA HISTOPATOLOGÍA**

- 1) Todas las muestras que se tomen para histopatología deben ser colocadas en formol al 10%. La glicerina, alcohol al 70%, solución salina fisiológica, etc. no sirven para este propósito. La cantidad de formol debe exceder el volumen de tejido 10 a 1.
- 2) Deben ser colectados tejidos de TODOS los órganos aunque no muestren lesiones aparentes.
- 3) La muestra perfecta es aquella que siendo delgada (0.2 a 0.5 cm) y pequeña tiene parte de la lesión y parte de tejido normal. USE siempre bisturí o cuchillo afilado para obtener sus muestras, siempre cortando NO aplastando, NUNCA use tijeras.
- 4) No tenga miedo de cortar el órgano en cuestión en varios lugares buscando la mejor muestra o hasta incluir varios cortes.
- 5) NUNCA meta un órgano completo en formol si no esta previamente cortado (por ejemplo: ganglio linfático). ASEGURESE de que haya suficiente formol.
- 6) Si se van a enviar las muestras por flete, es ideal que se envíen en frascos de PLASTICO con rosca, ya que el vidrio podría romperse. Encinte la tapa con cinta aislante (eléctrica) aplicandola en la misma dirección del cierre de la tapa asegurando así su hermeticidad.
- 7) No hay que refrigerar las muestras que fueron fijadas en formol y NUNCA LOS CONGELE. Otras muestras pertinentes: Usted está haciendo una investigación. Si determina en su opinión profesional, que se trata de una posible toxicosis, incluya con las demas muestras, una bolsa llena de alimento o una jarra (plástico) de aguadel bebedero. Ectoparásitos o larvas de algunas miasis pueden también ser clave para un problema en el campo. Inspeccione la piel y colecte los ectoparásitos en un frasco de alcohol (70%).

## **ENVÍO DE MUESTRAS**

- 1) Envíe las muestras con una historia clínica DETAL LADA del caso o casos y una relación del contenido de la caja. Esta hoja no solamente describe sus hallazgos, sino también es una imagen de usted ante otros colegas. Hagalo con orgullo y profesionalismo.
- 2) Piense en todos los percances: envuelva las muestras con bolsas de plástico, cerrandolas bien. Separe las muestras en formol de las de microbiología ya que si se derramase el formol podría inactivar algún germen. Ideal sería mandar los frascos de formol (uno por animal) o dos si se envía el encéfalo en una caja separada; pero si esto no fuese posible coloque los frascos de formol en el fondo de la caja. Utilice periódico arrugado para evitar que las muestras se golpeen entre si.: Haga fotocopias de sus documentos e incluyalos dentro de la caja; otras las debe colocar en un sobre y adherirlas a la parte de afuera de la caja; y otra copia para su propio archivo.
- 3) De preferencia use bolsas de refrigerante congelado para asegurar la larga duración de la refrigeración para el transporte. Si usa hielo normal (lo cual no es ideal ya que al descongelarse dañaría la caja y es problemático para los empleados de las empresas de transporte), póngalo en varias bolsas de plástico cerradas para evitar derrames.
- 4) Comuníquese con el laboratorio u oficina proporcionando el nombre de la empresa de transporte, día y hora de salida, día y hora de llegada probable y número de guía.

*\*Tomado textual del Boletín del Centro para la Prevención de la F. Aftosa. Vol. 3 N° I - Abril, 1990.*

## **NEOSPOROSIS CAUSA DE PROBLEMAS REPRODUCTIVOS**

*Dra Susana Conigliaro \**

### **DESCRIPCIÓN**

El género Neospora fue identificado por primera vez en 1988 por Dubey en Estados Unidos, como agente de encefalitis y miositis en cachorros caninos. Desde entonces ha sido descrito en varias especies animales incluyendo bovinos, ovinos, caprinos y equinos como causa de infecciones fetales y neonatales. Recientemente neosporosis ha emergido como una importante enfermedad reproductiva en bovinos, cuya presencia se ha comprobado en diferentes países del mundo.

Aunque el aborto por Neospora ocurre tanto en ganado de carne como lechero, los problemas de aborto más severos se observaron en estos últimos. El impacto económico de la enfermedad en vacas de tambo está relacionado además con la disminución de la producción láctea.

La causa es un protozooario parásito Neospora sp, parecido a Toxoplasma gondii y muy similar a la Neospora caninum, aislada en

perros. La vía natural de infección y el ciclo de vida del parásito todavía no se conocen, pero se presume que la reproducción sexual de Neospora se produce en el aparato digestivo de un carnívoro aún no identificado que actúa como diseminador. Los ooquistes eliminados por las heces contaminan los alimentos y el agua de bebida y los bovinos se infectan al ingerir los ooquistes. El parásito invade a través de los intestinos, los tejidos de la madre y eventualmente puede atravesar la placenta para infectar al feto. La transmisión congénita en el ganado bovino también puede ser importante en el mantenimiento de la infección dentro del rodeo.

*\* Nota publicada en la Revista de la CABIA AÑO 10 Nº 33 – Diciembre 1997*

## **SIGNOS CLÍNICOS**

En las vacas infectadas el único signo clínico observado es el aborto. El feto abortado es generalmente autolítico, sin lesiones aparentes y no hay retención de placenta. A veces pueden aparecer fetos momificados. El aborto se observa tanto en vacas como vaquillonas a partir de los 3 meses de gestación hasta fetos a término. Se desconoce si Neospora puede causar problemas reproductivos durante el primer trimestre de la gestación. La mayoría de los abortos por Neospora ( el 78% ) ocurren entre el 4º y el 6º mes de gestación. Los terneros infectados in útero (infección congénita) pueden ser normales o pueden presentar problemas locomotores, incoordinación, debilidad o ataxia. Algunos terneros nacen débiles, con dificultad para mamar o pararse y mueren dentro de las primeras semanas de vida.

## **DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico se basa en el examen microscópico del feto y la observación del parásito en los tejidos seleccionados. Las muestras de elección para remitir al laboratorio en casos de abortos son los fetos junto con la placenta y el suero de la madre abortada. El feto abortado presenta generalmente acúmulo de líquido sanguinolento en las cavidades del organismo. Raramente se observan lesiones tales como focos blancos en los músculos esqueléticos o el corazón. Las lesiones histológicas consisten en infiltrados no supurativos. La lesión mas importante desde el punto de vista diagnóstico es la lesión del cerebro y consiste en focos de infiltrados celulares no supurativos diseminados, con focos de necrosis ocasionales.

Los quistes del parásito no se observan con las técnicas habituales de coloración sobre frotis de tejidos. Se ubican en el sistema nervioso central, base del cerebro, interior de neuronas y no suelen asociarse con lesiones microscópicas. Otras lesiones histológicas incluyen epicarditis y/o miositis focal y hepatitis portal no supurativas, frecuentemente con focos de necrosis hepática.

El diagnóstico presuntivo de la infección por este protozooario puede hacerse sobre la base de las lesiones histológicas. La inmunohistoquímica y la inmunofluorescencia directa utilizando anticuerpos anti-neosporas son métodos efectivos para comprobar la presencia de taquizoitos o quistes del parásito sobre tejidos fetales y establecen un diagnóstico definitivo.

Las pruebas serológicas como la inmunofluorescencia indirecta o ELISA a partir de muestras de suero de vacas abortadas permiten hacer un relevamiento de la situación epidemiológica de cada rodeo. La presencia de títulos de anticuerpos en líquidos fetales también tiene valor diagnóstico.

En nuestro país se ha detectado la presencia de vacas serológicamente positivas en diferentes rodeos de carne y leche con antecedentes de abortos, ( Venturini et al. y Campero et al.). También se ha confirmado el aborto a Neospora a partir de tejidos fetales, (Campero et al.), lo que avala la presencia de la enfermedad.

## **EPIDEMIOLOGÍA**

Epidemiológicamente puede haber tormentas de abortos o presentación de abortos esporádicos, endémicos. Si bien los abortos pueden presentarse durante todo el año, suelen ocurrir con más frecuencia en primavera y fines de otoño. Algunas vacas pueden repetir la infección fetal transplacentaria y dar nacimiento de terneros vivos infectados o con alteraciones en los miembros.

Experimentalmente se ha podido reproducir la infección en el feto. La inoculación de Neospora en vacas preñadas produce infección dentro de los 30 días y muerte del feto alrededor del día 67.

La prevalencia de la infección por Neospora adquirida congénitamente no se conoce.

La infección fetal hacia el final de la gestación, cuando hay inmunidad humoral y celular, puede dar nacimiento de terneros vivos infectados que son portadores de por vida.

Se ha demostrado que la producción de leche y grasa de la leche es menor en vacas serológicamente positivas que en las negativas.

La infección puede transmitirse verticalmente en varias generaciones, pero se desconoce cómo las vacas adquieren la infección inicial. La transmisión horizontal, si ocurre, es infrecuente.

Los terneros nacidos de vacas infectadas presentan altos títulos de anticuerpos al momento de nacer lo que demuestra que el parásito se transmite al feto vía transplacentaria e induce una respuesta inmune humoral. Los anticuerpos se mantienen hasta los 4 o 5 meses después del nacimiento. El ternero que nace de una madre seronegativa solo tiene título de anticuerpos después de haber mamado calostro de una madre seropositiva.

La presencia de altos títulos de anticuerpos precalostrales en terneros podría servir para identificar terneros infectados congénitamente.

Las hembras clínicamente normales pueden estar infectadas congénitamente y transmitir por placenta la infección a sus hijos. La transmisión vertical puede ser un modo por el cual la neosporosis se mantiene en el rodeo.

## **PREVENCIÓN Y CONTROL**

Hasta el presente no hay métodos de control , prevención y tratamiento para la neosporosis del bovino. Al desconocer la biología del parásito y el modo de transmisión no hay suficiente información sobre la cual se puedan elaborar recomendaciones específicas. Sin embargo es prudente eliminar del ambiente todos los tejidos potencialmente infectados tales como fetos y placentas que podrían servir como fuente de infección para huéspedes susceptibles. Además debe limitarse la contaminación fecal de fuentes de alimentos y agua de bebida.

Cualquier planeamiento de control deberá basarse en la identificación del hospedador definitivo y el conocimiento de la patogénesis de la infección en el vacuno, aspectos que hoy en día se desconocen.

Hasta el presente, no hay recomendaciones apropiadas para evitar el aborto por Neospora en los bovinos. Aunque puede haber abortos a repetición o infección congénita, no hay suficiente información como para predecir el futuro comportamiento reproductivo de los animales infectados.

Actualmente se está investigando si la infección congénita repetida significa una nueva infección o es la reactivación de un portador infectado crónico.

Se ha demostrado que vacas infectadas con Neospora pueden tener múltiples fetos infectados que pueden ser abortados o nacer con infección congénita. Aún no se ha desarrollado ninguna vacuna para prevenir la enfermedad.

Por el momento, las únicas medidas que se pueden adoptar se limitan al conocimiento de la situación epidemiológica del rodeo y la eliminación de los animales infectados para evitar la transmisión congénita.

Se sugiere estudiar la presencia de anticuerpos en los animales antes de mamar calostro para detectar si están infectados, o

analizarlos después de los 5 meses de edad cuando ya desaparecen los anticuerpos adquiridos por calostro, de modo de eliminarlos del rodeo y no conservarlos para reposición animales positivos.

Con el objeto de controlar la transmisión congénita de la enfermedad se deberían eliminar todas las vacas que resulten serológicamente positivas. Si esto no fuera económicamente factible se podría realizar el estudio serológico de las vaquillonas antes del servicio.

De mismo modo, las hembras infectadas no deben ser utilizadas como receptoras ni donantes en transferencia embrionaria.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Anderson, ML, Barr BC, Conrad, PA. Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. *Vet. Clin. of N. Am : Food Animal Practice.* 10(3) : 439-461. 1994.
- Anderson, ML, Reynolds, JP, Rowe, JD, Sverlow, KW, Packham, AE, Barr, BC, Conrad, PA. Evidence of vertical transmission of *Neospora sp* infection in dairy cattle. *J.Am.Vet. Med Assoc.* Vol 210, iss 8 : 1169 -1172. 1997.
- Barr, BC, Bjerkas, I, Buxton, D, Conrad, PA, Dubey, JP, Ellis, JT, Jenkins, MC, Johnston, SA, Lindsay, DS, Sibley, D, Trees, AJ, Wouda, W. Neoprosis. Report of the international neospora workshop. *Comp Cont. Educ. Pract. Vet. iss 4., suppl.: S120-126, 1997.* Barr, BC, Conrad, P, Dubey, J. et al.. *Neospora-like encephalomyelitis in a calf : pathology, ultrastructure and immunoreactivity.* *J. Vet. Diag. Inv.* 3 : 39, 1991.
- Campero, CM, Odriozola, H, venturini, C, Venturini, L, Lagomarsino, H, Conosciuto, G, Castro, T, Poso, MA, y Medina, D. Presencia de seroreactores a *Neospora* a la prueba de IFI en rodeos lecheros con abortos en Argentina. *Congreso de Parasitología, La Habana , Cuba.* 1997.
- Jenkins, MC, Wouda, W, Dubey, J.P. Serological response over time to recombinant *Neospora caninum* antigens in cattle after a neosporosis induced abortion. *Clin.Diag. Lab. Inm.* Vol 4 iss 3 :270-274, 1997.
- Lindsay, D, Dubey, J, Cole, R, et al. *Neospora-induced protozoal abortions in cattle.* *Comp Cont. Educ. Pract. Vet.* 15 : 882, 1993.
- Pare, J, Thurmond, MC, Hietala, SK : *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J. Parasit.* 1997, Vol 83, iss 1 : 82-87, 1997
- Thurmond, MC, Hietala, SK. Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first lactation dairy cows. *J.Am.Vet.Med.Assoc.,* vol 210, iss 5 : 672, 1997.
- Williams, DJL, Mcgarry, J, Guy, F, Barber, J, Trees, AJ. Novel Elisa for detection of *Neospora-specific* antibodies in cattle. *Vet. Rec.* Vol 140,iss 13 :328-331, 1997

## **PROBLEMAS EN EL DIAGNÓSTICO DE HAEMOPHILUS SOMNUS**

Son varios los factores que contribuyen a subestimar la incidencia de *H.somnus* como causa de enfermedad. Uno de los más importantes es la dificultad para aislar e identificar la bacteria ya que: - Requiere medios de cultivo especiales y factores de crecimiento.

- No desarrolla en presencia de oxígeno ; requiere el 5 - 10 % de CO2.
- No permanece viable mucho tiempo en los tejidos, especialmente cuando hay autólisis.
- El cultivo se ve muchas veces enmascarado por el desarrollo de otras bacterias tales como *E. coli* y *Pasteurella*.
- No desarrolla adecuadamente cuando hubo tratamiento con antibióticos.
- La identificación del microorganismo se basa principalmente en lo que *H.somnus* no hace, ya que es bioquímicamente inactivo.
- El microorganismo no produce habitualmente lesiones patognomónicas.

Las lesiones del TEME podrían serlo, pero la mayoría de las otras manifestaciones de enfermedad son solo sugestivas. Por lo tanto el diagnóstico de infección por *H.somnus* basado solamente en las lesiones es inadecuado.

Sin aislamiento del microorganismo no se puede decir que la infección es causada por este agente.

La forma neumónica de *H. somnus* está relacionada con el clima y el manejo de los terneros y puede verse en terneros jóvenes y en vacas en engorde. La más alta incidencia y las pérdidas mas devastadoras aparecen en terneros livianos de 250-350 libras.

## **BRUCELOSIS - INTERPRETACIÓN DEL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO**

Tomado y adaptado del Boletín Técnico Nº 2- Dr Boris Szyfres IICA/SENASA

### **1.- PAPEL DEL DIAGNÓSTICO Y DE LA ELIMINACIÓN DE REACCIONANTES EN EL PROGRAMA DE CONTROL**

La base del Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina es la siguiente:

- 1.- vacunación obligatoria del 100 % las terneras entre 3 y 8 meses de edad,
- 2.- diagnóstico serológico realizado a partir de muestras extraídas por el Veterinario Acreditado en Laboratorios de la Red habilitados por el SENASA para tal fin y
- 3.- eliminación de los animales positivos.

La vacuna *Brucella abortus* cepa 19 tiene un efecto antiabortivo considerable y confiere inmunidad de alto grado, pero no absoluta. La

inmunidad que confiere puede ser vencida por una exposición masiva o por cepas de campo altamente virulentas. Es por ello que es conveniente además de vacunar reducir las fuentes de infección eliminando los animales reaccionantes.

## **2.- INFLUENCIA DE LA VACUNACIÓN SOBRE EL DIAGNÓSTICO**

La vacunación tiene indudables ventajas pero también algunas desventajas. El inconveniente mayor es que la vacuna induce la formación de anticuerpos que pueden confundir el diagnóstico. Para contrarrestar este inconveniente es que se debe vacunar entre los 3 y 8 meses de edad. Cuanto más joven es el animal, menor tiempo retiene los anticuerpos debido a la vacunación. Las hembras vacunadas a los 3 meses se vuelven negativas dos meses después de la vacunación, en cambio las vacunadas a los 6 meses tardan en hacerlo 6 meses y las vacunadas a los 9 meses (fuera de la edad permitida) mantiene la clasificación de sospechosa 15 meses después de la vacunación. En términos generales se puede afirmar que el 95 % de las hembras vacunadas a los 3-8 meses se negativizan a la edad de 2 años.

Otro aspecto es la infección residual por la vacuna. La cepa 19 produce en general un proceso de infección de corta duración en los animales vacunados. Sin embargo en algunos animales se ha podido comprobar una infección duradera y persistente en el tejido mamario, con aislamiento de la cepa vacunal en leche. Estos animales no pueden distinguirse de los infectados por cepas a campo mediante pruebas serológicas. Afortunadamente la proporción de estos animales es muy baja 2-3 /100.000 terneras vacunadas.

## **3.- DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO**

Las pruebas serológicas dan una evidencia indirecta de la infección brucélica, que cuando son efectuadas en forma uniforme y se las interpreta con criterio epidemiológico constituyen el instrumento más práctico para el diagnóstico.

Para poder interpretar debidamente el resultado del diagnóstico es necesario conocer la dinámica de la evolución de los anticuerpos antibrucela, la evolución de las inmunoglobulinas específicas después de la infección con una cepa virulenta de campo así como después de la vacunación con la cepa 19.

## **4.- LAS INMUNOGLOBULINAS EN BRUCELOSIS**

El término inmunoglobulinas comprende las proteínas que poseen actividad de anticuerpo. Las principales inmunoglobulinas (Ig) que nos conciernen en Brucelosis son la M y la G. Se reconocen en el bovino dos subclases de IgG: la IgG 1 y la IgG 2. La IgG 1 es la más abundante en el suero y secreciones lácteas mientras que la IgG 2 se encuentra en concentraciones más bajas, pero puede aumentar en determinadas circunstancias. La IgA fue poco estudiada en Brucelosis.

### **4.1 PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LAS INMUNOGLOBULINAS**

Las inmunoglobulinas IgM e IgG se diferencian entre otras características por su peso molecular, constante de sedimentación, estabilidad al calor, movilidad electroforética, resistencia al mercaptoetanol, precipitación por el rivanol que es un compuesto de la acridina e inhibición por pH bajo.

### **4.2 EVOLUCIÓN DE LAS INMUNOGLOBULINAS EN ANIMALES VACUNADOS E INFECTADOS.**

La vacunación con la cepa 19 estimula la aparición de Ig M al cabo de unos 5-7 días y alcanzan su máxima concentración a las 2-3 semanas. Luego su concentración en el suero va reduciéndose pero sin desaparecer durante varios meses.

Las IgG aparecen casi al mismo tiempo, o algo más tarde, y alcanzan su máxima concentración de 28 a 42 días después de la vacunación. Estas inmunoglobulinas desaparecen más rápidamente que las IgM, perdurando unos 6 meses después de la vacunación de terneras jóvenes.

La infección natural o experimental con cepas de Brucella abortus virulentas va seguida de la formación de IgM e IgG, pero la concentración de Ig M declina, mientras que la IgG tiende a persistir todo el tiempo que el animal está infectado. En animales con Brucelosis crónica la IgG es la inmunoglobulina principal y a veces la única detectable. En consecuencia, la diferencia principal entre animales vacunados e infectados es la perdurabilidad de la IgG en estos últimos.

En las pruebas del 2 mercaptoetanol, Rivanol, Fijación de Com En el conocimiento de estos hechos inmunológicos se basamento y otras.

### **4.3 PRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA RELACIÓN DE LA EDAD DE VACUNACIÓN Y EL NIVEL Y PERSISTENCIA DE IGG.**

La vacunación de terneras con cepa 19 es obligatoria para todos los rodeos del país. En los rodeos donde se está en proceso de erradicar la infección o ya fue erradicada, interesa evitar al máximo la interferencia que puedan tener los anticuerpos originados por la vacunación con el diagnóstico de la enfermedad.

Anteriormente se expresó que cuanto más joven es el animal al vacunar tanto más rápidamente desaparecen los anticuerpos post vacunales.

Veamos la relación del tenor y persistencia de los anticuerpos IgM e IgG en relación a la edad de vacunación. Las figuras 1 y 2 muestran gráficamente la diferencia en el aspecto mencionado, cuando se vacunan terneras de 4 a 6 meses ó de 8 meses de edad.

*Figura 1.- Representación esquemática de los resultados de la prueba de aglutinación con sueros de terneras vacunadas con cepa 19 entre 4 y 6 meses de edad.*

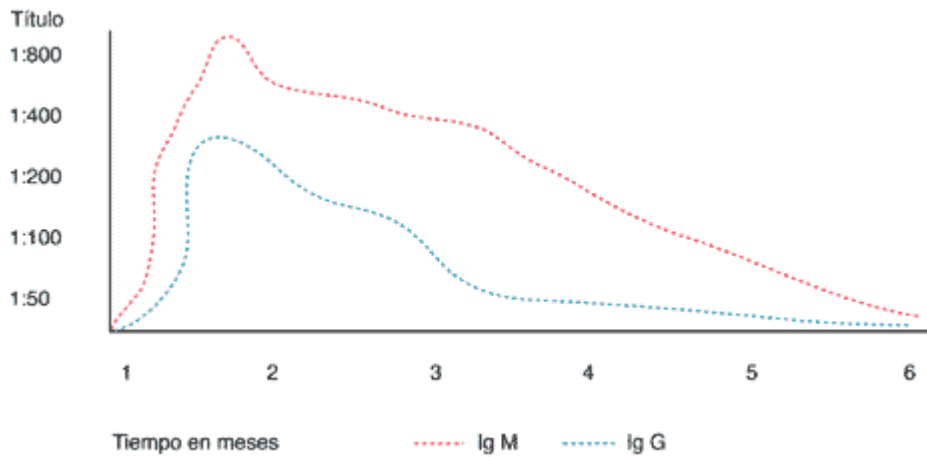
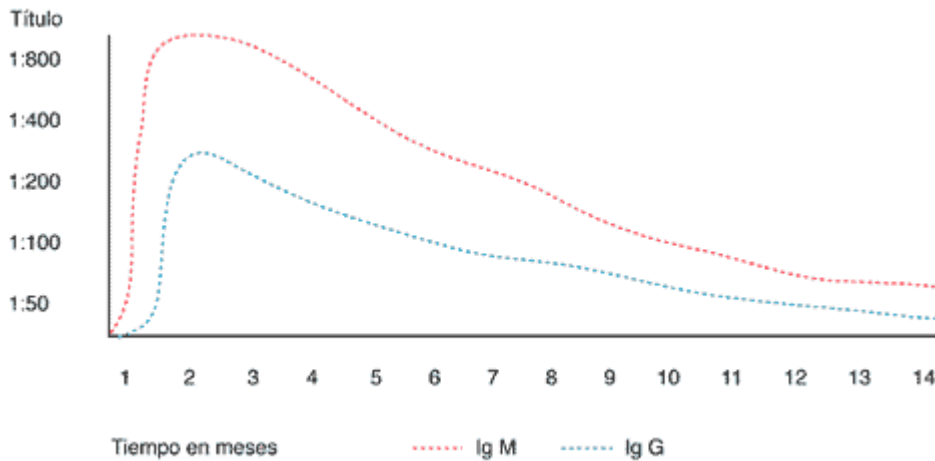


Figura 2.- Representación esquemática de los resultados de la prueba de aglutinación con sueros de terneras vacunadas con la vacuna cepa 19 a los 8 meses de edad.



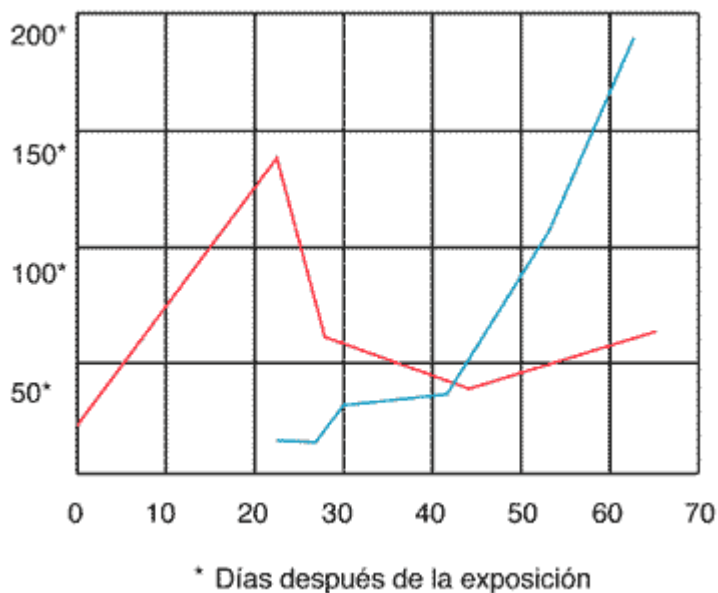
Según se puede observar, los anticuerpos a títulos significativos no solo desaparecen más rápidamente en terneras vacunadas entre 4 y 6 meses de edad, sino que el nivel de la IgG es mucho menor y menos persistente que cuando se vacunan animales a los 8 meses y con más razón a mayor edad. Vacunando a edad temprana no solamente se reduce el riesgo de títulos persistentes a la prueba de seroaglutinación, sino también a las pruebas complementarias. De ahí la recomendación de vacunar a temprana edad en los establecimientos donde se está erradicando la brucelosis.

#### 4.4 PAUTAS DE IG M E IG G EN ANIMALES INFECTADOS NO VACUNADOS Y VACUNADOS.

Cuando un animal es infectado natural o experimentalmente, aparecen primero los anticuerpos Ig M y al poco tiempo las IgG. En la figura 3 vemos un ejemplo de una vaquillona no vacunada y expuesta a una cepa virulenta que reaccionó primero a la seroaglutinación debido a anticuerpos de la clase IgM, ya que los de la clase IgG no se habían formado todavía. Durante el curso de la infección empezaron a predominar las inmunoglobulinas G y mantuvieron un nivel más alto que las IgM. Si bien esta figura representa solo un animal y las pautas de la seroaglutinación pueden variar en diferentes individuos, de acuerdo a la dosis de exposición y vía de inoculación, el ejemplo ilustra bien que las inmunoglobulinas M se forman como una respuesta específica y son importantes para el diagnóstico, especialmente al principio de la infección.

Cuando una hembra vacunada se infecta por una cepa virulenta, los anticuerpos IgG reaparecen más pronto debido a la memoria inmunológica.

Figura 3.- Desarrollo secuencial de IgM y de IgG en una vaquillona, sin antecedentes de vacunación, expuesta a una cepa virulenta de *Brucella abortus*.



## 5.- EL USO DE LAS DIFERENTES PRUEBAS SEROLÓGICAS

Las pruebas serológicas se han clasificado según el uso que se les da en diferentes países en:

- 1.- Pruebas de rutina
- 2.- Pruebas complementarias
- 3.- Pruebas de vigilancia epidemiológica y
- 4.- Pruebas tamiz o de screening

Una misma prueba puede servir en un programa de prueba operativa y ser definitiva para el diagnóstico o ser la prueba tamiz o complementaria en otro programa. Esta diversidad de aplicaciones de una prueba u otra depende grandemente de la situación epidemiológica de la región o país, de la cobertura vacunal de las terneras y de la infraestructura de los servicios veterinarios especialmente la disponibilidad y calidad de los laboratorios de diagnóstico.

La eficacia de una prueba diagnóstica depende de su sensibilidad y de su especificidad, valores que miden la proporción de falsos negativos y de falsos positivos respectivamente.

### 5.1 SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LAS PRUEBAS

Entendemos por sensibilidad de una prueba el grado de capacidad que tiene para detectar animales infectados por el agente específico, en nuestro caso *Brucella*. De esta manera, si la prueba que usamos da reacciones positivas en 98 animales de 100 bovinos infectados diremos que la prueba tiene 98 % de sensibilidad. El 2 % restante son " falsos negativos ". En un programa de erradicación interesa mucho que la prueba empleada sea lo suficientemente sensible para que el grado de error por "falsos negativos" sea el menor posible, ya que el objetivo es eliminar todo foco de infección de un rodeo.

Ninguna prueba es capaz de descubrir el 100 % de los bovinos infectados de todos los rodeos.

Por especificidad en cambio medimos el grado de capacidad de la prueba de detectar el mayor número de infecciones específicas y el menor número de "falsos positivos". Una prueba altamente específica será la que de menos reacciones de "falsos positivos". Si de 100 animales no infectados, la prueba da reacciones positivas en 5 animales, decimos que la misma tiene una especificidad del 95%. Una prueba poco específica es causa por consiguiente del sacrificio de animales sanos y de pérdidas económicas innecesarias. Ninguna prueba serológica sin embargo es 100 % específica. Si nosotros quisiéramos dar a una prueba mayor sensibilidad, disminuiría a la vez la especificidad.

## 6.- LAS PRUEBAS DE SEROAGLUTINACIÓN

Estas pruebas fueron y son ampliamente usadas para el diagnóstico de la brucelosis. Sin embargo cuando la proporción de rodeos infectados y la prevalencia global de la infección llegan a tasas reducidas, aparecen junto con las limitaciones de las pruebas los rodeos problema en los cuales hay que recurrir a otras pruebas para poder erradicar la enfermedad. En las pruebas de seroaglutinación predominan la reacción con las IgM. Las IgG 1 e IgG 2 difieren en su actividad. La IgG 1 tiene poco poder aglutinante, mientras que la IgG 2 es activa en la prueba.

### 6.1.- LOS "FALSOS POSITIVOS"

Los "falsos positivos" en las reacciones se deben a varias causas, tales como anticuerpos residuales por la vacunación con cepa 19 y reacciones cruzadas debidas a anticuerpos originados por bacterias que tienen lipopolisacáridos superficiales similares a los de *Brucella*. Ya se dijo que hay una pequeña proporción de animales especialmente los vacunados a una edad tardía que puede mantener anticuerpos aglutinantes que persisten durante mucho tiempo. Las reacciones en estos casos se deben a la inmunoglobulina M, ya que la IgG 2 generalmente desaparece rápidamente y la IgG 1 es poca activa en la prueba y además su concentración se reduce al poco tiempo después de la vacunación.

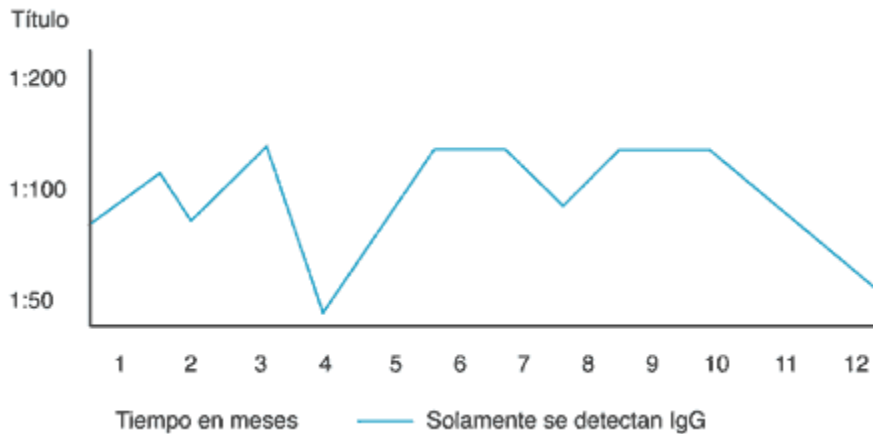
El origen de muchas reacciones inespecíficas del bovino no se conoce. Sin embargo se sabe que algunas salmonellas dan reacciones cruzadas. Se ha comprobado que hay una relación antigénica entre *Brucella* y *Escherichia coli* y con *Yersinia enterocolitica*.

### 6.2.- LOS "FALSOS NEGATIVOS"

Los "falsos negativos" en las pruebas de aglutinación se presentan durante el período de incubación es decir desde la exposición a la

infección hasta la aparición de la aglutininas. En hembras expuestas por primera vez a la infección durante la gestación es frecuente que las aglutininas aparezcan varios días a dos semanas después del aborto o del parto. Además hay animales infectados que nunca alcanzan un título aglutinante significativo. De especial interés son algunos animales con infección crónica, que se encuentran en los llamados "rodeos problema" y en los cuales las IgM han bajado a un nivel no diagnóstico y casi todos los anticuerpos están constituidos por IgG. Estos animales pueden ser reconocidos por las pruebas complementarias. La figura 4 ilustra los resultados de seroaglutinación de algunas vacas de "rodeos problema".

Figura 4.- Representación esquemática de los resultados de la prueba de seroaglutinación de algunas vacas infectadas de "rodeos problema".



### 6.3 PROCEDIMIENTOS A SEGUIR CON HEMBRAS Y MACHOS DE REACCIÓN SOSPECHOSA

Los animales sospechosos a la prueba de aglutinación deben ser examinados en la próxima prueba general del rodeo, o si es posible antes, con el fin de clarificar su estado frente a la infección sobre la base del aumento, estabilidad o reducción del título. Si el título se incrementa es indicación que el animal está enfermo; si disminuye, se le otorga la clasificación de negativo. Más difícil es decidir sobre los animales con títulos estables del rango de sospechoso, que deberán ser eliminados o sometidos a pruebas complementarias. En toros con títulos bajos es conveniente además de las pruebas complementarias recurrir a la prueba de aglutinación en plasma seminal ya que a veces se comprueban títulos más altos en semen que en suero.

## 7.- ASPECTOS IMPORTANTES EN EL DIAGNÓSTICO

### 7.1 EL PERÍODO DE INCUBACIÓN EN LA BRUCELOSIS BOVINA

Uno de los grandes problemas en la lucha contra la brucelosis es el período prolongado y variable de incubación. El diagnóstico serológico se basa en la detección de anticuerpos humorales. Bajo las condiciones naturales de campo el intervalo entre la exposición a la infección y la aparición de anticuerpos varía ampliamente.

La experiencia ha demostrado que los principales factores que influyen en el periodo de incubación tanto serológica (desde la infección hasta la detección de anticuerpos a un título significativo) como clínica (desde la infección hasta el aborto) son principalmente a).- dosis de exposición; b).- virulencia de la cepa ; c).- tiempo de preñez y d).- resistencia individual del animal. En una experiencia realizada en Inglaterra con dosis diferentes de una cepa virulenta el rango de variación del período de incubación fue de 14 a 227 días correspondiendo el periodo mas corto a la dosis más alta y el mas largo a la dosis menor.

El período tan variable de incubación serológica tiene sobretodo dos implicancias a).- en el diagnóstico de animales individuales y b) en la erradicación de la infección de un rodeo.

### 7.2.- EL DIAGNÓSTICO EN LOS ANIMALES INDIVIDUALES

El período variable de incubación explica la poca confiabilidad que tiene el diagnóstico serológico en animales individuales, si no proceden de rodeos libres de brucelosis

Un animal individual con reacción negativa a una prueba o aún a una combinación de pruebas, no ofrece garantías si procede de un rodeo infectado, ya que puede haber sido expuesto a la infección y encontrarse en el período de incubación.

Por consiguiente es recomendable que el animal adquirido con un diagnóstico negativo de brucelosis sea mantenido en aislamiento unos 90 días y luego sometido a un nuevo examen.

### 7.3.- INFLUENCIA DEL PERÍODO DE INCUBACIÓN SOBRE EL PROCESO DE ERRADICACIÓN DE LA BRUCELOSIS EN UN RODEO.

En consideración al período de incubación, es necesario repetir las pruebas en todos los animales para asegurar que no se deja un animal infectado que puede servir luego de fuente de infección al resto del rodeo. Es importante que la repetición de las pruebas se hagan con intervalo fijo de 60-90 días para no dejar tiempo a que la reinfección se siga propagando.

Teniendo en cuenta también que el período de incubación puede ser muy prolongado no se debe otorgar la certificación de rodeo libre en menos de 6-9 meses después de la última prueba negativa del total del rodeo.

### 7.4.-EL DIAGNÓSTICO EN HEMBRAS PREÑADAS Y PARIDAS

Se ha observado que un número de hembras infectantes no desarrollan anticuerpos Ig G hasta el parto o una a tres semanas después. Estos animales pueden tener títulos bajos debido a IgM unas semanas antes, pero en un rodeo vacunado con cepa 19 no hay manera de decidir si se debe a la vacunación o a una infección reciente.

Es posible que este fenómeno se deba al periodo de incubación cuando los animales son expuestos a la infección en los últimos

meses de la preñez. La recomendación que se deriva de este hecho es la necesidad de repetir las pruebas a las 2-3 semanas después del parto o aborto, si las realizadas anteriormente resultaron negativas.

## 7.5.-EL DIAGNÓSTICO CON REFERENCIA A EDAD Y SEXO.

En los programas de erradicación se exceptúan del diagnóstico bovinos menores de 6 meses de edad. Si bien estos animales pueden infectarse por el calostro y la leche, la infección se acantona en los ganglios y se elimina espontáneamente en la mayoría de los casos. Últimamente se ha demostrado que un número no determinado pero pequeño de terneros que nacen de vacas infectadas pueden haberse infectado intrauterinamente y mantenido una infección latente, sin respuesta inmunológica, revelándose la enfermedad recién durante la primera parición o aborto, cuando acusan reacciones serológicas.

## 7.6 RODEOS PROBLEMA

En una pequeña proporción de rodeos, no se logra con las pruebas de rutina erradicar la infección o persiste la duda si esta fue erradicada. El término de "rodeo problema" es usado cuando se llevan a cabo procedimientos de erradicación y sin embargo continúan ocurriendo repetida o periódicamente reacciones sospechosas o positivas a la prueba del anillo en leche o a las pruebas estándar con suero sanguíneo. También pertenecen a esta categoría los rodeos sin antecedentes de infección durante años en los que ocurren reacciones positivas o sospechosas, sin haberse introducido animales infectados.

En estos rodeos problema puede haber uno o más animales con infección crónica que acusa reacciones a la aglutinación de título no significativo, por que es necesario recurrir a otras pruebas complementarias para descubrirlas.

## DIAGNÓSTICO DE PATÓGENOS DE LA REPRODUCCIÓN A PARTIR DE MUESTRAS CÉRVICO VAGINALES

Cuando se observen hembras que repiten celo o se detectan hembras vacías al tacto o abortadas, se puede tomar muestras de secreción uterina y mucus vaginal para realizar el diagnóstico de enfermedades venéreas.

El momento más adecuado del ciclo estral para realizar el muestreo es motivo de discusión. Si bien la mayoría de los autores mencionan que se obtiene mayor eficiencia en el diagnóstico cuanto más próximo al celo se obtenga la muestra, los trabajos experimentales del INTA Balcarce permiten asegurar que hay buenas posibilidades de aislamiento en cualquier momento del ciclo siempre y cuando se utilicen métodos microbiológicos y medios de cultivo apropiados.

Las muestras pueden tomarse desde la parte posterior del cervix y fondo de vagina, mediante aspiración con pipeta de inseminación con intermediario de goma y jeringa o bien con pipeta Cassou. Si el volumen de muestra extraído es escaso, se puede introducir con la pipeta 3 a 5 ml de solución fisiológica estéril o PBS para realizar un lavado del fondo de vagina y luego aspirar.

Si el área del periné y vulva presentan tierra o materia fecal, se deberá realizar un lavado con agua común y esponja, secando los labios vulvares con toallas de papel. No se aconseja utilizar desinfectantes. Cuando la muestra de mucus es muy viscosa y filante, para descargar la muestra en el tubo puede ayudarse con el tapón, presionando el mismo contra en borde del tubo.

Un muestreo del 10 al 20 % de los animales permitirá obtener datos de valor.

## SIEMBRA Y TRANSPORTE DEL MATERIAL MUESTREADO

Se debe colocar una muestra del material cérvico vaginal extraído en cada uno de los siguientes medios:

- Medio de Transporte de Cary Blair ( medio semisólido transparente), sembrarlo en el fondo del tubo.
- Medio de Cultivo para *Trichomonas foetus*, sembrarlo en superficie.
- Medio de SST (solución buffer), colocar parte de la muestra y agregar dos gotas de formol.

Si se desea, se puede acompañar el material remitido de una muestra de sangre de la vaca vacía.

Este muestreo permite detectar infecciones debidas a la presencia de *Trichomonas foetus*, *Brucella abortus* y *Campylobacter fetus* y otros patógenos relacionados.

## INVESTIGACION DE CAUSA DE ABORTO

### REMISIÓN DE MUESTRAS

Que la fertilidad es el factor de mayor incidencia en la producción total de un rodeo hoy en día nadie lo discute.

Sin embargo existe la tendencia a confundir fertilidad con porcentaje de preñez. Es importante considerar que el ciclo reproductivo abarca desde el servicio hasta el destete y que el rodeo más fértil es el que desteta anualmente el mayor porcentaje de terneros. Un vientre preñado al tacto, que no llega a destetar su ternero, cuesta al productor más dinero que el que queda vacío, ya que hay que alimentarlo, cuidarlo e invertir en sanidad durante un período de tiempo al cabo del cual no produce nada. El aborto junto con la muerte perinatal constituyen las pérdidas económicas más significativas en la explotación animal.

El problema es aún mayor si consideramos que los vientres abortados pueden ser diseminadores de enfermedad en el rodeo.

De ahí la importancia de llegar a un diagnóstico correcto para poder implementar adecuadas medidas de prevención y control.

La etiología del aborto puede ser muy variada. Hay causas no infecciosas que pueden tener orígenes varios, tales como ambientales, tóxicas, hormonales y/o genéticas, y causas infecciosas que son las que nos ocupan por ser las más comunes y potencialmente peligrosas.

Dentro de la etiología bacteriana debemos considerar la presencia de *Brucella abortus*, que sigue siendo la principal causa de aborto en nuestro país, *Campylobacter fetus* subespecie *fetus* y subespecie *venerealis*, *Leptospira interrogans*, *Actinomyces (Corinebacterium) pyogenes* y *Listeria monocytogenes*; entre los agentes de origen parasitario principalmente *Tritrichomonas foetus*. Los virus involucrados son el *Virus de Rinotraquítis Infecciosa Bovina (IBR)* y el mal denominado *Virus de Diarrea Viral Bovina/Enfermedad de las Mucosas* ya que también produce aborto. La infecciones virales están asociadas a problemas de infertilidad, repetición de celos, reabsorción embrionaria, muertes perinatales, malformaciones congénitas, nacimiento de terneros ciegos o pelados, etc.

Durante los últimos años, la tecnología disponible ha logrado avanzar significativamente en la caracterización de los agentes causales de aborto. Pero para que el diagnóstico sea exitoso se debe trabajar indefectiblemente con una muestra apropiada.

Ningún laboratorio podrá realizar un buen trabajo a partir de una muestra mal conservada o mal remitida.

**FETO:** la muestra más apropiada para diagnosticar causa de aborto es el feto recién abortado o el que se obtiene lo más fresco

posible una vez eliminado. Si bien no es una muestra que se encuentra a campo fácilmente, es importante saber que el feto es casi un libro abierto, y que a partir de sus órganos se puede investigar con mayor probabilidad de éxito. De ahí que todo el esfuerzo empeñado para lograr este objetivo tendrá su recompensa.

El feto abortado puede remitirse al laboratorio entero, lo más rápido posible una vez obtenido, dentro de una bolsa de nylon y colocado en una conservadora con refrigerante. Si estuviera contaminado con barro o materia fecal puede lavarse con agua antes de embolsarlo. Si el tamaño del feto fuera demasiado grande, se pueden cortar sus extremidades.

También puede realizarse la necropsia, tomando las debidas precauciones para evitar riesgos del operador y remitir muestras de órganos fetales. Es importante enviar las muestras por separado, ya sea colocándolas en recipientes estériles para tal fin o en su defecto en frascos limpios y secos, si fueran hervidos mejor, o en bolsas nuevas de nylon que son prácticamente estériles. Un buen sistema es utilizar los guantes de tacto, colocando un trozo de órgano en cada uno de los dedos del mismo.

No debe dejar de remitirse un trozo de *riñón*, *líquido abomasal* (contenido de cuajo en una jeringa obturando su extremo) y *pulmón*. De ser posible remitir también una muestra de humor acuoso y sangre del corazón. Por supuesto que también pueden enviarse otros órganos pero los mencionados en primer lugar son casi imprescindibles.

**PLACENTA Y/O MEMBRANAS FETALES:** si se encuentra puede incluirse también un trozo de placenta con tres o cuatro cotiledones y las membranas fetales.

**DESCARGA GENITAL:** la remisión de esta muestra se informa por separado en "Diagnóstico de Patógenos de la Reproducción".

**SANGRE DE LA MADRE:** en todos los casos las muestras pueden acompañarse de un tubo con sangre de la madre abortada para estudio serológico. Si la hembra permanece en el establecimiento es conveniente remitir una segunda muestra 15 a 20 días después de la primera ya que puede permitir llegar al diagnóstico por seroconversión, sobre todo cuando no se lograra diagnosticar la causa del aborto a partir del feto o la descarga genital.