

VIRUS DE DIARREA VIRAL BOVINA : PATOGÉNESIS Y CONTROL

Joe Brownlie

Royal Veterinary College, United Kingdom

La patogénesis de cualquier enfermedad pone de manifiesto el balance entre la capacidad del hospedador de resistir la invasión microbiana y la capacidad del microbio de establecerse en el organismo, reproducirse y de este modo provocar un daño. La gran variedad de signos clínicos observados durante la infección con el virus de diarrea viral bovina, demuestra la complejidad de este balance y de la patogénesis.

El virus de DVB es indudablemente la causa de una de las más importantes enfermedades virales del ganado.

Los signos clínicos pueden ser inaparentes ó puede presentarse como una enfermedad hemorrágica severa o la fatal enfermedad de las mucosas.

Además, el efecto inmunosupresor de la infección aguda por el virus de DVB puede aumentar la enfermedad clínica para otros patógenos. Durante los últimos años ha habido un mayor entendimiento acerca de su responsabilidad en las fallas reproductivas, con pérdidas embrionarias tempranas, abortos y nacimiento de terneros persistentemente infectados.

Las pruebas de laboratorio para identificar el virus o los anticuerpos virales son excelentes.

La confirmación del laboratorio para la detección de animales persistentemente infectados (PI) es el nudo central de toda estrategia de control, sin embargo, la interpretación del título de anticuerpos vacunales, que es la base de los programas de erradicación, es más compleja. Este artículo describe algunas decisiones estratégicas que se pueden tomar durante el control de la enfermedad.

VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA

Es un Pestivirus de la familia Flavoviridae. En el mismo género está clasificado el virus de la Peste Porcina y de la enfermedad de Border

Recientemente se ha reconocido una cuarta especie de virus (VDVB-2).

La distribución geográfica de las distintas especies de virus de DVB es variable. El virus de DVB-1 tiene distribución mundial, sin embargo dentro de la especie de virus de DVB-1 hay por lo menos 5 subespecies distintas serológicamente, 1 a - 1e.

La mayoría de los aislamientos de virus de DVB encontrados en Inglaterra pertenecen al subgrupo 1 a, mientras que en algunos países europeos hay un balance entre los subgrupos 1 a y 1 b. El virus de DVB 2 está restringido a EEUU aunque algunos se han aislado en Europa. Hay diferencias interesantes entre los síndromes de la enfermedad asociados con los distintos aislamientos de los virus de DVB-1 y el virus de DVB-2. En Norteamérica la enfermedad severa es característica de los brotes con el virus de DVB-2, mientras que la enfermedad clínica con aislamiento del virus de DVB 1 es mas leve. Sin embargo, en Inglaterra recientemente se asoció al virus de DVB-1 con una enfermedad severa y fatal.

VIRUS Y BIOTIPOS

Es un pequeño virus envuelto, con un genoma que consiste en una banda simple de RNA. Presenta 2 biotipos citopático (c) y no citopático (nc). El virus de DVB nc no causa efecto citopático en los cultivos celulares, mientras que el biotipo de virus de DVB c, si lo causa.

El virus de DVB nc persiste en la población bovina (principalmente en los terneros PI) y da lugar luego al virus de DVB biotipo c, a través de una varios fenómenos de mutación. El virus de DVB biotipo cp también puede originarse a través de la recombinación con otras cepas de virus de DVB por ejemplo cepas vacunales vivas atenuadas.

PATOGENESIS

INFECCIÓN AGUDA CON EL VIRUS DE DVB

La infección aguda con el virus de DVB es generalmente inaparente. El 95 % de los rodeos lecheros de Inglaterra están infectados con el virus de DVB y presentan seroconversión.

Sin embargo durante la infección aguda aparece pirexia, leucopenia de 3 - 7 días pos infección y una recuperación limitada de virus a partir de sangre y descargas nasales durante los primeros 3 a 10 días.

Es evidente que el virus de DVB, bajo ciertas circunstancias, puede causar enfermedad clínica. La enfermedad se describió originalmente como una diarrea profusa en el ganado adulto, episodios de agalaxia y más recientemente enfermedad severa y fatal como consecuencia de la infección aguda con el virus de DVB grupo 1.

Actualmente se sabe que el virus de DVB debilita la función del aparato inmune durante el periodo de infección aguda lo que permite la coacción con otros patógenos para causar enfermedades más severas, por ejemplo con el virus de IBR, Pasteurella, Rotavirus, Coronavirus o Salmonella.

La base de la patogénesis de estas enfermedades mixtas puede ser la inmunosupresión que se desarrolla como consecuencia de la leucopenia transitoria, posibilitada por una disfunción de los neutrófilos. Se vió que algo de inmunosupresión también aparece en los animales PI.

INFECCIONES CONGÉNITAS E "IN UTERO"

AEI el virus de DVB raramente afecta al feto de animales seropositivos.

Solamente el virus invade los placentomas y replica en los trofoblastos antes de atravesar al feto, durante la viremia en las infecciones agudas o persistentes de hembras seronegativas.

En la oveja, el virus de DVB lesiona el endotelio vascular materno dentro de los 10 días después de la infección y los

restos celulares son ingeridos por el trofoblasto fetal.

Este podría ser el mecanismo por el cual el virus se transfiere de la madre al hijo pero también podía ser que el alto nivel de abortos se deba a la placentitis que aparece luego de la infección con el virus de DVB. El tiempo que tarda el virus en pasar de la madre al feto es variable pero los abortos por el virus de DVB ocurren dentro de los 10-18 días después de la inyección intramuscular. Según la experiencia de los autores, los abortos aparecen varios meses después de la infección del feto. Esto también podría explicar la muerte embrionaria temprana, la infertilidad, la presencia de vacas repetidoras, que son a menudo las secuelas de la infección con pestivirus durante la preñez. En rodeos infectado con el virus de DVB, la tasa de concepción se redujo del 78,6 % en vacas inmunizadas al 22,2 % en ganado infectado. La infección con el virus de DVB durante la concepción redujo la tasa de preñez a 77 días, del 79 % en los animales controles al 33% en el grupo de animales desafiados con el virus. La mayoría, aunque no todos, los fetos nacidos de madres PI son PI. Esta transmisión vertical de la madre al feto, de casi el 100 %, es un concepto muy importante a tener en cuenta por los médicos veterinarios cuando investigan los brotes de la enfermedad.

La infección fetal depende de dos variables principales: la edad del feto en el momento de la infección y el biotipo del virus infectante.

La infección durante el primer trimestre de la vida fetal (0-110 días) puede provocar aborto, lesiones congénitas o nacimiento de terneros PI. Durante el segundo trimestre (110-180/200 días) puede haber lesiones congénitas y pérdidas fetales, mientras que en el tercer trimestre el feto es inmunocompetente y capaz de producir una respuesta inmune activa.

El biotipo responsable de la infección "in utero" es no citopatogénico. La infección experimental demuestra que durante el primer trimestre de gestación más del 30 % de los fetos abortan aunque la mayoría de los fetos que sobreviven, llegan a término y nacen PI.

En contraste con estos hallazgos, no se encontró hasta ahora ningún animal PI con el virus citopatogénico. La infección experimental "in utero" con el biotipo citopatogénico no produce aborto o terneros PI pero la duda es si este biotipo puede infectar un feto pequeño.

El virus de DVB provoca retardo en el crecimiento intrauterino de varios tejidos fetales particularmente el SNC, esqueleto y timo. También se ha observado la hipomielinización del SNC asociada a la hipoplasia del timo. Otro hallazgo frecuente es la localización del virus en el endotelio vascular y como consecuencia de la vasculitis puede haber inflamación, edema, hipoxia y degeneración celular.

ENFERMEDAD DE LAS MUCOSAS

La enfermedad de las mucosas se describió por primera vez en 1953, como una condición fatal del ganado caracterizada por lesiones erosivas severas en la mucosa oral e intestinal.

Durante los 30 años siguientes se realizaron una serie de observaciones sobre la asociación del virus de DVB con la enfermedad de las mucosas. Estas observaciones culminaron finalmente, luego de pruebas experimentales en una hipótesis que sostiene que la infección transplacentaria inicial del feto en el primer periodo, con el virus de DVB no citopatogénico origina el nacimiento de un ternero que tendrá durante toda su vida una viremia persistente. Estos terneros (y solamente ellos) pueden luego desarrollar la enfermedad de las mucosas como resultado de una super infección con una cepa homóloga citopatogénica del virus de DVB.

A campo, la enfermedad de las mucosas afecta habitualmente a los animales entre 6 y 18 meses de edad, aunque también se vió en animales de pocas semanas de vida y en adultos de 5 a 10 años.

Debido a que hay una numerosas enfermedades vesiculares del ganado, se propuso definir la enfermedad de las mucosas como una condición fatal principalmente de los terneros jóvenes de 6 a 18 meses que se caracteriza por la presencia de lesiones erosivas en la mucosa oral/intestinal a partir de las cuales se puede aislar el virus de DVB biotipo citopático. La enfermedad clínica se instala rápidamente, aunque también puede haber formas crónicas de debilidad.

INFECCIÓN DE LOS TEJIDOS REPRODUCTIVOS

El virus puede infectar ambos, ovarios y testículos, y puede recuperarse del semen de toros infectados en forma aguda.

El semen es, generalmente, de baja calidad y es potencialmente un diseminador de la infección para las hembras seronegativas. Sin embargo la patogénesis de la infección urogenital durante la enfermedad aguda no está bien descrita. Es evidente que el virus de DVB disminuye la tasa de concepción durante este periodo y que el virus se puede replicar libremente en la placenta materna. El virus de DVB tiene tropismo por las células germinativas de ambos sexos. El virus puede infectar el tejido del ovario y se aisló del oocito dentro de los folículos ováricos. Lo mismo se describió para el virus de la enfermedad de Border. No está claro cuanto se mantiene la infección viral en el ovario pero se demostró la presencia de antígeno viral en ovarios bovinos 60 días después de la inoculación intramuscular. El riesgo de que la célula germinativa infectada pueda provocar la transmisión vertical del virus es por ahora improbable, pero su implicancia es obvia.

El toro puede jugar un papel importante en la enfermedad. Todos los toros PI producen semen infectado con el virus de DVB y es inexcusable en cualquier control sanitario de los toros excluir un análisis de sangre para diagnosticar infección persistente con el virus de DVB. El no hacer esto, debería tener implicancias legales.

La infección aguda de toros seronegativos no deja de tener riesgos. El virus de DVB infecta el tejido testicular y el virus puede recuperarse del semen durante un periodo limitado. El semen es, a menudo de pobre calidad y tiene potencialmente la capacidad de diseminar el virus a hembras serológicamente negativas.

Recientemente, se estudió una infección aguda en toros jóvenes y se demostró una consecuencia tardía de la infección.

El toro parece haberse infectado a los 6-9 meses de edad, en el momento en que el virus cruza la barrera sanguínea hacia los testículos.

A pesar de que el toro produjo anticuerpos contra el virus, los anticuerpos no fueron capaces de atravesar la barrera hacia los testículos de modo que el virus fue capaz de establecer una infección persistente en los túbulos seminíferos. En este caso el virus se eliminaba continuamente por el semen durante periodos prolongados, entre los 7 y 22 meses de edad.

Con los métodos habituales de screening sanguíneo, el toro podría haberse considerado inmune y no excretor de virus de DVB por semen. De todos modos la incidencia de la persistencia del virus en los testículos en este momento es desconocida.

DIAGNÓSTICO Y CONTROL

Excepciones del diagnóstico:

Hay varios métodos y protocolos para el diagnóstico del virus de diarrea viral bovina. Lo que no está claro y es muy importante para el clínico es comprender las excepciones que confunden el diagnóstico de los animales PI.

Estas son:

1- **Infección aguda:** la muestra de sangre tomada en el pico de viremia del periodo agudo puede ser a veces Elisa + (detección de antígeno).

Solución: si se toman muestras pareadas cada 3-4 semanas, ambas muestras deben ser positivas.

2- **Calostro:** puede enmascarar la detección de viremia persistente en sangre durante 3-4 meses.

Solución: se deben tomar muestras de sangre ya sea pre calostro o luego de los 4 meses de edad.

3- **Terberos PI "in útero":** los fetos infectados pueden permanecer PI durante toda la preñez y al nacer reintroducen el virus en el rodeo.

Solución: la mejor medida de seguridad para cualquier rodeo es vacunar todas las hembras, vacas y vaquillonas. Las madres con terneros PI tienen a menudo altos niveles de anticuerpos y así los anticuerpos en suero pueden dar una buena indicación del nacimiento de un ternero PI

4- **Animales PI seropositivos:** algunos animales PI pueden tener anticuerpos para el virus de DVB. Habitualmente estos anticuerpos son para cepas heterólogas del virus de DVB (siempre mantienen viremia) o para variantes homologas del virus de DVB (con pérdida transitoria de la viremia).

Solución: repetir el sangrado de animales problema

5- **Toros:** se ha demostrado que los toros PI seronegativos, eliminan virus por semen y que algunos toros seropositivos también pueden hacerlo.

Solución: se debe analizar el semen para detectar virus de DVB.

6- **Cepas del virus de DVB genéticamente diferentes:** los métodos actuales para detectar antígenos y anticuerpos del virus de DVB están diseñados para detectar virus del grupo I. Cualquier cepa de virus genéticamente diferente no puede ser detectada por el momento.

CONTROL

Los detalles del programa de control de la enfermedad deberían registrarse en un documento. Este debe establecer un trabajo dinámico y una fuente de información que pueda ser revisada a menudo por las partes.

Hay una serie de pre requisitos para el éxito del programa de control de la enfermedad. Es fundamental que todas las partes involucradas conozcan la enfermedad y los factores de riesgo. Debería llevarse a cabo un estudio en el rodeo para establecer el estado actual de la enfermedad y los riesgos relativos de la re-infección y cuales son los numerosos factores de riesgo. Los factores de riesgo pueden incluir animales PI, hembras o vacas portadoras de fetos PI, animales con infección aguda, por ejemplo por incorporación de un nuevo animal en el rodeo o por introducción de un animal que vuelve de una exposición o por contacto de un animal con otro, con otros rumiantes por ejemplo ovejas, ciervos materiales infectados que ingresan al establecimiento, por ejemplo vacunas, semen.

OBJETIVOS Y ESTRATEGIA

El programa de control debe ser definido. Los métodos utilizados para alcanzar los objetivos deben ser realistas. En algunos rodeos el objetivo será minimizar las pérdidas económicas asociadas con la exposición al virus. En otras situaciones el objetivo será eliminar el virus del rodeo.

ACCIONES TÁCTICAS

Erradicación

La medida principal de cualquier programa de erradicación de virus de DVB es eliminar la fuente de virus es decir el animal PI. La presencia de tales animales dentro del rodeo puede sospecharse siguiendo los niveles de anticuerpos de los animales del rodeo.

Para los rodeos lecheros esto puede obtenerse simplemente estimando los niveles de anticuerpos en el tanque de leche. La interpretación de los niveles de anticuerpos ha sido ampliamente discutida y ha sido la base del éxito de los programas nacionales de erradicación en Escandinavia.

La disponibilidad del método de Elisa para antígeno de virus de DVB para determinar los animales PI permite la identificación de estos animales y la subsiguiente eliminación de los mismos.

En rodeos lecheros, se puede realizar el estudio por el método de PCR sobre muestras de leche de tanques correspondientes a grupos de más de 100 vacas lecheras.

No es posible determinar definitivamente el estado del feto en el útero. De ahí que es fundamental recordar que deben ser muestreados todos los animales jóvenes que componen el stock que nació en el establecimiento. Es prudente continuar con este proceso de muestreo para monitorear el estado del rodeo.

Sin embargo, la eliminación de los animales PI puede no eliminar todo el virus del rodeo. Las pruebas disponibles pueden determinar cuales son los animales positivos pero no detectar las infecciones agudas.

El problema de la lenta diseminación del virus durante la infección aguda del rodeo, en ausencia de un animal PI, ya ha sido observado.

Esto puede explicar aquellos casos donde se ha demostrado la seroconversión pero el subsiguiente sangrado del rodeo completo no identifica los animales PI. Es probable que los rodeos grandes mantengan la infección aguda más que los chicos, por esta razón los rodeos pequeños tienen más éxito con la estrategia de control rápidamente.

La erradicación de animales PI, conducirá a la presencia de animales dentro del rodeo libres de la enfermedad. Por consiguiente el rodeo será más vulnerable y si se reintroduce el virus de BVD, las pérdidas pueden llegar a ser cuantiosas. Al cambiar el balance de animales seropositivos se debe tener una excelente bioseguridad.

VACUNACIÓN

El virus de BVD puede transmitirse verticalmente a la próxima generación por el nacimiento de un animal PI. Esto significa que en grandes términos el control se basa en la protección del rodeo y en la prevención del nacimiento de nuevos animales PI.

La disponibilidad de una vacuna, que ha probado proteger al ganado del virus de BVD y prevenir la infección transplacentaria es el mayor desarrollo en el control de este patógeno.

Es fundamental que el ganado reciba una primera inmunización antes del 1º servicio. Se agruparán las hembras de 1 a 2 años y recibirán la primer dosis antes del inicio del servicio. Luego se recomiendan dosis únicas de refuerzo antes de los períodos de servicios subsiguientes para asegurar que la máxima inmunidad se logre en el momento de mayor riesgo potencial, que es el período del servicio y la primera mitad de la gestación.

La inmunización de todas las hembras del rodeo debe aplicarse en las siguientes situaciones:

- * **rodeos negativos y susceptibles donde hay riesgo de entrada de virus en el mismo y/o dónde el valor**

del stock ganadero, lo justifique.

- * rodeos que experimentan aumento de pérdidas asociadas al virus de BVD, muerte embrionaria temprana, baja tasa de concepción, abortos, enfermedad entérica, inmunosupresión.

- * rodeos de alto valor genético.

- * rodeos donde se realiza transferencia embrionaria.

Una ruta alternativa para el control progresivo de la enfermedad es comenzar vacunando las hembras y tratar de llegar cada año a la vacunación total del rodeo ya que las hembras son la base del futuro rodeo. Además estos son los animales sobre los cuales se ha trabajado para obtener el mejor nivel genético. Las hembras deben ser eliminadas del rodeo general, a medida que alcancen un diferente estado sanitario.

El primer año se deben vacunar los toritos y las vaquillonas de primer servicio. Al año siguiente estos animales reciben una dosis de refuerzo, y el nuevo grupo de terneros, reciben la primer dosis. Con el tiempo esto conduce a una vacunación completa y a la protección total del rodeo.

La erradicación de los animales PI puede hacerse en combinación con la vacunación de los animales en servicio. Esto es el "Rolls Royce" de los métodos para el control del virus BVD y conduce a una solución rápida y completa de todos los problemas relacionados con la presencia del virus de DVB dentro del rodeo.

VIRUS DE DIARREA VIRAL BOVINA : PATOGÉNESIS Y CONTROL

Joe Brownlie

Royal Veterinary College, United Kingdom

La patogénesis de cualquier enfermedad pone de manifiesto el balance entre la capacidad del hospedador de resistir la invasión microbiana y la capacidad del microbio de establecerse en el organismo, reproducirse y de este modo provocar un daño. La gran variedad de signos clínicos observados durante la infección con el virus de diarrea viral bovina, demuestra la complejidad de este balance y de la patogénesis.

El virus de DVB es indudablemente la causa de una de las más importantes enfermedades virales del ganado.

Los signos clínicos pueden ser inaparentes ó puede presentarse como una enfermedad hemorrágica severa o la fatal enfermedad de las mucosas.

Además, el efecto inmunosupresor de la infección aguda por el virus de DVB puede aumentar la enfermedad clínica para otros patógenos. Durante los últimos años ha habido un mayor entendimiento acerca de su responsabilidad en las fallas reproductivas, con pérdidas embrionarias tempranas, abortos y nacimiento de terneros persistentemente infectados.

Las pruebas de laboratorio para identificar el virus o los anticuerpos virales son excelentes.

La confirmación del laboratorio para la detección de animales persistentemente infectados (PI) es el nudo central de toda estrategia de control, sin embargo, la interpretación del título de anticuerpos vacunales, que es la base de los programas de erradicación, es más compleja. Este artículo describe algunas decisiones estratégicas que se pueden tomar durante el control de la enfermedad.

VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA

Es un Pestivirus de la familia Flavoviridae. En el mismo género está clasificado el virus de la Peste Porcina y de la enfermedad de Border

Recientemente se ha reconocido una cuarta especie de virus (VDVB-2).

La distribución geográfica de las distintas especies de virus de DVB es variable. El virus de DVB-1 tiene distribución mundial, sin embargo dentro de la especie de virus de DVB-1 hay por lo menos 5 subespecies distintas serológicamente, 1 a - 1e.

La mayoría de los aislamientos de virus de DVB encontrados en Inglaterra pertenecen al subgrupo 1 a, mientras que en algunos países europeos hay un balance entre los subgrupos 1 a y 1 b. El virus de DVB 2 está restringido a EEUU aunque algunos se han aislado en Europa. Hay diferencias interesantes entre los síndromes de la enfermedad asociados con los distintos aislamientos de los virus de DVB-1 y el virus de DVB-2. En Norteamérica la enfermedad severa es característica de los brotes con el virus de DVB-2, mientras que la enfermedad clínica con aislamiento del virus de DVB 1 es mas leve. Sin embargo, en Inglaterra recientemente se asoció al virus de DVB-1 con una enfermedad severa y fatal.

VIRUS Y BIOTIPOS

Es un pequeño virus envuelto, con un genoma que consiste en una banda simple de RNA. Presenta 2 biotipos citopático (c) y no citopático (nc). El virus de DVB nc no causa efecto citopático en los cultivos celulares, mientras que el biotipo de virus de DVB c, si lo causa.

El virus de DVB nc persiste en la población bovina (principalmente en los terneros PI) y da lugar luego al virus de DVB biotipo c, a través de una varios fenómenos de mutación. El virus de DVB biotipo cp también puede originarse a través de la recombinación con otras cepas de virus de DVB por ejemplo cepas vacunales vivas atenuadas.

PATOGENESIS INFECCIÓN AGUDA CON EL VIRUS DE DVB

La infección aguda con el virus de DVB es generalmente inaparente. El 95 % de los rodeos lecheros de Inglaterra están infectados con el virus de DVB y presentan seroconversión.

Sin embargo durante la infección aguda aparece pirexia, leucopenia de 3 - 7 días pos infección y una recuperación limitada de virus a partir de sangre y descargas nasales durante los primeros 3 a 10 días.

Es evidente que el virus de DVB, bajo ciertas circunstancias, puede causar enfermedad clínica. La enfermedad se describió originalmente como una diarrea profusa en el ganado adulto, episodios de agalaxia y más recientemente enfermedad severa y fatal como consecuencia de la infección aguda con el virus de DVB grupo1.

Actualmente se sabe que el virus de DVB debilita la función del aparato inmune durante el periodo de infección aguda lo que permite la coacción con otros patógenos para causar enfermedades más severas, por ejemplo con el virus de IBR, Pasteurella, Rotavirus, Coronavirus o Salmonella.

La base de la patogénesis de estas enfermedades mixtas puede ser la inmunosupresión que se desarrolla como consecuencia de la leucopenia transitoria, posibilitada por una disfunción de los neutrófilos. Se vió que algo de inmunosupresión también aparece en los animales PI.

INFECCIONES CONGÉNITAS E "IN UTERO"

El virus de DVB raramente afecta al feto de animales seropositivos.

Solamente el virus invade los placentomas y replica en los trofoblastos antes de atravesar al feto, durante la viremia en las infecciones agudas o persistentes de hembras seronegativas.

En la oveja, el virus de DVB lesiona el endotelio vascular materno dentro de los 10 días después de la infección y los restos celulares son ingeridos por el trofoblasto fetal.

Este podría ser el mecanismo por el cual el virus se transfiere de la madre al hijo pero también podría ser que el alto nivel de abortos se deba a la placentitis que aparece luego de la infección con el virus de DVB. El tiempo que tarda el virus en pasar de la madre al feto es variable pero los abortos por el virus de DVB ocurren dentro de los 10-18 días después de la inyección intramuscular. Según la experiencia de los autores, los abortos aparecen varios meses después de la infección del feto. Esto también podría explicar la muerte embrionaria temprana, la infertilidad, la presencia de vacas repetidoras, que son a menudo las secuelas de la infección con pestivirus durante la preñez. En rodeos infectado con el virus de DVB, la tasa de concepción se redujo del 78,6 % en vacas inmunizadas al 22,2 % en ganado infectado. La infección con el virus de DVB durante la concepción redujo la tasa de preñez a 77 días, del 79 % en los animales controles al 33% en el grupo de animales desafiados con el virus. La mayoría, aunque no todos, los fetos nacidos de madres PI son PI. Esta transmisión vertical de la madre al feto, de casi el 100 %, es un concepto muy importante a tener en cuenta por los médicos veterinarios cuando investigan los brotes de la enfermedad.

La infección fetal depende de dos variables principales: la edad del feto en el momento de la infección y el biotipo del virus infectante.

La infección durante el primer trimestre de la vida fetal (0-110 días) puede provocar aborto, lesiones congénitas o nacimiento de terneros PI. Durante el segundo trimestre (110-180/200 días) puede haber lesiones congénitas y pérdidas fetales, mientras que en el tercer trimestre el feto es inmunocompetente y capaz de producir una respuesta inmune activa.

El biotipo responsable de la infección "in utero" es no citopatogénico. La infección experimental demuestra que durante el primer trimestre de gestación más del 30 % de los fetos abortan aunque la mayoría de los fetos que sobreviven, llegan a término y nacen PI.

En contraste con estos hallazgos, no se encontró hasta ahora ningún animal PI con el virus citopatogénico. La infección experimental "in utero" con el biotipo citopatogénico no produce aborto o terneros PI pero la duda es si este biotipo puede infectar un feto pequeño.

El virus de DVB provoca retardo en el crecimiento intrauterino de varios tejidos fetales particularmente el SNC, esqueleto y timo. También se ha observado la hipomielinización del SNC asociada a la hipoplasia del timo. Otro hallazgo frecuente es la localización del virus en el endotelio vascular y como consecuencia de la vasculitis puede haber inflamación, edema, hipoxia y degeneración celular.

ENFERMEDAD DE LAS MUCOSAS

La enfermedad de las mucosas se describió por primera vez el 1953, como una condición fatal del ganado caracterizada por lesiones erosivas severas en la mucosa oral e intestinal.

Durante los 30 años siguientes se realizaron una serie de observaciones sobre la asociación del virus de DVB con la enfermedad de las mucosas. Estas observaciones culminaron finalmente, luego de pruebas experimentales en una hipótesis que sostiene que la infección transplacentaria inicial del feto en el primer periodo, con el virus de DVB no citopatogénico origina el nacimiento de un ternero que tendrá durante toda su vida una viremia persistente. Estos terneros (y solamente ellos) pueden luego desarrollar la enfermedad de las mucosas como resultado de una super infección con una cepa homóloga citopatogénica del virus de DVB.

A campo, la enfermedad de las mucosas afecta habitualmente a los animales entre 6 y 18 meses de edad, aunque también se vió en animales de pocas semanas de vida y en adultos de 5 a 10 años.

Debido a que hay una numerosa enfermedad vesicular del ganado, se propuso definir la enfermedad de las mucosas como una condición fatal principalmente de los terneros jóvenes de 6 a 18 meses que se caracteriza por la presencia de lesiones erosivas en la mucosa oral/intestinal a partir de las cuales se puede aislar el virus de DVB biotipo citopático. La enfermedad clínica se instala rápidamente, aunque también puede haber formas crónicas de debilidad.

INFECCIÓN DE LOS TEJIDOS REPRODUCTIVOS

El virus puede infectar ambos, ovarios y testículos, y puede recuperarse del semen de toros infectados en forma aguda.

El semen es, generalmente, de baja calidad y es potencialmente un diseminador de la infección para las hembras seronegativas. Sin embargo la patogénesis de la infección urogenital durante la enfermedad aguda no está bien descrita. Es evidente que el virus de DVB disminuye la tasa de concepción durante este periodo y que el virus se puede replicar libremente en la placenta materna. El virus de DVB tiene tropismo por las células germinativas de ambos sexos.

El virus puede infectar el tejido del ovario y se aisló del oocito dentro de los folículos ováricos. Lo mismo se describió para el virus de la enfermedad de Border. No está claro cuanto se mantiene la infección viral en el ovario pero se demostró la presencia de antígeno viral en ovarios bovinos 60 días después de la inoculación intramuscular. El riesgo de que la célula germinativa infectada pueda provocar la transmisión vertical del virus es por ahora improbable, pero su implicancia es obvia.

El toro puede jugar un papel importante en la enfermedad. Todos los toros PI producen semen infectado con el virus de DVB y es inexcusable en cualquier control sanitario de los toros excluir un análisis de sangre para diagnosticar infección persistente con el virus de DVB. El no hacer esto, debería tener implicancias legales.

La infección aguda de toros seronegativos no deja de tener riesgos. El virus de DVB infecta el tejido testicular y el virus puede recuperarse del semen durante un periodo limitado. El semen es, a menudo de pobre calidad y tiene potencialmente la capacidad de diseminar el virus a hembras serológicamente negativas.

Recientemente, se estudió una infección aguda en toros jóvenes y se demostró una consecuencia tardía de la infección. El toro parece haberse infectado a los 6-9 meses de edad, en el momento en que el virus cruza la barrera sanguínea hacia los testículos.

A pesar de que el toro produjo anticuerpos contra el virus, los anticuerpos no fueron capaces de atravesar la barrera hacia los testículos de modo que el virus fue capaz de establecer una infección persistente en los túbulos seminíferos. En este caso el virus se eliminaba continuamente por el semen durante periodos prolongados, entre los 7 y 22 meses de edad.

Con los métodos habituales de screening sanguíneo, el toro podría haberse considerado inmune y no excretor de virus de DVB por semen. De todos modos la incidencia de la persistencia del virus en los testículos en este momento es desconocida.

DIAGNÓSTICO Y CONTROL

Excepciones del diagnóstico:

Hay varios métodos y protocolos para el diagnóstico del virus de diarrea viral bovina. Lo que no está claro y es muy importante para el clínico es comprender las excepciones que confunden el diagnóstico de los animales PI.

Estas son:

1- **Infección aguda:** la muestra de sangre tomada en el pico de viremia del periodo agudo puede ser a veces Elisa + (detección de antígeno).

Solución: si se toman muestras pareadas cada 3-4 semanas, ambas muestras deben ser positivas.

2- **Calostro:** puede enmascarar la detección de viremia persistente en sangre durante 3-4 meses.

Solución: se deben tomar muestras de sangre ya sea pre calostro o luego de los 4 meses de edad.

3- **Terberos PI "in útero":** los fetos infectados pueden permanecer PI durante toda la preñez y al nacer reintroducen el virus en el rodeo.

Solución: la mejor medida de seguridad para cualquier rodeo es vacunar todas las hembras, vacas y vaquillonas. Las madres con terberos PI tienen a menudo altos niveles de anticuerpos y así los anticuerpos en suero pueden dar una buena indicación del nacimiento de un ternero PI

4- **Animales PI seropositivos:** algunos animales PI pueden tener anticuerpos para el virus de DVB. Habitualmente estos anticuerpos son para cepas heterólogas del virus de DVB (siempre mantienen viremia) o para variantes homólogas del virus de DVB (con pérdida transitoria de la viremia).

Solución: repetir el sangrado de animales problema

5- **Toros:** se ha demostrado que los toros PI seronegativos, eliminan virus por semen y que algunos toros seropositivos también pueden hacerlo.

Solución: se debe analizar el semen para detectar virus de DVB.

6- **Cepas del virus de DVB genéticamente diferentes:** los métodos actuales para detectar antígenos y anticuerpos del virus de DVB están diseñados para detectar virus del grupo I. Cualquier cepa de virus genéticamente diferente no puede ser detectada por el momento.

CONTROL

Los detalles del programa de control de la enfermedad deberían registrarse en un documento. Este debe establecer un trabajo dinámico y una fuente de información que pueda ser revisada a menudo por las partes.

Hay una serie de pre requisitos para el éxito del programa de control de la enfermedad. Es fundamental que todas las partes involucradas conozcan la enfermedad y los factores de riesgo. Debería llevarse a cabo un estudio en el rodeo para establecer el estado actual de la enfermedad y los riesgos relativos de la re-infección y cuales son los numerosos factores de riesgo. Los factores de riesgo pueden incluir animales PI, hembras o vacas portadoras de fetos PI, animales con infección aguda, por ejemplo por incorporación de un nuevo animal en el rodeo o por introducción de un animal que vuelve de una exposición o por contacto de un animal con otro, con otros rumiantes por ejemplo ovejas, ciervos materiales infectados que ingresan al establecimiento, por ejemplo vacunas, semen.

OBJETIVOS Y ESTRATEGIA

El programa de control debe ser definido. Los métodos utilizados para alcanzar los objetivos deben ser realistas. En algunos rodeos el objetivo será minimizar las pérdidas económicas asociadas con la exposición al virus. En otras situaciones el objetivo será eliminar el virus del rodeo.

ACCIONES TÁCTICAS

Erradicación

La medida principal de cualquier programa de erradicación de virus de DVB es eliminar la fuente de virus es decir el animal PI. La presencia de tales animales dentro del rodeo puede sospecharse siguiendo los niveles de anticuerpos de los animales del rodeo.

Para los rodeos lecheros esto puede obtenerse simplemente estimando los niveles de anticuerpos en el tanque de leche. La interpretación de los niveles de anticuerpos ha sido ampliamente discutida y ha sido la base del éxito de los programas nacionales de erradicación en Escandinavia.

La disponibilidad del método de Elisa para antígeno de virus de DVB para determinar los animales PI permite la identificación de estos animales y la subsiguiente eliminación de los mismos.

En rodeos lecheros, se puede realizar el estudio por el método de PCR sobre muestras de leche de tanques correspondientes a grupos de más de 100 vacas lecheras.

No es posible determinar definitivamente el estado del feto en el útero. De ahí que es fundamental recordar que deben ser muestreados todos los animales jóvenes que componen el stock que nació en el establecimiento. Es prudente continuar con este proceso de muestreo para monitorear el estado del rodeo.

Sin embargo, la eliminación de los animales PI puede no eliminar todo el virus del rodeo. Las pruebas disponibles pueden determinar cuales son los animales positivos pero no detectar las infecciones agudas.

El problema de la lenta diseminación del virus durante la infección aguda del rodeo, en ausencia de un animal PI, ya ha sido observado.

Esto puede explicar aquellos casos donde se ha demostrado la seroconversión pero el subsiguiente sangrado del rodeo completo no identifica los animales PI. Es probable que los rodeos grandes mantengan la infección aguda más que los chicos, por esta razón los rodeos pequeños tienen más éxito con la estrategia de control rápidamente.

La erradicación de animales PI, conducirá a la presencia de animales dentro del rodeo libres de la enfermedad. Por consiguiente el rodeo será más vulnerable y si se reintroduce el virus de BVD, las pérdidas pueden llegar a ser cuantiosas. Al cambiar el balance de animales seropositivos se debe tener una excelente bioseguridad.

VACUNACIÓN

El virus de BVD puede transmitirse verticalmente a la próxima generación por el nacimiento de un animal PI. Esto significa que en grandes términos el control se basa en la protección del rodeo y en la prevención del nacimiento de nuevos animales PI.

La disponibilidad de una vacuna, que ha probado proteger al ganado del virus de BVD y prevenir la infección transplacentaria es el mayor desarrollo en el control de este patógeno.

Es fundamental que el ganado reciba una primera inmunización antes del 1º servicio. Se agruparán las hembras de 1 a 2 años y recibirán la primer dosis antes del inicio del servicio. Luego se recomiendan dosis únicas de refuerzo antes de los períodos de servicios subsiguientes para asegurar que la máxima inmunidad se logre en el momento de mayor riesgo potencial, que es el período del servicio y la primera mitad de la gestación.

La inmunización de todas las hembras del rodeo debe aplicarse en las siguientes situaciones:

- * **rodeos negativos y susceptibles donde hay riesgo de entrada de virus en el mismo y/o dónde el valor del stock ganadero, lo justifique.**

- * **rodeos que experimentan aumento de pérdidas asociadas al virus de BVD, muerte embrionaria temprana, baja tasa de concepción, abortos, enfermedad entérica, inmunosupresión.**

- * **rodeos de alto valor genético.**

- * **rodeos donde se realiza transferencia embrionaria.**

Una ruta alternativa para el control progresivo de la enfermedad es comenzar vacunando las hembras y tratar de llegar cada año a la vacunación total del rodeo ya que las hembras son la base del futuro rodeo. Además estos son los animales sobre los cuales se ha trabajado para obtener el mejor nivel genético. Las hembras deben ser eliminadas del rodeo general, a medida que alcancen un diferente estado sanitario.

El primer año se deben vacunar los toritos y las vaquillonas de primer servicio. Al año siguiente estos animales reciben una dosis de refuerzo, y el nuevo grupo de terneros, reciben la primer dosis. Con el tiempo esto conduce a una vacunación completa y a la protección total del rodeo.

La erradicación de los animales PI puede hacerse en combinación con la vacunación de los animales en servicio..

Esto es el "Rolls Royce" de los métodos para el control del virus BVD y conduce a una solución rápida y completa de todos los problemas relacionados con la presencia del virus de DVB dentro del rodeo.

DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO

Creemos oportuno reiterar algunos conceptos básicos sobre la importancia de llegar a un diagnóstico virológico correcto con el objeto de poder implementar medidas adecuadas de prevención y/o control.

Muchas veces, los síntomas observados permiten realizar un diagnóstico clínico de enfermedad viral y entonces la confirmación por parte del laboratorio puede ser considerada innecesaria. Pero hay ocasiones en que el veterinario clínico y/o sanitarista desea confirmar su diagnóstico ya sea por la importancia económica de la enfermedad o porque no está seguro de haberlo hecho correctamente.

Este diagnóstico es imprescindible además para detectar portadores asintomáticos y certificar la ausencia de virus en ciertos materiales por ejemplo semen.

La infección viral puede demostrarse en laboratorio utilizando varias técnicas diagnósticas. El veterinario clínico no necesita tener grandes conocimientos sobre ellas para remitir muestras correctamente, pero si consideramos qué debe saber que resultados puede esperar de cada una de ellas y en qué tiempo el laboratorio puede brindárselos.

El veterinario clínico debe conocer la etiología, sintomatología y patogenia de las enfermedades virales ya que para que el diagnóstico virológico sea exitoso es imprescindible que la muestra seleccionada, sea apropiada (saber qué va a extraer y cuando).

Ningún laboratorio de diagnóstico puede hacer un trabajo brillante si parte de una muestra que no es la adecuada. En el cuadro se especifican los materiales apropiados según los síntomas observados y el momento óptimo para la recolección de los mismos.

ADEMÁS DEBE RECORDARSE QUE:

a) La posibilidad de aislar el virus es mayor durante el período inicial de la enfermedad, cuando el título del virus es más alto y aún no ocurrió la infección bacteriana secundaria.

b) La mejor muestra es la que proviene de un animal vivo o de uno sacrificado recientemente.

c) Los virus dependen para su replicación de células vivas por lo tanto no deben extraerse muestras de zonas necróticas, con exudado purulento, o fuerte olor porque ello es debido a la infección bacteriana.

d) Las muestras deben conservarse a 4°C o por debajo de -40°C (hielo seco o nitrógeno líquido). Se debe evitar la congelación a temperaturas superiores a -40°C, porque destruye al virus.

e) De ser posible las muestras deben remitirse en un medio de transporte adecuado para el diagnóstico virológico. Los medios para bacteriología no sirven y los hisopos de madera resultan tóxicos.

Consulte al laboratorio sobre la provisión de un medio de transporte adecuado para virología.

f) Utilice envases apropiados para recoger y remitir muestras. Si no dispone de ellos envíe el material por sembrado en frascos limpios y secos y/o en bolsas de nylon nuevas, en cajas de telgopor con refrigerante.

g) Para el diagnóstico serológico también hay momentos óptimos para la toma de muestras. La primera extracción se hará al observar los primeros síntomas de la enfermedad y la segunda extracción 20- 30 días después.

h) El diagnóstico virológico por cultivo es un procedimiento de laboratorio lento. Demora tres semanas ya que es necesario realizar 3 pasajes en cultivo celulares para descartar el material.

El diagnóstico virológico por el método de identificación viral por inmunofluorescencia arroja resultados en término de unas pocas horas. El diagnóstico virológico por métodos serológicos demora entre 24 - 48 hs

Síntomas	Del animal vivo	De necropsia
Respiratorios y oculares	Hisopados nasales y conjuntivales. Sangre para serología.	Tejidos de áreas afectadas del sistema u órganos en cuestión y sus ganglios asociados.
Lesiones de las mucosas digestivas y genitales	Raspados y/o hisopados de la mucosa afectada. Sangre para serología y con anticoagulante para aislamiento.	Tejidos de áreas afectadas del sistema y órganos en cuestión y sus ganglios asociados.
Gastroenteritis.	Materia fecal. Sangre para serología y con anticoagulante para aislamiento.	Tejidos de áreas afectadas del sistema u órganos en cuestión y sus ganglios asociados, más el contenido intestinal.
Enfermedades del Sistema Nervioso Central	Sangre para serología. Líquido cefalorraquídeo (si disponible). Hisopados nasales y urogenitales.	Cabeza entera o cerebro, también para histopatología. Tejidos de varios órganos y ganglios linfáticos.
Enfermedades sistémicas	Sangre con y sin anticoagulante, hisopados nasales, faríngeos y urogenitales, materia fecal.	Feto entero y tejidos de placenta, órganos fetales, sangre del corazón del feto y contenido abomasal.
Abortos	Sangre para serología. Descargas genitales de la hembra abortada.	

DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO: CASUÍSTICA DE LABORATORIO DURANTE EL PERIODO JULIO DE 1998- JULIO DE 2000.

Ricci, L.A. y Conigliaro, A.S.

Muchas veces los síntomas observados permiten realizar un diagnóstico clínico de enfermedad viral y entonces la confirmación por parte del laboratorio puede considerarse innecesaria. Pero hay ocasiones sin embargo en que el veterinario clínico o sanitarista desea confirmar su diagnóstico ya sea por la importancia económica de la enfermedad o porque no está seguro de haberlo hecho correctamente.

El diagnóstico es imprescindible además para detectar portadores asintomáticos y certificar la ausencia de virus en ciertos materiales, como por ejemplo semen.

Llegar a un diagnóstico correcto permitirá además implementar medidas adecuadas de prevención y control.

La infección viral puede demostrarse en el laboratorio utilizando varias técnicas diagnósticas.

Puede realizarse el aislamiento viral o la identificación del agente por métodos indirectos. Hay métodos rápidos como la aglutinación en placa o el test de Elisa y otros más lentos y complejos como el cultivo celular, PCR o microscopía electrónica. Algunos son realizados en colaboración con otros grupos de investigación.

El veterinario clínico no necesita tener conocimientos detallados sobre ellas para remitir muestras al laboratorio, pero debe conocer la etiología, sintomatología y patogenia de las enfermedades virales, ya que para que el diagnóstico sea exitoso es imprescindible partir de una muestra adecuada y enviada de manera apropiada.

Mediante la aplicación de estas técnicas en forma individual o combinada se llegó a detectar agentes virales que son de suma importancia para la casuística de nuestro país y los resultados se presentan en este trabajo.

OBJETIVOS

- Aislar, identificar y caracterizar agentes virales de importancia para la salud animal en bovinos y otras especies domésticas.
- Estudiar la prevalencia de los distintos virus en las patologías más comunes de las diferentes especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se procesaron 771 protocolos que comprendían el estudio de 1892 muestras. Las mismas consistían en trozos de órganos de animales con distintas patologías, hisopados nasales, oculares, rectales, cervicovaginales, fetos enteros u órganos fetales, semen, sangre y líquido de punción de las distintas especies.

RESULTADOS

En este trabajo volcamos los resultados obtenidos en el período julio de 1998 a julio del 2000. Los mismos solo reportan las distintas cepas de virus aisladas y/o identificadas por métodos directos o indirectos. Del total de protocolos analizados se detectó la presencia de un agente viral en 114 de ellos, representando el 14,8%. En ninguno de ellos se determinó la acción de dos o más virus en conjunto pero sí a estos combinados con bacterias u otros agentes, principalmente en cuadros diarréicos y respiratorios.

Para el Virus de la *Diarrea Viral Bovina (BVD)* fueron aisladas 22 cepas; de *Rotavirus (RV)* :79; de *Herpesvirus Bovino tipo 1 (BHV-1)*: 5; de *Herpesvirus Bovino tipo 5 (BHV-5)*:1; de *virus de la Leucosis Enzoótica Bovina* (EBL)*:2; de *Adenovirus Bovino (BAV)*:2; de *Herpesvirus Equino tipo 1 (EHV-1)*:1; de *Virus Respiratorio Sincicial Bovino** (VRSB)*:1; de *Herpesvirus Canino** (CHV)*:1; de *Parvovirus Canino** (PCV)*:1; de *Parvovirus Porcino** (PPV)*:1.

La distribución de los virus diagnosticados según la patología producida fue la siguiente: en el 100% de los abortos bovinos a virus se obtuvieron 12 cepas de BVD no citopático; en un aborto equino se aisló EHV-1 y en un canino CHV. Para los cuadros del tipo respiratorio en bovinos se hallaron 4 cepas de BVD no citopáticas, 2 de BHV-1 y 1 de VRSB. En las diarreas neonatales se aislaron 78 cepas de RV en bovinos y 1 en porcino, 2 cepas de BAV, 1 de PPV y 1 de PCV. En los complejos de la enfermedad de las mucosas se aislaron 4 cepas de BVD no citopáticas y 2 citopáticas. En cuadros de queratoconjuntivitis se aislaron 2 cepas de BHV-1. De los correspondientes a sintomatología nerviosa se aisló 1 cepa de BHV-5. De dos causas de muerte bovina se detectaron 2 cepas de EBL.

CONCLUSIONES

El aislamiento virológico confirma la presencia de Adenovirus bovino en dos de los materiales analizados, convirtiéndose en los primeros aislamientos realizados en nuestro país.

La detección de VRSB en pulmones de animales con sintomatología respiratoria podría indicar a este como agente causal del cuadro clínico observado. Este hallazgo sugiere la necesidad de incluir la búsqueda de este virus en el diagnóstico virológico de rutina mediante técnicas de mayor sensibilidad.

El elevado número de aislamientos de Rotavirus bovino reafirma una importante circulación de este agente en la población afectada por diarrea neonatal.

El bajo porcentaje de aislamientos de muchos de los agentes en las muestras analizadas podría estar asociado con una baja sensibilidad del método de detección utilizado, resultando importante la incorporación de técnicas alternativas más sensibles, como el PCR que permitiría aumentar la eficiencia del diagnóstico a partir de materiales de campo. También es posible considerar que muchas veces las muestras remitidas no llegan en las mejores condiciones para su procesamiento.

Aunque el porcentaje de aislamientos logrados es bueno, cabe destacar que se sospecha que factores críticos en la toma y remisión de muestras dificultan el aislamiento de muchos de estos y otros agentes virales.

Trabajo presentado en la XIII Reunión Anual de la AAVLD. Merlo, San Luis, Noviembre de 2000.

RELACION PATOLOGIA / VIRUS

Patologías	Tipo de virus										
	BDV	RV	BHV-1	BHV-5	EBL	BAV	EHV-1	VRSB	CHV	PCV	BBV
Abortos	12						1				
Respiratoria	4		2					1	1		
Diarreas neonatales		79				2				1	1
Enfermedad de las mucosas	6										
Querato conjuntivitis			2								
Sintomatología nerviosa				1							
Causa de muerte					2						
Total	22	79	4	1	2	2	1	1	1	1	1

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS

Dra Susana Conigliaro

GENERALIDADES

En los últimos años se ha visto un aumento significativo de las pruebas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas bovinas.

Sin embargo a menudo no solo se utilizan técnicas que poseen diferente grado de sensibilidad y especificidad sino que a veces la misma técnica está implementada de forma distinta y se aplican criterios de interpretación diferentes.

Es por ello que consideramos útil y necesario efectuar un repaso de las principales técnicas disponibles y considerar los criterios básicos de interpretación de los resultados.

Esta información será además de especial utilidad para los veterinarios clínicos que a menudo se enfrentan a graves problemas sanitarios y deben recurrir a laboratorios confiables para poder resolverlos.

Los estudios serológicos se efectúan sobre muestras de sangre aunque algunas enfermedades se pueden estudiar sobre muestras de secreciones o líquidos tisulares. La muestra a remitir tiene que tener la calidad necesaria para la utilización óptima de los servicios que el laboratorio puede ofrecer. Defectos en la recolección de la muestra, volumen inadecuado, defectos en la conservación y envío conspiran contra un estudio adecuado y un resultado acertado.

Un animal infectado presenta inicialmente una fase de incubación y el fin de la misma coincide con la presencia de lesiones y síntomas definidos y con la aparición de anticuerpos circulantes (aunque en algunas enfermedades las lesiones son leves y los síntomas pasajeros o poco evidentes). Si no se produce la muerte, los anticuerpos irán en

aumento hasta alcanzar el máximo unos 20 –30 días post infección. Desde ese momento en adelante, los títulos tienden a decaer llegando a valores muy bajos, a veces no detectables por las técnicas convencionales. En otras infecciones los títulos persisten durante toda la vida útil del animal. En otros casos si bien el animal permanece serológicamente positivo, los títulos son fluctuantes.

En el laboratorio podemos analizar muestras de sangre individuales donde se estudia la circulación de los agentes infecciosos, detectando únicamente animales positivos o negativos

Si un animal ha tenido contacto con la enfermedad o ha sido vacunado, normalmente será positivo. Si estudiamos el 100 % de la población estamos haciendo un screening, lo cual es fundamental en la implementación de un programa de control o erradicación.

Si simplemente queremos conocer los problemas sanitarios de una explotación, haremos un monitoreo sobre un porcentaje de animales frente a los agentes infecciosos buscados. Este estudio solo exige una determinación a dilución única. Un monitoreo correcto hay que hacerlo sobre un 20 % de los animales "objetivo" de la explotación y debe centrarse sobre el "objetivo" que se quiere controlar, hembras de varios partos, terneros al pie de la madre, terneros de destete, hembras abortadas, etc. En una segunda etapa se pueden titular los anticuerpos y darle interpretación diagnóstica, analizando solo los seropositivos (los que han salido positivos al screening). Los picos de alto título corresponden por lo general a enfermedad. Este estudio exige realizar diluciones de cada suero, sin embargo es la única forma de interpretar de manera confiable el título y por lo tanto la evolución de la enfermedad o la protección de una vacuna.

En algunos casos se puede hacer un estudio retrospectivo (estudiar los títulos de un par de sueros de varios animales tomados con un intervalo de 2 o 3 semanas entre sí) para averiguar la evolución del título de anticuerpos en el tiempo. Es fundamental procesar todos los sueros el mismo día. Los resultados de este estudio van a depender de la elección de los animales a sangrar y del agente infeccioso. Por ejemplo si los animales son terneros de más de 30 días y sin vacunar o vacunados hace tiempo, la evolución de los títulos de anticuerpos debería ser plana. Si hay aumento de título de anticuerpos y no hubiera por medio ninguna vacunación, son sospechosos de una nueva infección. Hay que destacar que el estudio de "sueros pareados" en vacas abortadas con fecha de aborto desconocida no nos va a dar ninguna información ya que han podido seroconvertir en el momento de la primera toma de muestra.

Para numerosas enfermedades las pruebas serológicas constituyen el instrumento de diagnóstico de elección. Estas pruebas determinan la frecuencia y distribución de un agente infeccioso en determinada población a través de la detección de anticuerpos específicos en el suero sanguíneo o reacciones inmunitarias en los animales en estudio. Un resultado positivo solo indicaría entonces la exposición del animal en cuestión al agente en algún momento de su vida previo al estudio, pudiendo encontrarse al momento de la prueba en periodo de incubación, enfermo, recuperándose o inclusive sano. Una vacunación con microorganismos muertos, atenuados o modificados también puede dar un resultado positivo, lo mismo que cuando el animal ha recibido anticuerpos maternos contra el agente. Cualquiera sea la técnica empleada en nuestro país aún resulta imposible diferenciar anticuerpos de origen infeccioso de aquellos de origen vacunal.

Por otra parte existe una serie de resultados de las pruebas serológicas que pueden deberse meramente a la existencia de mecanismos de defensa contra un agente distinto al que se está investigando pero que tiene alguna semejanza antigénica y produce reacciones cruzadas. Positividad no es sinónimo de enfermedad en la totalidad de los casos. Un animal puede resultar negativo cuando realmente está infectado y viceversa, si lo reciente de la infección no ha permitido aún el adecuado desarrollo de anticuerpos, o lo crónico de la enfermedad lo ha hecho pasar a un estado de anergia.

Un título elevado no siempre corresponde necesariamente a una enfermedad en evolución o una enfermedad reciente. El resultado del estudio serológico expresa la cantidad de anticuerpos presente en una muestra (título de anticuerpos). La serología no tiene valor diagnóstico si no demuestra aumento significativo del título entre el 1º y 2º muestreo, tomando la primera muestra al inicio de la enfermedad y la segunda 15-30 días después.

El estudio serológico puede ser cualitativo, indicando sólo la presencia o ausencia de anticuerpos o cuantitativo, donde se efectúan una serie de diluciones en progresión geométrica y el resultado está dado por la fracción que representa la última dilución, en la que se observa el fenómeno investigado.

BRUCELOSIS

La técnica de BPA es una prueba tamiz cuyo resultado se expresa como NEGATIVO O POSITIVO, lo que significa que los animales son NEGATIVOS ó REACCIONANTES, debiendo estos últimos ser sometidos a pruebas complementarias para su diagnóstico definitivo. Los sueros que resulten positivos a BPA serán procesados por la técnica de SAT (seroaglutinación en tubo ó Wright) y 2 mercaptoetanol.

Los animales reaccionantes a la prueba de 2 mercaptoetanol (que fueron vacunados entre los 3 y 8 meses de edad) se deben considerar infectados, es decir que no se debe aceptar ningún título a 2 mercaptoetanol.

Los animales que resulten negativos a 2 mercaptoetanol y tengan títulos de 1/25 o 1/50 a SAT se consideran negativos. Los animales que siendo negativos a 2 mercaptoetanol presentan títulos de 1/100 a SAT, se consideran sospechosos y deberán ser sangrados nuevamente pasados 20-30 días para comprobar su negatividad, de lo contrario se trata de un animal potencialmente positivo, y los que presentan título de 1/200 a SAT se consideran positivos aunque sean negativos a 2 mercaptoetanol.

Los resultados negativos a la prueba de 2 mercaptoetanol se consideran negativos en ese momento, pero si están en el periodo de incubación de la enfermedad aparecen negativos porque aún no pueden detectarse anticuerpos circulantes, de ahí la necesidad de realizar muestreos periódicos.

Para la interpretación de los resultados de Brucelosis es necesario tener muy en cuenta la edad de los animales en el momento de la realización del análisis y la edad a la que fueron vacunados ya que los animales vacunados por encima de la edad de 8 ó 9 meses mantienen anticuerpos durante más tiempo.

RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA (IBR) Y/O DIARREA VIRAL BOVINA (BVD)

El título de anticuerpos se informa como negativo (cuando no hay anticuerpos) o positivo (cuando hay presencia de anticuerpos en cantidades variables según las diluciones realizadas y la técnica empleada). La presencia de anticuerpos está indicando contacto con el virus y respuesta del individuo con formación de anticuerpos, pero no es posible saber si se debe a un contacto con el virus infeccioso causa de enfermedad o un virus vacunal.

En el diagnóstico por inmunofluorescencia de muestras individuales, los resultados se informan como positivos o negativos.

El diagnóstico por la prueba de seroneutralización en una prueba cualitativa (que es la que se utiliza por ejemplo para los toros de los centros de inseminación artificial) se informa como positivo (cuando se detectan anticuerpos neutralizantes) o negativos (cuando no se encuentran anticuerpos).

En caso de contar con muestras pareadas se puede realizar un estudio cuantitativo haciendo diluciones del suero problema. El resultado es el índice de seroneutralización, que expresa el logaritmo de la inversa de la dilución que neutraliza 100 partículas virales en 1 ml de virus.

En el caso de utilizar la técnica de inmunofluorescencia para muestras pareadas, las diluciones que se realizan son 1/5, 1/10, 1/20 y 1/40. Los títulos 1/10, 1/20, 1/40 se consideran positivos e indican contacto con el virus y la consiguiente respuesta de anticuerpos. El título 1/5 expresa escasa cantidad de anticuerpos o a veces puede indicar inespecificidad por lo cual como dato aislado no se debe tener en cuenta y se sugiere repetir el análisis 20 días después.

El diagnóstico por medio de la prueba de Elisa se expresa como positivo o negativo.

En el caso de BVD algunos terneros puedan llegar a nacer después de un proceso infeccioso de la madre en las primeras etapas de gestación lo que los convierte en inmunotolerantes (animales persistentemente infectados). Esto es, no seroconvierten (no aparecen anticuerpos en sangre), pero excretan virus. Estos animales al no reconocer el virus como cuerpo extraño (dado que la infección fue antes de que se desarrollara su sistema inmune) no producen o producen pocos anticuerpos, por lo que su detección mediante pruebas serológicas se complica. Normalmente estos terneros mueren antes de los dos años de vida. Es decir que en el caso de diagnóstico de virus de BVD una muestra negativa no siempre indica ausencia de contacto viral.

PARAINFLUENZA 3 (PI3)

El diagnóstico serológico para virus de PI3 se realiza por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (IHA) que mide la cantidad de anticuerpos capaces de inhibir la actividad hemoaglutinante del virus de PI3. Los resultados se expresan en unidades inhibidoras de la hemoaglutinación (UIHA) y se interpretan de la siguiente forma:

Hasta 80 UIHA: negativo

Entre 80 y 320 UIHA: exposición previa al virus de PI3

640 ó más UIHA: infección reciente al virus de PI3.

LEPTOSPIROSIS

El diagnóstico serológico de leptospirosis se realiza por medio de la técnica de microaglutinación de Martín y Pettit. Se realizan diluciones en base 2 desde una dilución inicial 1/200 hasta la última dilución que presenta título aglutinante. En el diagnóstico de leptospirosis es fundamental contar con muestras pareadas ya que se encuentra a menudo que la mayoría de los animales mostrados presentan títulos hemoaglutinantes bajos a la serovar Wolffi. También es necesario considerar que los anticuerpos protectores que confieren las vacunas son anticuerpos neutralizantes, mientras que los anticuerpos detectados por la prueba de Martín y Pettit son anticuerpos aglutinantes.

NEOSPOROSIS

El diagnóstico de esta enfermedad causada por el parásito Neospora caninum, se puede realizar por medio de la técnica de inmunofluorescencia indirecta. El resultado se expresa como

negativo, cuando no se detectan anticuerpos,

sospechoso, cuando se encuentran anticuerpos en la dilución 1/320 recomendándose repetir en análisis 15-20 días después,

positivo cuando se encuentran anticuerpos en la dilución 1/640 o más.

Los resultados deben analizarse en el contexto del rodeo donde se realiza el estudio. Si en un rodeo con antecedentes de abortos se encuentra un 20-30 % de animales positivos, es posible considerar a Neospora como la causa de los mismos. Por otro lado si solamente el 5 % de los sueros analizados resultaran positivos es muy probable que la causa de los abortos sea otra.

CONCLUSIONES

Para una mejor comprensión se describen a continuación las situaciones que a menudo se presentan en el estudio serológico.

Estudio serológico realizado sobre una muestra única.

Resultado NEGATIVO

- a).- Ausencia de contacto con el agente investigado
- b).- Animal en período de incubación de la enfermedad
- c).- Vacunación realizada recientemente

Resultado POSITIVO

- a).- Hubo contacto con el agente investigado, haya o no expresión clínica de la enfermedad
- b).- Animal vacunado contra el agente investigado
- c).- Presencia de anticuerpos calostrales

ESTUDIO SEROLÓGICO REALIZADO SOBRE MUESTRAS PAREADAS

1º muestra NEGATIVA / 2º muestra POSITIVA

Seroconversión

- a).- Vacunación entre 1º y 2º muestreo
- b).- Infección entre 1º y 2º muestreo
- c).- Animal incubando en el 1º muestreo con enfermedad en posterior evolución

1º muestra NEGATIVA / 2º muestra NEGATIVA

El agente investigado no es la causa del problema
Ausencia de contacto con el agente investigado

1º muestra POSITIVA / 2º muestra NEGATIVA

Fin de la infección
Desaparición de anticuerpos vacunales

Desaparición de anticuerpos calostrales

1º muestra POSITIVA / 2º muestra POSITIVA

1º MUESTRA MAYOR QUE LA 2º
Caída de anticuerpos calostrales
Caída de anticuerpos vacunales
Animal convalesciente

1º MUESTRA MENOR QUE LA 2º

Afección clínica o subclínica en evolución
Incremento de anticuerpos vacunales

1º MUESTRA IGUAL A LA 2º

Infección estabilizada
Anticuerpos vacunales estabilizados.

ENFERMEDADES VIRALES DE LOS BOVINOS

Centro Diagnóstico Veterinario S.A. conoce, a través de los años que ha dedicado al diagnóstico de enfermedades que afectan a los rodeos de nuestro país, la influencia negativa de los agentes virales en el rendimiento de la explotación ganadera.

Debido a la gran difusión que tienen estos virus en nuestro país y a la dificultad de mantener rodeos libres, las vacunas constituyen una excelente alternativa sino la única para el control de estas enfermedades. Es por ello y debido a la posibilidad de poder contar con cepas locales, aisladas de numerosos cuadros clínicos, que decidimos encarar la producción de las vacunas que aquí presentamos.

A la experiencia de otros países, se suma la de los planes pilotos desarrollados por Centro Diagnóstico Veterinario S.A., que evaluaron la eficacia de las distintas vacunas en numerosos establecimientos con serios problemas reproductivos y severos cuadros clínicos, con resultados altamente satisfactorios.

La acertada elección de la vacuna a utilizar dependerá de la confirmación de la enfermedad realizada por el laboratorio de diagnóstico y del conocimiento del mecanismo de acción del o los agentes causales.

ABORTOS

CAUSAS, DIAGNÓSTICO Y PROFILAXIS

*Dra Susana Conigliaro **

El diagnóstico de aborto bovino y de las enfermedades reproductivas es uno de los mayores problemas de la medicina veterinaria. El porcentaje de aborto causado por etiología infecciosa está estimado en el 40-60 % del total. Conocer en forma acertada la causa del aborto beneficia al profesional veterinario quien podrá indicar a su cliente la implementación de medidas adecuadas para reducir los mismos en el futuro inmediato y asesorarlo sobre la prevención para el próximo servicio y período de gestación.

Debido a la naturaleza compleja de las causas de aborto bovino y fallas reproductivas, el laboratorio de diagnóstico tiene que hacer un esfuerzo constante para determinar la presencia potencial de microorganismos infecciosos. El aislamiento de patógenos del feto no siempre es práctico ni efectivo de ahí que la serología es una herramienta útil para determinar la exposición a estos agentes.

Además del aborto, es conveniente tener en cuenta las enfermedades que causan pérdidas reproductivas y que influyen negativamente en su rentabilidad.

Según el momento que afectan el proceso reproductivo, hay:

- 1.- **Enfermedades que afectan el resultado del servicio**, provocando infertilidad transitoria o permanente y mortalidad embrionaria. Estas enfermedades inciden en el porcentaje de preñez.
- 2.- **Enfermedades que provocan abortos y muertes perinatales**. Este grupo se manifiesta por aumento de la diferencia preñez - parición o preñez- señalada.
- 3.- **Enfermedades de la primera edad (1 - 2 meses de vida)**. Estas patologías aumentan la diferencia parto - señalada o parto - destete.
- 4.- **Enfermedades de los bovinos jóvenes**. Aumentan la diferencia señalada - destete.

Si bien la fertilidad es un factor de gran incidencia en la producción total de un rodeo, no debemos confundir fertilidad con porcentaje de preñez. El proceso reproductivo no se agota con lograr que todos los vientres se preñen, debemos considerar las pérdidas globales desde el servicio hasta el destete, ya que de hecho el rodeo más fértil es el que desteta anualmente mayor número de terneros.

Con el conocimiento y la tecnología actualmente disponible es perfectamente posible en términos económicos lograr producciones de destete de más del 85 % sobre los vientres puestos en servicio. Lamentablemente, la realidad indica que los rodeos nacionales destetan menos del 65 % de terneros por año, esta diferencia entre lo posible y lo que realmente se produce está dada por una gran variedad de factores nutricionales, sanitarios, genéticos, de manejo, etc. cuya importancia es variable para cada rodeo.

Es indudable que el porcentaje de preñez tiene enorme importancia en la fertilidad de un rodeo ya que sin un alto porcentaje de preñez es imposible alcanzar altos porcentajes de destete. Hay muchos que se sienten orgullosos de lograr muy buenos porcentajes de preñez, (a veces superiores al 95 %) , pero no deben olvidarse se lo que sucede después.

Así es común ver rodeos que tienen grandes diferencias (12 - 15 % ó más) entre los vientres preñados y los terneros efectivamente destetados. Lo peor de todo es que a veces esto se acepta como normal cuando en un rodeo bien manejado y con medidas sanitarias apropiadas la diferencia entre el tacto y el destete no debería superar el 5 - 6 % .

Un animal preñado al tacto que no llega a destetar su ternero, cuesta al productor mucho más dinero que el que permanece vacío, ya que hay que alimentarlo, cuidarlo y vacunarlo durante un mayor período de tiempo para que en definitiva no produzca nada.

El problema es aún más serio si tenemos en cuenta que los vientres abortados en su mayoría son diseminadores de enfermedades dentro del rodeo y si el aborto fue originado por una enfermedad venérea, al ser los primeros en alzarse la próxima temporada contagian a los toros que a su vez difunden la enfermedad.

Incluso la sana práctica de eliminar los animales sin cría al pie, al comienzo del servicio, no controla la totalidad del problema sino solo las enfermedades venéreas. Debe quedar claro que hay muchas enfermedades abortivas que no son venéreas o no son exclusivamente venéreas, es decir de transmisión sexual como por ejemplo la Brucelosis.

En general el productor se asusta cuando en su rodeo aparece una tormenta de abortos, grandes y visibles, pero el resto de las pérdidas queda sin control y ello incide en la magra cosecha de terneros.

Cualquier medida que se tome para disminuir las pérdidas debe estar necesariamente amparada por un diagnóstico correcto.

Si bien las causas de aborto pueden ser clasificadas de varias maneras, los dos grandes grupos son las que comprenden causas infecciosas y no infecciosas.

Las causas no infecciosas pueden tener orígenes varios, tales como ambientales, por golpes o traumatismos, por exceso de calor; tóxicas por pastos que contienen alcaloides ó toxinas de hongos ó por plaguicidas, causas hormonales, nutricionales y genéticas. Aún cuando estas causas en determinados momentos pueden ser importantes, las más comunes y peligrosas son las causas infecciosas.

Dentro de ellas tenemos :

TRICHOMONIASIS :

Se caracteriza por la repetición de celos debido a la infertilidad transitoria y mortalidad embrionaria. También produce piómetras y aborto. Los abortos que por lo general no superan el 5 % son abortos chicos que no pasan el tercer mes de gestación. En el rodeo se manifiesta por bajos porcentajes de preñez.

Las muestras apropiadas para el diagnóstico de Trichomoniasis es la muestra prepucial de toro , la descarga genital de la hembra y el feto abortado. El muestreo prepucial puede realizarse por cualquiera de los métodos sugeridos tales como el raspaje, la toma de muestra con pipeta de inseminación o la aspiración. El feto abortado habitualmente no se encuentra porque es muy pequeño y pasa desapercibido o desaparece .

El número de muestreos a realizar dependerá de los antecedentes reproductivos del rodeo. En aquellos establecimientos donde se efectúa un control sanitario periódico, sin antecedentes de enfermedades venéreas, se realizaran 2 o preferentemente 3 muestreos. Si se desconoce la historia reproductiva del rodeo o sus antecedentes y situación actual indican la presencia de venéreas, el número mínimo de muestreos a realizar es 4. Si aparecen animales positivos se realizarán tantos muestreos como sean necesarios hasta obtener dos muestreos sucesivos negativos después del último positivo hallado. Los intervalos entre los muestreos no deben ser menores de 7 - 10 días. Los muestreos se deben realizar luego de transcurridos 30 días después de retirados los toros del servicio. Si los animales hubieran sido sometidos a tratamiento deben transcurrir por lo menos 30 días.

En las hembras el muestreo deberá realizarse cuando se observe que repiten celo, luego de retirados los toros del servicio, o en el momento del tacto al encontrarlas vacías. Cuando se encuentra, lo ideal es enviar el feto y también un trozo de placenta con 3 o 4 cotiledones. El material de elección a partir del feto es el líquido abomasal. Las muestras genitales se deben colocar en un medio de transporte adecuado y luego se siembran en medio de cultivo de Trichomonas. Se observan durante 7 a 10 días según los medios, para verificar la presencia del parásito.

Se debe muestrear la totalidad de los toros, aún los considerados vírgenes. También se debe revisar todos los animales que ingresen al establecimiento aunque estén precedidos de los mejores antecedentes sanitarios.

La enfermedad natural provoca una inmunidad de cierta duración, ya que las lesiones de la mucosa genital de la hembra estimula la producción de IgA e IgG, que lisan al parásito, junto con la colaboración del sistema inmune (complemento y polimorfonucleares), resultando factible la reinfección. En el toro las lesiones producidas por el parásito son escasas y hay ausencia de inmunidad natural siendo el macho un portador persistente de la infección. Las medidas de manejo ayudan a controlar la enfermedad.

No se recomienda el tratamiento de machos con tricomonicidas debido al alto grado de resistencia desarrollado por el parásito. Está en estudio el desarrollo de vacunas para lograr una adecuada inmunidad artificial. Experimentalmente se elaboraron vacunas inactivadas con células enteras del parásito pero su eficacia es limitada porque la inmunidad es de corta duración. Ahora se están probando vacunas preparadas con fracciones antigénicas con subunidades del parásito y los resultados obtenidos permiten crear buenas expectativas.

CAMPYLOBACTERIOSIS :

Esta enfermedad al igual que Trichomoniasis es una enfermedad venérea productora de infertilidad y mortalidad embrionaria. También provoca abortos esporádicos, que no van más allá de la mitad de la gestación. La prevalencia de esta enfermedad en promedio con Trichomoniasis es del 20 %.

La causa es *Campylobacter fetus* que esta dividido en dos subespecies *C. fetus* subespecie *venerealis* y *C. fetus* subespecie *fetus*. La subespecie *fetus* es entérico y se lo conocía como intestinalis. Este se aísla de vacas vacías. La subespecie *venerealis* es solo genital, aislándose del prepucio de toros y de hembras infectadas. El diagnóstico se realiza a partir de la misma muestra que se obtiene para el diagnóstico de Trichomoniasis. El método utilizado es la inmunofluorescencia directa, a partir del medio de transporte de la muestra genital. También puede hacerse el diagnóstico por aislamiento de *Campylobacter* en medios especiales. Este método no es de rutina para la mayoría de los laboratorios.

La utilización de un medio de enriquecimiento previo a la realización de la inmunofluorescencia, descrita por Inta Balcarse permite detectar cepas de *Campylobacter* a partir de muestreos de vacas vacías, aumentando la eficiencia diagnóstica por encima del cultivo bacteriológico, con resultados más rápidos eficientes y poco costosos.

Los estudios realizados indican que en el primer muestreo se encuentra el 60 % de los animales positivos ; en el segundo muestreo el 80 % ; en el tercero el 90 % y en el cuarto el 100 % de los animales , de ahí la importancia de realizar los 4 muestreos.

Con respecto al uso de vacunas las opiniones están divididas. Desde ya que es muy difícil lograr inmunidad local con la aplicación de una vacuna por vía general. Además, si a esto sumamos el hecho de que la concentración de *Campylobacter* necesaria para lograr una buena inmunidad es muy alta, los resultados son irregulares. Los estudios realizados para medir anticuerpos indican que la vacuna protege en un 58%. Para aumentar el poder de la vacuna algunos aplican doble dosis y hasta el triple de la dosis indicada y repiten a los 30 días una segunda aplicación.

BRUCELOSIS :

Es la enfermedad abortiva por excelencia y sigue siendo la principal causa de aborto en nuestro país. Su alta prevalencia ocasiona grandes pérdidas económicas, limitando la producción y dificultando además la comercialización de animales y productos de origen animal. Puede producir aborto en cualquier momento de la gestación, pero es más común observar los abortos en el último tercio. Hay casos de rodeos que han tenido hasta el 40 % de abortos por esta causa. La vaca abortada elimina billones de *Brucella* con su descarga genital, feto, envolturas fetales y placenta y es el principal factor de diseminación de la enfermedad.

La hembra no preñada no presenta síntomas de enfermedad y cuando se infecta antes del servicio muchas veces no aborta. Los bovinos se infectan por ingestión de pastos contaminados o por contacto con materiales infectantes. Sin embargo es importante tener en cuenta que la brucelosis es una enfermedad controlable y que se puede erradicar cuando se dispone de un programa bien administrado y se tiene la voluntad de hacerlo. Es la enfermedad que cuenta con la mayor cantidad de pruebas diagnósticas disponibles. Podemos realizar el aislamiento del agente causal *Brucella abortus*, *suis* o *melitensis* o una gran variedad de pruebas serológicas que evidencian indirectamente la presencia de la enfermedad.

El feto abortado es la mejor muestra para diagnóstico. El líquido abomasal suele contener la bacteria en estado de pureza y cuando se coloca en medios y condiciones apropiadas, el aislamiento de la misma es habitual. También es factible aislar el microorganismo a partir de la placenta. Si no fuera posible procesar el feto abortado, la muestra de sangre para serología es muy apropiada para el diagnóstico de esta enfermedad.

La prueba oficial de diagnóstico es la prueba de BPA que utiliza un antígeno bufferado en placa. Esta es una prueba tamiz es decir que el resultado se informa como positivo o negativo. Los animales negativos a esta prueba se consideran negativos en ese momento. Los animales reaccionantes a esta prueba se consideran positivos y deben someterse a una prueba complementaria para su diagnóstico definitivo. La prueba complementaria de rutina es la prueba de SAT y SAT 2 mercaptoetanol.

Los animales a muestrear son todas las hembras vacunadas a la edad de 3 a 10 meses y que ya cumplieron los 18 meses de edad, y los machos enteros de más de 6 meses. El análisis debe realizarse con un intervalo de 45 a 60 días después de haber eliminado los positivos del muestreo anterior y se debe repetir hasta obtener dos muestreos negativos de todos los animales.

La prueba de SAT (seroaglutinación en tubo ó Wright) mide la totalidad de inmunoglobulinas (IgM + IgG) presentes en el suero de un animal.

La prueba del 2 mercaptoetanol mide solamente la presencia de inmunoglobulinas IgG, ya que el 2 ME desnaturaliza las IgM.

Estas dos pruebas deben realizarse paralelamente y leerse en forma simultánea. La presencia de IgG se asocia generalmente a la presencia de una infección activa. Los resultados negativos a la prueba de 2 mercaptoetanol no son concluyentes porque en el período inicial de la enfermedad la mayoría de los anticuerpos presentes son del grupo IgM.

BPA	WRIGHT (SAT)	2 mercaptoetanol (SAT - 2 ME)	Resultado
POSITIVO	1/25	NEGATIVO	NEGATIVO
POSITIVO	1/50	NEGATIVO	NEGATIVO
POSITIVO	1/100	NEGATIVO	SOSPECHOSO
POSITIVO	1/200	NEGATIVO	POSITIVO
POSITIVO	1/25 - 1/200	1/25 - 1/200	POSITIVO

La vacunación con *Brucella abortus* cepa 19 previene contra el aborto y también contra la infección, pero esta vacuna protege el 60-80 % de los animales vacunados contra una infección de mediana intensidad. La exposición masiva a la bacteria o a una cepa muy virulenta puede vencer la inmunidad proporcionada por la vacuna. Durante muchos años se pensó que el grado de resistencia adquirida por la vacunación podría medirse estableciendo una correlación con los anticuerpos séricos post-vacunales.

Sin embargo, este concepto fue descartado cuando se observó que no todos los animales con anticuerpos estaban inmunizados y que por el contrario podría existir inmunidad en animales que no tenían anticuerpos en suero.

En Brucelosis, el factor inmunitario celular tiene mucha importancia. Las Brucelas son capaces de sobrevivir durante mucho tiempo dentro de los monocitos y hacen aparecer en el huésped células fagocitarias modificadas. Estas células podrían transmitir la información a su descendencia, perpetuando el estado de resistencia aún cuando hayan desaparecido del suero los anticuerpos evidenciables "in vitro".

La aplicación de la vacuna no implica la erradicación de la enfermedad sino su control, al reemplazar dentro del rodeo animales enfermos o susceptibles por animales resistentes a la infección. Al proteger contra el aborto provoca una disminución del riesgo a la infección.

Es necesario tener en cuenta que con solo vacunar no se sana totalmente un rodeo sino le sumamos a esta práctica el diagnóstico y descarte de los animales positivos ; pero haciendo esto solo, sin vacunar, tampoco se logra.

LEPTOSPIROSIS :

Producida por diferentes serovares de *Leptospira interrogans*, produce abortos en el último tercio de la gestación y provoca también muerte de terneros a término o muerte perinatal. Suele presentarse como tormentas de abortos y en

todos los animales al mismo tiempo, pero no abortan más del 10 % de los vientres, aunque en vaquillonas de primer parto el porcentaje puede ser mayor. La muerte perinatal de los terneros tiene mayor importancia que los abortos. En el tambo hay disminución de la producción láctea y es frecuente una mastitis atípica con ubre flácida, leche amarillenta, viscosa y a veces teñida de sangre. En los casos graves hay ictericia y hemoglobinuria.

Las leptospiras patógenas no se multiplican fuera del organismo animal, por consiguiente para que se constituya un foco de enfermedad es necesario que además de animales portadores existan condiciones ambientales favorables para la supervivencia del agente causal en el medio exterior. La bacteria sobrevive en los charcos, cañadas, arroyos, agua de bebida y los animales silvestres actúan como portadores y diseminadores de la enfermedad. Los mayores reservorios de la infección son los animales que tienen una leptospiuria prolongada y generalmente no sufren la enfermedad. Tal es el caso de las ratas que albergan la serovar icterohaemorrhagiae y rara vez tiene lesiones.

La leptospirosis se caracteriza por tener dos fases diferentes, una inicial de leptospiremia y fiebre que dura aproximadamente 7 días y otra de leptospiuria que puede mantenerse durante 2 o 3 meses. La bacteria suele recuperarse a partir de sangre en la primera etapa y a partir de orina y riñón durante la segunda ya que las leptospiras se establecen en los túbulos renales y se eliminan por orina. El diagnóstico puede realizarse demostrando la presencia de las leptospiras por observación directa en campo oscuro ó por el aislamiento de las bacterias en medios apropiados para su cultivo.

No siempre se tiene éxito al intentar el aislamiento de leptospiras a partir de fetos abortados debido a que el tiempo transcurrido entre el aborto y la llegada del feto al laboratorio juega en contra de la viabilidad de la bacteria ya que las leptospiras se lisan muy fácilmente. Sin embargo es posible detectar la presencia de Leptospiras en improntas de riñón del feto u orina, si se cuenta con anticuerpos marcados por medio de la inmunofluorescencia. La muestra de humor acuoso y orina de la vaca abortada permiten detectar leptospiras cuando se las remite en forma apropiada.

El diagnóstico serológico de aborto por leptospiras debe analizarse cuidadosamente ya que los títulos aglutinantes entre 1/100 y 1/400 pueden persistir durante años después de la infección, pero más del 50 % de las vacas infectadas con algunas serovares presentan títulos menores de 1/100 o resultan negativas. La respuesta inmune de un animal a la infección es una mezcla de Ig A, Ig G e Ig M. La bacteria contra leptospirosis estimula la producción de Ig M que son las que se asocian a la aglutinación. Es la respuesta primaria y persiste poco tiempo 6 - 8 semanas y con niveles de anticuerpos bajos. Como la prueba de Microaglutinación de Martín y Pettit detecta anticuerpos aglutinantes (Ig M) el resultado puede ser negativo a pesar de que los animales están protegidos. La vacunación puede dar títulos altos dentro de las 2 semanas pero declinan a los 8 semanas y a pesar de ello los animales están protegidos, pues con la prueba serológica solo estamos detectando anticuerpos de corta duración, y no precisamente los de protección. Para determinar si la infección por leptospiras es activa es necesario recurrir al muestreo seriado para determinar la seroconversión.

La prevención y control de leptospirosis esta basada en el uso de vacunas que contengan las serovares que actúan en cada región. La aplicación de la vacuna reduce la aparición de abortos y disminuye el nacimiento de terneros débiles o la muerte perinatal. El mejor momento para la aplicación de la vacuna es al tacto ya que de esa forma nos aseguramos la persistencia de la inmunidad hasta el momento del parto.

Lo bovinos se vacunan hasta los 3 años de edad aproximadamente ya que los de mayor edad se consideran inmunizados. Se indica vacunar tanto machos como hembras ya que la infección no hace diferencia de sexo y un animal no inmunizado tiene grandes probabilidades de convertirse en un portador sano que disemina la enfermedad durante toda la vida.

Con la vacunación se pretende proteger a los animales jóvenes que son el grupo más susceptible de contagio por los portadores sanos que eliminan la bacteria por orina, y disminuir la cantidad de animales diseminadores del microorganismo.

ENFERMEDADES VIRALES

VIRUS DE IBR :

Este herpes virus es causa de varias formas clínicas de enfermedad. Hay una forma respiratoria, una forma conjuntival, la forma encefalítica y las formas genital y abortiva que son las que nos interesan ahora. La forma genital, en la hembra, se caracteriza por la aparición de pústulas vulvares a veces muy numerosas y confluentes, lo que da el nombre de vulvovaginitis pustular infecciosa, con secreción vaginal escasa, elevación y movimiento de la cola, polaquuria e hiperemia de la mucosa vulvar. Esta forma puede afectar al útero y predisponer a la infección bacteriana secundaria que da por resultado una metritis y un período de infertilidad transitorio.

En el macho las lesiones son en pene y prepucio (balanopostitis) con producción de úlceras y llagas. Este proceso no afecta la calidad del semen ni la capacidad reproductora del animal pero puede convertirlo en impotente transitorio. Los toros infectados pueden transmitir el virus por lo que constituyen un riesgo tanto en servicio natural como en la inseminación artificial.

El virus también produce aborto. Esta es una de las secuelas mas importantes de esta infección. El feto bovino es muy susceptible a la infección por el virus de IBR en todos los trimestres, pero por lo general los abortos se presentan en el último tercio. También son frecuentes las repeticiones de celo. En los fetos abortados se puede observar autólisis, edema de piel, y necrosis focal de hígado, riñón y bazo. Esto es debido al tiempo transcurrido entre la muerte del feto y el tiempo de expulsión que por lo general es de 8 a 45 días. El virus puede aislarse de la placenta y también de los órganos fetales.

Los trastornos reproductivos entonces pueden ir desde la repetición de celo y muerte embrionaria hasta el aborto.

El virus tiene un mecanismo particular de perpetuarse en el organismo, conocido como estado de latencia. Ante la presencia de factores estresantes tales como destete, traslados, lluvias prolongadas, frío o calor excesivos, escasa disponibilidad de alimento, alta producción láctea, etc. el virus reaparece en la circulación, y alcanza los tejidos susceptibles desencadenando la enfermedad, con liberación del virus al medio ambiente y probabilidad de infectar otros animales. Esta liberación del virus dependerá del estado inmunitario del animal. En animales bien inmunizados la liberación de virus es menor y por corto tiempo. El virus persiste virtualmente en todos los animales infectados, por lo tanto todo animal debe considerarse un portador potencial que con toda seguridad diseminará el virus ante un estado de tensión.

El diagnóstico de IBR se puede realizar por medio del cultivo virológico en monocapas celulares, para tratar de lograr el aislamiento viral. El aislamiento del virus se puede realizar a partir de órganos fetales, siendo el riñón y pulmón las muestras de elección, o también a partir de hisopados vaginales. Otra forma de diagnóstico es la demostración de la presencia del virus en los tejidos infectados como por ejemplo por medio de la inmunofluorescencia o por visualización directa en cortes de tejidos por técnicas de inmunohistoquímica. El estudio serológico implica la demostración de los anticuerpos producidos por el virus en los animales que han tenido contacto con él. Aquí es importante tener en cuenta que el momento óptimo para cada tipo de estudio es diferente, así para el aislamiento del virus, las posibilidades son mayores en los primeros estadios de enfermedad cuando el título del virus es alto y aún no hay invasión bacteriana secundaria. El estudio serológico tiene valor cuando se demuestra la seroconversión en muestras de sangre extraídas con 20-30 días de intervalo.

El virus de IBR ha demostrado tener una gran uniformidad antigénica entre las distintas cepas aisladas de los diferentes

cuadros clínicos. Esto hace que la prevención de esta enfermedad se puede realizar por medio de la vacunación. Las vacunas a virus muerto son muy seguras, se pueden aplicar en vacas preñadas y con el agregado de adyuvante oleoso se puede prolongar su efectividad. Las vacunas a virus vivo y/o virus vivo modificado, no están autorizadas en nuestro país, y si bien tienen la ventaja de ser aplicadas una sola vez en la vida, no pueden utilizarse en vacas preñadas, pueden producir síntomas respiratorios y los animales vacunados pueden eliminar el virus al medio ambiente. Según la manifestación clínica de la enfermedad es el momento apropiado para vacunar. En caso de problemas reproductivos y abortos, lo ideal es vacunar 2 meses antes del servicio con doble dosis, la segunda a los 30 días de la primera y repetir un refuerzo anual.

VIRUS DE BVD :

Es un virus del género Pestivirus reclasificado recientemente dentro de la familia Flaviviridae, relacionado antigénicamente con el Virus de Peste Porcina. Hay 2 biotipos, citopáticos y no citopáticos sobre la base de su desarrollo en cultivos celulares, y 2 genotipos, tipo I y II según su secuencia de ácido nucleico. Lamentablemente el nombre de la enfermedad es desafortunado y lleva a confusión. La enfermedad tiene diversas formas de presentación clínica, incluyendo manifestaciones digestivas, muertes embrionarias, malformaciones fetales, alteraciones del SNC, terneros débiles, etc. y a veces diarrea, pero no es éste el síntoma más frecuente.

La infección con virus de Diarrea Viral Bovina en el momento de servicio produce infertilidad y disminución de la tasa de concepción. Cuando las vacas preñadas se infectan con el virus en el primer tercio de la gestación se puede producir el aborto. Si la hembra se infecta entre el día 1 al 45 hay infertilidad por muerte embrionaria. Si se infecta entre los días 45 a 125 hay muerte fetal, defectos del desarrollo, infección persistente (tolerancia). Si se infecta a los 125 días o más, ya hay competencia inmunológica. No todos los vientres abortan, pero como el virus produce lesión durante la organogénesis del embrión, virus teratogénico, nacen terneros con lesiones del sistema nervioso central, ciegos, atáxicos o con atrofia de los folículos pilosos lo que da lugar a la aparición de terneros pelados. La infección transplacentaria del feto conduce a la muerte y reabsorción fetal, momificación, malformaciones congénitas, muerte perinatal, nacimiento de terneros débiles y de menor tamaño, que muchas veces maman y mueren a las pocas horas o terneros persistentemente infectados.

Los animales persistentemente infectados son inmunotolerantes para esa cepa específica de virus de BVD y eliminan virus al medio ambiente transformándose en los principales diseminadores de la infección. Los terneros persistentemente infectados pueden aparecer normales al nacer pero no desarrollan igual que sus compañeros. A menudo mueren de Enfermedad de las Mucosas u otras causas antes de los 18 -24 meses de edad, pero también pueden sobrevivir hasta la edad reproductiva. Las vacas persistentemente infectadas tienen siempre terneros persistentemente infectados.

Estos animales persistentemente infectados por ser inmunotolerantes no tienen anticuerpos, mantienen el virus de por vida y son eliminadores constantes del mismo. Otro aspecto a tener en cuenta con este virus es su efecto inmunosupresor, lo que conduce a la infección por otros agentes.

En cuanto al diagnóstico de esta enfermedad, al igual que IBR se realiza por aislamiento del virus en cultivos celulares o por estudio serológico. A partir del feto la muestra de elección es el riñón. También puede aislarse de sangre. El cultivo de leucocitos de muestras de sangre con anticoagulante es el método más sensible. Los animales con infección aguda poseen pocos virus en sangre.

Un aspecto importante a considerar con respecto al virus de BVD es su variación antigénica de ahí que se debe tratar de utilizar cepas locales para lograr una efectiva protección por vacunación.

El momento apropiado para la vacunación es uno ó dos meses antes del servicio con doble dosis la primera vez y un refuerzo anual.

CLAMIDIAS :

Son microorganismos intracelulares obligados que se multiplican en el citoplasma de las células infectadas formando inclusiones citoplasmáticas. Producen gran variedad de enfermedades entre ellas aborto y muerte perinatal y nacimiento de terneros débiles.

El diagnóstico microscópico se hace a partir de placenta o tejidos fetales, por medio de la coloración de Giménez, que permite ver los corpúsculos elementales teñidos de rojo. La técnica de anticuerpos fluorescentes permite un diagnóstico más específico. El aislamiento de las clamidias a partir de muestras infectadas en cultivos celulares o inoculación en embrión de pollo es muy difícil sobre todo debido al tiempo transcurrido hasta la llegada de las muestras al laboratorio. La cantidad de aislamientos obtenidos a partir de fetos y placentas infectados es bajo. El método óptimo para detectar la presencia de anticuerpos en los animales infectados es el test de Elisa. Esta enfermedad está asociada a la deficiencia de cobre y también a *Campylobacter*. Son sensibles a los antibióticos tales como cloramfenicol, tetraciclinas, penicilina y cicloserina.

NEOSPORA :

Es un protozoario parásito reconocido recientemente y confundido inicialmente con *Toxoplasma gondii*. Puede causar una encefalomielitis fatal y esta asociado con abortos y mortalidad fetal y neonatal.

En 1989, sobre 240 vacas Holstein de un rodeo lechero de Nueva Mejico, abortaron 29 vacas en el 5º mes de gestación. 7 de los 9 fetos analizados presentaban una encefalitis necrótica multifocal y miocarditis multifocal. En los tejidos de 3 de los fetos se encontraron protozoarios parecidos a Neospora. Mas recientemente se encontró un protozoario que reaccionó positivamente con suero anti Neospora caninum como la causa de aborto mas común en Canadá. Varios de estos abortos eran abortos epizooticos, con abortos múltiples después del 1- 2 meses de gestación.

La infección por Neospora se diagnosticó por la presencia de lesiones histológicas y la coloración positiva a partir de fetos abortados por técnicas de inmunohistoquímica. Los taquizoitos se encontraron en todos los tejidos de los fetos abortados. La mayoría de los fetos eran de 4 - 6 meses de gestación y se presentaban autolíticos. Las lesiones mas comunes son encefalitis multifocal no supurativa, miocarditis, miositis, y hepatitis. En todos los casos los parásitos son muy difíciles de observar. Algunos taquizoitos se pueden encontrar en secciones de cerebro.

Se ha sugerido que los terneros se infectan en el útero semanas o meses antes del nacimiento. A menudo producen abortos entre los 5 - 7 meses de gestación y en los fetos raramente se ven quistes o taquizoitos.

Las variaciones en la patogénesis de la enfermedad pueden estar relacionadas con la edad de la gestación, la dosis infectiva del parásito, la virulencia y la susceptibilidad del huésped.

Se observó en vacas con problemas de fertilidad. Se puede ver en músculo, corazón, cerebro, riñón, con lesiones características. En ganado lechero se ven lesiones focales en el núcleo de las células esqueléticas del corazón. Algunos animales desarrollan una respuesta inmune tal que los protege contra el aborto.

MICOPLASMAS :

Son los microorganismos de vida libre mas pequeños. A diferencia de las bacterias no tienen membrana celular, por eso presentan un marcado pleomorfismo, a veces son cocos y otras filamentosos. No hay tratamiento con antibióticos y puede causar neumonía y lesiones de artritis en terneros, produce poliartritis en animales de feed lot y meningitis en terneros lactantes.

La infección transplacentaria del feto conduce a la muerte y reabsorción fetal, momificación, malformaciones congénitas, muerte perinatal, nacimiento de terneros débiles, y de menor tamaño que lo normal, que muchas veces no maman.

HAEMOPHILUS SOMNUS :

Desde 1956 año en que Haemophilus somnus fue identificado por primera vez, se sabe que gran parte de la población bovina está expuesta a la infección por este agente y se encuentran anticuerpos en el 25 % de los animales analizados. Esta bacteria Gram negativa , pleomórfica es incapaz de sobrevivir muchos tiempo fuera del organismo aunque se mantiene en sangre, moco nasal y/o vaginal. Tanto el macho como la hembra mantienen la bacteria en su aparato reproductivo y urinario, eliminándola al medio ambiente. Históricamente, H.somnus se asocia a enfermedad del sistema nervioso, meningoencefalitis tromboembólica, pero también es causa de bronconeumonía , neumonía, miocarditis, artritis, y enfermedad reproductiva.

Puede aislarse de prepucio y de vagina. El aborto ocurre generalmente en la última mitad de la gestación, y muchas veces el aislamiento de H. somnus está asociado a la presencia de otra enfermedad como BVD.

La utilización de un medio de enriquecimiento previo propuesto por Inta Balcarce, permite el diagnóstico de H. somnus a partir de muestras genitales de vacas vacías.

ABORTO MICÓTICO :

Si bien las causas de aborto mas comunes son de origen bacteriano o vírico, a veces se encuentra la presencia de hongos como responsables del aborto. La placenta se presenta necrosada y en un tercio de los casos aparecen lesiones de piel. Ocasionalmente infecta los pulmones produciendo bronconeumonía. El contenido intestinal de los fetos abortados presenta a la observación previa coloración abundantes hifas de hongos. Los cultivo de material de abomaso y órganos como pulmón permiten el aislamiento del hongo del género Aspergillus. El hongo también puede aislarse del cerebro del feto abortado.

** Texto de la Conferencia dictada durante las Primeras Jornadas de Reproducción Bovina. Villa María , Córdoba , 4-5 de Julio de 1997.*