

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**“ABORTO BOVINO: PRINCIPALES AGENTES INFECCIOSOS Y PARASITARIOS
DIAGNOSTICADOS EN EL URUGUAY”**

“por”

Br. Gabriel Jorge MOSCA DE SARÂK

**TESIS DE GRADO presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de Doctor en
Ciencias Veterinarias. Orientación: Higiene,
Inspección, Ciencia y Tecnología de
los Alimentos de origen Animal**

MODALIDAD: Revisión Monográfica

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2013**

PÁGINA DE APROBACIÓN

TESIS DE GRADO APROBADA POR:

Presidente de mesa
Dr. Danilo Fila Varela

**Segundo miembro
(Tutor)**
Dr. Daniel Elhordoy Rodríguez

Tercer miembro
Dra. Cristina Easton

Fecha de aprobación

Autor
Br. Gabriel Jorge Mosca de Sarâk

AGRADECIMIENTOS

- En primer lugar quiero agradecer a mis padres, Raquel y Jorge, que me han apoyado durante todos estos años de estudio, no sólo de Facultad sino también de Escuela y Liceo. Me dieron lo mejor que se le puede dar a un hijo, algo que no se pierde con los años, algo que prevalece, y es la educación, aparte de una gran cantidad de valores. Gracias a ellos hoy llegué hasta aquí y soy lo que soy.
- A mis amigos, familiares y compañeros de trabajo que siempre estuvieron presentes dandome su apoyo incondicional y su buena onda.
- A mi tutor el Dr Daniel Elhordoy que me apoyó y ayudó con esta tesis y me dió los mejores consejos para hacer el trabajo que hoy les presento.
- A Rosina de biblioteca, por haber tenido una paciencia barbara al corregir la extensa bibliografía y al ayudarme a encontrar libros y apuntes en internet para armar esta obra.
- A mi tío Mario que es como un padre para mí y siempre se interesó y se preocupó por mi carrera, y me apoyo y me dió los mejores consejos como si fuera su propio hijo.
- A todos los docentes de la Facultad de Veterinaria que contribuyeron a que sea lo que hoy soy, ya que gracias a su apoyo incondicional pude llegar hasta este instante.
- Por último quiero agradecer especialmente a mi abuela “Perla”, quién confió en mí siempre desde el día que me preguntaron que queria ser cuando fuera grande, y yo con sólo 3 años dije “Veterinario”. Gracias abuela por no dejar nunca de creer en mí aún cuando yo no lo hacía. Gracias por darme los mejores consejos y los mejores momentos que conservaré en mi memoria.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS.....	7
LISTADO DE TABLAS.....	7
LISTADO DE FIGURAS.....	8
1. RESUMEN.....	11
2. SUMMARY.....	11
3. INTRODUCCIÓN.....	12
4. DATOS EN EL URUGUAY.....	16
5. PATOGENIA DEL ABORTO BOVINO.....	19
6. ENFERMEDADES QUE AFECTAN PRIMORDIALMENTE AL APARATO REPRODUCTOR.....	22
6.1. BRUCELOSIS.....	22
6.1.1. HISTORIA.....	22
6.1.2. DATOS EN EL URUGUAY.....	23
6.1.3. ETIOLOGÍA.....	24
6.1.4. EPIDEMIOLOGÍA.....	26
6.1.5. PATOGENIA.....	27
6.1.6. PATOLOGÍA.....	29
6.1.7. DIAGNÓSTICO.....	31
➤ PRUEBAS PRESUNTIVAS PARA BRUCELOSIS BOVINA.....	32
❖ PRUEBA DE ANILLO EN LECHE.....	32
❖ PRUEBA DE ROSA DE BENGALA.....	33
❖ ENZIMOINMUNOANÁLISIS (ELISA).....	35
➤ PRUEBAS CONFIRMATORIAS PARA BRUCELOSIS BOVINA.....	36
7. ENFERMEDADES DE REPERCUSIÓN SISTÉMICA.....	38
7.1. LEPTOSPIROSIS.....	38
7.1.1. HISTORIA.....	38
7.1.2. DATOS EN EL URUGUAY.....	39
7.1.3. ETIOLOGÍA.....	41
7.1.4. EPIDEMIOLOGÍA.....	42
7.1.5. PATOGENIA.....	46
7.1.6. PATOLOGÍA.....	47
7.1.7. DIAGNÓSTICO.....	49
➤ IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE.....	50
❖ AISLAMIENTO.....	51
❖ TÉCNICAS DE TINCIÓN INMUNOQUÍMICAS.....	51
❖ REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)....	53
❖ OTRAS PRUEBAS.....	54
➤ PRUEBAS SEROLÓGICAS.....	55
❖ PRUEBA DE AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA (MAT).....	55
❖ ENZIMOINMUNOANÁLISIS (ELISA).....	56

7.2. NEOSPOROSIS.....	58
7.2.1. HISTORIA.....	58
7.2.2. DATOS EN EL URUGUAY.....	60
7.2.3. ETIOLOGÍA.....	62
7.2.4. EPIDEMIOLOGÍA.....	64
7.2.5. PATOGENIA.....	65
7.2.6. PATOLOGÍA.....	66
7.2.7. DIAGNÓSTICO.....	68
➤ PRUEBAS INMUNOHISTOQUÍMICAS.....	70
➤ PRUEBAS SEROLÓGICAS.....	70
❖ INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI).....	71
❖ ENZIMOINMUNOANÁLISIS (ELISA).....	71
❖ MICROAGLUTINACIÓN (MA).....	72
7.2.8. SITUACIÓN DE LA NEOSPOROSIS BOVINA EN EL URUGUAY.....	72
7.3. DIARREA VIRAL BOVINA (DVB).....	73
7.3.1. HISTORIA.....	74
7.3.2. DATOS EN EL URUGUAY.....	74
7.3.3. ETIOLOGÍA.....	75
7.3.4. EPIDEMIOLOGÍA.....	77
7.3.5. PATOGENIA.....	81
7.3.6. PATOLOGÍA.....	82
7.3.7. DIAGNÓSTICO.....	86
➤ AISLAMIENTO DEL VIRUS.....	86
➤ PRUEBAS SEROLÓGICAS – ENZIMOINMUNOANÁLISIS (ELISA).....	87
7.4. RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA (IBR).....	88
7.4.1. HISTORIA.....	88
7.4.2. DATOS EN EL URUGUAY.....	89
7.4.3. ETIOLOGÍA.....	89
7.4.4. EPIDEMIOLOGÍA.....	90
7.4.5. PATOGENIA.....	91
7.4.6. PATOLOGÍA.....	92
➤ ENFERMEDAD RESPIRATORIA – ABORTO.....	92
➤ ENFERMEDAD GENITAL.....	93
➤ ENFERMEDAD NERVIOSA.....	93
7.4.7. DIAGNÓSTICO.....	93
➤ AISLAMIENTO DEL VIRUS.....	93
➤ DETECCIÓN DEL ANTÍGENO VIRAL.....	94
➤ DETECCIÓN DEL ÁCIDO NUCLÉICO.....	95
➤ PRUEBAS SEROLÓGICAS.....	96
❖ NEUTRALIZACIÓN DEL VIRUS (NV).....	97
❖ ENZIMOINMUNOANÁLISIS (ELISA).....	97
• ENZIMOINMUNOANÁLISIS INDIRECTO (ELISA INDIRECTO).....	97
• ENZIMOINMUNOANÁLISIS DE BLOQUEO (ELISA DE BLOQUEO).....	97
❖ ESTANDARIZACIÓN DE LAS PRUEBAS	

	SEROLÓGICAS.....	98
8.	ENFERMEDADES VENÉREAS.....	99
	8.1. DATOS EN EL URUGUAY.....	99
	8.2. CAMPYLOBACTERIOSIS.....	103
	8.2.1. HISTORIA EN EL URUGUAY.....	103
	8.2.2. ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA.....	104
	8.2.3. PATOLOGÍA.....	105
	8.3. TRICHOMONIASIS.....	107
	8.3.1. ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA.....	107
	8.3.2. PATOLOGÍA.....	109
	8.4. DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES VENÉREAS.....	110
	8.4.1. TOMA DE MUESTRAS EN EL MACHO.....	111
	8.4.2. TOMA DE MUESTRAS EN LA HEMBRA.....	113
	8.4.3. TOMA DE MUESTRAS EN LA PLACENTA Y FETOS ABORTADOS.....	113
	8.4.4. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA CAMPYLOBACTER FETUS.....	114
	➤ AISLAMIENTO DE CAMPYLOBACTER FETUS.....	114
	8.4.5. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA TRICHOMONAS FOETUS.....	115
	➤ IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE MEDIANTE EXAMEN DIRECTO DEL CULTIVO.....	115
	➤ REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	117
	➤ PRUEBAS INMUNOLÓGICAS.....	118
9.	PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS ENFERMEDADES ABORTIVAS EN EL URUGUAY.....	118
	9.1. BRUCELOSIS.....	118
	9.1.1. LEGISLACIÓN NACIONAL.....	118
	9.1.2. MANEJO DEL RODEO AFECTADO.....	119
	9.1.3. VACUNACIÓN CON CEPA RB51.....	121
	9.1.4. OTRAS VACUNAS.....	123
	9.2. LEPTOSPIROSIS.....	124
	9.3. NEOSPOROSIS.....	126
	➤ CONTROL DE LA POBLACIÓN CANINA.....	126
	➤ ELIMINACIÓN DEL MATERIAL ABORTADO.....	126
	➤ CALOSTRO.....	126
	➤ CONTROL DE ROEDORES.....	126
	9.4. DIARREA VIRAL BOVINA.....	127
	9.5. RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA.....	127
	9.6. ENFERMEDADES VENÉREAS.....	127
	➤ MEDIDAS DE CONTROL Y PREVENCIÓN DE LAS ETS.....	127
	➤ OTRAS MEDIDAS COMPLEMENTARIAS.....	128
10.	OTRAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS CAUSANTES DE ABORTO EN BOVINOS.....	128
11.	CONCLUSIONES.....	129
12.	BIBLIOGRAFÍA.....	136
	ANEXO.....	152

LISTADO DE TABLAS Y FIGURAS

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Cantidad de vacunos en el Uruguay discriminados por categorías.....	12
Tabla 2. Origen y distribución de los abortos.....	14
Tabla 3. Agentes infecciosos implicados en el Aborto bovino.....	16
Tabla 4. Porcentaje de etiologías infecciosas productoras de aborto en el Uruguay. Estudio realizado por la DILAVE entre los años 1996 y 2002.....	17
Tabla 5. Resumen de diagnóstico de casos de abortos bovinos según diferentes autores.....	20
Tabla 6. Clasificación Taxonómica del género Brucella.....	22
Tabla 7. Supervivencia de la Brucella en los distintos ambientes.....	27
Tabla 8. Resumen de las principales pruebas diagnósticas de la Brucelosis bovina.....	31
Tabla 9. Resultados de la prueba de Anillo en leche.....	33
Tabla 10. Expresiones de resultados para la prueba de Rosa de Bengala.....	34
Tabla 11. Clasificación Taxonómica del género Leptospira.....	38
Tabla 12. Nº de animales analizados por establecimiento, mostrando los serovares más prevalentes, con una importante presencia del serovar <i>hardjo</i>	40
Tabla 13. Prevalencia por tamaño del establecimiento y categoría animal.....	41
Tabla 14. Resumen de los serogrupos y serovares más representativos de la especie <i>L. interrogans</i>	42
Tabla 15. Clasificación Taxonómica de <i>Neospora caninum</i>	58
Tabla 16. Aislamientos de <i>Neospora caninum</i> a nivel mundial.....	60
Tabla 17. Prevalencia serológica a <i>Neospora</i> por categoría de animales.....	61
Tabla 18. Distribución de la prevalencia por establecimientos según los departamentos.....	61
Tabla 19. Distribución de la prevalencia a <i>Neospora</i> por establecimientos.....	62
Tabla 20. Resumen de las características morfológicas y biológicas de la familia Sarcocystidae.....	63
Tabla 21. Clasificación Taxonómica del virus de la Diarrea Viral Bovina (DVB).....	73
Tabla 22. Relación entre prevalencia a DVB por categorías, según tamaño del Establecimiento.....	75
Tabla 23. Relación entre vacunación y antecedentes de DVB en los establecimientos (n=229).....	75
Tabla 24. Clasificación Taxonómica del virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR).....	88
Tabla 25. Relación entre prevalencia a IBR por categorías, según tamaño del Establecimiento.....	89
Tabla 26. Relación entre vacunación y antecedentes de IBR en los establecimientos (n=229).....	89
Tabla 27. Prevalencias estimadas para Campylobacteriosis genital bovina por IFD en animales y en establecimientos.....	99
Tabla 28. Resultados de los aislamientos de <i>Campylobacter fetus</i> en los establecimientos positivos por IFD.....	100
Tabla 29. Distribución de las prevalencias a <i>Campylobacter</i> a nivel de los Establecimientos.....	100

Tabla 30. Estimaciones de las prevalencias a nivel individual/animal, según estratos por número de bovinos en el establecimiento.....	100
Tabla 31. Relación entre el número de bovinos en los establecimientos y el porcentaje de establecimientos con presencia de <i>Campylobacter</i>	101
Tabla 32. Distribución del origen de los toros según la categoría de establecimientos frente a <i>Campylobacter</i>	101
Tabla 33. Vacunación contra <i>Campylobacteriosis</i> por establecimiento, según la categoría animal.....	101
Tabla 34. Relación entre la vacunación y los establecimientos con antecedentes de la Enfermedad.....	102
Tabla 35. Clasificación Taxonómica del género <i>Campylobacter</i>	103
Tabla 36. Clasificación Taxonómica de <i>Trichomonas foetus</i>	107
Tabla 37. Identificación bioquímica de la subespecie <i>Campylobacter fetus</i>	115
Tabla 38. Características diferenciales entre las dos cepas bacterianas más comúnmente utilizadas en la vacunación contra la <i>Brucelosis</i> bovina.....	123
Tabla 39. Medidas de Control frente a la <i>Leptospirosis</i> en los bovinos.....	125
Tabla 40. Esquema diferencial de las principales enfermedades abortivas en los bovinos.....	135

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Aborto bovino.....	12
Figura 2. Gráfica de torta mostrando el porcentaje de etiologías productoras de aborto. Estudio realizado por la DILAVE entre los años 1996 y 2002.....	17
Figura 3. Gráfica de torta mostrando el porcentaje de etiologías productoras de aborto. Estudio realizado por la DILAVE entre los años 2002 y 2005.....	18
Figura 4. Clasificación de los abortos según la etiología.....	18
Figura 5. Clasificación de los abortos según la etiología mostrando en forma detallada los agentes patógenos involucrados.....	19
Figura 6. Clasificación de las Enfermedades Reproductivas.....	21
Figura 7. <i>Brucella abortus</i>	22
Figura 8. Estudio realizado sobre un total de 6282 sueros bovinos.....	24
Figura 9. Esquema simplificado de la membrana externa de la pared celular de <i>Brucella</i>	25
Figura 10. Formas de transmisión de la <i>Brucelosis</i> entre los bovinos.....	26
Figura 11. Imagen de la internalización y presencia de <i>B. abortus</i> RB51 en macrófagos J774 por microscopía electrónica.....	28
Figura 12. Patogenia del género <i>Brucella</i> mostrando la colonización de los polimorfonucleares.....	29
Figura 13. Retención de placenta.....	29
Figura 14. Aborto espontáneo por <i>Brucella abortus</i> en el último tercio de la gestación.....	30
Figura 15. Toro con orquitis por <i>Brucella abortus</i> . Vista de lejos.....	30
Figura 16. Toro con orquitis por <i>Brucella abortus</i> . Vista de atrás.....	31
Figura 17. Prueba de Anillo en Leche (PAL) para el diagnóstico presuntivo de <i>Brucelosis</i> bovina.....	32
Figura 18. Extracción de sangre en bovinos para las pruebas serológicas.....	34
Figura 19. Equipo para la prueba de Rosa de Bengala.....	35
Figura 20. Prueba de Rosa de Bengala para el diagnóstico presuntivo de <i>Brucelosis</i> bovina.....	35

Figura 21. Kit para la prueba de ELISA.....	36
Figura 22. Distintas especies de Brucella obtenidas por PCR.....	37
Figura 23. Micrografía de barrido de Leptospira interrogans.....	38
Figura 24. Transmisión Horizontal (vía directa) de la Leptospirosis en los bovinos.....	43
Figura 25. Transmisión Horizontal (vía indirecta) de la Leptospirosis en los bovinos.....	44
Figura 26. Otras vías de transmisión de la Leptospirosis en los bovinos.....	45
Figura 27. Transmisión de la Leptospirosis a los seres humanos.....	46
Figura 28. Aborto por Leptospira.....	48
Figura 29. Feto bovino abortado a los 8 meses de gestación por Leptospirosis.....	49
Figura 30. Feto bovino abortado a los 8 meses de gestación por Leptospirosis.....	49
Figura 31. Observación de Leptospiras en un microscopio de campo oscuro.....	51
Figura 32. Técnica de Inmunofluorescencia Directa (IFD): método diagnóstico para detección de leptospiras en tejidos utilizando un conjugado polivalente.....	52
Figura 33. Leptospira en orina (Tinción de plata).....	52
Figura 34. Prueba de PCR para Leptospirosis.....	54
Figura 35. Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT).....	56
Figura 36. Prueba de ELISA para detección de serovares de Leptospira.....	57
Figura 37. Neospora caninum.....	58
Figura 38. Gráfica mostrando el porcentaje de establecimientos positivos por Departamento.....	61
Figura 39. Taquizoítos y Ooquiste de Neospora caninum.....	62
Figura 40. Quiste y Bradizoíto de Neospora caninum.....	63
Figura 41. Ciclo Biológico de Neospora caninum.....	64
Figura 42. Aborto por Neospora caninum.....	66
Figura 43. Momificación fetal.....	67
Figura 44. Momificación fetal.....	67
Figura 45. Encefalitis multifocal necrotizante no supurativa en el cerebro de un feto abortado de bovino.....	69
Figura 46. Miocarditis no purulenta. Necrosis e infiltrado de células mononucleares en miocardio (H y E, 20x).....	69
Figura 47. Corteza cerebral. Inmunomarcación de Neospora caninum en área de gliosis y en la periferia de un pequeño vaso sanguíneo.....	70
Figura 48. Test de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se observan taquizoítos coloreados con fluoresceína para determinación de anticuerpos en suero.....	71
Figura 49. Imagen ultraestructural (Microscopio Electrónico de Transmisión) de un folículo linfoide en las Placas de Peyer del ileon de animales que sufren una infección experimental aguda con el vDVB.....	73
Figura 50. Representación esquemática del virus de la DVB.....	75
Figura 51. Cepas del virus de la DVB. A la izquierda – cepa no citopática (NCP); a la derecha – cepa citopática (CP).....	77
Figura 52. Transmisión vertical del virus de la DVB.....	78
Figura 53. Transmisión horizontal del virus de la DVB.....	79
Figura 54. Aborto por el virus de la DVB.....	83
Figura 55. Aborto por el virus de la DVB.....	84
Figura 56. Artritis en un ternero como causa de la infección por el vDVB entre los días 125 y 175 de la gestación.....	85
Figura 57. Hipoplasia cerebelar por infección con el vDVB.....	85
Figura 58. Hipoplasia cerebelar por infección con el vDVB.....	86

Figura 59. ELISA de captura de antígeno.....	87
Figura 60. Herpesvirus bovino tipo 1.....	88
Figura 61. Transmisión del virus del IBR en los bovinos.....	90
Figura 62. Aislamiento del HVBo-1 en cultivos de células MDBK.....	94
Figura 63. Prueba de PCR para el HVBo-1.....	95
Figura 64. Aislamientos de Campylobacter en el Uruguay.....	102
Figura 65. Micrografía electrónica de barrido de Campylobacter fetus.....	103
Figura 66. Hígado de feto bovino, en donde se observan grandes focos de necrosis redondeados de distribución multifocal.....	105
Figura 67. Aborto por Campylobacter a los 4 meses de la gestación.....	105
Figura 68. Trichomonas foetus.....	107
Figura 69. Feto momificado por infección con Trichomonas foetus.....	109
Figura 70. Útero de vaca Jersey con piómetra por infección con Trichomonas.....	110
Figura 71. Toma de muestras en el macho con raspador.....	112
Figura 72. Raspadores de plástico.....	112
Figura 73. Muestras del prepucio para diagnóstico de Campylobacter y Trichomonas.....	112
Figura 74. Trichomonas foetus en el Medio de Diamond.....	117

1. RESUMEN

El aborto es la interrupción anticipada de la preñez con la expulsión del feto de tamaño reconocible, antes de que sea viable, período que va desde los 42 hasta los 260 días. Los abortos en bovinos causan las mayores pérdidas económicas no solo en nuestro país sino también a nivel mundial. Son muchas las causas de aborto en el ganado bovino, entre ellas se deben de diferenciar las de tipo infeccioso y no infeccioso. En el aborto de tipo infeccioso la bibliografía presenta diversas causas con diferencias en las distintas regiones del país, las que dependen de una serie de factores como son: clima, tipo de producción, alimentación, sanidad, prácticas de manejo, movimiento de animales y de equipo, poblaciones de animales silvestres, programas de vacunación para las distintas enfermedades, vectores de enfermedades, así como también la correcta toma de las muestras que serán remitidas al laboratorio de análisis ya sea para: histopatología, bacteriología, virología y serología. Las enfermedades abortivas más prevalentes en nuestro país son: Brucelosis, Leptospirosis, Neosporosis, Diarrea Viral Bovina (DVB) y la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (RIB). En cuanto a *Campylobacter* spp. se lo encuentra asociado a muerte embrionaria, repetición de celos e infertilidad. En la actualidad no se tienen registros de presencia de *Trichomonas* en el país. Cabe destacar que algunas de las enfermedades que se mencionan a continuación (Brucelosis y Leptospirosis) son una importante fuente de zoonosis tanto para: trabajadores rurales, trabajadores de mataderos, médicos veterinarios, y para la población en general. La siguiente revisión bibliográfica muestra una actualización de las principales causas de aborto infeccioso bovino presentes en el Uruguay.

2. SUMMARY

The abortion is the premature termination of pregnancy with fetal expulsion with a recognizable size, before it is viable, a period ranging from 42 to 260 days. The abortions in cattle causing the greatest economic losses not only in our country but also globally. There are many causes of abortion in cattle, differentiating the type of infectious and non-infectious. In the infectious type of abortion the literature presents various causes with differences in different regions of the country, depending on a number of factors such as: climate, type of production, food, health, management practices, movement of animals and equipment, wildlife populations, vaccination programs for different diseases, potential disease vectors, and the correct taking of samples to be submitted to the testing laboratory for: histopathology, bacteriology, virology and serology. The most prevalent abortion diseases in our country are: Brucellosis, Leptospirosis, Neosporosis, Bovine Viral Diarrhea (BVD) and Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR). As for *Campylobacter* spp. it is associated with embryonic death, repeat breeding and infertility. No records of the presence of *Trichomonas* in the country today. Note that some of the diseases listed below (Brucellosis and Leptospirosis) are an important source of zoonoses both for: rural workers, abattoir workers, veterinarians, and for the general population. The following literature review shows an update of the main causes of infectious bovine abortion in Uruguay.

3. INTRODUCCIÓN



Figura 1. Aborto bovino
Fuente: <http://www.jairoserrano.com>

Los abortos figuran como causantes de las mayores pérdidas económicas en la industria ganadera, pero el poder identificar la causa del aborto sólo se logra en menos de la mitad de los fetos abortados que son remitidos a los laboratorios de diagnóstico (Williams y col., 2000). El aborto bovino es un factor limitante en el desarrollo ganadero en todos los países del mundo. Los casos esporádicos y los brotes epidémicos de abortos en vacas de leche y carne son un problema de creciente importancia que impacta en forma significativa en la productividad del rodeo al disminuir su viabilidad y desempeño productivo y reproductivo, así como también reducir el número de vaquillonas de reemplazo y la producción de leche y carne, incrementando los costos asociados con la alimentación, tratamientos, inseminación y descarte prematuro de animales (Hovingh, 2002).

En la siguiente tabla se muestran la cantidad de vacunos en los distintos establecimientos a nivel nacional, resaltando la cantidad de vacas de cría entoradas en relación a la cantidad de terneros y terneras que se obtuvieron.

Tabla 1. Cantidad de vacunos en el Uruguay discriminados por categorías

Vacunos en los establecimientos	Totales a nivel nacional
Toros	162.742
Vacas de cría entoradas	4.098.905
Vacas de invernada	371.820
Novillos de más de 3 años	545.692
Novillos de 2 a 3 años	747.484
Novillos de 1 a 2 años	1.135.585
Vaquillonas de 2 años sin entorar	485.782
Vaquillonas de 1 a 2 años	1.174.018
Terneros / Terneras	2.689.079
Total de Vacunos	11.411.107

Fuente: DI.CO.SE. (División Contralor de Semovientes) del M.G.A.P. (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca)

El aborto es definido como la pérdida del producto de la concepción a partir del periodo fetal (aprox. 42 días) hasta antes de los 260 días en caso del bovino. La pérdida antes de los 42 días post concepción es denominado pérdida embrionaria. En general el feto es más resistente a los agentes teratógenos pero, es también susceptible a los agentes infecciosos sobre todo en el primer y segundo tercio de su desarrollo (Rivera, 2001). Las pérdidas que ocurren entre el día 260 hasta el término de la gestación se consideran partos prematuros, ya que el ternero estaría en condiciones de sobrevivir fuera del útero (Miller, 1986; Dubovi, 1994)

Generalmente se dividen a las pérdidas gestacionales en una serie de etapas: etapa de huevo (desde la concepción hasta el reconocimiento materno), etapa de embrión (desde el reconocimiento materno hasta el final del período de diferenciación, alrededor del día 42) y etapa de feto (desde el día 42 al 260) (Fetrow y col 1990).

Se trata entonces al aborto bovino como un síndrome, como un conjunto de signos y de síntomas, ya que existen una gran cantidad de factores que pueden llevar al aborto en el bovino y que pueden actuar en forma individual o conjunta, pudiendo pasar un intervalo de tiempo largo entre la exposición al agente abortígeno y la observación del aborto en la vaca (Miller, 1986); no existiendo suficiente información que trate el Síndrome del Aborto Bovino (SAB) de manera integral, a pesar de que existen numerosos estudios que demuestran que el aborto presenta una etiología multifactorial (Kirkbridge, 1990).

Las pérdidas sobre la producción que produce el SAB deben de identificarse en forma integral, ya que no se trata sólo de la pérdida del ternero, sino también al conjunto de acciones que se debieron de implementar para poder lograr una gestación viable en la vaca, como son los gastos en semen o en monta natural, en personal contratado, en la alimentación de los animales, en infraestructuras y en espacio ocupado por la misma, etc. La identificación de la etiología del aborto en los animales es a menudo muy difícil de determinar ya que se tienen que tener en cuenta una serie de factores que estarían interactuando y que resultan en un verdadero desafío no sólo para el veterinario actuante sino también para los laboratoristas en los centros de diagnóstico (Thrusfield, 1995), ya que el aborto es el resultado de un proceso infeccioso o no infeccioso que ocurrió semanas o meses antes de que el aborto se diagnostique o que se observe (Forar y col., 1996).

En la siguiente tabla se muestran los porcentajes de abortos por causas determinadas y no determinadas en las diferentes razas de leche, de carne y de las que se desconoce su origen, con la cantidad de abortos presentes en los diferentes trimestres de la gestación.

Tabla 2. Origen y distribución de los abortos (^a Porcentaje de especímenes del mismo origen)

Origen	Trimestre del aborto	Causa determinada n°(%) ^a	Causa no determinada n°(%)	total
Carne (n: 226)	1º	0 (0)	1 (0,4)	1
	2º	29 (12,8)	16 (7,0)	45
	3º	75 (33,2)	105 (46,4)	180
Leche (n: 115)	1º	2 (1,7)	4 (3,5)	6
	2º	31 (26,9)	30 (26,0)	61
	3º	19 (16,5)	29 (25,2)	48
Desconocida (n: 13)	1º	0 (0)	2 (15,4)	2
	2º	1 (7,7)	3 (23,1)	4
	3º	4 (30,7)	3 (23,1)	7
Total		161	193	354

Fuente: Campero y col., 2003

Asociados a la presentación del SAB existen una serie de factores que se pueden atribuir al animal, al ambiente y/o al agente(s) parasitario(s) o infeccioso(s) presentes en el medio. Algunos estudios al analizar la etiología de las pérdidas fetales las centran sólo en los agentes parasitarios e infecciosos (Alves y col., 1996), mientras que otros autores asocian a estos patógenos con otros componentes de la tríada epidemiológica causante de los abortos, como son: las características de la vaca, los antecedentes de las gestaciones anteriores, la estación del año, etc; lo que lleva a una visión más amplia de los factores de riesgo que pueden estar involucrados en la ocurrencia de los abortos (Hovingh, 2002).

➤ A continuación se pasan a enumerar los factores no infecciosos que pueden estar implicados como causales de aborto en los bovinos:

- 1. Factores intrínsecos de la vaca** – en el período embrionario es cuando se produce el reconocimiento materno/fetal y el embrión produce una serie de señales que previenen la regresión del cuerpo lúteo (luteólisis), siendo el cuerpo lúteo necesario para el mantenimiento de la gestación hasta alrededor del día 200. En los últimos 2 meses la placenta debe ser capaz de mantener la gestación por sí sola a través de la síntesis propia de progesterona y estrógenos (Stevenson, 1997). Si por alguna razón la vaca recibiera una dosis adecuada de prostaglandina (PGF₂), tanto endógena como exógena, se podría producir la pérdida de la gestación por luteólisis y contracción del miometrio. La gestación con dos fetos también puede aumentar el riesgo de aborto en la vaca. (Moore y col., 2005).
- 2. Factores genéticos** – existen escasos estudios que demuestran un aumento en la incidencia de los abortos en vacas que fueron inseminadas con semen de un toro en particular, aunque no se hace mención de que dichos animales pertenezcan a una línea genética o familia en particular (López-Gatius y col., 2002). Otras pérdidas gestacionales estarían asociadas a defectos genéticos

propios del embrión, como la deficiencia de la enzima uridina monofosfato sintetasa (Moore y col., 2005).

3. **Edad de la vaca** – hay reportes que dicen que el riesgo de aborto es mayor en vacas con más de 2 gestaciones que en vaquillonas de primera gestación y que el riesgo de aborto en las vacas parece ser mayor en los animales de más de 5 años (Thurmond y col 1990). Otros autores han reportado que las vacas de menos partos necesitan un período de descanso más largo para recuperarse del stress postparto y poder cubrir el incremento en la demanda nutricional de crecimiento y producción de leche durante los primeros años (Sanz y col., 2004).
 4. **Producción de leche** – en cuanto a esto hay resultados contradictorios. Algunos autores reportan que la producción de leche tiene poco efecto en los problemas reproductivos, mientras que otros autores encontraron una asociación entre las vacas de alta producción de leche y la presentación de ovarios quísticos, pero no hacen mención a la presentación de abortos y la producción láctea (Sanz y col., 2004). Gröhn y col., 1990, tomaron en cuenta la presentación de abortos en las vacas y el nivel de producción de las mismas y concluyeron que el incremento en la producción individual respecto a la lactancia anterior aumenta el riesgo de aborto, retención de placenta, metritis y celos silentes.
 5. **Factores relacionados con la alimentación y el ambiente** – el efecto de las plantas tóxicas se podría presentar en aquellos sistemas de alimentación en donde los animales no pudieran discriminar o seleccionar los alimentos, en cambio, en condiciones en donde los animales puedan seleccionar los alimentos podrían evitar el consumo de plantas de sabor desagradable (poca palatabilidad) o alimentos muy groseros (Miller, 1986).
 6. **Factores relacionados con el manejo** – se ha reportado como una práctica negativa el inseminar a las vacas cuando ya se encuentran gestantes. También se han citado como causales de abortos tardíos en las vacas los manejos poco cuidadosos y bruscos en las gestaciones avanzadas los que pueden ser favorecidos por una alta dotación de animales en un determinado potrero, caídas por superficies muy lisas o procedimientos inadecuados en las mangas a vacas con más de 7 meses de gestación que pueden producir caídas o compresiones fuertes del útero (Miller, 1986).
- En cuanto a los factores infecciosos existen un sin número de agentes patógenos que pueden contribuir en el desarrollo del aborto en los bovinos. En la siguiente tabla se muestran algunos ejemplos.

Tabla 3. Agentes infecciosos implicados en el Aborto bovino

VIRUS	BACTERIAS	PARÁSITOS	HONGOS
<ul style="list-style-type: none"> • DVB • IBR • Fiebre aftosa • PI3 	<ul style="list-style-type: none"> • Leptospira interrogans • Brucella abortus • Campylobacter fetus subsp. fetus y venerealis • Listeria • Bacillus lichiniformis • Corynebacterium • Haemophilus somnus • Salmonella dublin • Mycoplasma • Clamidia • Estreptococo beta hemolítico 	<ul style="list-style-type: none"> • Neospora caninum • Trichomonas foetus • Anaplasma 	<ul style="list-style-type: none"> • Aspergillus • Mucor • Rhizopus

Fuente: Br. Gabriel Mosca

Los agentes infecciosos pueden afectar al embrión o feto en cualquier etapa de su desarrollo ocasionando la muerte (con o sin expulsión), malformaciones congénitas, nacidos muertos, nacimiento de crías débiles o nacimiento de crías persistentemente infectadas. A medida que se desarrolla el sistema inmune (>120-125 días en bovinos) el feto es capaz de responder a la infección mediante procesos inflamatorios y activando el sistema inmune humoral y celular (McGowan y col., 2003).

4. DATOS EN EL URUGUAY

A continuación se pasarán a detallar una serie de datos de trabajos realizados por la Dra. Cristina Easton y col. en la DILAVE ("División de Laboratorios Veterinarios Miguel C. Rubino) entre los años 1996-2002 y 2002-2005.

- ❖ Entre los años 1996-2002 se evaluaron en la DILAVE unos 246 fetos bovinos de los cuales se pudo establecer la causa del aborto en el 58%, atribuyéndose de ese porcentaje a un 56% de etiología infecciosa y un 2% debido a distocia.

Tabla 4. Porcentaje de etiologías infecciosas productoras de aborto en el Uruguay. Estudio realizado por la DILAVE entre los años 1996 y 2002.

ETIOLOGÍAS	PORCENTAJE
Sin diagnóstico	42
Distocia	2
Bacteriana	37
Parasitaria	16
Viral	2
micótica	1

Fuente: Datos obtenidos de la Tesis de Posgrado de la Dra. Cristina Easton.

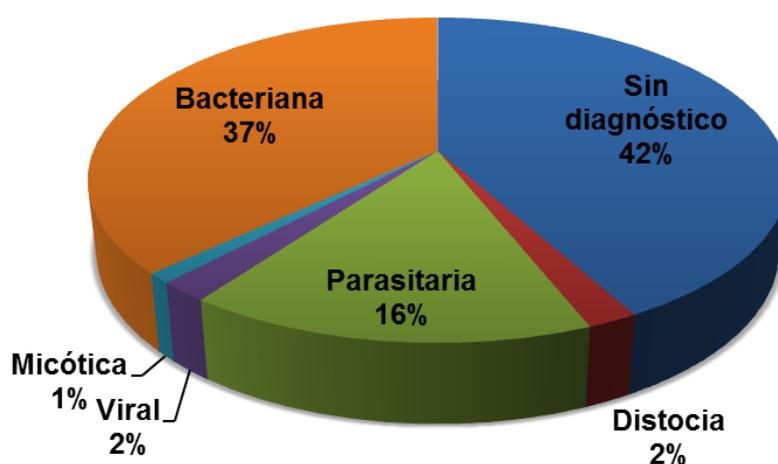


Figura 2. Gráfica de torta mostrando el porcentaje de etiologías productoras de aborto. Estudio realizado por la DILAVE entre los años 1996 y 2002. Fuente: Datos obtenidos de la Tesis de Posgrado de la Dra. Cristina Easton.

- ❖ En los años 2002-2005 se evaluaron un total de 431 fetos bovinos:
 - En 2002 se evaluaron 94 fetos.
 - En 2003 se evaluaron 95 fetos.
 - En 2004 se evaluaron 117 fetos.
 - En 2005 se evaluaron 125 fetos.

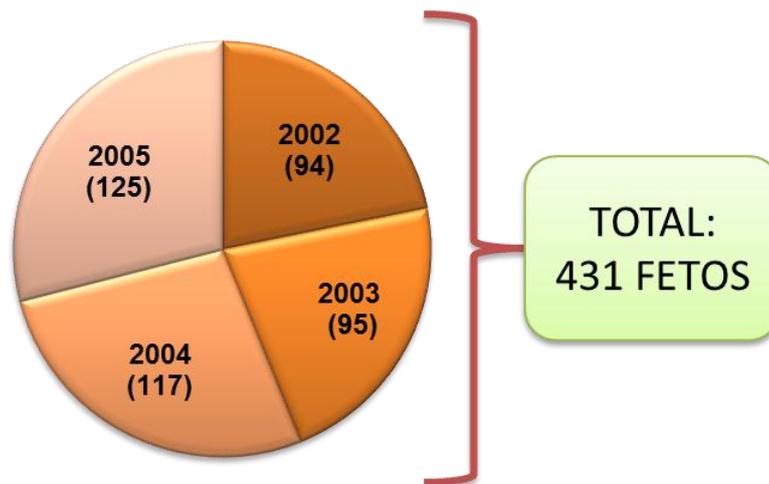


Figura 3. Gráfica de torta mostrando el porcentaje de etiologías productoras de aborto. Estudio realizado por la DILAVE entre los años 2002 y 2005. Fuente: Datos obtenidos de la Tesis de Posgrado de la Dra. Cristina Easton.

De la totalidad de los fetos evaluados se destaca que el 54% (233 fetos) correspondían a rodeos de leche, en tanto el 46% (198 fetos) correspondían a rodeos de carne; resultando la distribución de los abortos más homogénea (en igualdad en los tres tercios de la gestación) en los rodeos de leche, en tanto en los rodeos de carne el aborto se presentaba mayoritariamente en el último tercio de la gestación. Se habría asociado al aborto con la mayor permanencia de los animales en el tambo (2-3 meses antes de la parición) y con la mayor vigilancia al aproximarse al parto en los rodeos de carne, lo que estaría demostrando que el factor stress juega un papel muy importante en el desencadenamiento del aborto, ya que contribuiría a bajar las defensas del animal con lo cual se vería más vulnerable a los agentes patógenos (Easton, 2006).

La distribución de los abortos (leche y carne) según el tercio de la gestación en que se presentaron fue la siguiente:

- Primer tercio de la gestación – 22 fetos (5%).
- Segundo tercio de la gestación – 183 fetos (42%).
- Tercer tercio de la gestación – 226 fetos (53%).

En cuanto a la clasificación de los abortos según la etiología tenemos:

CLASIFICACIÓN	PORCENTAJE	ETIOLOGÍA	Nº DE CASOS
BACTERIANO	34%	ABORTOS BACTERIANOS	146 (33,8%)
VIRAL	2%	ABORTOS VIRALES	8 (3%)
PARASITARIO	20%	ABORTOS PARASITARIOS	87 (36%)
SIN AGENTE	44%		

Figura 4. Clasificación de los abortos según la etiología. Fuente: Datos obtenidos de la Tesis de Posgrado de la Dra. Cristina Easton.

De los cuáles en 241 fetos se detectó por lo menos la presencia de un agente infeccioso, y 34 fetos presentaron más de un agente infeccioso (7,8% del total). La distribución de los agentes patógenos fue la siguiente:

Bacterias	Nº casos	Virus	Nº casos
Leptospira sp.	99 (41%)	Diarrea viral bovina	5 (2%)
Campylobacter fetus	31 (13%)	Herpes virus bovino 1	3 (1%)
Brucella abortus	8 (3%)		
Streptococo beta hemolítico	4 (1,6%)		
Salmonella sp.	2 (0,8%)		
Bacillus lichiniformis	2 (0,8%)		

Parásitos	Nº casos
Neospora caninum	87 (36%)
Tritrichomona foetus	1 (asociado con Campylo)

Figura 5. Clasificación de los abortos según la etiología mostrando en forma detallada los agentes patógenos involucrados. Fuente: Datos obtenidos de la Tesis de Posgrado de la Dra. Cristina Easton.

5. PATOGENIA DEL ABORTO BOVINO

La respuesta inmune del nuevo ser va a estar condicionada con la edad de la gestación en el momento que se presenta la infección, siendo altamente susceptible a los agentes infecciosos por las siguientes características:

- a. Característica de la placenta bovina (Epiteliocorial) que no permite el pasaje de anticuerpos en el útero.
- b. Inmunotolerancia materna y fetal para consolidar la preñez y evitar el rechazo inmunológico.
- c. Inmadurez del sistema inmune fetal en los primeros 120 días de la gestación.
- d. Mayor susceptibilidad a ciertos agentes infecciosos por la gran multiplicación celular del feto (Brucella abortus, virus de la DVB).
- e. Menor respuesta inmune materna por acción de la gestación avanzada (acción progesterónica inmunodepresiva).
(Campero y col., 1996)

La patogenia del aborto bovino presenta variaciones dependiendo del agente infeccioso involucrado. Los microorganismos pueden invadir directamente la unidad fetoplacentaria o afectar indirectamente la preñez y provocar el aborto. Cualquier causa que produzca fiebre en la madre como mastitis, neumonías o las endotoxemias son capaces de producir aborto (Miller, 1986).

Algunos ejemplos de vías de entrada de los agentes más frecuentes son:

- 1) Conjuntiva o mucosa nasal: Herpesvirus Bovino.
- 2) Cavidad oral, conjuntiva y piel: Leptospira spp. y Brucella abortus
- 3) Vagina y cuello del útero: Campylobacter fetus, Tritrichomonas foetus y Arcanobacterium pyogenes.

- 4) Vía sistémica: si bien *Campylobacter fetus* sub. *fetus* es un habitante del tracto intestinal del bovino, en condiciones determinadas de la gestación ya sea por inmunosupresión materna o exacerbación de la patogenicidad, puede ser captado por la células "M" de las placas de Peyer en el intestino delgado, provocar septicemia y cruzar la barrera placentaria para invadir al feto y producir el aborto, usualmente al 5º o 6º mes de gestación. (Campero, 2000).

Una vez que los microorganismos llegan a la placenta, hay factores propios del tejido (menor tensión de oxígeno y nutrientes) y del feto (escasa inmunidad humoral y celular) que pueden contribuir a su crecimiento y sobrevivencia. Luego del desarrollo de la placentitis, los agentes infecciosos invaden el feto a través del fluido amniótico o por la vía circulatoria (cordón umbilical) (McGowan y col., 2003).

En la siguiente tabla se detallan las causas de aborto más importantes según las distintas regiones. Como se puede observar en el Uruguay de 255 casos que fueron revisados por la D.L.A.V.E (División de Laboratorios Veterinarios "Miguel C. Rubino) en ganadería de producción mixta entre los años 1995 a 2002, se realizó casi un 60% de diagnóstico etiológico con *Leptospira* como la principal causa de aborto.

Tabla 5. Resumen de diagnóstico de casos de abortos bovinos según diferentes autores.

Autor/lugar	Anderson, USA	Dilave, Uruguay	Cedive, Chascomús	Lab. Azul	Campero 2003	Campero 2004
Producción	Mixta	Mixta	Mixta	Mixta	Mixta	Mixta
Total Casos	2296	255	273	406	354	219
Año	1998 a 2003	1995 a 2002	1986 a 2000	2000 a 2003	1994 a 2000	2001 a 2003
% Diag. Etiológico	44,4%	59,6%	35,5%	22,2%	45,5%	30,1%
Ranking						
1	Neospora	Leptos	Brucella	Brucella	Brucella	Lepto
2	EBA	Neospora	Campylo	Campylo	campylo	Brucella
3	Leptos	Campylo	DVB	DVB	Neospora	Neospora
4	Arcanob.	Sin ident.	Trico	Chlamyd	IBR/DVB	Campylo
5	DVB	IBR/DVB	Leptos	Trico	E. coli	Aerom.
6	Campylo	Brucella	IBR	Infec.mix.	Estafilo	E. coli

Fuente: Campero y col., 2003

A continuación se pasarán a detallar las principales enfermedades infecciosas que causan aborto en el Uruguay dividiéndolas en las siguientes categorías:

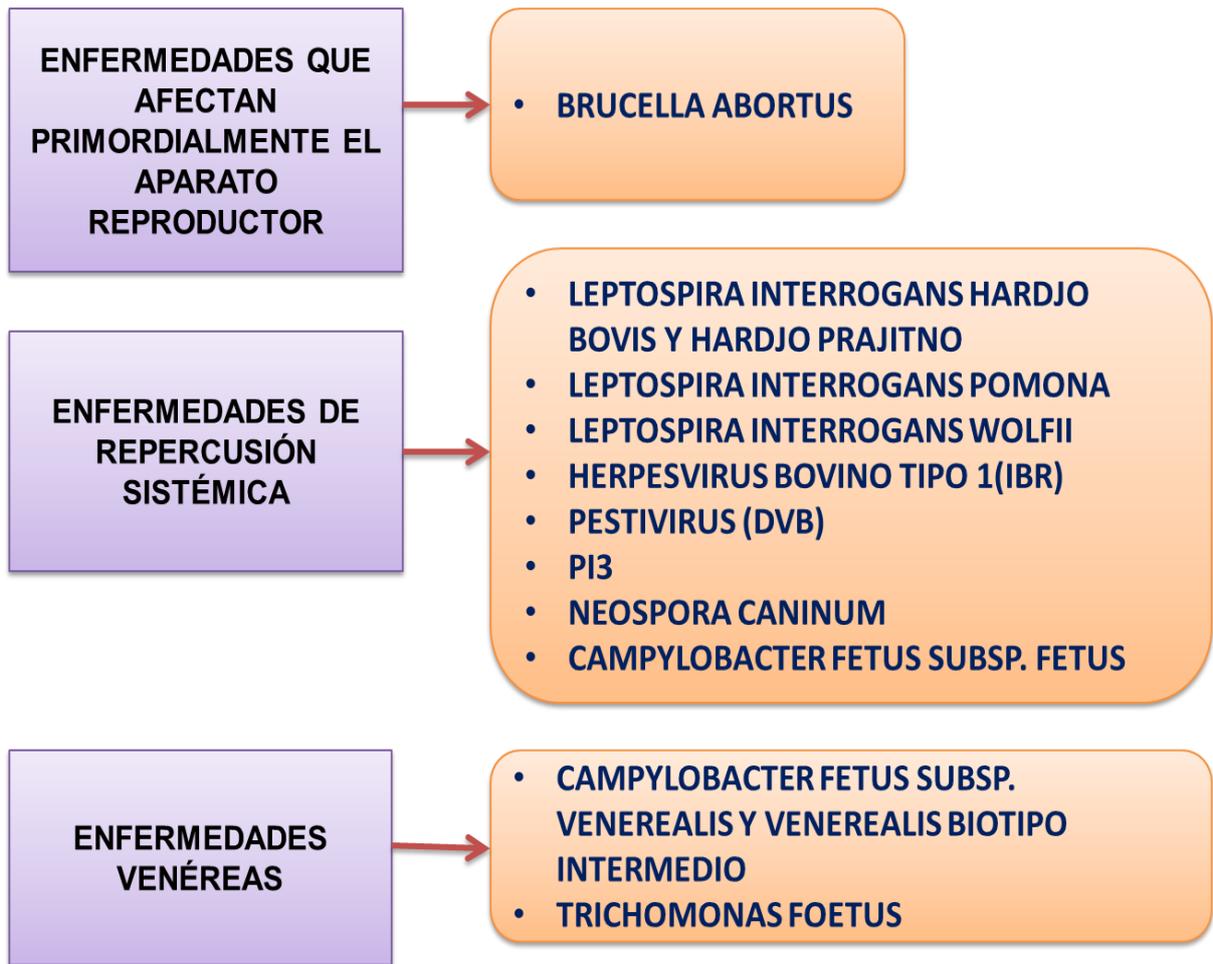


Figura 6. Clasificación de las Enfermedades Reproductivas.
Fuente: Br. Gabriel Mosca.

6. ENFERMEDADES QUE AFECTAN PRIMORDIALMENTE AL APARATO REPRODUCTOR

6.1. BRUCELOSIS

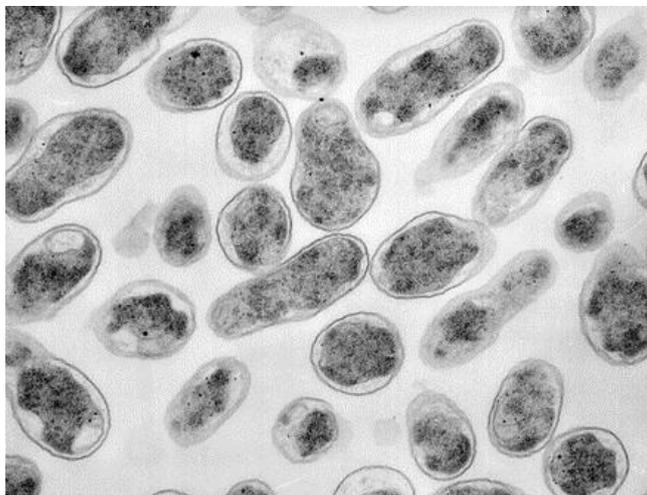


Figura 7. *Brucella abortus*

Fuente: <http://www.gefor.4t.com> (GEFOR-galería de imágenes)

Tabla 6. Clasificación Taxonómica del género *Brucella*

Clasificación Taxonómica	
Dominio	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Proteobacteria alfa
Orden	Rhizobiales
Familia	Brucellaceae
Género	<i>Brucella</i>
Especies	<i>B. abortus</i> , <i>B. canis</i> , <i>B. melitensis</i> , <i>B. neotomae</i> , <i>B. ovis</i> , <i>B. suis</i> , <i>B. pinnipediae</i> , <i>B. cetaceae</i> , <i>B. microti</i> , <i>B. inopinata</i>

Fuente: Brock-Biología de los Microorganismos (10^o edición)

6.1.1. HISTORIA

El curso de la Brucelosis en la historia de la humanidad ha sido tratado por varios autores, quedando muy bien definido. Entre los años 1878 a 1880 se determinó el carácter infeccioso de los abortos en bovinos y Bruce en 1887 señaló que la Fiebre de Malta del hombre la producía una pequeña bacteria, cuando logra aislar por primera vez al agente etiológico al cual llamó *Micrococcus melitensis* (Bofill y col., 1996).

Otros autores lograron comprobar que el aborto infeccioso en las vacas, lo causaba una bacteria que denominaron "*Bacillus infectiosi*". En 1897 se produce un

importantísimo avance en el diagnóstico serológico de la enfermedad una vez que Wright y Smith refieren las aglutinaciones específicas en sueros sanguíneos de los enfermos. En 1905 se informa que las cabras transmiten la enfermedad al hombre, surgiendo entonces el concepto de zoonosis, a partir del consumo de la leche infectada. Unos años después se comprueba el íntimo parentesco entre el *Micrococcus melitensis* y el *Bacillus abortus*, estos resultados junto con los de Meyer y Shaw en 1920 permitió agrupar a estos microorganismos en un solo género bacteriano denominado “*Brucella*”, quedando así denominados como *Brucella melitensis* y *Brucella abortus* (Corbel y col., 1983).

Recientemente se han identificado infecciones por *Brucella* en focas, leones marinos, morsas, delfines, marsopas, ballenas y en una nutria. Este microorganismo parece tener una amplia distribución entre los mamíferos marinos, y posiblemente haya sido endémico en estas poblaciones durante mucho tiempo (Iowa State University, 2009).

Las cepas de *Brucella* de los mamíferos marinos pueden infectar a los mamíferos terrestres pero se desconoce la frecuencia de estos casos. Algunos osos polares, los cuales se alimentan de mamíferos marinos, resultan seropositivos a *Brucella*, y se teme el potencial impacto en esta especie. Se han descrito infecciones experimentales en ganado bovino y ovino. También se han documentado infecciones humanas poco comunes. La cepa de un mamífero marino causó brucelosis aguda en un investigador. Otras tres personas infectadas no tuvieron exposición ocupacional a mamíferos marinos; dos de ellas presentaron signos neurológicos y la tercera desarrolló osteomielitis espinal (Iowa State University, 2009).

6.1.2. DATOS EN EL URUGUAY

En el Uruguay el primer aislamiento de *Brucella abortus* se realizó en el año 1926 por parte del Dr. A. Cassamagnaghi a partir de sangre bovina. En 1931 Nin y Silva, Murguía y Murguía comprobaron el primer caso humano en personal de frigorífico. El Uruguay tiene una larga historia en el control de la Brucelosis bovina, la cual se divide en una serie de etapas. La primera etapa incluye el periodo entre los años 1926 a 1961 considerada de profilaxis libre, la segunda etapa de lucha obligatoria a partir de 1961 (ley 12.937) y en el año 1964 se incluye la vacunación obligatoria de las terneras con la vacuna Cepa 19. Se aplica durante la misma el esquema de serología-sacrificio, el cese de la vacunación se decreta en el año 1996. La tercera etapa se inicia en el año 1998 donde se aplican medidas para erradicar la enfermedad mediante un programa de predios libres según lo establece la Organización Mundial de Salud Animal (OIE), (Repiso y col., 2004).

El último plan aprobado (MGAP, 1998) es de carácter obligatorio para todos los rodeos lecheros y aquellos rodeos de carne con serología positiva. Los requisitos sanitarios para animales de carne son: el diagnóstico serológico mediante Rosa de bengala, en los animales mayores de 12 meses, con un intervalo entre las pruebas de 6 a 12 meses. Las pruebas presuntivas pueden ser realizadas por laboratorios veterinarios acreditados, en tanto las pruebas confirmatorias (Rivanol, 2 Mercaptoetanol, FC) se realizan únicamente por el DI.LA.VE. (División de Laboratorios Veterinarios “M.C. Rubino”), el cual además produce y controla los

antígenos (según protocolo estandarizado) a ser utilizados en las diferentes pruebas diagnósticas (Silva Paravis y Repiso, 1999).

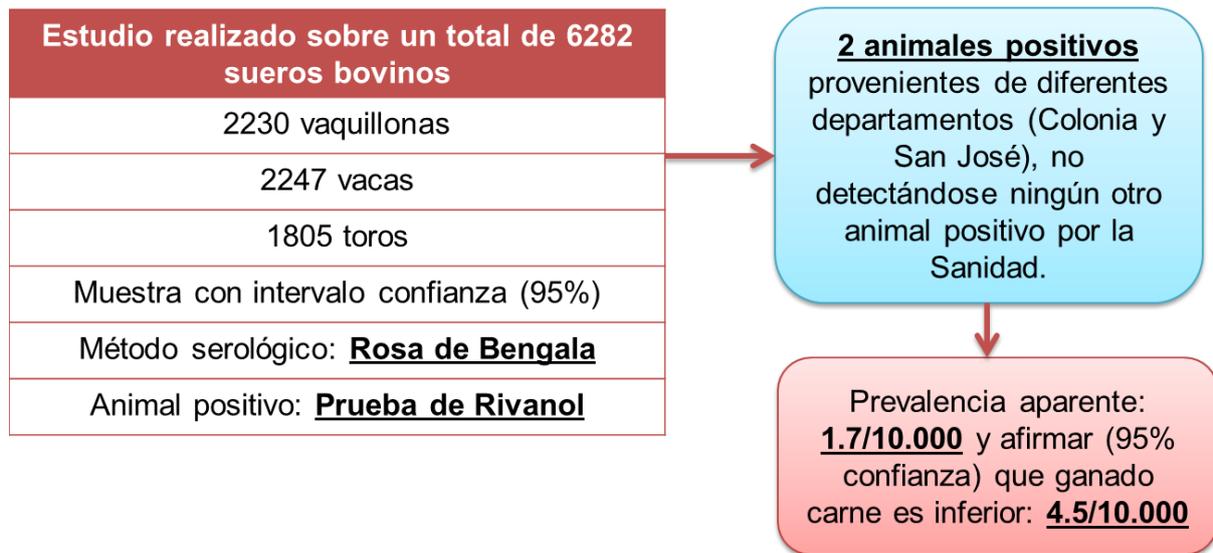


Figura 8. Estudio realizado sobre un total de 6282 sueros bovinos.
Fuente: Repiso y col., 2005.

6.1.3. ETIOLOGÍA

El género *Brucella* se encuentra constituido por bacilos gram negativos pequeños, inmóviles y aerobios estrictos, de crecimiento lento que no poseen cápsulas ni forman esporas. A diferencia de muchas otras bacterias, su genoma está constituido por dos cromosomas circulares y carece de plásmidos. Tienen un metabolismo oxidativo, basado en la utilización de nitratos como aceptores de electrones, son catalasa y oxidasa positivos, no atacan la gelatina ni modifican la leche y en general no fermentan los azúcares (Wilfert, 1986).

El género *Brucella* incluye seis especies diferentes: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis* y *B. neotomae*, las 4 primeras pueden infectar al hombre constituyendo una importante zoonosis en nuestro país. También tenemos a las *Brucellas* recientemente aisladas de mamíferos marinos (*B. maris*) (Cloeckaert y col., 2001).

En cuanto a la brucelosis bovina es una enfermedad infecciosa específica causada por ***Brucella abortus*** que afecta principalmente a los bovinos y secundariamente a otras especies animales (en orden decreciente de susceptibilidad puede extenderse a: ovinos, caprinos, equinos, porcinos y caninos) y a los humanos, constituyendo una de las principales **zoonosis** en nuestro país. *Brucella abortus* es una bacteria gramnegativa, parásito intracelular con predilección por el sistema retículo-endotelial y los órganos de la reproducción. Posee 8 Biotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 9; los cuales difieren entre sí solamente en sus caracteres bioquímicos o serológicos o en ambos pero causan una enfermedad similar (Casas Olascoaga, 2008).

En base al aspecto de las colonias obtenidas en los medios sólidos de cultivo, las diferentes especies de *Brucella* se clasifican habitualmente como lisas (S) o rugosas

(R). Dentro de las primeras se encuentran: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. neotomae* y dentro de las segundas tenemos: *B. ovis* y *B. canis*. El aspecto que adquieren las colonias se debe a la expresión del lipopolisacárido LPS en la superficie bacteriana (LPS-S en las lisas y LPS-R en las rugosas), aunque durante su crecimiento en los medios de cultivo pueden experimentar mutaciones que afectan la expresión del LPS (Ariza Cardenal, 1995).

Las cepas de *Brucella* en fase lisa son las más virulentas y su ultraestructura es semejante a la de algunas enterobacterias (*Yersinia enterocolitica*, *Salmonella landau*, *Pseudomonas maltophilia*, *Escherichia coli*), aunque presenta ciertas diferencias en las características de su membrana externa (ME) (Corbel y col., 1983).

En su estructura externa la membrana externa de *Brucella* es rica en fosfatidilcolina a diferencia de la perteneciente a las enterobacterias relacionadas con ella, que es rica en fosfatidiletanolamina. Su componente más abundante y mejor estudiado es el LPS, que se conoce también con el nombre de endotoxina. En él se distinguen tres regiones: 1) el lípido A, inserto en la hoja externa de la membrana; 2) un oligosacárido intermedio, llamado núcleo, 3) el polisacárido O (PSO), también conocido como cadena O, ausente o presente con pocos residuos en el LPS-R (Moreno y col., 1981).

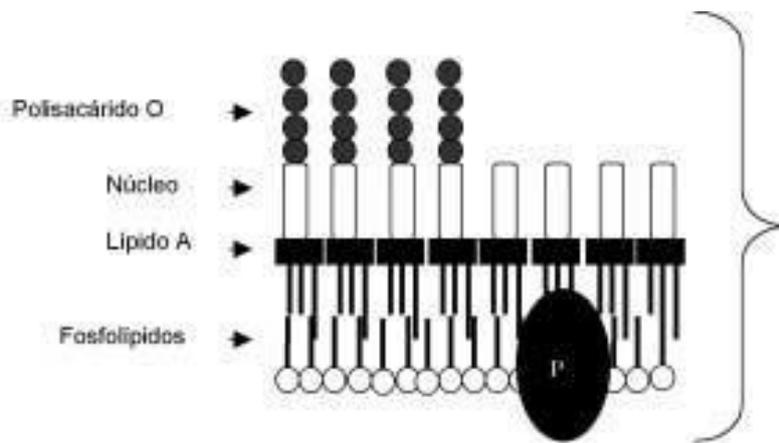


Figura 9. Esquema simplificado de la membrana externa de la pared celular de *Brucella*. El LPS-S de las formas lisas está constituido por el lípido A, el núcleo y el polisacárido O (PSO). El LPS-R de las formas rugosas carece de cadena O o está reducida a muy pocos residuos. P: proteína. Fuente: Castro, González y Prat.

En cuanto a su estructura interna las proteínas citoplasmáticas de las bacterias del género *Brucella* son específicas de ese género y la mayoría son compartidas por todas las especies. Algunas de estas proteínas son de interés diagnóstico, como por ejemplo la glicoproteína A2 termorresistente, una proteína de 17 kDa, involucrada en la síntesis de riboflavina, que aparece en la fase activa de la infección y la proteína periplásmica BP26. Todas estas proteínas forman parte de un antígeno denominado CP, empleado en pruebas de ELISA (Goldbaum y col., 1999).

6.1.4. EPIDEMIOLOGÍA

La transmisión principal y más frecuente de la infección en los bovinos es por vía oral: por el hábito del vacuno, tanto la hembra como el macho, de lamer sobre fetos, terneros recién nacidos, placenta y cotiledones, excreciones uterinas y vulvares; ingestión de forrajes, calostro, leche y agua contaminados con brucelas. Las hembras son más infecciosas y liberan enormes concentraciones de brucelas en la parición, aborto y parto prematuro y por vía mamaria. Ocasionalmente, puede ocurrir infección por las vías conjuntival, cutánea y a través de los pezones mamarios. La transmisión por inhalación aerógena es posible cuando en establos, galpones y espacios cerrados, cohabitan animales susceptibles con animales infectados que pueden liberar aerosoles con altas concentraciones de la bacteria. En la monta natural, la transmisión por la vía vaginal requiere una alta dosis de brucelas para infectar una hembra y no es frecuente; mientras que por inseminación artificial intrauterina con semen contaminado con brucelas la infección se transmite con mucha mayor facilidad (Casas Olascoaga, 2008).

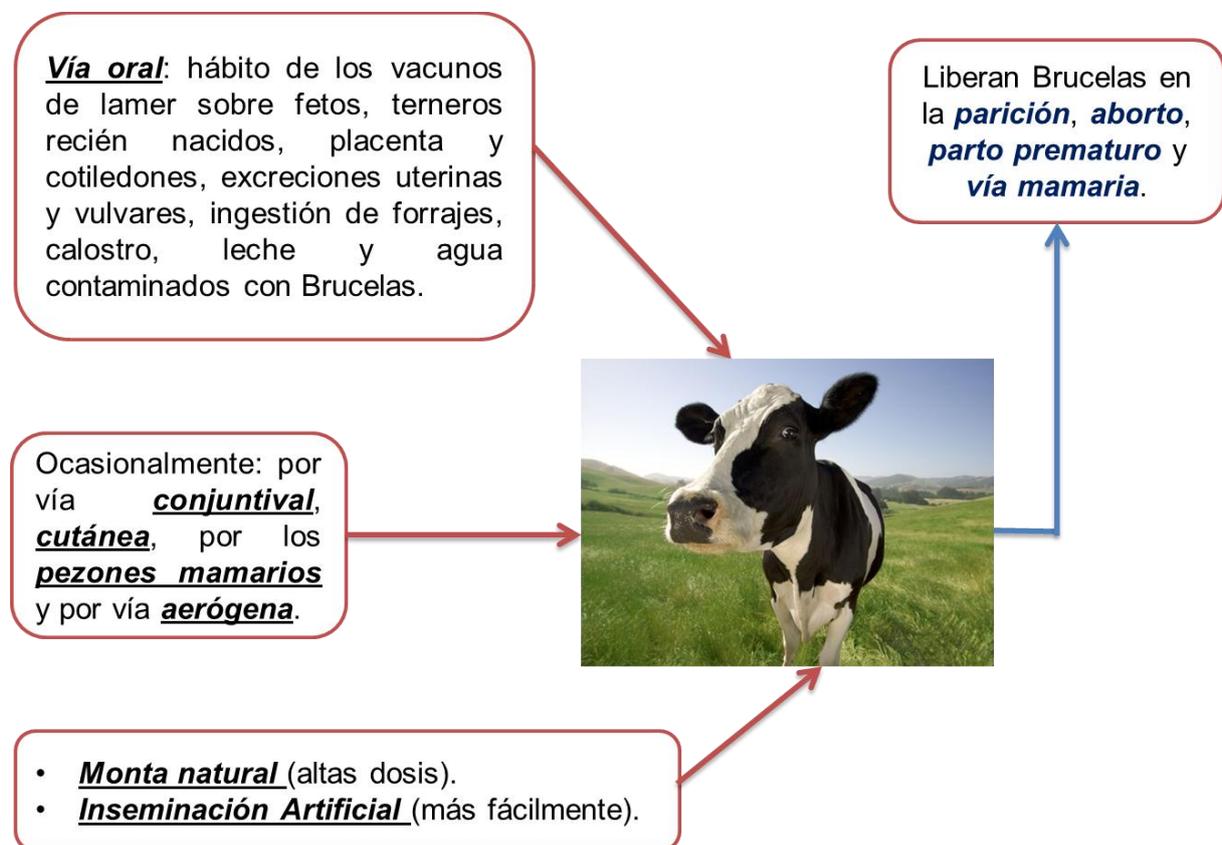


Figura 10. Formas de transmisión de la Brucelosis entre los bovinos.
Fuente: Br. Gabriel Mosca

Tabla 7. Supervivencia de la Brucella en los distintos ambientes.

Material	Tiempo de supervivencia
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15 a 40 días
Leche a temperatura ambiente	2 a 4 días
Flúidos y secreciones en verano	10 a 30 minutos
Lanas de depósitos	110 días
Agua a 37°C y ph 7,5	Menos de 1 día
Agua a 8°C y ph 6,5	Más de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6 a 8 meses
Descarga vaginal mantenida en hielo	7 meses
Manteca a 8°C	1 a 2 meses
Cuero manchado con excremento de vaca	21 días
Paja	29 días
Grasa de ordeño	9 días
Heces bovinas naturales	1 a 100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente	66 días
Tierra desecada a temperatura ambiente	4 días

Fuente: Castro y col., 2005

En los humanos la infección por *Brucella abortus* se produce por el contacto con las secreciones de los animales infectados o por el consumo de leche cruda o de queso contaminado, no existiendo contaminación a través del consumo de la carne. *Brucella abortus* puede ingresar al organismo humano a través de lesiones en la piel, mientras se manipulan los animales enfermos de Brucelosis o sus desechos. En los países en donde la *Brucella* es endémica en la población animal, la infección por *Brucella* en los humanos es frecuente, aunque la transmisión de persona a persona es muy poco usual. (Fiori y col., 2000).

La enfermedad puede ser adquirida en forma ocupacional por los trabajadores de mataderos, carniceros y veterinarios, al inhalar aerosoles contaminados con la bacteria o en viajes a lugares en donde la infección es endémica (Fiori y col., 2000).

Las infecciones asociadas a los trabajos en los laboratorios representan el 2% de los casos y se ha informado que el período de incubación de la Brucelosis adquirida por accidente en el laboratorio puede variar entre 6 semanas a 5 meses (Fiori y col., 2000).

6.1.5. PATOGENIA

Las especies del género *Brucella* son patógenos intracelulares facultativos, lo que las mantiene protegidas de la acción de los antibióticos, y de los mecanismos efectorios dependientes de anticuerpos, lo que justifica la naturaleza crónica de la infección ya que son capaces de adherirse, penetrar y multiplicarse en una gran variedad de células eucariotas tanto fagocíticas como no fagocíticas. Cuando estas bacterias ingresan al organismo pueden ser fagocitadas por los polimorfonucleares (PMNs) y los macrófagos como parte de la inmunidad innata. Si no son eliminadas llegan por vía linfática a los ganglios regionales correspondientes pudiendo desde

allí invadir el torrente sanguíneo, donde son fagocitadas por los PMN y macrófagos circulantes y transportadas, de esta manera, a los diversos órganos donde pueden sobrevivir y multiplicarse dentro de las vacuolas de los fagocitos circulantes y tisulares (Pizarro-Cerda y col., 1998).

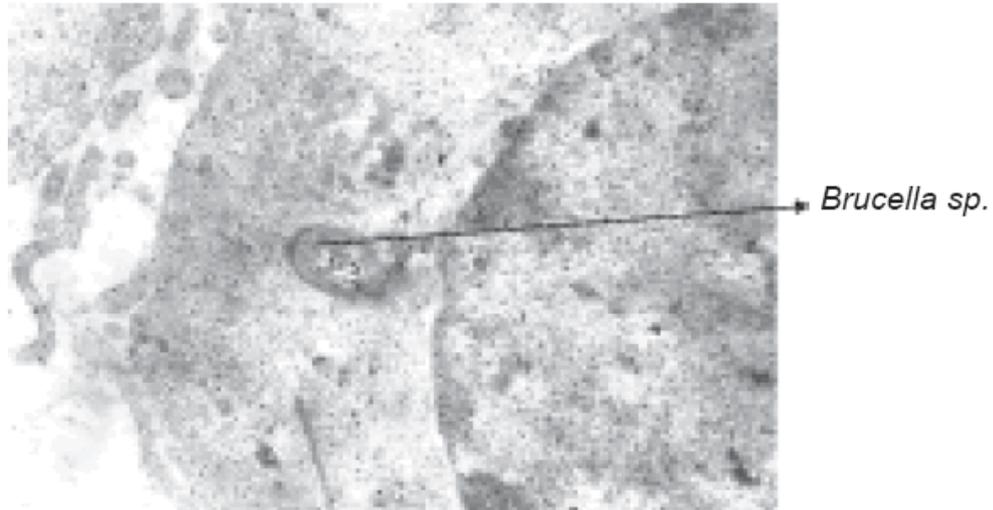


Figura 11. Imagen de la internalización y presencia de *B. abortus* RB51 en macrófagos J774 por microscopía electrónica. Células inoculadas con *Brucella* sp., procesadas para su visualización al microscopio electrónico. Fuente: <http://www.scielo.org>

El mecanismo por el cuál la bacteria ingresa a las células del organismo no está bien claro pero se presume que el LPS y las proteínas de la membrana externa podrían participar en la patogenia mediante receptores de tipo manosa o integrinas. Las células de la placenta vacuna son ricas en receptores de manosa y en un factor de crecimiento conocido como **eritritol** que se encuentra presente en los tejidos placentarios animales, lo que favorecería la colonización de la *Brucella* en la misma (Aréstegui y col., 2001).

La supervivencia de la *Brucella* dentro de las células se ha asociado con la síntesis de enzimas antioxidantes y a la producción de GMP (guanosina 5' monofosfato) y adenina, que inhiben la fusión fagosoma-lisosoma, la desgranulación, la activación del sistema mieloperoxidasa-haluro y la producción del TNF- α (Canning y col., 1986).

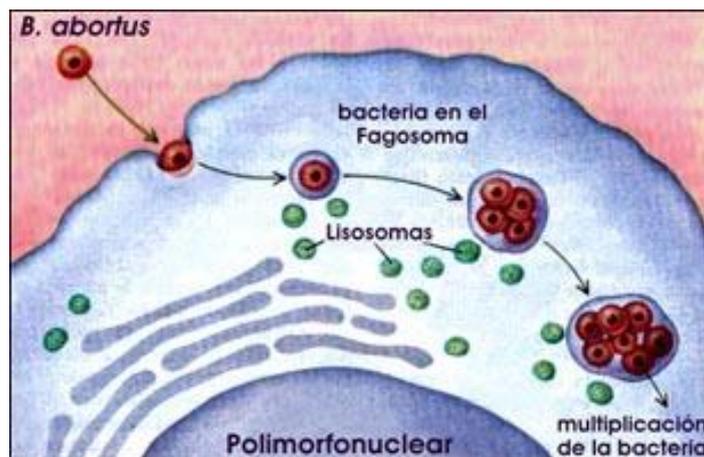


Figura 12. Patología del género *Brucella* mostrando la colonización de los polimorfonucleares. Fuente: <http://www.rincondelvago.com>

6.1.6. PATOLOGÍA

El signo predominante en hembras preñadas es el **aborto** (figura 14) en los tres últimos meses de la gestación o el nacimiento prematuro o a término de terneros débiles o muertos. Se presenta además **retención de placenta** (figura 13), metritis, esterilidad e infertilidad temporal o permanente, mastitis con disminución de la lactación e inflamación de los ganglios linfáticos mamarios, dejando como secuela un aumento del intervalo íter parto. Las hembras no preñadas no muestran signos clínicos y cuando se infectan antes del servicio muchas veces no abortan (Repiso y col., 2004).



Figura 13. Retención de placenta. Fuente: <http://www.jairoserrano.com>



Figura 14. Aborto espontáneo por *Brucella abortus* en el último tercio de la gestación. Fuente: <http://www.drostproject.org>

En el toro las *Brucellas* pueden localizarse en los testículos o en las glándulas anexas. Cuando la infección se manifiesta clínicamente se puede encontrar uno o ambos testículos aumentados de tamaño (figura 15 y 16), con disminución de la libido e infertilidad. A veces puede haber atrofia del testículo debido a adherencias y fibrosis. Es frecuente la vesiculitis y ampulitis. Ocasionalmente se pueden observar en los bovinos higromas y artritis en los casos más crónicos (Repiso y col., 2004).



Figura 15. Toro con orquitis por *Brucella abortus*. Vista de lejos. Fuente: <http://www.cvdavidmartinezh.blogspot.com>

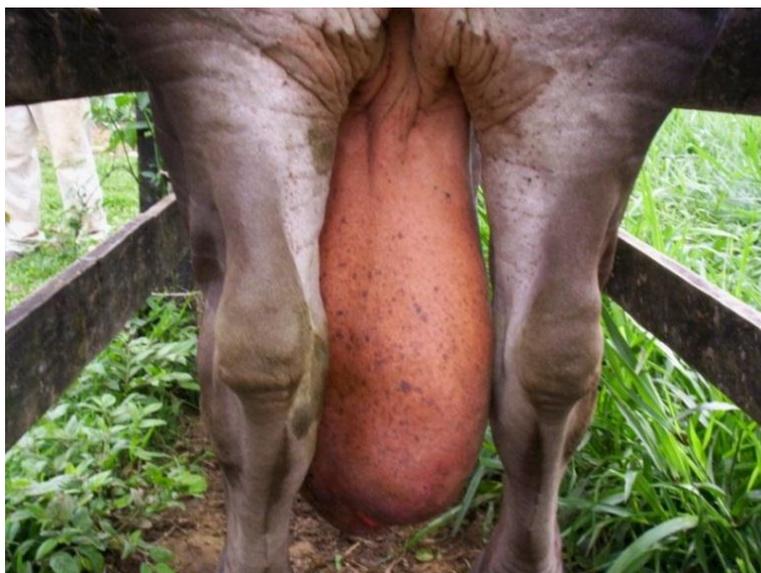


Figura 16. Toro con orquitis por *Brucella abortus*. Vista de atrás.
Fuente: <http://www.cvdauidmartinezh.blogspot.com>

6.1.7. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la causa de un aborto en un animal individual o en grupo de bovinos resulta difícil debido a la gran cantidad de causas posibles (tanto infecciosas como no infecciosas). Por lo tanto cuando se está investigando un problema de abortos en un rodeo se debe de emplear un método sistemático, el cual incluye un relevamiento epidemiológico del área afectada y un conjunto de pruebas tanto presuntivas como confirmatorias por medio del laboratorio (Radostits y col., 1999).

Tabla 8. Resumen de las principales pruebas diagnósticas de la Brucelosis bovina

Prueba	Anticuerpos	Características
Placa	IgM	Aglutinación
Tubo	IgM, IgG	Aglutinación
Rosa de Bengala o Card Test	IgG	Aglutinación Ácido interfiere con la IgM
Mercaptoetanol	IgG ¹ , IgG ²	Aglutinación Inactivación de la IgM
Rivanol	IgG	Aglutinación Precipitación de la IgM
Fijación de complemento	IgG ¹	Complejo Ag-Ac no lisis de eritrocitos
Prueba de Anillo o Ring Test	IgG ¹ , IgA	Presencia de anticuerpos Producción en glándula

Fuente: Candelo de Arriojas, 2004

Para el diagnóstico de la Brucelosis bovina se siguen las mismas disposiciones establecidas desde los años 1984 y 1985 y que posteriormente fueron complementadas con otras que se dictaron posteriormente (decreto 20/998, del 22

de enero de 1998). Las pruebas aplicables al diagnóstico de Brucelosis bovina son las siguientes:

➤ **PRUEBAS PRESUNTIVAS PARA BRUCELOSIS BOVINA**

❖ **PRUEBA DE ANILLO EN LECHE**

Es una **prueba presuntiva colectiva** que se efectúa para la vigilancia epidemiológica en todo establecimiento productor de leche con destino comercial (para habilitación o refrendación del mismo) realizada en mezclas de la producción de leche mezcla fluída, de cada establecimiento, cualquiera sea su destino final, con una frecuencia trimestral (inc. a) (art. 3º del decreto 20/998 del 22 de enero de 1998). Si el diagnóstico da positivo se pasa a la prueba presuntiva individual (Formento y Chans, 2013).

La prueba de Anillo en leche (PAL) (figura 17), también conocida con el nombre de Milk Ring Test (MRT), fue conocida inicialmente como Abortus Bang Ringprobe (ABR) la cuál fue diseñada por Fleishauer en 1937 para evidenciar o detectar anticuerpos IgG e IgM atados a los glóbulos de grasa en la leche. En esta prueba se emplea un antígeno preparado a partir de cultivos puros de *Brucella abortus* S99 o S1119-3 a una concentración celular del 4%, coloreada con hematoxilina y con un pH de 3,3 a 3,7. Dicha prueba tiene la ventaja sobre las pruebas serológicas de que las muestras no son tomadas de una manera invasiva, por lo tanto no vamos a estresar al animal con la consecuente pérdida en la producción de leche u otro efecto indeseado, producto del manejo en el momento de la toma de la muestra. Esta prueba es un método indirecto (presuntivo) que evidencia o detecta anticuerpos aglutinantes antibrucella frente a la fracción O de la cadena de lipopolisacáridos de la membrana externa del agente etiológico (Acosta y Ortiz. 2007).

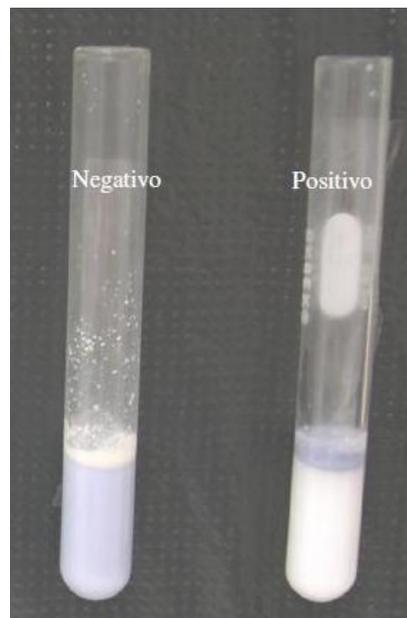


Figura 17. Prueba de Anillo en Leche (PAL) para el diagnóstico presuntivo de Brucelosis bovina. Fuente: <http://www.perulactea.com>

Tabla 9. Resultados de la Prueba de Anillo en Leche

Lectura	Color del anillo y de la columna de leche
-	Anillo de crema color blanco y la columna de leche color lila o azulada.
+	Anillo y columna de leche con la crema del mismo color (morado o azul suave).
++	Anillo de crema con un color (morado o azul) más pronunciado que el resto de la columna de leche.
+++	Anillo de crema de color morado o azul marcado; pero la columna de leche se observa con algo de color.
++++	Anillo de crema morado o azul intenso, la columna de leche es de color blanco.

Fuente: Acosta y Ortíz, 2007

Los resultados en cuanto a las reacciones se clasifican en negativos y positivos y su evaluación frente a los rodeos se clasifican en negativos o sospechosos de presentar Brucelosis bovina, porque la prueba en sí evidencia una presunción de la enfermedad y no la presencia de la misma en el rodeo (Acosta y Ortiz, 2007).

❖ PRUEBA DE ROSA DE BENGALA

Es una **prueba presuntiva individual** que se aplica para el diagnóstico oficial de Brucelosis a los machos y hembras bovinas no vacunadas contra la Brucelosis, destinados a la reproducción, a partir de los doce (12) meses de edad. Los bovinos positivos a esta prueba deben ser sometidos a pruebas confirmatorias (Formento y Chans, 2013).

La prueba del Rosa Bengala (figura 19 y 20) o prueba del antígeno tamponado de Brucella, es una técnica rápida de aglutinación en porta para la detección de anticuerpos anti-Brucella en sueros animales y humanos¹⁻³. La suspensión bacteriana es reactiva tanto con anticuerpos IgG como IgM, siendo los primeros detectados más precozmente (infecciones sub-clínicas) y por un período más largo de tiempo (fase crónica) que con el procedimiento convencional de tubo (Lab. Linear Chemicals S.L.).



Figura 18. Extracción de sangre en bovinos para las pruebas serológicas.
 Fuente: <http://www.ica.gov.co>. ICA (Instituto Colombiano Agropecuario).

La determinación se efectúa ensayando la suspensión tamponada (pH 3,6) de *Brucella* coloreada con Rosa de Bengala frente a los sueros problema. La presencia o ausencia de aglutinación visible es indicativa de la presencia o ausencia de anticuerpos en las muestras ensayadas (Lab. Linear Chemicals S.L.).

Lectura

Reacción negativa: Suspensión uniforme sin cambio visible alguno, tal como se presenta en el control negativo (SENASA, 2009).

Reacción positiva: Aglutinación débil o intensa, fácilmente visible macroscópicamente. Se deben de efectuar pruebas adicionales confirmatorias para confirmar el diagnóstico de Brucelosis bovina (SENASA, 2009).

Tabla 10. Expresiones de resultados para la prueba de Rosa de Bengala

Positivo	Negativo
+	-
POS	NEG
P	N

Fuente: SENASA, 2009



Figura 19. Equipo para la prueba de Rosa de Bengala. Fuente: <http://www.aym.juntaex.es>



Figura 20. Prueba de Rosa de Bengala para el diagnóstico presuntivo de Brucelosis bovina. Fuente: <http://www.cenavece.salud.gob.mx/> (CENA VECE).

❖ ENZIMOINMUNOANÁLISIS (ELISA)

Es una **prueba presuntiva colectiva** que se realiza en muestras de la producción de leche mezcla fluída del establecimiento, cualquiera sea su destino comercial final, con una frecuencia trimestral (Formento y Chans, 2013).



Figura 21. Kit para la prueba de ELISA

Fuente: <http://www.parasites.czu.cz>

➤ PRUEBAS CONFIRMATORIAS PARA BRUCELOSIS BOVINA

Las muestras para confirmación del diagnóstico de laboratorio son las siguientes (Radostits y col., 1999):

- Microbiología: carúnculas maternas, placenta, contenido gástrico y pulmones para cultivo (requisitos de crecimiento especiales) y frotis directos: tinción de Stamp o de Kosters sobre frotis de placenta.
- Histología: placenta, pulmones, bazo, encéfalo, hígado, riñones y carúnculas maternas para microscopía óptica.

Nota: se debe de tener en cuenta el potencial zoonótico del material con el que se está trabajando a la hora de manejar las canales y remitir las muestras.

Las pruebas confirmatorias para el diagnóstico de Brucelosis bovina en el Uruguay son las siguientes:

- 1) Fijación del complemento – se consideran positivos los bovinos cuyos sueros fijen a una dilución 1:20 o mayor.
- 2) Rivanol – se consideran positivos los bovinos cuyos sueros aglutinen a una dilución de 1:50 o mayor.
- 3) 2-Mercaptoetanol – se consideran positivos los bovinos cuyos sueros aglutinen a una dilución de 1:25 o mayor.
- 4) Ensayo de Polarización Fluorescente (FPA)
- 5) Diagnóstico del agente por Aislamiento
- 6) Reacción en cadena de la polimerasa (figura 22)
(Formento y Chans, 2013)

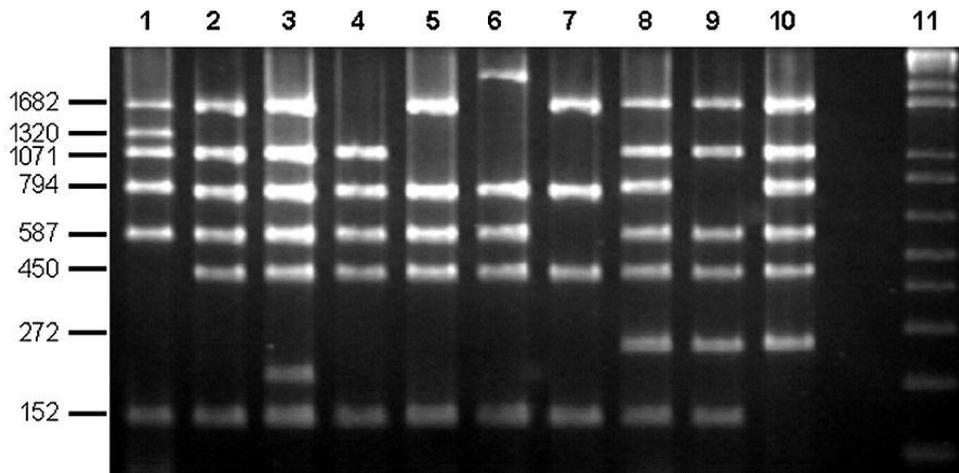


Figura 22. Distintas especies de *Brucella* obtenidas por **PCR**: 1. *B. maris*, 2. *B. melitensis*, 3. *B. melitensis* (vacuna), 4. *B. ovis*, 5. *B. abortus* (cepa de campo), 6. *B. abortus* RB51 (vacuna), 7. *B. abortus* cepa 19 (vacuna), 8. *B. suis*, 9. *B. canis*, 10. *B. neotomae*, 11. 1 kb puls DNA ladder. Fuente: <http://www.albeitarveterinaria.com>

La recolección de las muestras para las pruebas presuntivas diagnósticas de Brucelosis, la extracción de sangre para el serodiagnóstico y el diagnóstico serológico (Rosa de Bengala) de la Brucelosis bovina serán realizados bajo la responsabilidad de un profesional veterinario de Libre Ejercicio Acreditado y por los laboratorios habilitados a tal fin por la DGSG del MGAP. En caso de que se requieran de pruebas confirmatorias para el diagnóstico de Brucelosis bovina las mismas deberán de ser efectuadas por los Laboratorios Oficiales dependientes de la DILAVE. En todos los casos que sean necesarias pruebas y análisis para la investigación, aislamiento y confirmación de la presencia del agente etiológico de Brucelosis bovina, los materiales serán procesados por los Laboratorios Oficiales de diagnóstico especializado dependientes de la DILAVE. Los resultados de las pruebas diagnósticas de los establecimientos, las plantas de faena y los centros de comercialización de animales, así como, los resultados de los análisis bacteriológicos deberán ser comunicados de inmediato a los propietarios o responsables de los establecimientos involucrados, a los veterinarios de Libre Ejercicio Acreditados y a la División de Sanidad Animal (art. 2º del decreto 441/012 del 26 de diciembre del 2012) (Formento y Chans, 2013).

7. ENFERMEDADES DE REPERCUSIÓN SISTÉMICA

7.1. LEPTOSPIROSIS

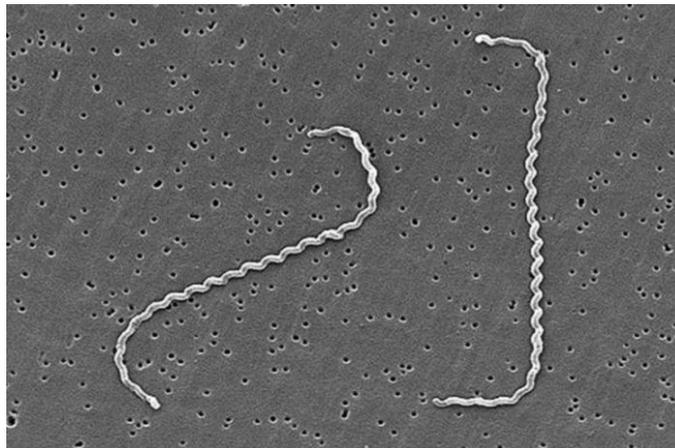


Figura 23. Micrografía de barrido de *Leptospira interrogans*.

Fuente: <http://www.wikipedia.org>

Leptospira proviene del griego “Leptos” que significa delgado y del latín “Spira” que significa espiral.

La leptospirosis es una enfermedad infecto contagiosa que afecta a una amplia variedad de mamíferos domésticos y silvestres, aunque la enfermedad también ha sido aislada de otros vertebrados como aves y anfibios. Entre las especies domésticas que se presenta con más frecuencia se encuentran los bovinos, ovinos, equinos, suinos y caninos, siendo una de las principales zoonosis diagnosticadas en nuestro país (Thiermann, 1984).

Tabla 11. Clasificación Taxonómica del género *Leptospira*.

Clasificación Taxonómica	
Reino	Monera Bacteria
Filo	Spirochaetes
Clase	Spirochaetes
Orden	Spirochaetales
Familia	Leptospiraceae
Género	<i>Leptospira</i>
Especies	<i>interrogans</i> , <i>biflexa</i> , <i>alexanderi</i> , <i>fainei</i> , <i>borgpetersenii</i> , <i>inadai</i> , <i>kirschneri</i> , <i>meyeri</i> , <i>noguchii</i> , <i>santarosai</i> , <i>weilli</i> , <i>broomi</i> , etc.

Fuente: Brock-Biología de los Microorganismos (10^o edición).

7.1.1. HISTORIA

Las *Leptospiras* han estado en el planeta por miles de años, encontrándose descripciones probables en Mesopotamia y Egipto, aunque su rol como causantes

de enfermedades ha sido identificado en investigaciones relativamente recientes. La publicación del internista alemán Adolf Weil en 1886 es acreditada como la primera descripción detallada de la infección y la forma icterica de la enfermedad, lleva su nombre. La infección en realidad ha sido conocida y reportada mucho antes, con relatos en la literatura asociando fiebres e ictericia en granjeros, inundaciones y ganado, desde la China e India hasta Europa. Hipócrates postuló sobre ello, así como Galeno y en las campañas Napoleónicas y en viajeros hacia las Américas (Huttner y col., 2002).

Las espiroquetas eran atribuidas como los causantes de un gran rango de enfermedades. Stimpson en 1907, fue el primero en reportar el aislamiento de una *Leptospira* de un paciente humano, describiendo la concentración del organismo en los túbulos renales. Stimpson le dio al nuevo microorganismo el nombre de *Spirocheta interrogans* debido a la morfología del organismo en forma de signo de interrogación (The Leptospirosis Information Center).

La Primera Guerra Mundial incrementó las investigaciones, por razón de las condiciones de atrincheramiento que causaba un incremento inusual de la infección. Los representantes de ambos frentes de batalla hicieron descubrimientos importantes sobre el organismo, sus serotipos y el papel que juegan en las infecciones, y el tratamiento efectivo del mismo. El reservorio natural fue descubierto en las ratas en Ecuador y México entre los años 1818 y 1819. La mayoría del conocimiento de la patología y la epidemiología actual fue definida antes de 1940, de modo que la investigación en el presente está enfocada a la secuencia del ADN y los procesos celulares internos que le confiere al organismo su virulencia, inmunidad y el mejoramiento en el desarrollo de medidas profilácticas (Erosa Barbachano, 2001).

La serovariedad hardjo fue aislada por primera vez en 1938 en un trabajador rural de una plantación de caucho de Sumatra cuyo nombre era Hardjoprajitno, en donde inicialmente se incluyó en el serogrupo Hebdomadis pero, al dividirse este en dos serogrupos diferentes, se unió al serogrupo Sejroe. En décadas posteriores se pudo comprobar que esta misma serovariedad, era endémica en las poblaciones bovinas en muchas áreas en todo el mundo. Mediante análisis con endonucleasas de restricción se apreciaron diferencias entre las especies aisladas de la serovariedad hardjo, sugiriéndose su diferenciación en dos genotipos: Hardjobovis y Hardjoprajitno (Acha y Szyfres, 1986).

7.1.2. DATOS EN EL URUGUAY

En el Uruguay se registran casos de infección por leptospira en humanos y en animales desde 1930. En el sector animal destacan la prevalencia serológica en: bovinos para consumo de carne 24%; bovinos para leche 61%; ovinos 10%; suinos: 40%; otros animales silvestres 15% (mulita, zorro y liebre). Es a partir de ese momento que la enfermedad se estudia en forma discontinua en casos aislados y es en los años 1960 y 1966 que el Dr. Raúl Casas Olascoaga realiza los primeros aislamientos de *Leptospira Icterohaemorrhagiae* en caninos con cuadro icterico. En bovinos es asociada a cuadros de tormentas de abortos aislándose en el laboratorio cepas de *Leptospira pomona*. Siendo la zoonosis bacteriana de mayor distribución mundial, Uruguay no fue la excepción y durante los últimos años se ha observado un aumento de los diagnósticos positivos en humanos. Esta situación llevó a que se

formara una Comisión inter-Ministerial entre Salud Pública y el MGAP con el apoyo de la OPS (Organización Panamericana de la Salud) y a partir de 1998 se hizo de declaración obligatoria en humanos. A través de la comisión se realizaron estudios en tambos de los departamentos de San José y Colonia. Se muestrearon 40 tambos analizando los sueros de 20 bovinos por establecimiento y de toda la población humana relacionada con los mismos. Observándose una prevalencia en humanos de 17% en el Dpto. de San José y 32% en el Dpto. de Colonia, mientras que en bovinos se obtuvo un 90% de reaccionantes positivos. En animales de zoológicos se ha encontrado una prevalencia de 47% en Villa Dolores y 22% en Parque Lecocq . (Repiso y col., 2004).

Tabla 12. N° de animales analizados por establecimiento, mostrando los serovares más prevalentes, con una importante presencia del serovar **hardjo**.

N° de animales por establecimiento	Serovares más prevalentes
Hasta 100	Hardjo (8%) Wolfii (11%) Pomona (3%)
De 101 a 300	Hardjo (20%) Wolfii (17%) Pomona (6%)
De 301 a 1000	Hardjo (18%) Wolfii (26%) Pomona (4,5%)
De 1001 en adelante	Hardjo (43%) Wolfii (33%) Pomona (7%)

Fuente: Repiso y col., 2004.

En la siguiente tabla se comparan el tamaño de los establecimientos (según la cantidad de animales) y la prevalencia de la enfermedad en las distintas categorías de animales.

Tabla 13. Prevalencia por tamaño del establecimiento y categoría animal.

Tamaño	Categoría	Prevalencia
Más de 100 animales	Toros	32%
	Vacas	3%
	Vaquillonas	12%
Entre 101 y 300 animales	Toros	37%
	Vacas	30%
	Vaquillonas	18%
Entre 301 y 1000 animales	Toros	43%
	Vacas	39%
	Vaquillonas	26%
Más de 1000 animales	Toros	51%
	Vacas	54%
	Vaquillonas	40%

Fuente: Repiso y col., 2004

7.1.3. ETIOLOGÍA

La enfermedad es producida por espiroquetas parásitas clasificadas dentro del género *Leptospira*, las cuales son bacterias gram negativas dividiéndose las cepas patógenas en sus diferencias antigénicas en serovares, siendo el serovar el taxón básico. Los serovares relacionados antigénicamente se clasifican dentro de un mismo serogrupo. En todo el mundo se han descrito más de 220 serovares pero, frecuentemente, las infecciones se producen por un número limitado de serovares endémicos de una región o país y su presencia está íntimamente ligada a factores ecológicos y medioambientales (Thiermann, 1984).

La revisión de la Taxonomía del género *Leptospira* se ha actualizado en base a estudios de hibridación de ADN, resultando de dichos estudios de la existencia de 7 especies de *Leptospira* patógenas y 4 no patógenas. Dentro de las especies patógenas se encuentran: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. kirschneri*, *L. noguchi*, *L. santarosai* y *L. weili*. Las no patógenas son: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. parva* y *L. wolbachii* (Ellis, 1994).

Tabla 14. Resumen de los serogrupos y serovares más representativos de la especie *L. interrogans*.

Serogrupos	Serovares más representativos
Australis	australis, bratislava
Autumnalis	autumnalis
Ballum	ballum, castellonis
Bataviae	bataviae
Canícola	canicola
Cynopteri	cynopteri
Grippotyphosa	grippotyphosa
Hebdomadis	hebdomadis
Icterohaemorrhagiae	copenhagheni, icterohaemorrhagiae
Javanica	javanica, poi
Louisiana	louisiana
Mini	swajizak
Pomona	pomona
Pyrogenes	pyrogenes
Sarmin	sarmin
Sejroe	hardjo, saxkoebing, sejroe, wolffi
Shermani	shermani
Tarassovi	tarassovi

Fuente: Kmety y Dikken, 1988; 1993

7.1.4. EPIDEMIOLOGÍA

Es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, con características geográficas y climáticas, con una mayor incidencia de presentación en los países con climas tropicales y subtropicales con importantes repercusiones en la salud, en especial en aquellos trabajadores rurales y médicos veterinarios dedicados a ciertas actividades que los exponen al contacto con la enfermedad. En el Uruguay se presenta en forma endémica y con frecuentes focos epidémicos. (Ellis, 1994).

El modo más frecuente de transmisión en el caso de serovares adaptados como **hardjo**, es la transmisión horizontal directa, mientras que la transmisión horizontal indirecta tiene un papel más importante en las infecciones accidentales y se produce tras la exposición del animal a un ambiente contaminado con material infectante (Ellis, 1994).

La transmisión por **contacto directo** (figura 24) puede producirse de diversas maneras, siendo una de las más importantes la entrada de leptospiras por vía inhalatoria o conjuntival, procedentes de la dispersión de la orina de los animales infectados, ya que los hospedadores de mantenimiento de un determinado serovar eliminan una gran cantidad de microorganismos en su orina durante un período de tiempo determinado, por lo que la orina tendrá una alta concentración de bacterias (Ellis, 1994).

Otra forma de transmisión directa sería la **transmisión venérea**. Aunque la presencia de leptospiras en el semen y tracto genital del toro ha sido observada (van

der Hoeden, 1958; Ellis y col., 1986), la transmisión sexual no ha sido plenamente demostrada en el ganado bovino, sin embargo se supone que es una de las vías más importantes para las cepas del serovar **hardjo** genotipo **Hardjoprajitno** (Ellis 1994).

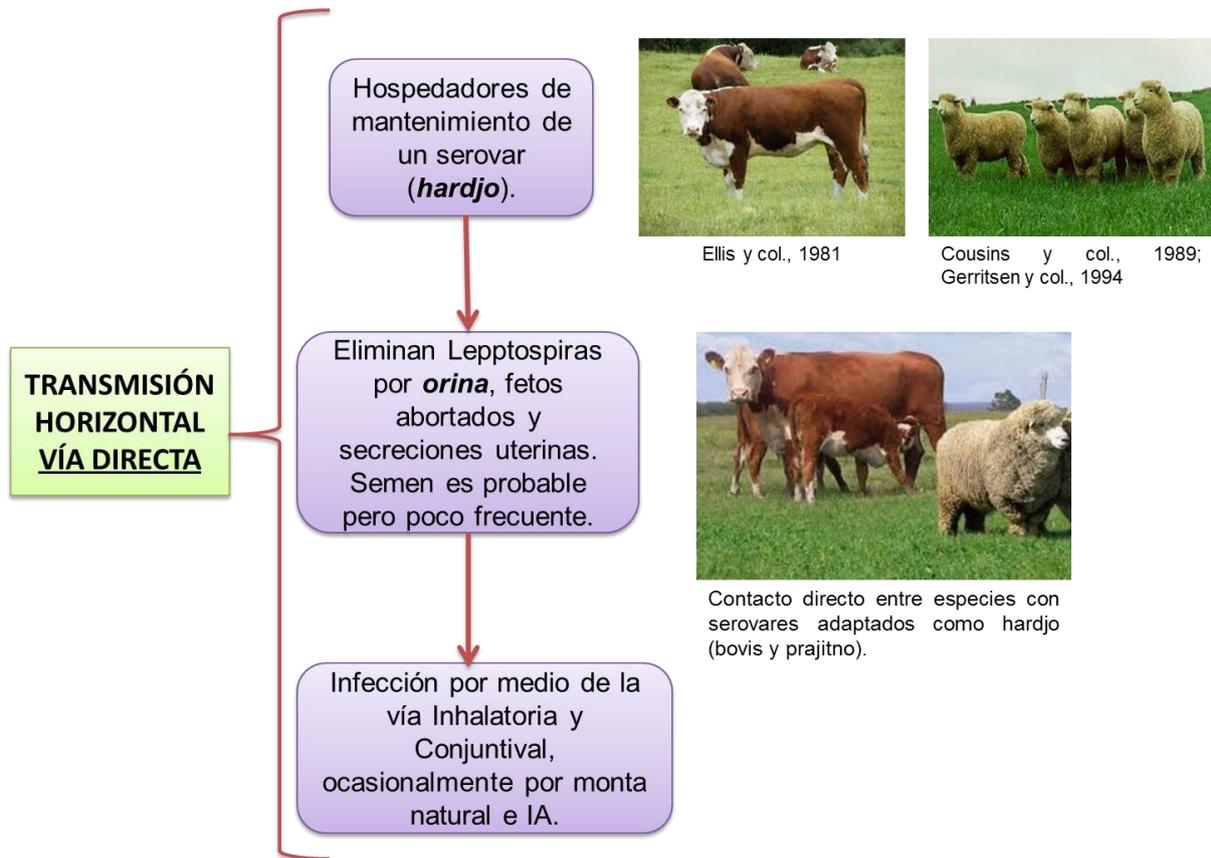


Figura 24. Transmisión Horizontal (vía directa) de la Leptospirosis en los bovinos.
Fuente: Br. Gabriel Mosca.

La **transmisión indirecta** (figura 25) tiene un papel mucho más importante en el caso de infecciones por serovares accidentales como es el caso de **L. pomona** y **L. wolfii**. La forma de transmisión más frecuente, tanto en el hombre como en el bovino, es el contacto de la piel o mucosas con agua o barro contaminados con orina infectada (Michna, 1970).

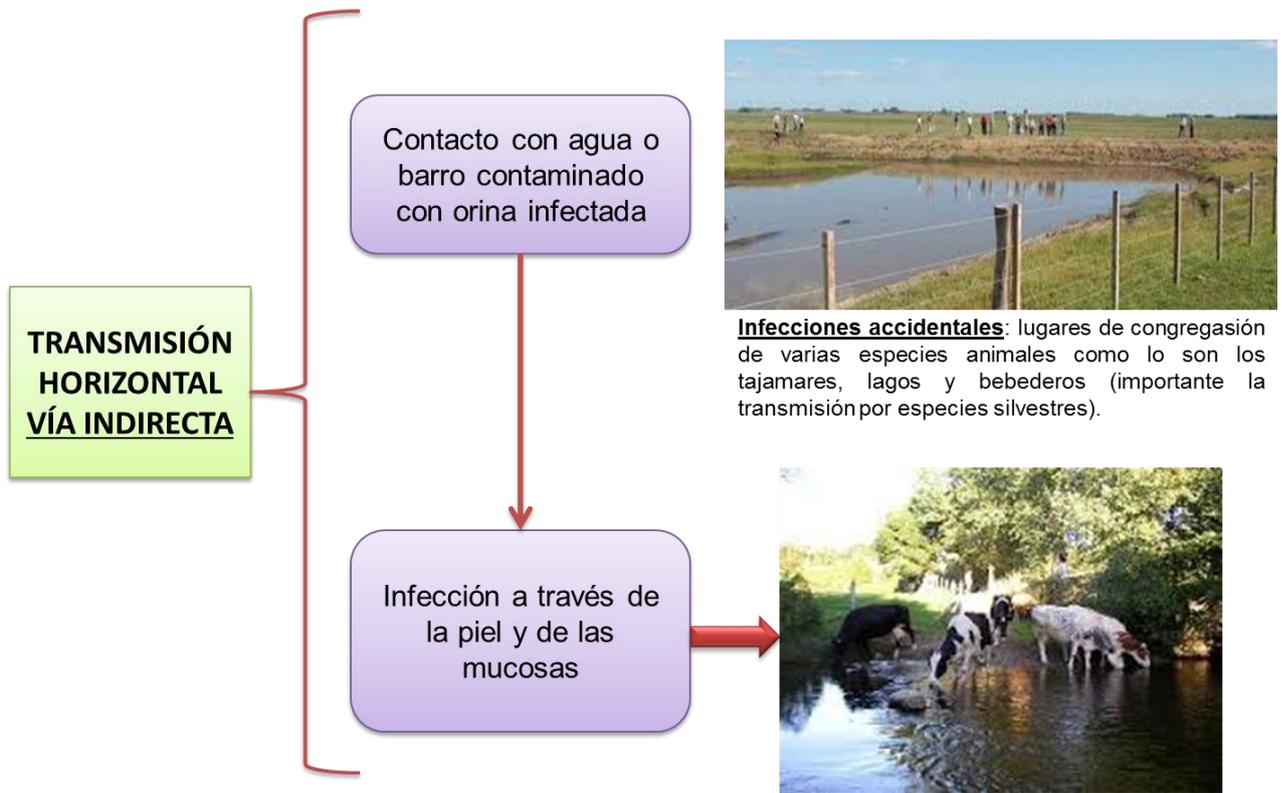


Figura 25. Transmisión Horizontal (vía indirecta) de la Leptospirosis en los bovinos.
Fuente: Br. Gabriel Mosca.

Hay diferentes autores que han evaluado la hipótesis de que los **artrópodos** (figura 26) podrían jugar un papel relevante en la transmisión de la leptospirosis. Así se cree que las moscas, las garrapatas, las pulgas, los ácaros y los piojos pueden ser transmisores mecánicos de la infección (Michna, 1970). También se ha demostrado la existencia de una transmisión vertical (figura 26), tanto por vía **transplacentaria** como por vía **galactófora** (Amatredjo y Campbell, 1975).

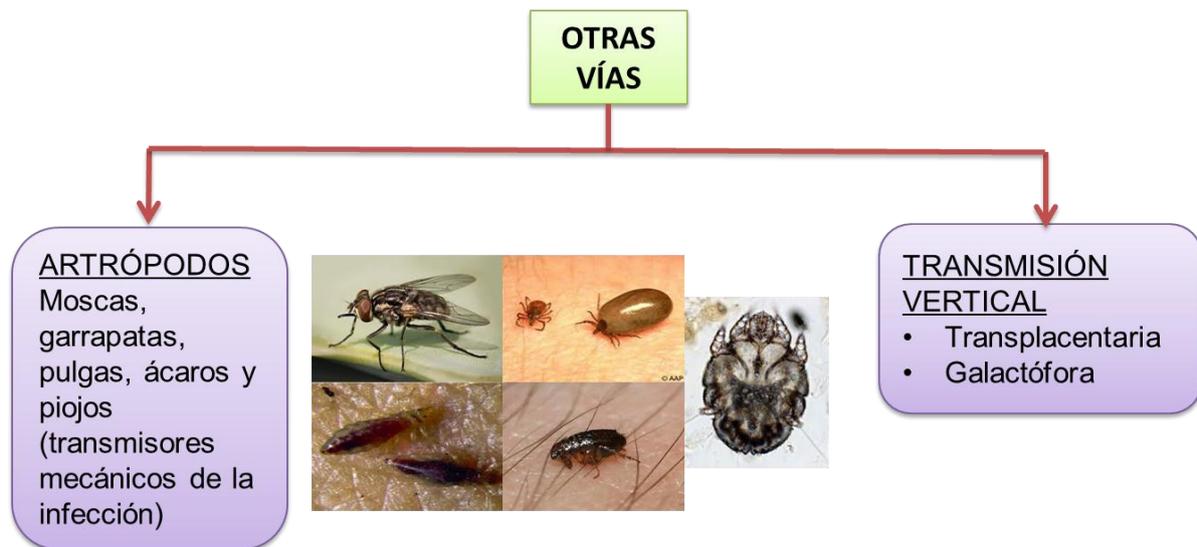


Figura 26. Otras vías de transmisión de la Leptospirosis en los bovinos.
Fuente: Br. Gabriel Mosca.

Por tanto, las fuentes de infección más frecuentes para el ganado bovino van a ser la **orina** (van der Hoeden, 1958; Michna, 1970), la **leche** (van der Hoeden, 1958; Prescott, 1993), las **descargas postparto** (Ellis, 1986) y el **agua y pastos contaminados** con estos materiales procedentes de animales infectados. Las leptospiras dependen de la existencia de una humedad relativa alta para su supervivencia en el medio ambiente, siendo ésta una condición indispensable para el mantenimiento de la infección por serovares accidentales en una región geográfica determinada (Prescott, 1993). A pesar de esto, no todas las aguas son favorables para la supervivencia de las leptospiras, ya que éstas se ven afectadas por el pH y la salinidad (van der Hoeden, 1958).

La fuente de infección es un **animal infectado** que contamina el pasto, el agua de bebida y la comida por medio de la orina infectada, los fetos abortados y las secreciones uterinas. Todos los tipos de leptospiras se transmiten dentro y entre especies de esta manera. Un neonato infectado viable puede poseer la infección durante varias semanas después del nacimiento (Sullivan, 1974). El semen de un toro infectado puede contener leptospiras y la transmisión por la monta natural o la inseminación artificial puede producirse, pero es infrecuente (Radostits y col., 1999).

La parte más importante en cuanto a la transmisión de la enfermedad es la **Leptospiuria**, siendo la orina la principal fuente de contaminación y de diseminación de la enfermedad a los animales susceptibles, porque los animales, incluso después de la recuperación clínica, pueden eliminar leptospiras por la orina en forma intermitante durante períodos largos de tiempo, actuando como portadores de la enfermedad. En los bovinos la leptospiruria puede persistir por un período medio de hasta 36 días, siendo el mayor momento de excreción la primera mitad de este período (Johnson y Faine, 1984).

En el ganado bovino, la leptospirosis produce pérdidas económicas de manera primaria por sus efectos sobre la reproducción, pudiendo aparecer mortinatos, abortos y/o nacimiento de animales débiles e infertilidad (Ellis, 1994). Resulta difícil

estimar las pérdidas por este concepto, en gran parte por las dificultades inherentes al diagnóstico de la enfermedad (Thiermann, 1984).

El ser humano no actúa como hospedador de mantenimiento de ningún serovar (figura 27), por lo que la infección será siempre accidental (Sullivan, 1974). Algunas prácticas laborales, como el trabajo en arrozales, minería y trabajos en agricultura y ganadería (veterinarios, ganaderos, trabajadores de mataderos), así como ciertas actividades recreativas que implican contacto con aguas posiblemente contaminadas (baños en medios naturales, deportes acuáticos, etc.), suponen los riesgos de contagio más importantes (MSP, MGAP, OPS, OMS). El serovar implicado con mayor frecuencia es *Leptospira icterohaemorrhagiae* (figura 27), siendo también bastante habituales las infecciones por *Leptospira pomona* y *Leptospira hardjo* entre ganaderos y trabajadores de mataderos (Pumarola, 1995).

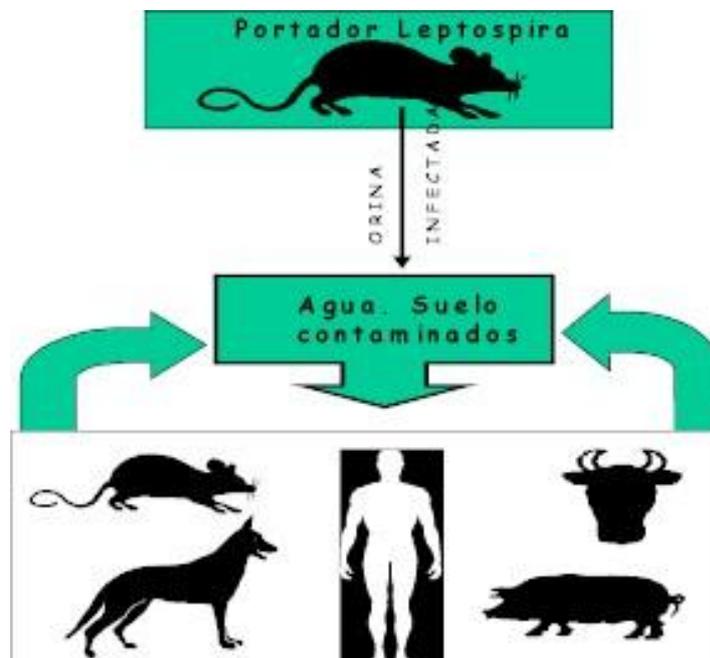


Figura 27. Transmisión de la Leptospirosis a los seres humanos.
Fuente: <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/653/2/>

7.1.5. PATOGENIA

Las leptospiras invaden el cuerpo por muchos medios: a través de las superficies mucosas o la piel reblandecida, a través de las membranas mucosas y de la conjuntiva, por inhalación por medio de aerosoles o de gotitas microscópicas, y por una posible ingestión de alimentos y de agua (Mandell y col., 2000).

Una vez dentro del sistema linfático y en la sangre, la leptospira es llevada rápidamente a los órganos de todo el cuerpo, sin un tropismo determinado. La invasión del líquido cefalorraquídeo (LCR) y el humor acuoso de los ojos, puede facilitarse por la acción del par de flagelos axiales y la liberación de la hialuronodasa (Hoyos y col., 1998).

El **lipopolisacárido (LPS)** aislado de la leptospira, llamado L-LPS, parece que actúa intensamente en el desencadenamiento de graves procesos inflamatorios, que agreden a la célula endotelial y hace que se liberen citoquinas y potentes compuestos vasoactivos. La presencia de una “endotoxina” en la espiroqueta estimularía la producción de citoquinas, entre ellas el factor de necrosis tumoral (FNT), cuyo papel es decisivo en la mediación de la respuesta inflamatoria, con inducción en la producción de otras citoquinas, tales como la Interleucina 1 y 6 (IL-1 y IL-6) Esta capacidad nociva puede deberse a factores tóxicos (hemolisinas, fibrolisinas y lipasas) y endotoxinas .(catalasa y hialuronidasa) (Laguna, 2000).

La leptospirosis puede ocurrir en forma **aguda** y **grave** debido a la septicemia con signos de endotoxemia como hemorragias, hepatitis, nefritis, meningitis; en forma **grave**, moderadamente **subaguda**, con nefritis, hepatitis, agalactia y meningitis; o en **forma crónica**, caracterizada por abortos, mortinatos y esterilidad. También se describe una **forma oculta** en donde no hay enfermedad clínica (Radostits y col., 1999).

7.1.6. PATOLOGÍA

Los signos clínicos de la leptospirosis son similares en cada especie animal y no varían notablemente con la especie de *Leptospira*, excepto que la infección con *Leptospira icterohaemorrhagiae* normalmente causa una septicemia grave. Algunos serotipos también tienen la capacidad de producir hemólisis (Mandell y col., 2000).

En todos los animales el período de incubación es entre 3 y 7 días. La leptospirosis en los bovinos puede ser: **aguda**, **subaguda** y **crónica** y normalmente esta causada por **L. pomona** y **L. hardjo** (Radostits y col., 1999).

Son más susceptibles a contraer la enfermedad los terneros de un mes o menos. Esta enfermedad se caracteriza por septicemia, fiebre de 40,5 a 41,5°C, anorexia, congestión pulmonar, petequias en las mucosas, depresión y anemia hemolítica con hemoglobinuria, ictericia y palidez de las mucosas. Ocasionalmente hay meningitis en donde el animal muestra incoordinación, sialorrea, conjuntivitis y rigidez muscular (Faine, 1991).

La esterilidad y el síndrome hipogaláctico ocurren sólo en las vacas preñadas o en lactación, porque el microorganismo sólo prolifera en el útero grávido y en la glándula mamaria en lactación. La leche tiene un color de amarillo a naranja y puede contener coágulos, la ubre está flácida, no hay calor ni dolor, y los cuatro cuartos se encuentran igualmente afectados. La caída repentina de la leche puede afectar hasta al 50% de las vacas al mismo tiempo y causar una disminución precipitada de la producción de leche del rodeo, la cual puede durar hasta 8 semanas, pero en las vacas individuales, la producción de leche puede volver a la normalidad entre 10 y 14 días (Radostits y col., 1999).

El estado de fertilidad del rodeo que comprende la tasa de concepción en el primer entore, el número de entores necesarios para que las vacas queden preñadas, el intervalo entre el parto y la concepción y la tasa de desecho revela un rendimiento reproductivo bajo, siendo un efecto temporal no detectado fácilmente (Pumarola, 1995).

ABORTO

El aborto (figura 28) se puede producir varias semanas después de la infección inicial y puede ser el único signo de la enfermedad, siendo en algunas ocasiones y en algunas áreas la primer manifestación clínica de leptospirosis debida a **hardjo**, y la principal causa de aborto en los bovinos. En otras zonas, se considera una causa infrecuente de aborto, lo que puede estar relacionado con las diferentes cepas del serotipo o el grado en que la enfermedad se convierta en enzoótica (Radostits y col., 1999).

El mismo puede presentarse desde los 4 meses hasta el final de la gestación, siendo más frecuente después de los 6 meses con ausencia de síntomas clínicos en la vaca. Se ha observado con frecuencia la asociación de *Leptospira* con otros agentes patógenos como *Neospora caninum*. En los fetos a término se observa un pobre desarrollo corporal, con presencia de ictericia en la grasa subcutánea, grado importante de autólisis generalizada, ascitis, hepatomegalia y depósitos de fibrina en el hígado y en los pulmones. También encontramos retención de placenta con necrosis de los cotiledones (Mandell y col., 2000).



Figura 28. Aborto por *Leptospira*. Fuente: <http://www.inta.gob.ar> (INTA Balcarce).



Figura 29 y 30. Feto bovino abortado a los 8 meses de gestación por Leptospirosis. La madre es una vaquillona de raza Aberdeen Angus, la cual fue positiva serologicamente a *Leptospira pomona* y *wolfii*. Fuente: <http://www.exopol.com/diagnostico/atlas-fotografico/>

7.1.7. DIAGNÓSTICO

En el diagnóstico se deben de tener en cuenta una serie de factores:

- En el **diagnóstico epidemiológico** la anamnesis debe incluir datos sobre la época del año en la que apareció el brote, la aptitud del rebaño, el estado sanitario del mismo, el contacto con otras especies domésticas, la sintomatología predominante y si se realiza vacunación frente a la leptospirosis. También deberá obtenerse información sobre el número de animales afectados, la edad de los mismos y la fase de la gestación en que se produce el aborto (Radostits y col., 1999).

- En cuanto a la **sintomatología clínica** la mayoría de las infecciones por *Leptospira* spp. cursan de manera subclínica, aunque en algunas ocasiones, pueden darse casos de enfermedad grave. La sintomatología es inespecífica y común a un gran número de afecciones, observándose ictericia, hemoglobinuria, hematuria, evidencias de daño renal, meningitis e incluso mortalidad. Las hembras preñadas pueden abortar debido a la pirexia mantenida y la producción láctea prácticamente desaparece. Esta forma sobreaguda se debe a la infección por serovares no adaptados, principalmente grippotyphosa, pomona, icterohaemorrhagiae y autumnalis, por lo que no aparecen estados de portador crónico (Ellis, 1994).

En los adultos, se debe sospechar de leptospirosis **aguda** siempre que aparezcan animales con disminución repentina y marcada de la producción láctea («síndrome de la caída de la leche»), fiebre (que no siempre se detecta), ictericia y meningitis. La leche, que parece calostro, puede contener coágulos de sangre y el recuento de células blancas es muy alto. Las ubres aparecen normales o algo blandas al tacto y los cuatro cuarterones están afectados (Ellis, 1986).

Por el contrario, sospecharemos de leptospirosis **crónica** en casos de **fallos reproductivos** (mantenidos o no en el rebaño), tales como infertilidad (abortos, mortinatos, nacimiento de animales débiles), nacimiento de terneros prematuros, retención de placenta, e incluso esterilidad, en casos extremos (Michna, 1970).

- Mediante el **laboratorio** tenemos una serie de técnicas que son usadas en la detección de la Leptospirosis en los bovinos. Las muestras a remitir al laboratorio para confirmar el diagnóstico de Leptospirosis son las siguientes:
 1. Bacteriología: riñones, hígado y placenta para cultivo (con requisitos especiales para su crecimiento), IF y PCR.
 2. Histología: riñones, hígado, cerebro, corazón, pulmones y placenta fijados en formaldehído (microscopía óptica e inmunohistoquímica).
 3. Serología: suero sanguíneo del corazón y líquido pericárdico del feto (prueba de aglutinación microscópica y ELISA) (Radostits y col., 1999).

➤ IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE

La demostración de la presencia de leptospiras en la sangre y la leche de los animales que muestran signos clínicos que sugieren leptospirosis aguda tiene un valor diagnóstico, pero no siempre el aislamiento a partir de la sangre es satisfactorio, porque la **bacteriemia es pasajera** y no siempre se acompaña de síntomas clínicos. También tiene valor diagnóstico la detección de una infección generalizada por leptospira en una serie de órganos tomados en la necropsia. La inmunohistoquímica puede ser particularmente útil en la identificación del antígeno residual de leptospiras. La demostración de la **presencia de leptospiras** en el tracto genital, los riñones o la orina solo debe interpretarse considerando en conjunto los síntomas clínicos y los resultados serológicos, ya que puede que estos hallazgos solo indiquen que el animal era portador (OIE, 2013).

El fallo en la demostración de la presencia de leptospiras en la orina de un animal no es suficiente para descartar la posibilidad de que este sea portador renal crónico;

esto solo indica que el animal no excretaba cantidades detectables de leptospiras en el momento del examen. La demostración de las leptospiras en los fluidos corporales o en los órganos internos (normalmente en el riñón, el hígado, el pulmón, el cerebro o en las glándulas adrenales) de **fetos abortados** o **nacidos muertos** tiene valor diagnóstico de la leptospirosis crónica de la madre, y es una evidencia de la infección activa del feto (OIE, 2013).

❖ Aislamiento

El aislamiento de leptospiras por personal experimentado es el método más sensible de la demostración de su presencia, siempre que no hayan residuos de antibióticos, que no haya autólisis avanzada del tejido, que los tejidos se manejen con rapidez para realizar cultivos después de su recogida y, en el caso de la orina, que tenga un pH adecuado. Si los tejidos o los fluidos no se pueden enviar al laboratorio inmediatamente para la realización de un cultivo de leptospiras, la muestra se conservará a 4-5°C para impedir el crecimiento excesivo de otras bacterias y la autólisis de las muestras de tejido. Como medios de transporte para el envío de las muestras, deben emplearse un medio de cultivo líquido o una solución al 1% de albúmina sérica bovina (BSA) con 5- fluorouracilo a una concentración de 100–200 µg/ml (OIE, 2013).

Los serotipos menos exigentes (Pomona y Grippotyphosa) pueden dar resultados positivos muy pronto, entre 7–10 días después de la inoculación; otros serotipos (Hardjo y Bratislava) pueden tardar mucho más tiempo, examinándose con un **microscopio de campo oscuro** (figura 31) de buena calidad cada 1–2 semanas (OIE, 2013).



Figura 31. Observación de Leptospiras en un microscopio de campo oscuro.
Fuente: <http://www.wikipedia.or>

❖ Técnicas de Tinción Inmunoquímicas

La presencia de leptospiras se puede demostrar también mediante una serie de técnicas de tinción inmunoquímicas, por ejemplo, la **inmunofluorescencia directa** (figura 32) y diversas técnicas inmunohistoquímicas. Estas técnicas son útiles para

diagnosticar la infección en material patológico que es inadecuado para la realización de cultivos o donde se requiere un diagnóstico rápido. Puesto que el éxito de estas técnicas depende del número de microorganismos presentes, son menos apropiadas para diagnosticar el estado de portador crónico, donde el número de microorganismos puede ser muy bajo o localizado. Las leptospiras no se tiñen bien con los colorantes de anilina, y las técnicas de tinción argéntica carecen de sensibilidad y especificidad, aunque constituyen un complemento útil para el diagnóstico histopatológico. Otra técnica utilizada es la **tinción de plata** (figura 33) (OIE, 2013).

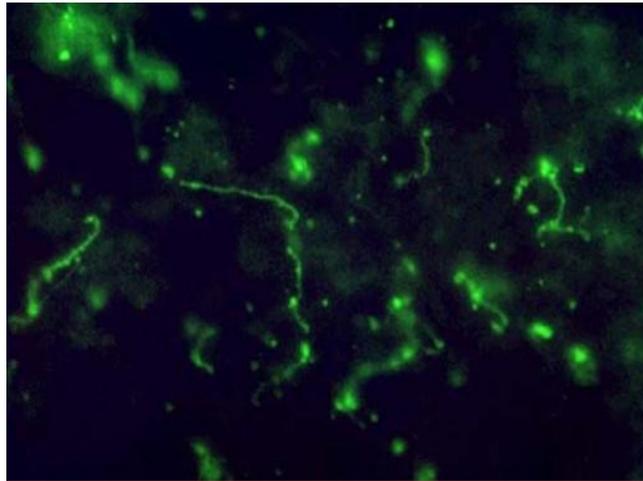


Figura 32. Técnica de Inmunofluorescencia Directa (IFD): método diagnóstico para detección de leptospiras en tejidos utilizando un conjugado polivalente. Las muestras de tejidos y líquidos orgánicos IFD positivas nos demuestran la presencia de la bacteria. Fuente: <http://www.inta.gov.ar>



Figura 33. Leptospira en orina (Tinción de plata).
Fuente: <http://www.exopol.com> (Atlas)

❖ **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Los ensayos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (**PCR**) se emplean en la actualidad en algunos laboratorios de diagnóstico y en la mayoría de los laboratorios de referencia para la detección de leptospiras en tejidos y fluidos corporales (figura 34). Se han descrito diferentes juegos de cebadores para la realización de ensayos de la PCR, con algunos cebadores específicos para el género *Leptospira* y otros diseñados para identificar solamente las especies patógenas. Estos ensayos **no sirven** para identificar el **serotipo infectante**, aunque algunos juegos de cebadores pueden permitir la identificación de especie o de serotipo si se secuencian los amplicones de la PCR (OIE, 2013).

Los ensayos de PCR pueden ser bastante sensibles, pero la carencia de especificidad (es decir, resultados **positivos falsos**) puede representar un problema. La presencia en las muestras clínicas de inhibidores de la amplificación puede originar **falsos negativos**, especialmente en muestras de animales alteradas por la contaminación con heces o autólisis. El control de calidad de los ensayos de PCR utilizados para el diagnóstico de la leptospirosis requiere una atención especial en lo que se refiere al diseño y al volumen de trabajo del laboratorio para prevenir la contaminación de los materiales y al uso de muestras control apropiadas. Además, el procesamiento de la muestra para PCR es decisivo y debe ser adecuado para el tejido, el fluido y la especie que se esté analizando. Un procedimiento para la preparación de las muestras de orina para PCR en el que se emplean perlas magnéticas recubiertas de anticuerpos antileptospira implica un aumento en la detección de leptospiras patógenas en la orina (OIE, 2013).

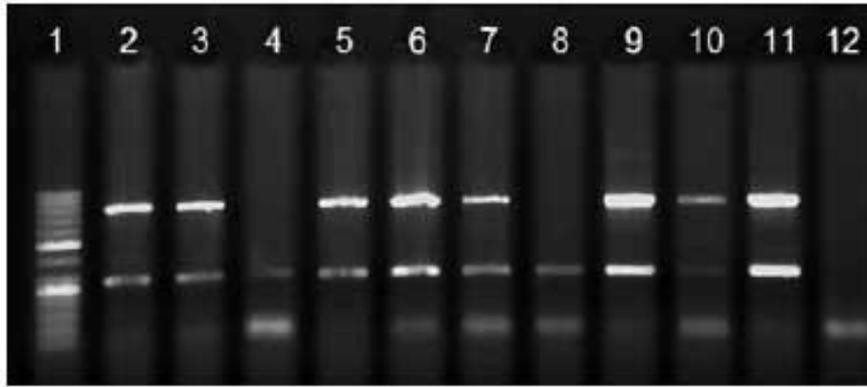


Figura 4B. Prueba de PCR *secY/flaB* con ADN de cepas de referencia Fiocruz, Brasil. Gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio.

Carril 1: marcador de peso molecular (50 bp). Carril 2: *L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae cepa RGA. Carril 3: *L. borgpetersenii* serovar Poi cepa Poi. Carril 4: *L. Noguchii* Serovar Louisiana Cepa LSU 1945. Carril 5: *L. Noguchii* serovar Panama cepa Panama, Carril 6: *L. interrogans* serovar Pomona cepa Pomona Carril 7: *L. interrogans* serovar Pyrogenes cepa Salinem. Carril 8: *L. biflexa* serovar Patoc cepa Patoc 1. Carril 9: *L. Santarosai* serovar Shermani cepa 1342K. Carril 10: *L. borgpetersenii* serovar Tarassovi cepa Perepelicin. Carril 11: *L. interrogans* serovar Copenhageni cepa L1130. Carril 12: control negativo de PCR.

Figura 34. Prueba de PCR para Leptospirosis.

Fuente: <http://www.scielo.org.pe>

❖ Otras pruebas

La identificación de los aislamientos de leptospiras es un cometido de los laboratorios de referencia especializados. Para realizar una identificación completa, debe utilizarse una combinación de procedimientos que determinen:

1. Si el aislamiento es un patógeno o un saprofito.
 2. La especie de *Leptospira* a la que pertenece el aislamiento.
 3. El serogrupo y el serotipo del aislamiento.
- (OIE, 2013).

Un cultivo puro de leptospiras puede identificarse como perteneciente a una especie **patógena** o **saprofita** mediante pruebas diferentes como:

1. Capacidad de infectar animales.
 2. Resistencia relativa a la 8-azaguanina.
 3. Actividad lipasa.
 4. Tolerancia a la sal y a la temperatura.
 5. Amplificación del *adnr* de 23s mediante pcr.
 6. Contenido de g+c del *adn*.
- (OIE, 2013).

El **serogrupo** de las cepas pertenecientes a *Leptospira* puede diferenciarse mediante reacciones de aglutinación cruzada. La diferenciación posterior del **serotipo** se realiza tradicionalmente mediante la absorción por aglutinación cruzada, aunque para la mayor parte de los aislamientos esto se realiza ahora utilizando métodos que requieren menos tiempo como son:

1. El análisis del factor.
 2. Los anticuerpos monoclonales (MABs).
 3. El análisis con las endonucleasas de restricción.
 4. Diversas estrategias con PCR.
- (OIE, 2013).

➤ PRUEBAS SEROLÓGICAS

Las pruebas serológicas constituyen el procedimiento de laboratorio utilizado con más frecuencia para confirmar el diagnóstico clínico, para determinar la prevalencia en el rebaño y para realizar los estudios epidemiológicos. Los anticuerpos de las leptospiras aparecen a los pocos días del comienzo de la enfermedad y persisten durante semanas o meses y, en algunos casos, años. Desafortunadamente, los títulos de anticuerpos puede que descendan hasta niveles indetectables mientras los animales permanecen infectados crónicamente. Para esto se necesitan métodos sensibles que detecten el microorganismo en la orina o en el tracto genital de portadores crónicos. Se ha descrito una amplia variedad de pruebas serológicas que muestran grados variables de especificidad de serogrupo y de serotipo. La prueba de la **Aglutinación microscópica** (MAT) (figura 35) y el **Enzimoimmunoanálisis** (ELISA) (figura 36) contribuyen al diagnóstico veterinario (OIE, 2013).

❖ Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT)

La Prueba de Aglutinación Microscópica (**MAT**) (figura 35) en la que se emplean antígenos vivos es la prueba serológica más ampliamente utilizada. Constituye la **prueba de referencia** frente a la que se evalúan todas las otras pruebas serológicas y se utiliza en las comprobaciones para la importación/exportación. Para obtener una sensibilidad óptima deben emplearse antígenos representativos de todos los serogrupos conocidos que existen en la región en la que se han encontrado los animales y, preferiblemente, cepas que representen a todos los serogrupos conocidos. La presencia de un serogrupo normalmente viene indicada por la reacción frecuente en la selección serológica pero solo puede identificarse definitivamente por el aislamiento de un serotipo procedente de animales afectados clínicamente. Se puede mejorar la sensibilidad de la prueba utilizando aislamientos locales en vez de cepas de referencia, pero las cepas de referencia ayudan en la interpretación de los resultados entre los laboratorios. La especificidad de la MAT es buena; normalmente los anticuerpos frente a otras bacterias no dan reacción cruzada con *Leptospira* de manera significativa. Sin embargo, existen reacciones serológicas cruzadas significativas entre serotipos y serogrupos de *Leptospira* y es probable que un animal infectado con un serotipo tenga anticuerpos frente al serotipo infectante que dé una reacción cruzada con otros serotipos (normalmente a un nivel más bajo) en la MAT. Por tanto, la serología no puede utilizarse para identificar definitivamente la identidad del serotipo infectante en una infección individual o en un brote, y requiere el aislamiento del agente. Sin embargo, en áreas donde los serotipos de *Leptospira* presentes se han descrito bien mediante estudios

de aislamiento, el examen serológico de los animales infectados puede sugerir, aunque no definitivamente identificar, el serotipo infectante. Además, los animales que han sido vacunados contra la leptospirosis pueden tener anticuerpos frente a los serotipos presentes en la vacuna utilizada. Por tanto, es especialmente importante considerar el **historial de vacunación** de los animales objeto de estudio (OIE, 2013).

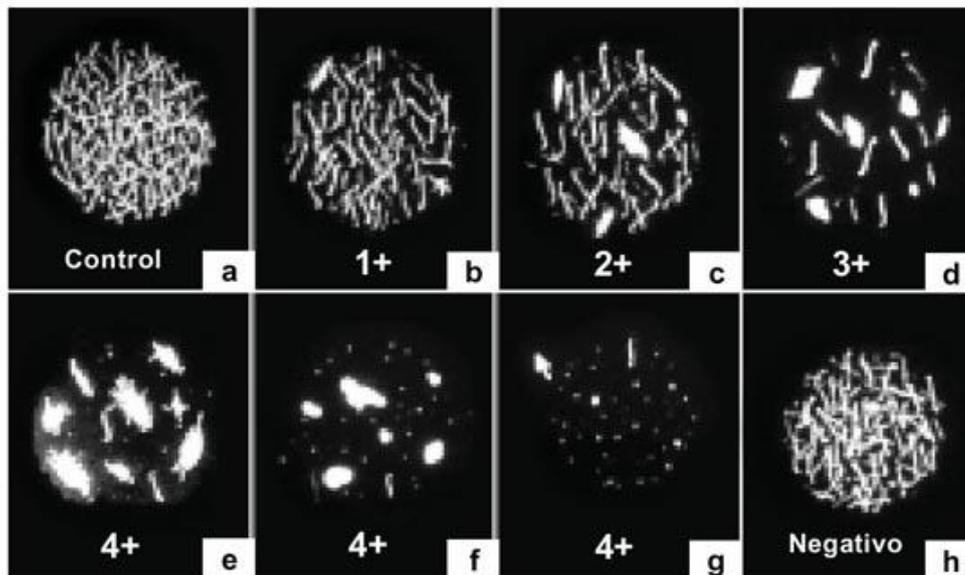


Figura 4. Reacciones de la prueba de aglutinación microscópica (MAT) **a:** lámina control; **b:** lámina con 25% de aglutinación (zonas como copos de algodón); **c:** lámina con 50% de aglutinación; **d:** lámina con 75% de aglutinación; **e:** lámina con 100% de aglutinación; **f:** lámina con 100% de aglutinación y lisis; **g:** lámina con 100% de lisis; **h:** lámina negativa.

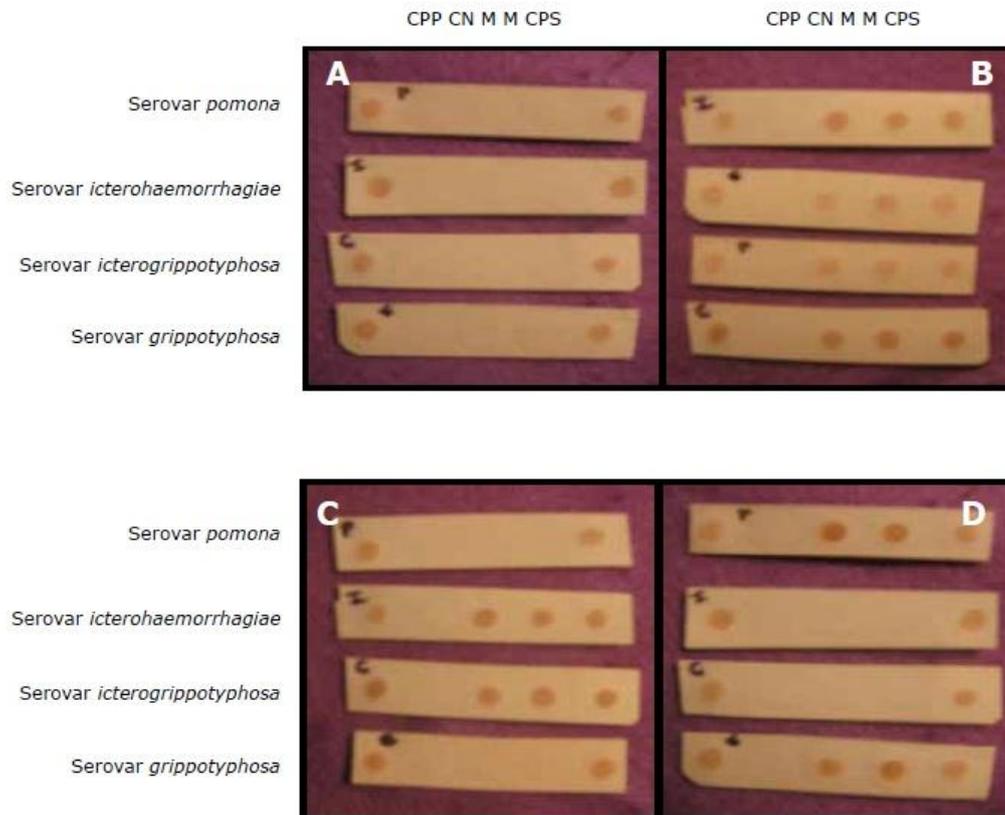
Figura 35. Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT).
Fuente: <http://www.scielo.org.pe>

❖ Enzimoimmunoanálisis (ELISA)

Los Enzimoimmunoanálisis (**ELISA**) (figura 36) para la detección de anticuerpos antileptospira se han elaborado empleando una serie de preparaciones antigénicas diferentes, protocolos de ensayo y programas de ensayo que incluyen pruebas en placa y pruebas con tiras reactivas. En general, los ELISA son bastante sensibles, pero no tienen la especificidad de serotipo de la MAT. El papel más importante asociado a ELISA en el ganado es la utilización de un ELISA de la **IgM** para la identificación de infecciones recientes y para la selección de rebaños en las regiones donde no se practica la vacunación para la leptospirosis. Un ELISA de Ig total es útil en la identificación de animales muy susceptibles que es conveniente para el trabajo de infección experimental. Se han elaborado también ensayos ELISA para la detección de anticuerpos del serotipo Hardjo en la leche de vacas aisladas o en un tanque de almacenamiento de leche. Estas pruebas han sido útiles en la identificación de rebaños infectados por Hardjo. Sin embargo, los rebaños que están

vacunados frente al serotipo Hardjo también darán resultados positivos en estos diferentes ELISA disminuyendo su utilidad en las regiones donde la vacunación es una práctica rutinaria (OIE, 2013).

Figura 1. Combinaciones del Dot-Elisa



A: Dot-Elisa negativo a todos los serovares. B: Dot-Elisa positivo a todos los serovares. C: Dot-Elisa positivo a *icterohaemorrhagiae* y *canicola*. D: Dot-Elisa positivo a *pomona* y *grippyphosa*. CP: control positivo de la peroxidasa. CN: control negativo. M: muestra. CPS: control positivo de los sueros hiperinmunes.

Fuente: elaboración propia.

Figura 36. Prueba de ELISA para detección de serovares de *Leptospira*.
Fuente: Medrano, Díaz y Dalmau (2011).

7.2. NEOSPOROSIS



Figura 37. Neospora caninum.

Fuente: <http://www.rvc.ac.uk/Review/Parasitology/Index/Index.htm> (Veterinary Diagnostic Parasitology).

Tabla 15. Clasificación Taxonómica de Neospora caninum.

Clasificación Taxonómica	
Dominio	Eucariota
Reino	Protozoa
Filo	Apicomplexa
Clase	Sporozoea
Orden	Eucoccidia
Familia	Sarcocystidae
Género	Neospora
Especies	Caninum

Fuente: Brock-Biología de los Microorganismos (10^o edición).

7.2.1. HISTORIA

La enfermedad fue reconocida por primera vez en el año 1984 con un reporte de Bjerkas y col., en Noruega en 6 perros Bóxer, los cuales presentaban encefalitis y miocarditis. 5 de estos perros desarrollaron alteraciones neurológicas de 2 a 6 meses después del nacimiento. En el estudio histopatológico se encontraron estructuras parasitarias parecidas a *Toxoplasma gondii* en el cerebro y en los músculos de los animales, sin embargo no se encontraron anticuerpos contra el *Toxoplasma* en el suero de los perros (Bjerkas y col., 1984).

Encontraron un parásito similar en 10 perros de Estados Unidos, distinguiéndolo de *Toxoplasma gondii* y proponiendo el nombre de *Neospora caninum*. logrando comprobar los postulados de Koch en esta especie. En el mismo año Dubey y col. Aislaron a *Neospora caninum* de perros con infección natural y lo cultivaron en ratones de laboratorio y en cultivos celulares, con lo que indujeron experimentalmente Neosporosis en los perros (Dubey, 1999).

Se desarrolló una prueba inmunohistoquímica para identificar antígenos de *Neospora caninum* en tejidos fijados en formalina amortiguada usando anticuerpos anti *Neospora caninum* provenientes de un conejo inoculado con el parásito, de esta manera hicieron posible realizar el diagnóstico de Neosporosis en animales (Lindsay y col., 1999).

Bjerkas y Dubey en 1991 compararon estructural y antigénicamente los parásitos encontrados en tejidos fijados en formalina en los perros de Noruega y de los Estados Unidos y llegaron a la conclusión de que la parasitosis originalmente descrita en perros en Noruega era *Neospora caninum*; sin embargo, ahora se sabe que la Neosporosis no es una enfermedad nueva, ya que Dubey y col. en 1988 y en 1990, realizaron un estudio retrospectivo inmunohistoquímico de tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina de los casos diagnosticados como infección por *Toxoplasma gondii* en tejidos de perros, e identificaron a *Neospora caninum* en animales que habían muerto en los Estados Unidos en 1957 y 1958, lo que indica que muchos de los casos que previamente habían sido diagnosticados como *Toxoplasma gondii*, eran en realidad una infección por *Neospora caninum*, debido a que ambos parásitos son muy similares morfológicamente a nivel histológico y no se sospechaba que se tratara de parásitos diferentes (Dubey, 1999).

Thilsted y Dubey en 1989 reportan su participación como causa de aborto en bovinos y un año después se demuestra la transmisión transplacentaria en caninos, felinos, ovinos y bovinos. En el año 1991 fue considerada como la mayor causa de abortos bovinos en el Estado de California. En 1993 Conrad y col. logran reproducir la enfermedad al inocular taquizoitos en bovinos en forma experimental.

Desde el punto de vista diagnóstico se reportó que las cepas aisladas en caninos son idénticas a las aisladas en bovinos. Con este hallazgo y el desarrollo de técnicas de diagnóstico inmunohistoquímico y de ELISA (Björkman y col., 1999) se amplían las herramientas diagnósticas. A pesar de los estudios realizados quedaban por definir algunos aspectos relacionados con el ciclo de vida del protozooario especialmente referentes con el huésped definitivo de la entidad, y aunque este tema fue elaborado desde 1988 por varios autores, solamente en 1998 se logra definir al perro como huésped definitivo al haber demostrado la presencia de ooquistes en materia fecal de animales alimentados con tejidos infectados de taquizoitos (Mc Allister y col., 1998).

En la siguiente tabla se muestran las distintas cepas de *Neospora caninum* que fueron aisladas en distintas partes del mundo, destacando que casi todas las cepas se aislaron de una muestra de cerebro, en tanto que en Argentina la cepa NC6-Argentina fue aislada de muestras de heces.

Tabla 16. Aislamientos de *Neospora caninum* a nivel mundial.

Denominación	País	Origen	Muestra	Referencia
NC-1	USA	Canino	Cerebro	Dubey y col., 1988
NC-3	USA	Canino	Cerebro	Cuddon y col., 1992
BPA-3	USA	Ternero	Cerebro	Barr y col., 1993
BPA-4	USA	Ternero	Cerebro	Barr y col., 1993
NC-Liv	Reino Unido	Canino	Cerebro	Barber y col., 1993
BPA-1	USA	Feto	Cerebro	Conrad y col., 1993
BPA-2	USA	Feto	Cerebro	Conrad y col., 1993
JPA-1	Japón	Ternero	Cerebro	Yamane y col., 1996
NC-SweB1	Suecia	Ternero	Cerebro	Stenlud y col., 1997
JPA-2	Japón	Ternero	Cerebro	Yamane y col., 1998
JPA-4	Japón	Ternero	Cerebro	Yamane y col., 1998
JPA-5	Japón	Ternero	Cerebro	Yamane y col., 1998
BT2	Japón	Ternero	Cerebro	Yamane y col., 1998
NC-LivB1	Reino Unido	Ternero	Cerebro	Davison y col., 1999
NC-PV1	Italia	Ternero	Cerebro	Magnino y col., 1999
NC-Beef	USA	Ternero	Cerebro	McAllister y col., 2000
KBA-1	Corea	Ternero	Cerebro	Kim y col., 2000
KBA-2	Corea	Feto	Cerebro	Kim y col., 2000
NC-GER1	Alemania	Canino	Cerebro	Peters y col., 2000
NC-Bahia	Brasil	Canino	Cerebro	Gondim y col., 2001
NC-Porto1	Portugal	Feto	Cerebro	Canada y col., 2002
NC6-Argentina	Argentina	Canino	Heces	Basso y col., 2001
NC7-Japón	Japón	Oveja	Cerebro	Koyama y col., 2001
NC-Nowra	Australia	Ternero	Cerebro	Miller y col., 2002
NC-Illinois	USA	Ternero	Cerebro	Godim y col., 2002
BNC-PR1	Brasil	Ternero	Cerebro	Locatelli- Dittrich y col., 2003

Fuente: Campero y col., 1996

7.2.2. DATOS EN EL URUGUAY

El primer antecedente que se tiene sobre la posible presencia de esta enfermedad en nuestro país se remonta a 1997, cuando se describe que el 20% de 414 perros de estancia de nuestro país eran positivos a la técnica de IFI (Inmunofluorescencia indirecta) para *Neospora caninum* (Repiso y col., 2004).

En 1999 la DILAVE (División de Laboratorios Veterinarios "Miguel C. Rubino") comunica los primeros diagnósticos de esta enfermedad, tanto en caninos como en bovinos, realizados por medio de técnicas de **Inmunohistoquímica** y **serológicas (IFI y ELISA)**, siendo diagnosticada en forma rutinaria a partir de esa fecha; siendo la causante del aborto en el 37% de los fetos bovinos remitidos al DILAVE, durante el período comprendido entre 1999 y 2000 (Repiso y col., 2004).

Tabla 17. Prevalencia serológica a Neospora por categoría de animales.

Categoría	Positivos	Negativos	Total
Vacas	314 (14.03%)	1923 (85.97 %)	2237
Vaquillonas	291 (13.05 %)	1939 (86.95 %)	2230
Total	605 (13.54 %)	3862 (86.23 %)	4467

Fuente: (Repiso y col., 2004).

Repiso y col. en 2004 evaluaron la distribución de la prevalencia de Neospora caninum por Departamento, llegando a la conclusión de que los departamentos con mayor presencia del protozooario son:

Tabla 18. Distribución de la prevalencia por establecimientos según los departamentos.

Departamentos	Porcentaje de establecimientos positivos
San José	100
Rivera	95
Treinta y tres	89
Salto	87
Tacuarembó	87
Durazno	85
Rocha	84
Soriano	84
Cerro Largo	82
Resto del país	70 o menos

Fuente: Repiso y col., 2004

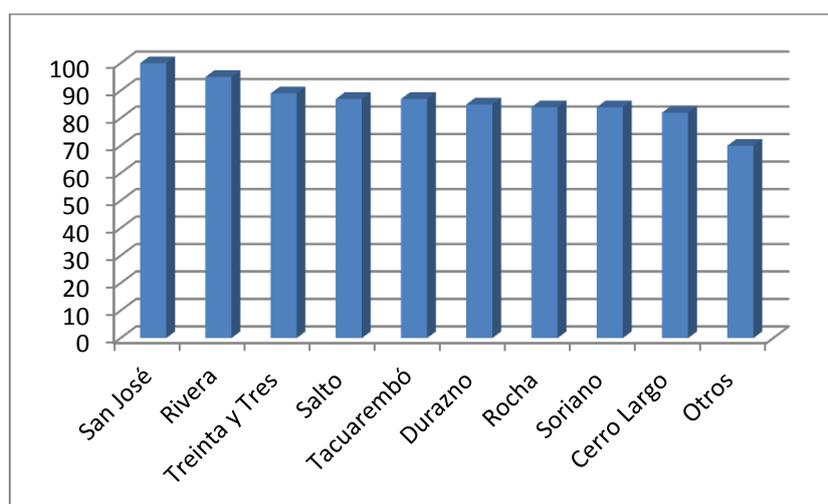


Figura 38. Gráfica mostrando el porcentaje de establecimientos positivos por Departamento. Fuente: Modificado de Repiso y col., 2004.

Tabla 19. Distribución de la prevalencia a Neospora por establecimientos.

% de animales positivos en cada establecimiento	Número de establecimientos
0%	52
<15%	100
16-25%	29
26-50%	34
51-80%	7
>80%	2

Fuente: (Repiso y col., 2004).

7.2.3. ETIOLOGÍA

La **Neosporosis bovina** es producida por un protozooario intracelular obligado, perteneciente al phylum Apicomplexa y a la familia Sarcocystidae, conocido con el nombre de **Neospora caninum**. Mediante la microscopía electrónica se pueden reconocer estructuras características de ese phylum como por ejemplo los micronemas, las roptrias y los gránulos densos. *Neospora caninum* es morfológicamente similar a *Toxoplasma gondii*, y está relacionado taxonómicamente a otros protozoarios formadores de quistes como *Hammondia heydorni* e *Isospora bigemina* (Dubey y Schares, 2006). Los estadios parasitarios reconocidos en su ciclo son: **taquizoíto** (figura 39), **bradizoíto** (figura 40) y **esporozoíto**. Los taquizoítos y bradizoítos se encuentran en hospedadores intermediarios (bovinos, ovinos, equinos, caprinos), mientras que los esporozoítos se eliminan en las heces del perro (hospedadores definitivos) (McAllister y col. 1998).

Los taquizoítos tienen forma de media luna o globular, miden de 3 a 7 μm de largo por 1 a 5 μm de ancho. Los bradizoítos tienen una replicación más lenta que los taquizoítos y están contenidos en quistes tisulares de forma redonda u oval. Asimismo, los bradizoítos miden hasta 107 μm y tienen una pared de 4 μm . Los taquizoítos y quistes tisulares son intracelulares. Los taquizoítos han sido detectados en neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miositos, células renales y hepatocitos (Dubey, 2003).

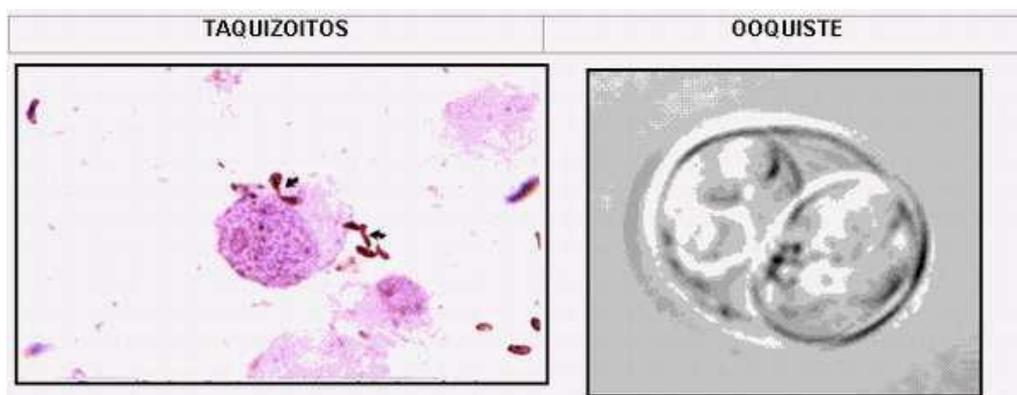


Figura 39. Taquizoítos y Ooquiste de *Neospora caninum*.

Fuente: <http://www.iberovet.cl>

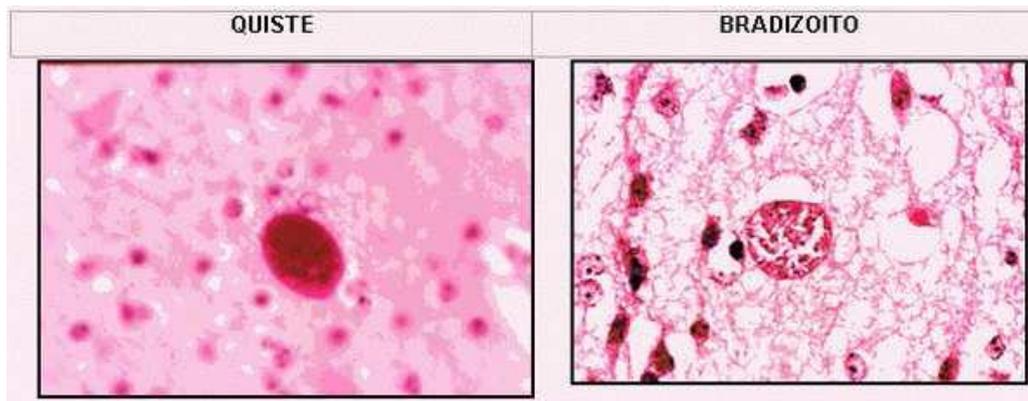


Figura 40. Quiste y Bradizoito de *Neospora caninum*.
Fuente: <http://www.iberovet.cl>

Los quistes tisulares (figura 39), han sido observados en el tejido nervioso y muscular (Dubey y Schares, 2006).

Por último, los ooquistes (figura 38) eliminados en las heces del hospedador definitivo son esféricos o subesféricos, miden 10 a 11 μm , no tienen color y contienen dos esporocistos con cuatro esporozoítos cada uno. Los estados enteroepiteliales en el perro no han sido descritos hasta el presente (McAllister y col. 1998).

Tabla 20. Resumen de las características morfológicas y biológicas de la familia Sarcocystidae.

Clasificación	Nombre	Características biológicas
Phylum	Apicomplexa	Formas invasivas con complejo apical.
Clase	Sporozoea	Locomoción de formas invasivas mediante movimientos de flexión, ondulación y deslizamiento.
Subclase	Coccidia	El ciclo biológico incluye merogonia, gametogonia y esporogonia.
Orden	Eucoccidia	La merogonia tiene lugar en hospedadores vertebrados.
Suborden	Eimeriina	Existe desarrollo independiente de gametos masculinos (microgametos) y femeninos (macrogametos).
Familia	Sarcocystidae	Parásitos heteroxenos y formadores de quistes en el hospedador intermediario (diferentes especies de herbívoros). El hospedador definitivo (diferentes especies de carnívoros) elimina ooquistes en las heces.

Fuente: Brock: Biología de los Microorganismos (10^o edición).

7.2.4. EPIDEMIOLOGÍA

En el ciclo de vida parasitario (figura 41) conocido hasta el presente los hospedadores definitivos (ej: caninos) adquieren la infección al ingerir tejidos de hospedadores intermediarios (ej: bovinos) conteniendo quistes. La pared del quiste es degradada por los jugos gástricos liberando las formas parasitarias que iniciarán los estados entero-epiteliales. Luego de realizar una fase de reproducción asexual y sexual en el intestino, los ooquistes son eliminados en las heces del hospedador definitivo. Los perros que consumen tejidos infectados pueden eliminar ooquistes manteniendo su condición de seronegativos. Por otro lado, un canino que se comporte como hospedador intermediario puede ser seropositivo y transmitir la infección verticalmente a sus cachorros o presentar miositis, parálisis y dermatitis (Dubey, 1999).

Los esporozoítos liberados en el aparato gastrointestinal del hospedador intermediario son capaces de alcanzar las vías sanguínea y linfática accediendo a todos los tejidos, no obstante sólo se ha informado la presencia de quistes en el sistema nervioso central (SNC) y el tejido muscular. Aunque el bovino puede infectarse por la vía oral siendo el ciclo de vida heteroxeno (Dubey, 1999), la principal vía de transmisión es la congénita (Anderson y col., 1996).

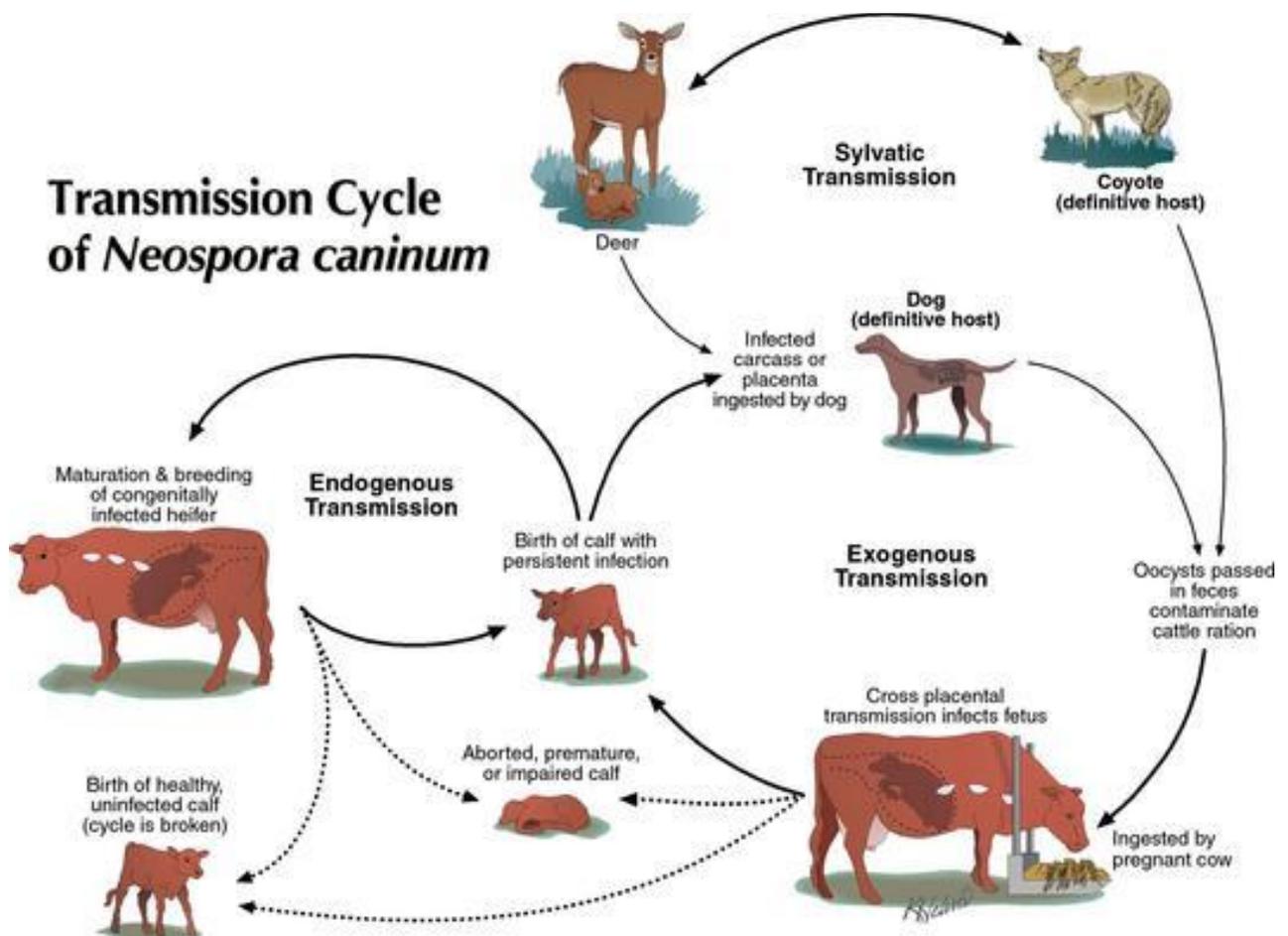


Figura 41. Ciclo Biológico de *Neospora caninum*.
Fuente: <http://www.wikispaces.com>

Si bien la transmisión vertical es la forma de infección más frecuente en bovinos, no explicaría el elevado número de hatos infectados. El hecho de haberse determinado que los bovinos pueden tener seroconversión por una exposición postnatal avala la importancia de la **transmisión horizontal** (Thurmond y col., 1990). Además, la transmisión vertical no sería un mecanismo suficiente para mantener la infección en una población bovina debido a que su eficiencia es inferior al 100% (Anderson y col., 2000).

Se evaluaron las rutas de transmisión natural de *Neospora caninum* entre perros de campo y bovinos en un estudio de casos y controles y se demostró que los perros en los tambos mostraban una tendencia a defecar en los silos y en las mezclas de ración, al igual que en la alfalfa fresca que era distribuída diariamente en los comederos (Anderson y col., 2000).

En una hembra bovina, luego de una infección oral (**infección exógena**) o por reactivación de quistes tisulares en estado de latencia adquiridos congénitamente (**infección endógena**), el parásito alcanza la vía sanguínea y es capaz de atravesar la placenta accediendo al feto. Luego de invadir el feto, puede ocasionarse el aborto o la transmisión vertical con nacimiento de un ternero clínicamente normal pero congénitamente infectado. El protozoario puede ser eliminado a través del semen en toros y su ácido desoxirribonucleico (ADN) ha sido ocasionalmente detectado en muestras de semen congelado (Dubey, 2003).

En el posparto o tras el aborto, la placenta con presencia de taquizoítos podría servir como fuente de infección para otra vaca que la ingiera (Thurmond y col., 1990). Sin embargo, dos terneros y dos vacas libres de *Neospora caninum* mantuvieron dicha condición luego de consumir placentas naturalmente infectadas. Gondim y col., 2004 han informado que otras especies de cánidos pueden comportarse como hospedadores definitivos y que otras especies, como por ejemplo los ciervos, pueden servir como hospedadores intermediarios, lo que avala la existencia de **ciclos de vida silvestre** de *Neospora caninum*.

7.2.5. PATOGENIA

Aunque la patogénesis de la neosporosis en el bovino es parcialmente conocida, se han logrado importantes avances para comprender los mecanismos involucrados en la muerte fetal o la transmisión vertical. Los bradizoítos alojados en los quistes tisulares del SNC en una hembra bovina gestante pueden reactivarse bajo ciertas influencias hormonales e inmunológicas originando parasitemia. Al producirse parasitemia, ya sea por reactivación de quistes latentes o como resultado de una infección oral, los taquizoítos no sólo atraviesan la placenta produciendo necrosis e inflamación sino que acceden a los tejidos fetales por vía sanguínea (Dubey, 2003).

En las células infectadas del feto, se inician procesos de multiplicación mediante endodiogenia que ocasionan daño celular con necrosis e inflamación, o se forman quistes tisulares capaces de persistir durante toda la vida del animal (Lindsay y col., 1999). Mecanismos hormonales e inmunes maternos ocurridos durante la gestación, sumado al desarrollo del sistema inmune fetal actuarían determinando si la infección desencadena la muerte del feto, el nacimiento de un ternero congénitamente infectado o el nacimiento de un ternero libre de infección (Williams y col., 2000).

Aunque se ha estimado que transcurren 3–4 semanas entre la infección fetal y el aborto, la gestación puede concluir con el nacimiento de un ternero infectado, que en caso de ser hembra, transmitirá la enfermedad a su descendencia, teniendo también alto riesgo de abortar (Barr y col., 1995). La reactivación de una infección latente estaría asociada a un eficiente mecanismo de transmisión vertical más que a un proceso que desencadene el aborto, al menos en rodeos endémicamente infectados. Como contraparte, la manifestación **epizoótica** de la enfermedad está asociada a la presentación de tormentas de abortos en animales infectados horizontalmente (McAllister y col., 1998).

7.2.6. PATOLOGÍA

El **aborto** (figura 42) es el único signo clínico observado en las vacas infectadas, el cual se presenta a partir de los **3 meses** de gestación (generalmente entre los 4 y 6 meses); aunque también se puede presentar una disminución en la producción de la leche durante la primera lactancia, produciendo aproximadamente 1 litro menos de leche por vaca y por día que las vacas no infectadas, lo que aumenta la posibilidad de que sean eliminadas del rodeo a una edad menor (Williams y col., 2000).

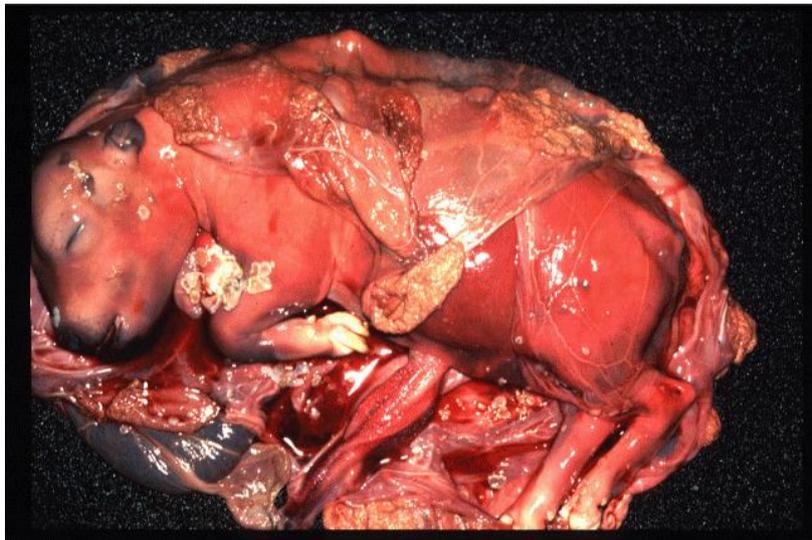


Figura 42. Aborto por *Neospora caninum*.

Fuente: <http://www.planagro.com.uy/publicaciones/libros/forocria.html>

Los fetos pueden fallecer dentro del útero, con reabsorción, momificación (figura 43 y 44) o expulsarse con un grado importante de autólisis (Williams y col., 2000).



Figura 43. Momificación fetal.
Fuente: <http://www.jairoserrano.com>



Figura 44. Momificación fetal.
Fuente: <http://www.jairoserrano.com>

La enfermedad también se asocia a partos prematuros de terneras vivas y con bajo peso al nacer. La infección congénita también se puede manifestar con ataxia, pérdida de la propiocepción consciente, parálisis y otros déficits neurológicos en las terneras recién nacidas, aunque la mayor parte de las terneras con infección congénita son clínicamente normales (Radostits y col., 1999).

7.2.7. DIAGNÓSTICO

Los métodos de diagnóstico pueden ser **directos** e **indirectos**. Para lograr el diagnóstico definitivo es necesario el **aislamiento** de *N. caninum*.

La identificación de *N. caninum* en los tejidos de fetos o terneros perinatales, mediante técnicas directas, ofrecen mayor certeza para el diagnóstico. Las técnicas directas usadas son: la **histopatología**, la **inmunohistoquímica**, el **PCR** y los **aislamientos in vitro**. El análisis histopatológico de los tejidos fetales es uno de los más relevantes para el diagnóstico de la neosporosis. Los órganos adecuados para la toma de muestras en orden de importancia son: el **cerebro**, el **corazón** y el **hígado** (Venturini y col., 1999).

El diagnóstico de la infección por *N. caninum* en las vacas, se basa en el análisis del suero sanguíneo para detectar la presencia de anticuerpos específicos (técnicas indirectas). Las técnicas más usadas son la **inmunofluorescencia indirecta** (IFI) y las **técnicas inmunoenzimáticas** (ELISAs). Estas pruebas son valiosas para el diagnóstico de rodeo pero menos útiles para el diagnóstico individual, como en los casos de aborto. El hallazgo de anticuerpos contra *N. caninum* en vacas que abortaron no confirma que la neosporosis haya sido la causa. En rodeos donde la neosporosis es enzoótica, las vacas que paren normalmente pueden ser reactoras positivas. Es recomendable analizar simultáneamente suero de vacas con y sin antecedentes de aborto, para poder comparar además de la presencia de anticuerpos el nivel de los mismos. En la mayoría de los casos, los títulos son mayores en vacas que abortaron por *Neospora* (Venturini y col., 1999).

Los fetos abortados aparecen frecuentemente **momificados** y en ocasiones **autolíticos**. Macroscópicamente en los fetos abortados se aprecian lesiones a nivel de los cotiledones de la placenta, que presentan edema y focos blanquecinos correspondientes a zonas de necrosis a veces calcificadas, acompañado microscópicamente de placentitis no supurativa, donde en algunas ocasiones es posible observar taquizoítos dentro de los trofoblastos (Pérez y col., 1999).

Las alteraciones microscópicas se pueden apreciar en varios tejidos, pero principalmente a nivel del **SNC**, músculo estriado incluyendo el **corazón** y en el **hígado**. Otros órganos menos afectados son los riñones, los pulmones, el páncreas y las glándulas adrenales (Schaes y col., 1997).

A nivel del **SNC**, se aprecia una encefalomiелitis multifocal no supurativa (figura 45) con zonas de malacia, proliferación de microglia y astrocitos, a veces acompañados con hemorragias, mineralización y focos de meningitis (Schaes y col., 1997).

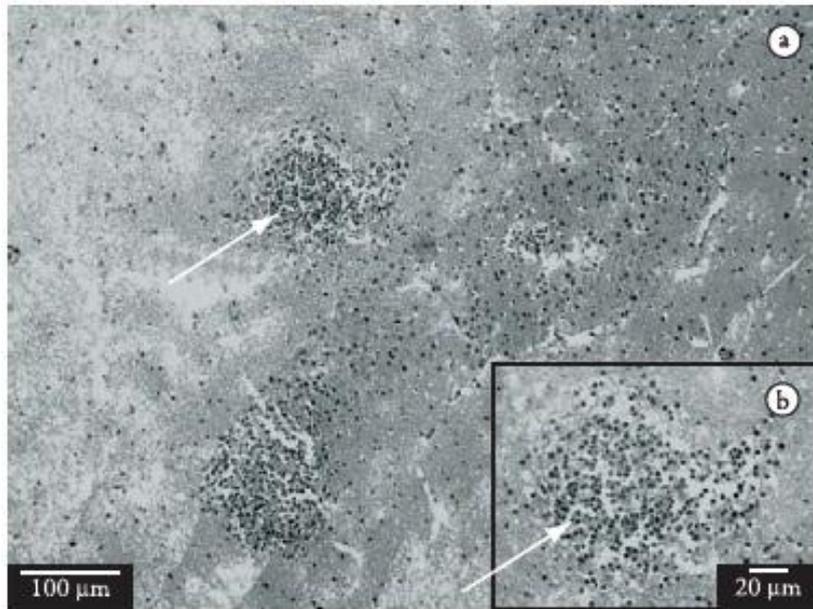


Figura 45. Encefalitis multifocal necrotizante no supurativa en el cerebro de un feto abortado de bovino. Fuente: <http://www.scielo.br>

En el **corazón**, se aprecia miocarditis focal o difusa no supurativa (figura 46), acompañado de fibras musculares degeneradas o con necrosis e incluso calcificación. El músculo estriado se afecta con una polimiositis multifocal no supurativa (Schaes y col., 1997).

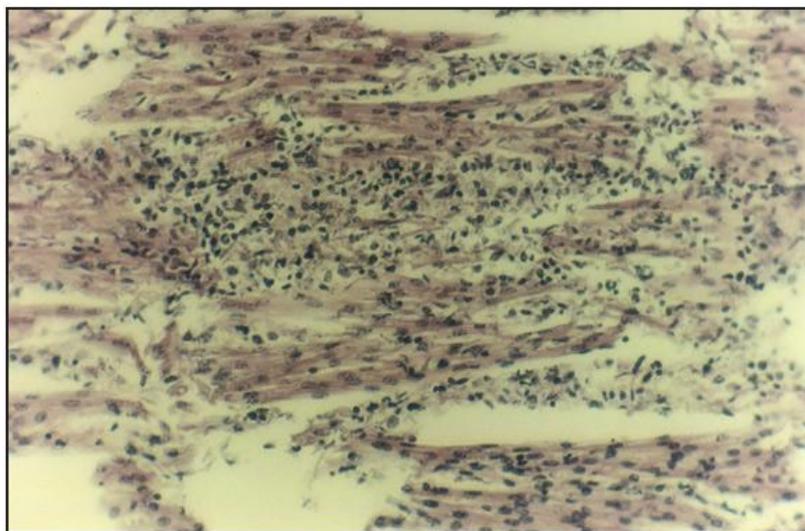


Figura 46. Miocarditis no purulenta. Necrosis e infiltrado de células mononucleares en miocardio (H y E, 20x). Fuente: <http://www.scielo.org.ar>

En el **hígado**, puede presentarse una hepatitis no supurativa difusa, a veces con zonas de necrosis focales o difusas, pudiendo existir congestión pasiva crónica, con venas centrolobulillares dilatadas y sinusoides degenerados (Schaes y col., 1997).

En los nódulos linfáticos es evidente la hiperplasia con folículos linfoides activos. En otros órganos afectados, el cuadro que se aprecia es similar, una inflamación con infiltrado celular que en su mayoría es mononuclear (Pérez y col., 1999).

Algunas veces se pueden observar reacciones inflamatorias de tipo granulomatoso alrededor de algunos quistes degenerados y bradizoítos, lo que sugiere que se produjo la rotura de dichos quistes que inducen este tipo reacción inflamatoria. La observación de los parásitos en los fetos abortados es difícil, por diversos factores, y solo es posible con técnicas de inmunohistoquímica (Dubey, 2003).

Los terneros infectados que logran nacer, presentan focos de malacia en el SNC que pueden ser observados macroscópicamente. Las lesiones en el tejido nervioso son similares a las observadas en los fetos abortados, con la excepción de que son más frecuentes en la médula espinal. También es apreciable la encefalomielitis no purulenta, acompañada de zonas de necrosis, vacuolización de las neuronas, degeneración de los axones neuronales y focos de gliosis, estas lesiones son también vistas en nervios espinales. La observación de taquizoítos y quistes en las lesiones de estos animales es más frecuente (Pérez y col., 1999).

➤ PRUEBAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

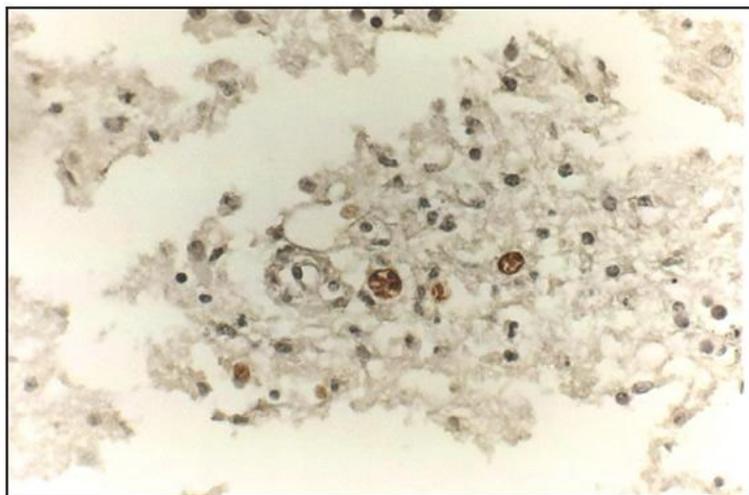


Figura 47. Corteza cerebral. Inmunomarcación de *Neospora caninum* en área de gliosis y en la periferia de un pequeño vaso sanguíneo. Anticuerpo policlonal anti-*Neospora caninum*, sistema inmunoenzimático LSAB+System-HRP, cromógeno diaminobenzidina (40x). Fuente: <http://www.scielo.org.ar>

➤ PRUEBAS SEROLÓGICAS

La identificación de anticuerpos a *Neospora caninum* en un animal es indicativa de exposición al protozoo. Diversas pruebas serológicas tales como: la **inmunofluorescencia indirecta** (IFI), el **enzoinmunoanálisis** (ELISA) y la **microaglutinación** (MA) han sido utilizadas para demostrar anticuerpos en el suero o en el fluido corporal de los fetos abortados (Dubey, 1999).

❖ INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)

La IFI (figura 48) preserva la morfología del parásito y detecta antígenos de membrana no existiendo reacción cruzada con *Sarcocystis* spp. Para diluciones séricas de 1:25 a 1:640, la sensibilidad y especificidad de la prueba varía de 82.4 a 97 % y 85.7 a 90 % respectivamente. Sin embargo, se ha sugerido utilizar una dilución de 1:200 para maximizar la sensibilidad (Riechel y Drake, 1996). Un reciente trabajo describe la dificultad de encontrar sueros verdaderamente negativos mediante pruebas serológicas de IFI, MA y ELISA, proponiéndose una dilución sérica de 1:25 para demostrar la exposición a *Neospora caninum* (Venturini y col., 1999).

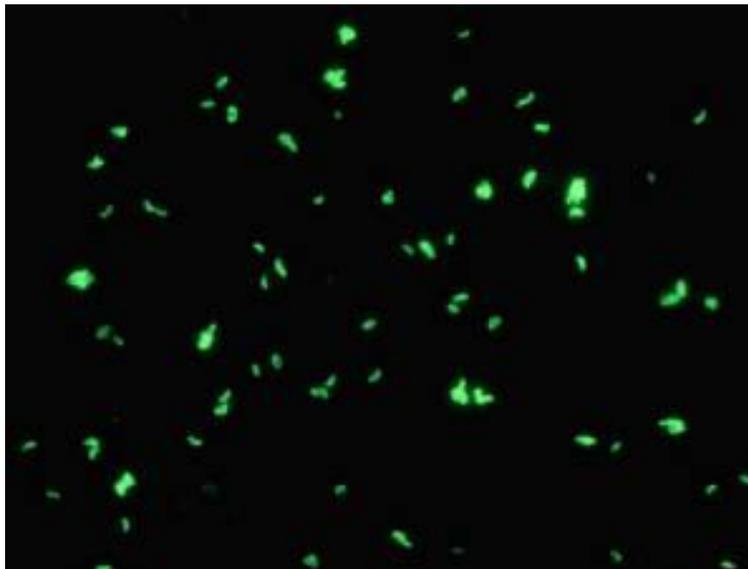


Figura 48. Test de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se observan taquizoitos coloreados con fluoresceína para determinación de anticuerpos en suero. Fuente: <http://www.utu.edu.uy>

La interpretación de un resultado serológico es difícil por la variación que los niveles de anticuerpos poseen en hembras bovinas gestantes congénitamente infectadas tendiendo a incrementarse en el último trimestre de la gestación y decreciendo después del parto o aborto. Una vaca gestante seropositiva tiene mayor riesgo de abortar aunque también altos títulos podrían indicar protección fetal y que otros agentes estuviesen involucrados como causa de un eventual aborto. El hallazgo de anticuerpos en el suero de un ternero sin mamar calostro, o en el líquido de cavidades de un feto abortado, indica infección con *Neospora caninum* (Barr y col., 1995).

❖ ENZIMOINMUNOANÁLISIS (ELISA)

El **ELISA** ha sido ampliamente utilizado en el serodiagnóstico de la neosporosis. La facilidad para procesar un gran número de muestras, la obtención de una sensibilidad y especificidad superiores a las obtenidas con la IFI, sumado a la falta de subjetividad cuando se debe emitir un resultado, hacen confiable a esta prueba (Paré y col., 1997).

El título de corte o el valor de absorbancia asignado a una prueba es motivo de controversia ya que depende de factores tales como composición del antígeno, anticuerpos identificados y de los conjugados utilizados. Un determinado título o valor de corte debería ajustarse a cada circunstancia o situación epidemiológica (Dubey, 1999).

La utilización de antígenos solubles obtenidos por destrucción del parásito al sonicar o congelar y descongelar, disminuye la especificidad de la prueba, resultando seropositivos a NC terneros experimentalmente inoculados con *Sarcocystis* spp. También, se ha detectado reacción cruzada entre NC y *Toxoplasma gondii* (Uggla y col., 1987).

Empleando extractos de proteínas a partir de taquizoítos que fueron incluidos en complejos inmunoestimuladores, se incrementó la especificidad del ELISA, lográndose así, disminuir el número de proteínas intracelulares causantes de uniones inespecíficas o reacciones cruzadas. La especificidad de la prueba fue también incrementada por la utilización de un ELISA de competición que caracterizó anticuerpos monoclonales reaccionantes con antígenos inmunodominantes de 65kDa (Baszler y col., 1996).

➤ **MICROAGLUTINACIÓN (MA)**

La **microaglutinación** es una prueba serológica relevante en el diagnóstico de la neosporosis. No requiere conjugados de difícil adquisición y permite analizar sueros de varias especies simultáneamente. Tiene alta repetibilidad entre operarios, es barata, de fácil lectura, utiliza poco equipamiento y materiales (Romand y col., 1998).

7.2.8. SITUACIÓN DE LA NEOSPOROSIS BOVINA EN EL URUGUAY (Bañales y col., 2011)

En ganado de carne, un estudio transversal realizado por la DILAVE (División de Laboratorios Veterinarios "Miguel C. Rubino") – INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria), sobre 4.444 muestras de bovinos pertenecientes a 229 establecimientos distribuidos en todos los departamentos del país excluido Montevideo, estimó una seroprevalencia de 13.9 % \pm 2.4 (CI 95 %), y presencia en el 69.2 % \pm 15.5 (CI 95 %) de los establecimientos productores de carne. No se observaron diferencias significativas en las prevalencias entre vacas (14.3 %) y vaquillonas (12.9 %), sugiriendo que la principal ruta de transmisión es la vertical (transplacentaria).

Facultad de Veterinaria – INIA realizaron un estudio transversal en la cuenca lechera Sur del Uruguay entre los años 2001 y 2003 en 117 predios lecheros de los departamentos de Florida, San José y Colonia. La estimación de la seroprevalencia estimada para bovinos lecheros fue de 22 % (vacas seropositivas), siendo su intervalo de confianza (IC 95%) de 16,8% - 27,2%. La difusión de *N. caninum* en los rodeos lecheros de la cuenca estudiada alcanzó al 92% (85%-99%) de rodeos con al menos un bovino seropositivo.

El estudio serológico en perros de tambos se realizó sobre 84 establecimientos lecheros en los que fueron muestreados todos los perros totalizando 212 muestras

de sueros. La estimación de la seroprevalencia para *N. caninum* en perros alcanzó el 41% (34,3% - 47,8 %). La difusión de la seropositividad en perros a *N. caninum* en los rodeos lecheros de la cuenca estudiada fue de 62,8 % (Intervalo de Confianza del 95%, rango de 52-74%).

No se encontró asociación entre la seroprevalencia en los bovinos, el número de perros, así como su estatus serológico. Se observó una asociación entre la edad de los perros y el estatus serológico frente a *N. caninum*, con mayor probabilidad de seropositividad a medida que aumenta la edad del perro, evidenciando la existencia de exposición al agente y la importancia de la **transmisión horizontal** en la infección de los perros en la cuenca lechera estudiada.

7.3. DIARREA VIRAL BOVINA (DVB)

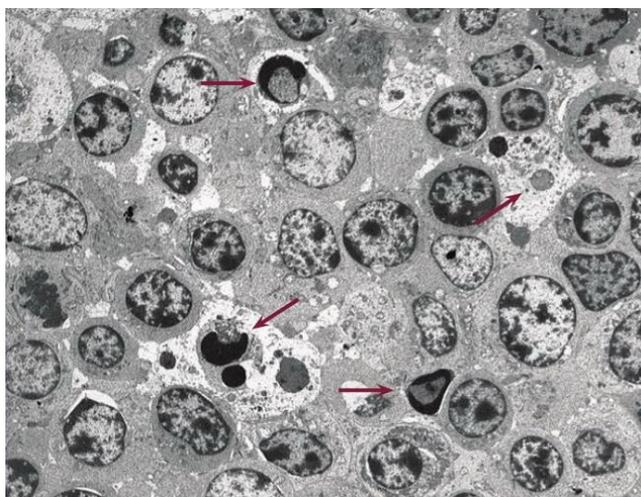


Figura 49. Imagen ultraestructural (Microscopio Electrónico de Transmisión) de un folículo linfóide en las Placas de Peyer del íleon de animales que sufren una infección experimental aguda con el vDVB. Obsérvese la presencia de abundantes imágenes de apoptosis de los linfocitos, caracterizada por la condensación y marginación de la cromatina (flecha) y la fragmentación del núcleo y del citoplasma (cuerpos apoptóticos) (cabeza de flecha). Fuente: <http://www.albeitar.portalveterinaria.com>

Tabla 21. Clasificación Taxonómica del virus de la Diarrea Viral Bovina (DVB).

Clasificación Taxonómica	
Grupo	Grupo IV (virus ARN monocatenario sentido positivo)
Familia	Flaviviridae
Género	Pestivirus
Especies	DVB 1 Pestivirus tipo 1 DVB 2 Pestivirus tipo 4

Fuente: Brock-Biología de los Microorganismos (10^o edición)

7.3.1. HISTORIA

Este virus fue reconocido por primera vez en los Estados Unidos por Olafson y col., 1946, al detectar en hatos un síndrome agudo caracterizado por fiebre, diarrea, anorexia y tos. Ramsay y Chivers en 1953, describieron una enfermedad esporádica caracterizada por diarrea profusa, emaciación, ulceraciones en la mucosa del tracto alimenticio y una mortalidad del 100%. Luego, se determinó que el mismo virus era el responsable de los dos síndromes. A finales de los 60's se describieron dos biotipos del virus: el citopático (cp) y el no citopático (ncp), caracterizados por su habilidad para causar efecto citopático y muerte celular en cultivos celulares in vitro. El biotipo cp induce destrucción masiva celular mediante la formación de vacuolas citoplasmáticas llevando a la muerte de las células pocos días después de la infección, a diferencia del biotipo ncp que no induce ningún efecto aparente en el cultivo (Birk y col., 2008).

Los avances en secuenciación genética a finales de los ochenta permitieron establecer dos genotipos: el 1 y 2, caracterizados por diferencias en la región 5' UTR y en la región que codifica para la proteína E2 principalmente. El genotipo 2, el cual surgió en Norte América y Canadá se correlaciona con sintomatología hemorrágica y alta mortalidad. De esta manera, en la naturaleza existen 2 biotipos y 2 genotipos. Adicionalmente, cada genotipo presenta subgenotipos los cuales muestran una homología entre sí del 80 al 85%. En la actualidad se han reportado en la literatura 11 subgenotipos de BVDV tipo 1 (a-j) y 2 subgenotipos del BVDV- 2 (a y b). Esta diversidad genética del BVDV está asociada con la propensión de los virus RNA a modificaciones genómicas como mutaciones y recombinaciones (Bolin y Grooms, 2004).

7.3.2. DATOS EN EL URUGUAY

En nuestro país, si bien la DVB fue sospechada clínicamente desde antes de la década del 80, recién en el año 1996, se comunicó su detección por técnicas de **Inmunohistoquímica** e **Inmunoperoxidasa**. Diversos estudios serológicos, tanto en ganado de carne como de leche, han estimado la prevalencia de la infección en el país entre un 97 y un 100% en establecimientos y entre un 60 y 72% a nivel individual (Gil y col., 2000).

Recientemente se han analizado varios aislamientos por técnicas moleculares y comparado con diversas cepas publicadas, principalmente provenientes de la región, observándose una alta homología entre algunas cepas de nuestro país y de Argentina, implicando un origen común en las variantes actuantes. A partir de estos estudios se ha podido comprobar también la presencia por primera vez en nuestro país de las cepas del genotipo 2 (Guarino, 2000).

Tabla 22. Relación entre prevalencia a DVB por categorías, según tamaño del establecimiento

Animales	Toros	Vaquillonas	Vacas
Hasta 100	33.3 (15.6–51.0)	67.1 (51.6–82.6)	63.5 (38.6–88.5)
De 100 a 300	48.4 (33.4-63.5)	65.3 (56.6–74.0)	71.1 (60.2–82.0)
De 300 a 1000	62.1 (52.7–71.4)	80.9 (75.4–86.5)	76.6 (69.8–83.3)
Más de 1000	54.6 (46.5–62.7)	70.5 (64.7–76.3)	65.0 (56.4–73.7)

Fuente: (Repiso y col., 2004).

Tabla 23. Relación entre vacunación y antecedentes de DVB en los establecimientos (n=229)

Vacuna DVB	Antecedentes de DVB	
	Tiene	No tiene
SI	48,8%	1,4%
NO	51,2%	98,6%

Fuente: (Repiso y col., 2004).

7.3.3. ETIOLOGÍA

El virus de la diarrea viral bovina (**vDVB**) (figura 50) pertenece al género Pestivirus de la familia Flaviviridae. Son virus envueltos, esféricos y miden 40 a 60 nm de diámetro. Se componen de una cadena simple de **ARN** compactado por una cápside proteica, rodeada por una membrana fosfolipídica con tres glicoproteínas ancladas a ella (Nettleton y Entrican, 1995).

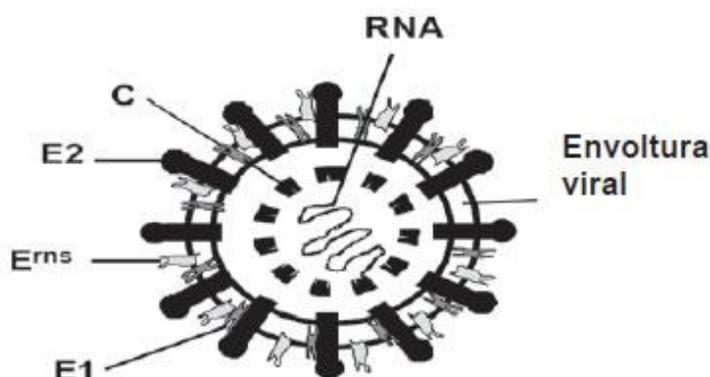


Figura 1. Representación esquemática del virión del BVDV. El BVDV está constituido por 3 proteínas de envoltura (Erns, E1 y E2) y la proteína de la cápside viral la cual empaqueta el ARN genómico.

Figura 50. Representación esquemática del virus de la DVB.

Fuente: <http://www.scielo.org.co>

La principal característica de este virus es su **variabilidad genética y antigénica**. La característica principal de un virus ARN es su plasticidad y ésta se debe a la falta de una exonucleasa eficiente para corregir las bases mal incorporadas, ocasionando una sustitución de base de alta frecuencia (1 error por cada 10.000 nucleótidos polimerizados). El vDVB usa esta estrategia para sobrevivir, originando **cepas mutantes** que escapan a la respuesta inmunológica del hospedador. El **cruce de especies** crea otra oportunidad para la diversificación, ya sea por adaptación al nuevo hospedador o por evolución divergente. Sin embargo, el vDVB aislado de cerdos y ovejas tiene características biológicas y antigénicas similares a los aislados del bovino (Paton, 1995).

Otra posible causa para la variabilidad es la oportunidad para la mutación que ofrecen los prolongados períodos de replicación en animales persistentemente infectados (**PI**); sin embargo, esta última posibilidad no parece suceder con el vDVB. Bolin y Ridpath (1992) demostraron que nuevas variantes antigénicas se originan durante el pasaje del virus en bovinos susceptibles que desarrollan una infección aguda. Esto sugiere que, mientras los **animales PI** son más importantes como **reservorios**, los animales con **infección aguda** pueden ser más importantes para la generación de **nuevas variantes antigénicas**. Las consecuencias de esta diversidad se reflejan en el espectro de manifestaciones clínicas y lesiones, dificultando además, su diagnóstico y limitando el espectro de protección brindada por el empleo de vacunas monovalentes (Paton, 1995).

La clasificación del vDVB es difícil, debido a su variabilidad genética y antigénica y a su estrecha relación con otros miembros del género Pestivirus (el virus de la peste porcina clásica y el virus de Border disease). Los hospedadores en que eran aislados los Pestivirus fueron las bases iniciales para su subdivisión. Así, los Pestivirus que eran aislados del cerdo, ovino y bovino se los clasificaba como virus de la peste porcina clásica, virus de Border disease y vDVB, respectivamente. Sin embargo, este criterio de clasificación es poco fiable debido a que los Pestivirus cruzan fácilmente la **barrera de especie** (Nettleton y Entrican, 1995).

Según sus efectos en los cultivos celulares, los Pestivirus se dividen en biotipos **citopáticos (CP)** (figura 51) y **no citopáticos (NCP)** (figura 51). Los virus CP ocasionan vacuolización y muerte celular, los virus NCP no ocasionan cambios visibles en el cultivo celular y la célula infectada parece normal. Esto no implica que los biotipos NCP sean no patogénicos; por el contrario, es el biotipo predominante en la naturaleza, aislado de la mayoría de las formas clínicas y el único capaz de originar **infección persistente** (Deregt y Loewen, 1995). El biotipo CP se aísla únicamente de animales con enfermedad de las mucosas y se originan por mutación a partir del biotipo NCP; ya sea por depleción de fragmentos del genoma viral, inserción de fragmentos de ARN celular o duplicación y reordenamiento del ARN viral (Meyers y col., 1996).

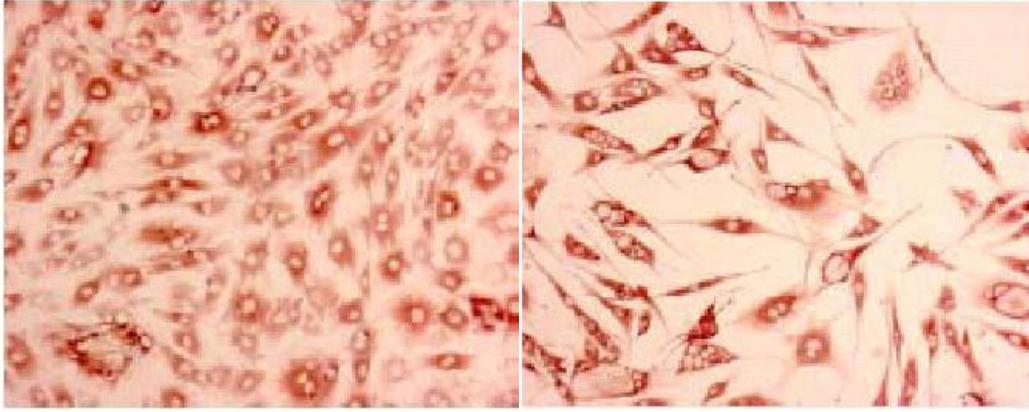


Figura 51. Cepas del virus de la DVB. A la izquierda – cepa no citopática (NCP); a la derecha – cepa citopática (CP). Fuente: <http://www.scielo.org.co>

Hay considerables variaciones en la virulencia de las distintas cepas aisladas del vDVB, las infecciones pueden ser inaparentes o tener un desenlace fatal, pero no se han identificado marcadores de virulencia que permitan un sistema de clasificación de las cepas de campo en base a su patogenicidad (Paton, 1995).

El empleo de anticuerpos monoclonales permiten ver diferencias antigénicas sutiles y clasificar a los Pestivirus en 4 grupos: virus de la peste porcina clásica, virus de Border disease del ovino, y el **Genotipo 1** y **Genotipo 2** del vDVB, de los que el genotipo 1 del vDVB puede ser dividido en al menos 11 genogrupos y es muy probable que nuevos genogrupos sean revelados en futuros análisis (Vilcek y col., 2001).

7.3.4. EPIDEMIOLOGÍA

Las enfermedades causadas por el virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) han sido detectadas en la mayoría de los países en donde ha proliferado en el ganado vacuno, con una tendencia a ser endémica en la mayoría de las poblaciones bovinas. La mayoría de las encuestas en los diferentes países alcanza niveles de 0,5 a 2% de bovinos persistentemente infectados (PI) y 60 a 80% de bovinos seropositivos (Houe, 1999).

El vDVB da lugar a una serie de enfermedades:

- Infección benigna: diarrea viral bovina, habitualmente subclínica.
- La enfermedad de las Mucosas que es mortal, que aparece en los animales con viremia persistente y en los animales inmunotolerantes como consecuencia de una infección adquirida al comienzo de la vida fetal.
- Diarrea hiperaguda de gran mortalidad.
- Trombocitopenia y enfermedad hemorrágica.
- Insuficiencia reproductiva.
- Malformaciones congénitas en las terneras como consecuencia de la infección fetal en la mitad de la gestación.
- Inmunodepresión
(Radostits y col., 1999).

En cuanto a los hospedadores, los Pestivirus infectan naturalmente sólo a los **ungulados** del **Orden Artiodáctila**. Dentro de este orden se encuentran los porcinos, **bovinos**, ovinos, caprinos, alpacas, llamas, camellos, búfalos de agua y rumiantes silvestres. Estas consideraciones deben tomarse en cuenta a la hora de implementar un programa de control, ya que los Pestivirus cruzan la barrera de especie (Nettleton y Entrican, 1995).

La principal fuente de infección y reservorio del virus en la naturaleza son los **bovinos PI**. Ellos eliminan continuamente durante toda su vida grandes cantidades de virus por la secreción nasal, la saliva, la orina, la materia fecal, las lágrimas, el semen y la leche. Los animales con infección aguda también son fuente de infección, aunque menos eficiente, ya que eliminan el virus en cantidades más bajas y por cortos períodos (Houe, 1995).

La transmisión puede ser **vertical** u **horizontal**, por contacto **directo** o **indirecto**. En la **transmisión vertical** (figura 52), la infección transplacentaria ocurre en hembras susceptibles infectadas durante la preñez. Si el feto es infectado por biotipos NCP antes de adquirir competencia inmunológica (antes del **día 125** de gestación, aproximadamente) desarrollará una **infección persistente**. Pese a la elevada tasa de mortalidad de los animales PI en su primer año de vida (más de 50%), muchos alcanzan la madurez sexual y se reproducen. Las hembras PI siempre dan terneros PI. La transmisión vertical también ocurre luego de la transferencia embrionaria si el recipiente es PI, o la vaca donante es PI y no se realiza el correcto lavado del embrión. En cuanto a la **transmisión horizontal** (figura 53), el contacto directo con animales PI, especialmente contacto nariz–nariz, es el modo más eficiente de transmisión en condiciones naturales. El contacto directo con animales que cursan una infección aguda también puede transmitir el virus (Houe, 1995 y 1999).

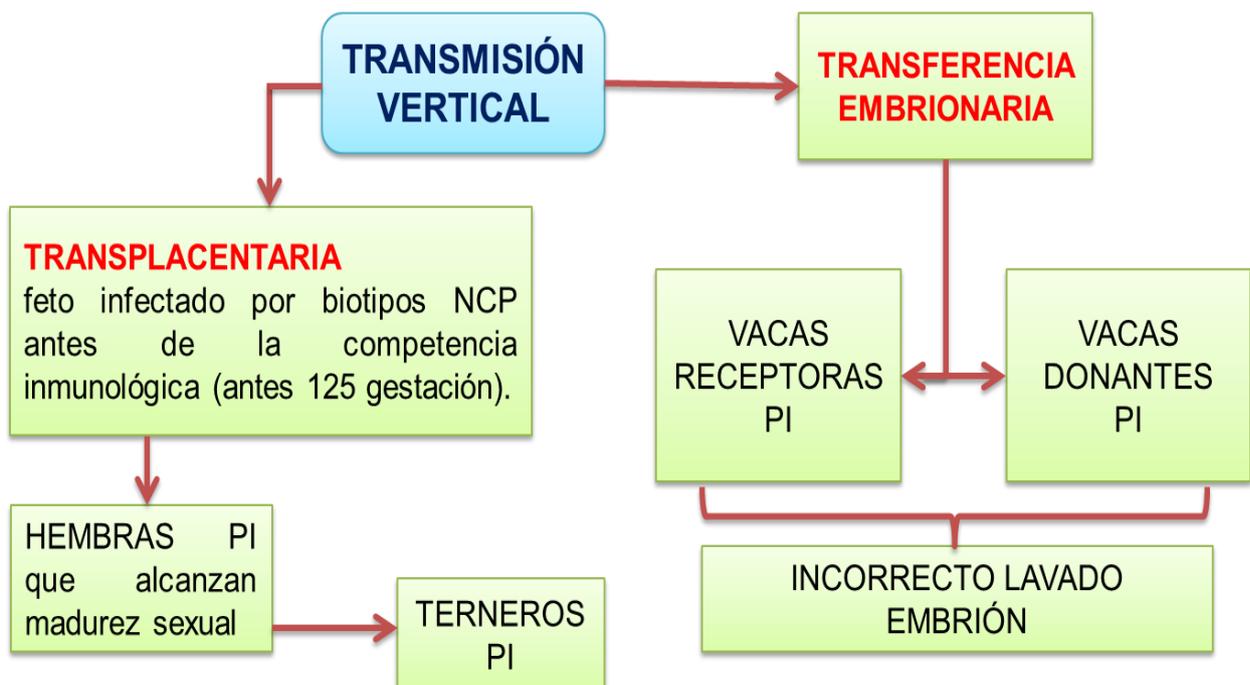


Figura 52. Transmisión vertical del virus de la DVB. Fuente: Br. Gabriel Mosca.

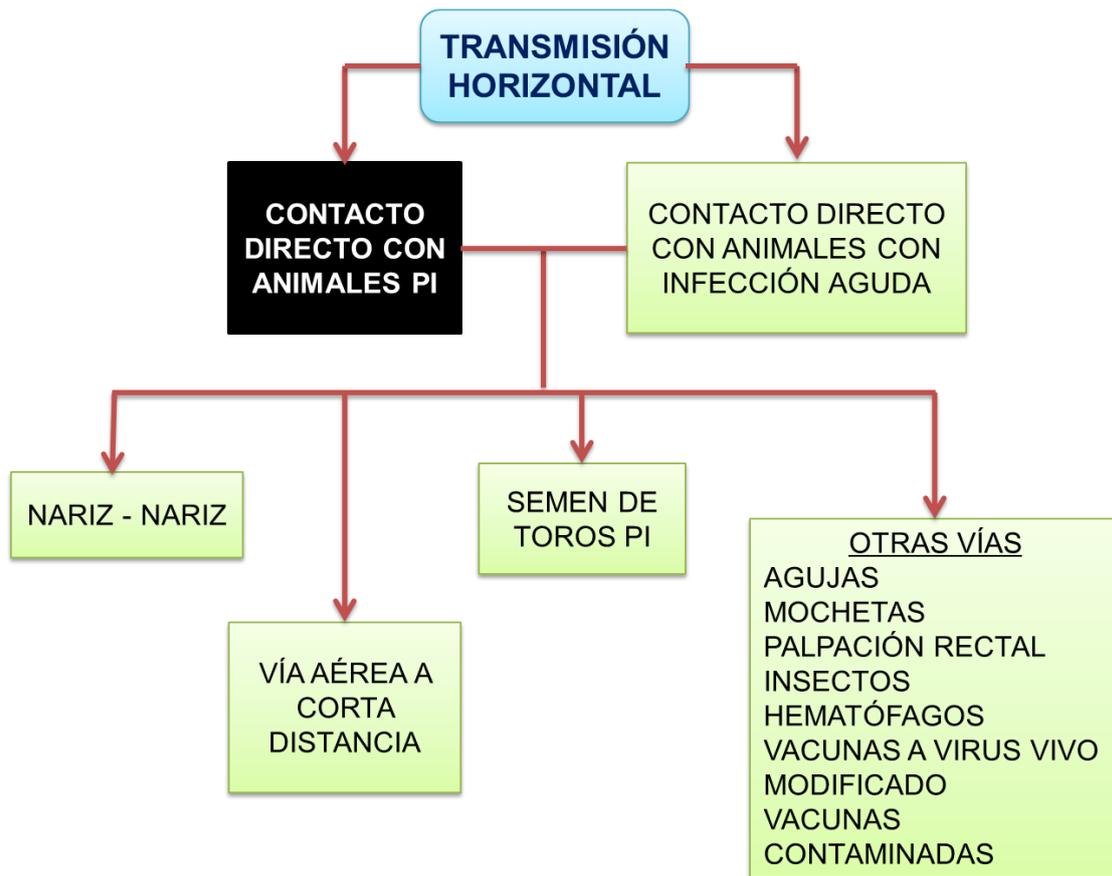


Figura 53. Transmisión horizontal del virus de la DVB. Fuente: Br. Gabriel Mosca.

Se ha demostrado experimentalmente la transmisión por vía aérea a corta distancia entre bovinos persistentemente infectados a bovinos centinelas. Aunque la transmisión aerógena no es la principal ruta de transmisión, puede tener consecuencias graves cuando cepas de alta virulencia afectan a poblaciones susceptibles y con una alta densidad animal (Mars y col., 1999).

El **semen crudo o criopreservado** (figura 53) de toros PI o con infección aguda es una importante vía de transmisión horizontal. Para evitar el uso de estos animales, en los centros de inseminación se debe recurrir al aislamiento viral y a un período de cuarentena que supere la fase aguda de la infección. Sin embargo, un toro con infección aguda puede escapar al aislamiento viral en sangre, superar el período de cuarentena y seguir siendo una amenaza. El virus puede eliminarse en semen por un corto período más allá del último día de viremia y se han detectado toros fuertemente seropositivos no virémicos que eliminan persistentemente el virus por el semen. Esta última situación se presenta cuando la infección ocurre en la pubertad, durante la formación de la barrera inmunológica hemato-testicular, permitiendo al virus replicarse dentro del testículo y evadir la respuesta inmune. Por lo tanto, es esencial un examen del eyaculado antes que el semen sea distribuido (Fray y col., 2000).

También es posible la transmisión por **transferencia embrionaria** (figura 52). La mayoría de las células del tracto reproductivo de la hembra son permisibles al virus; además, los cultivos celulares y el suero fetal bovino utilizados en transferencia

embrionaria pueden estar contaminados. Los **embriones** producidos **in vivo**, con **zona pelúcida intacta**, recolectados de vacas natural o artificialmente infectadas, no actuarían como vectores para la transmisión de la enfermedad si se cumple con los procedimientos de lavado o lavado y tratamiento con tripsina recomendados por la Sociedad Internacional de Transferencia Embrionaria (Stringfellow y Givens, 2000).

Sin embargo, la presencia de una zona pelúcida intacta y los procedimientos de lavado, no garantizan que los embriones estén libres del virus, ya que pueden desarrollarse de oocitos infectados. Se ha demostrado que los oocitos soportan la replicación del vDVB, pudiendo ingresar al oocito en forma directa o a través de las células del cumulus, las cuales son susceptibles al virus y están en estrecho contacto con el oocito por medio de procesos citoplasmáticos. Pese a que no se ha demostrado si estos oocitos infectados son capaces de desarrollarse hasta la ovulación, no debe descartarse el potencial de las células germinales para transmitir al vDVB (Fray y col., 1998).

Los **embriones** producidos **in vitro** son una fuente potencial de introducción del vDVB. La zona pelúcida de embriones producidos in vitro presentan alteraciones estructurales y bioquímicas permitiendo al virus penetrar hasta aproximadamente 50% de su espesor, de manera que los procedimientos de lavado y tratamiento con tripsina no eliminan el virus. Sin embargo, no se ha determinado si la cantidad de virus asociado a estos embriones podría constituir una dosis infectiva para recipientes susceptibles vía intrauterina (Stringfellow y Givens, 2000).

Experimentalmente se han demostrado varias vías de **transmisión indirecta** (figura 53) como el uso de agujas, mocheta, palpación rectal y la acción de insectos hematófagos, minutos después de haber estado en contacto con animales PI. Sin embargo, su importancia práctica aún no está clarificada, ya que es un virus que se inactiva fácilmente. Es rápidamente inactivado por el calor, desecación, luz ultravioleta, detergentes, solventes orgánicos y pH que exceda el rango de 5,7 a 9,3. Otro modo importante de transmisión es el uso de **vacunas a virus vivo modificado** o **vacunas contaminadas** (figura 53) (Houe, 1995 y 1999).

La principal forma de introducir el virus a un rebaño susceptible es a través de la adquisición de bovinos PI o hembras que transportan fetos PI. Otras vías de introducción son: el uso de vacunas vivas, semen contaminado, cohabitación con ovinos, transferencia embrionaria y el contacto con bovinos con infección aguda (Houe, 1999).

La tasa de transmisión dentro del rebaño depende de la forma de introducción del virus al mismo. Cuando un animal PI es introducido a un rebaño, la transmisión a animales susceptibles ocurre rápidamente a la mayoría de los animales del rebaño. Por el contrario, cuando la infección se inicia por un bovino con infección aguda o por alguna otra vía que inicie una infección aguda, la transmisión es de corta duración y solo incluye un pequeño porcentaje del rebaño antes que la transmisión cese. El sistema de producción y la virulencia de la cepa también participan en la tasa de transmisión. La diseminación es más eficiente en sistemas de producción que permiten un **estrecho contacto entre animales** y con **cepas virulentas** (Houe, 1995).

7.3.5. PATOGENIA

El vDVB es responsable de originar un amplio rango de manifestaciones clínicas y lesiones como resultado de la interacción de factores tales como: cepa y biotipo viral, edad y estado inmune del hospedador, respuesta inmune inducida, factores estresantes y otros patógenos concurrentes (Bielefeldt Ohmann, 1995).

1. **Diarrea viral bovina aguda:** Es una infección post natal aguda, de severidad variable, en bovinos seronegativos e inmunocompetentes (Baker, 1987).
2. **Infección subclínica:** La mayoría de las infecciones son subclínicas o de carácter moderado, con fiebre, descarga oculonasal, leucopenia transitoria, elevada morbilidad y baja mortalidad (Baker, 1987). Se desarrollan anticuerpos neutralizantes 14 a 28 días postinfección y consecuentemente la protección contra reinfecciones por cepas homólogas del virus es de por vida (Fredriksen y col., 1999).
3. **Complejo diarrea neonatal bovina:** Cuando fracasa la transferencia pasiva de anticuerpos, el virus participa en el complejo diarrea neonatal de los terneros. Infecciones concurrentes con enteropatógenos resultan en manifestaciones clínicas más severas, debido al efecto inmunodepresivo del vDVB o simplemente a una sumatoria de efectos (De Verdier Klingenberg, 2000).
4. **Infección aguda severa:** Inicialmente se prestaba poco interés a las infecciones agudas, dada su baja mortalidad. Sin embargo, cada vez son más frecuentes los informes de infección aguda severa de elevada morbilidad y mortalidad, asociada con virus de alta patogenicidad, caracterizada por fiebre elevada, signos respiratorios, diarrea, tormenta de abortos, caída en la producción de leche y muerte súbita. En otros casos, la exposición a cepas de alta virulencia ocasiona una enfermedad con signos clínicos y lesiones anatomopatológicas similares a la forma de la enfermedad de las mucosas (David y col., 1994).
5. **Síndrome hemorrágico:** El virus del genotipo 2 del vDVB se asocia a una condición fatal denominada síndrome hemorrágico. Se caracteriza por mucosas anémicas con hemorragias petequiales y equimóticas, hipertermia, hemorragia en múltiples sistemas orgánicos, diarrea sanguinolenta, epistaxis, sangrado constante en los sitios de inyección, anemia, leucopenia, trombocitopenia y muerte. Esta sintomatología se atribuye a la trombocitopenia y a la alteración de la función plaquetaria (Bolin y Ridpath, 1992).
6. **Inmunodepresión:** El vDVB ocasiona leucopenia y altera las funciones de los leucocitos, aumentando la patogenicidad de microorganismos secundarios. Tiene una fuerte afinidad por el tejido linforreticular, ocasionando necrosis y atrofia de dichos tejidos (Baker, 1987). En el tejido linfoide el virus se localiza principalmente en las células del estroma, incluyendo macrófagos y células de soporte. Estas células elaboran citoquinas esenciales para el normal desarrollo y maduración de linfocitos, lo que sugiere que la necrosis linfoide es secundaria al trastorno del microambiente que proveen las células intersticiales y no a la acción directa del virus sobre los linfocitos (Brodersen y Kelling, 1998).

7. **Enfermedades respiratorias:** El vDVB origina inmunodepresión sistémica y pulmonar, aumentando la patogenicidad de los restantes agentes respiratorios. Además, se ha demostrado que ciertos virus de la diarrea viral bovina actúan como agentes primarios de neumonías (Brodersen y Kelling, 1998).
8. **Trastornos reproductivos:** El mayor impacto económico de la infección con el vDVB es el ocasionado por los trastornos reproductivos (Dubovi, 1994).

La **infección aguda** altera la función ovárica y reduce la fertilidad. El vDVB causa **ooforitis intersticial no purulenta**, con necrosis de células de la granulosa y de oocitos. Es posible detectar el antígeno viral en los macrófagos y células del estroma ovárico, entre los días 6 y 60 post infección y en células foliculares y oocitos en distintos estados de maduración. Además, las infecciones agudas ocasionan un retraso en el desarrollo de los folículos pre-ovulatorios durante dos ciclos estrales consecutivos, reducción de los niveles de estradiol durante la fase folicular y disminución o ausencia de las oleadas de hormona luteinizante pre-ovulatoria o retraso en el tiempo del pico de hormona luteinizante pre-ovulatoria (McGowan y col., 2003).

No está claro de que manera el vDVB altera la función ovárica, aunque es posible que actúe por uno o más de los siguientes mecanismos: 1) un inadecuado soporte gonadotrófico por infección de la glándula pituitaria; 2) la leucopenia que acompaña a la infección aguda puede ser el reflejo de una deficiencia en la población de leucocitos ováricos, células vitales para la dinámica folicular normal; 3) la necrosis de las células de la granulosa de los folículos pre-ovulatorios, afecta negativamente la secreción de estradiol y, consecuentemente, suprime la liberación de hormona luteinizante y retrasa o impide la ovulación (McGowan y col., 2003); 4) la disfunción ovárica puede ser el resultado de la ooforitis y de los cambios en la concentración de citoquinas ováricas; 5) la reducción de los niveles de estradiol durante la fase folicular pueden perjudicar el comportamiento estral, impedir la ovulación o reducir el número y calidad de oocitos liberados (Fray y col., 1999-2000).

7.3.6. PATOLOGÍA

El impacto del vDVB durante la preñez se divide en cuatro períodos, en base a las manifestaciones clínicas de la infección durante estos intervalos de tiempo específicos.

1. **Día 0 a 45 de gestación (Etapa Embrionaria):** Las infecciones de hembras susceptibles próximas al momento del apareamiento ocasiona **muerte embrionaria** y **repeticiones de servicio** hasta que desarrolle una respuesta inmune. Se desconoce cómo los biotipos NCP afectan al embrión. El virus no tiene efecto sobre el crecimiento y desarrollo de los embriones hasta el día 8-9, momento en que pierden la zona pelúcida y se vuelven susceptibles. El resultado de la infección puede ser citolítico o no, y ambos terminan en muerte embrionaria, aunque la infección no citolítica también puede causar daño cromosómico, resultando en el desarrollo de malformaciones. Por otra parte, la replicación del virus en células oviductales puede alterar sus funciones

biológicas, como la secreción de factores embriotrópicos que soportan el desarrollo embrionario (Vanroose y col., 2000).

- 2. Día 45 a 125 de gestación:** Este período comienza al finalizar la etapa embrionaria y culmina cuando el feto adquiere competencia inmunológica al vDVB. El momento exacto en que el feto adquiere competencia inmunológica al virus no es claro; se han detectado anticuerpos neutralizantes contra el virus en fetos infectados entre los días 100 y 135 de gestación (Obritzhauser y col., 2002). La infección con biotipos NCP antes que el feto adquiera competencia inmunológica, resulta en el nacimiento de **animales persistentemente infectados (PI)** e **inmunotolerantes**. Durante este período también se produce muerte fetal con momificación o **aborto** (figura 54 y 55) meses después y un pequeño porcentaje de teratogénesis (Dubovi, 1994).

En un **animal PI** se puede aislar el virus a partir de la sangre y de los tejidos, son virémicos durante toda su vida y son proclives a desarrollar la Enfermedad de las mucosas cuando sufren una sobreinfección con biotipos CP homólogos (Kelling, 1996).



Figura 54. Aborto por el virus de la DVB.
Fuente: <http://www.handresenperulactea.com>

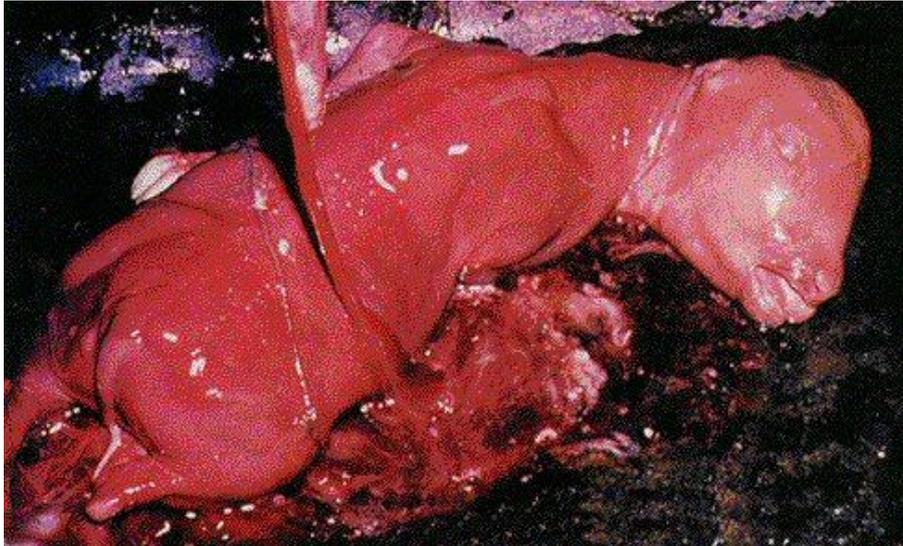


Figura 55. Aborto por el virus de la DVB.
Fuente: <http://www.labcolon.no-ip.org>

- 3. Día 125 a 175 de gestación:** Este período representa el comienzo de la inmunocompetencia fetal y del estado de organogénesis, momento en el cual se presenta un gran porcentaje de **alteraciones del desarrollo**. También se pueden producir **abortos**, pero éstos son más frecuentes en las etapas tempranas de la gestación. Se pueden observar distintos tipos y grados de malformaciones tales como: hipoplasia cerebelar (figura 57 y 58), microencefalia, hipomielogénesis, hidranencefalia, hidrocefalia, atrofia o hipoplasia de timo, cataratas, microftalmia, degeneración de retina, hipoplasia y neuritis del nervio óptico, alopecias, hipotricosis, hipoplasia pulmonar, braquignatismo, artrogriposis (figura 56), retraso general del crecimiento y deformidades esqueléticas. Posibles explicaciones de estas malformaciones serían el daño celular directo por el virus o la destrucción de las células infectadas por el sistema inmune fetal (Dubovi, 1994).



Figura 56. Artrogriposis en un ternero como causa de la infección por el vDVB entre los días 125 y 175 de la gestación. Fuente: <http://www.jairoserrano.com>

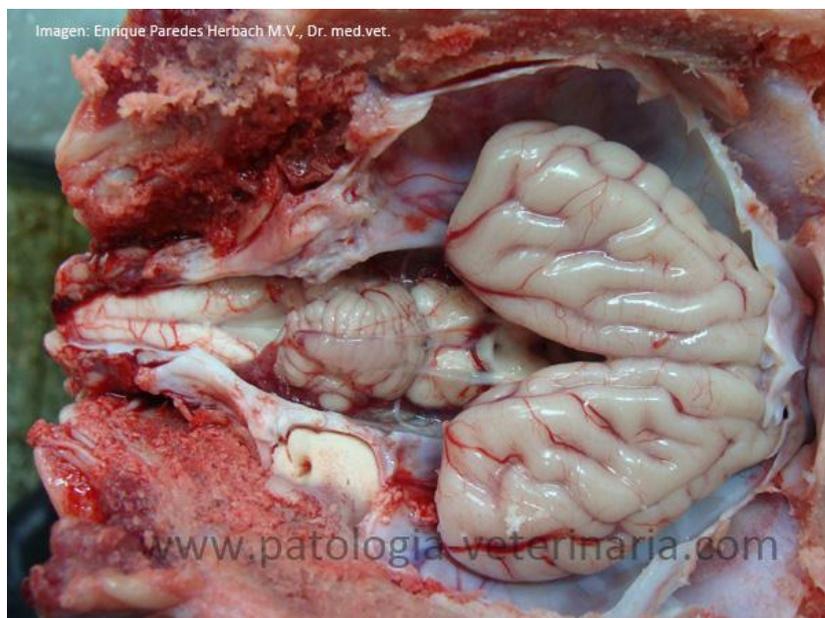


Figura 57. Hipoplasia cerebelar por infección con el vDVB. Fuente: <http://www.patologia-veterinaria.com>

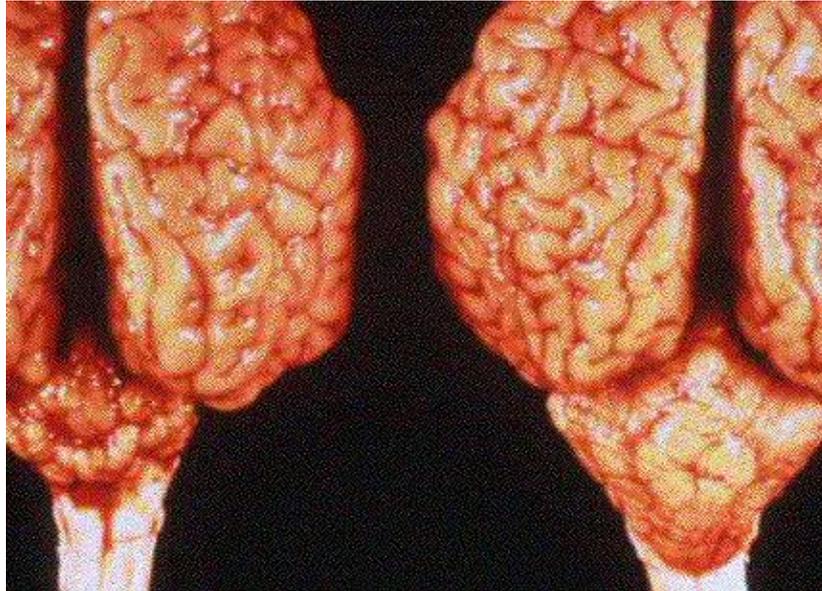


Figura 58. Hipoplasia cerebelar por infección con el vDVB: nótese el reducido tamaño del cerebelo del lado izquierdo en comparación con el derecho. Fuente: <http://www.perulactea.com>

- 4. Día 175 de gestación en adelante:** En esta etapa el feto se encuentra en un período de crecimiento general y es inmunológicamente competente. Las infecciones en este período resultan en el nacimiento de **terneros seropositivos normales o débiles**; mientras que los abortos son ocasionales (Dubovi, 1994).

7.3.7. DIAGNÓSTICO

Las muestras a remitir al laboratorio para la confirmación de la DVB son las siguientes:

- Histología: muestras fijadas con formol de las lesiones esofágicas y bucales, timo, Placas de Peyer, colon, abomaso, rumen y ganglios linfáticos mesentéricos. De los abortos: párpados, pulmones, timo, bazo, intestino, hígado, riñones, corazón, cerebro, ojos y placa de crecimiento de huesos largos para microscopía óptica e inmunohistoquímica (Radostits y col., 1999).
- Virología: timo, tiroides, Placas de Peyer, bazo, pulmones y ganglios linfáticos mesentéricos para ISO, FAT, PCR HYBRID in situ (Radostits y col., 1999).

➤ AISLAMIENTO DEL VIRUS

Las células leucocitarias, la sangre completa, los leucocitos lavados o el suero son adecuados para el **aislamiento** del virus de **animales vivos**. Los anticuerpos maternos pueden interferir con el aislamiento del suero en terneros jóvenes. Las suspensiones de tejidos de casos post mórtem deben prepararse por métodos estándar. También se puede examinar el semen, pero es preferible una muestra de sangre del toro donante si es posible obtenerla. Existe un informe de una excreción atípica y persistente del vDVB en semen de un toro en fase no virémica. El semen

puro es citotóxico y debe diluirse en medio de cultivo. En general, el semen completo puede inocularse directamente sobre las monocapas celulares, pero ocasionalmente puede causar citotoxicidad. Por estas razones, es importante controlar el estado de las células por examen microscópico a intervalos durante la incubación (Voges y col., 1998).

El virus puede aislarse en monocapas de algunos cultivos celulares bovinos (riñón, pulmones, testículos o cornetes). El crecimiento de ambos biotipos es generalmente satisfactorio. El vDVB no citopatogénico es un contaminante común de tejidos bovinos frescos, y ha de comprobarse por pruebas regulares que los cultivos celulares están libres de virus contaminantes. Los cultivos primarios o secundarios deben congelarse como suspensiones de células en nitrógeno líquido. Estos pueden probarse en una serie de pasos, o sembrarse en otras células susceptibles y comprobarse antes del uso rutinario. Tales problemas pueden superarse mediante el uso de líneas celulares continuas, que pueden obtenerse sin el vDVB (Bolin y col., 1994).

El suero bovino fetal que se selecciona para uso en cultivo celular debe estar también libre no solo de virus, sino también, del anticuerpo neutralizante frente al vDVB (Edwards, 1993).

➤ PRUEBAS SEROLÓGICAS - ENZIMOINMUNOANÁLISIS (ELISA)

La prueba es adecuada para la detección de **animales PI** y por lo general mide el antígeno de DVB en lisados de leucocitos periféricos de la sangre; la nueva generación de los **ELISA de captura de antígenos** (ELISA de captura ERNS) (figura 59) son capaces de detectar antígeno de DVB en la sangre así como en muestras de plasma o suero. El mejor método da una sensibilidad similar al aislamiento del virus, y puede ser el de elección en aquellos casos raros donde una viremia persistente se combina con seropositividad (Cornish y col., 2005).



Figura 59. ELISA de captura de antígeno. Fuente: <http://rasve.mapa.es/Publica/InformacionGeneral/Enfermedades/ficheros/PPC.pdf>

El ELISA puede tener una baja sensibilidad en presencia de anticuerpos contra el vDVB del calostro. En presencia de anticuerpos, se debería usar la PCR con transcripción inversa (RT-PCR), ya que es el método de detección más sensible en esta circunstancia. El antígeno ELISA parece ser menos útil para la detección del virus en infecciones agudas de DVB (Cornish y col., 2005).

7.4. RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA (RIB O IBR)

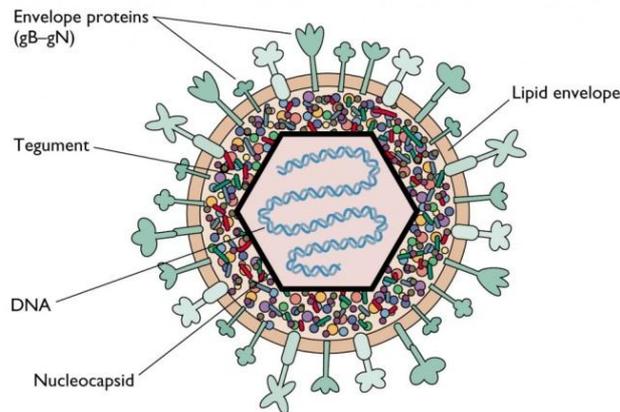


Figura 60. Herpesvirus bovino tipo 1.
Fuente: <http://www.blogdavanialemos.blogspot.com>

Tabla 24. Clasificación Taxonómica del virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR).

Clasificación Taxonómica	
Grupo	Grupo I (virus ADN)
Orden	Herpesvirales
Familia	Herpesviridae
Sub-familia	Alphaherpesvirinae
Género	Varicellovirus
Especies	Herpes virus bovino tipo 1

Fuente: Brock-Biología de los Microorganismos (10^o edición)

7.4.1. HISTORIA

La Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR), también conocida como nariz roja, lloriqueo de los terneros, vaginitis vesicular, exantema coital es una enfermedad altamente contagiosa causada por un herpes virus que se manifiesta clínicamente de diferentes maneras. La enfermedad fue descrita por primera vez en 1841 por Rychner (veterinario suizo), quien observó los signos clínicos de la vulvovaginitis pustular infecciosa y evidenció su característica de transmisión venérea. Para el año 1928, Reisner y Reinman comienzan a investigar la naturaleza del virus y la transmisión del mismo.

Posteriormente, a mediados de los años 50, se presentó en los Estados Unidos un brote de una enfermedad respiratoria aguda en el ganado, de la cual se aisló un virus que presentó características de un herpes y en 1953 se empezaron a presentar brotes en lotes de engorde y en rodeos lecheros en California y se distribuyó en varios estados; a su vez en Europa el primer caso de IBR fue reportado en Alemania en 1960 y posteriormente en otros países europeos (Saizar, 1997).

Hasta la década de los 60 se pensó que los países de Sudamérica estaban libres de IBR, pero durante este período, se realizó un aislamiento en bovinos importados al Perú desde Norteamérica. Al comparar este aislamiento con el asociado a las formas genitales se halló que las dos cepas eran indistinguibles (Saizar, 1997).

7.4.2. DATOS EN EL URUGUAY

En nuestro país, el virus fue aislado por primera vez en el año 1982 (Guarino y col., 1982), y a partir de esa fecha se han detectado varias cepas, tanto de animales con problemas respiratorios como reproductivos. De acuerdo a estudios de prevalencia serológica llevados a cabo en determinadas zonas del país, la infección estaría ampliamente distribuida tanto en ganado para carne como lechero (Saizar 1997, Mederos e Hirigoyen, 1998; Gil y col., 2000).

Tabla 25. Relación entre prevalencia a IBR por categorías, según tamaño del establecimiento.

Animales	Toros	Vaquillonas	Vacas
Hasta 100	5.3 (0.7–10.6)	23.6 (17.3–29.8)	67.9 (45.3 – 90.4)
De 100 a 300	9.6 (2.5–16.8)	43.1 (32,4–53.8)	86.6 (78.1 – 95.1)
De 300 a 1000	12.9 (6.0–19.7)	45.6 (37,7–53.5)	80.8 (74.5 – 87.2)
Más de 1000	11.5 (7.8–15.2)	47.9 (42.2–53.5)	93.6 (90.9 – 96.4)

Fuente: (Repiso y col., 2004).

Tabla 26. Relación entre vacunación y antecedentes de IBR en los establecimientos (n=229).

Vacuna IBR	Antecedentes de IBR	
	Tiene	No tiene
SI	57,3%	1,5%
NO	42,7%	98,5%

Fuente: (Repiso y col., 2004).

7.4.3. ETIOLOGÍA

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (**RIB** o **IBR** en inglés) es una enfermedad infecto contagiosa causada por un virus **ADN** del género *Varicellovirus* de la subfamilia *Alfaherpesvirinae*, que pertenece a la familia *Herpesviridae*. Es también conocida como infección por *Herpesvirus* bovino de tipo 1 (**HVBo-1**), Rinotraqueitis infecciosa necrótica bovina, Rinitis necrótica, enfermedad de la Nariz Roja, Vulvovaginitis pustular infecciosa (enfermedad genital en hembras) y Balanopostitis pustular

infecciosa (enfermedad genital en machos); siendo una enfermedad del ganado bovino doméstico y salvaje. El genoma viral consta de ADN bicatenario que codifica para unas 70 proteínas, de las que se conocen 33 que son estructurales y hasta 15 que no son estructurales. Las glicoproteínas virales, que se localizan en la envoltura superficial del virión, tienen un papel importante en la patogénesis y en la inmunidad. Por diferencias en el análisis del ADN con enzimas de restricción, el Herpesvirus bovino de tipo 1 (HVBo-1) se puede diferenciar en los subtipos **1.1**, **1.2a**, **1.2b** y **1.3**. Se ha clasificado de nuevo al HVBo-1.3, el que es un **agente neuropatógeno**, como **HVBo-5**. Los subtipos HVBo-1.2 pueden ser menos virulentos que el subtipo 1.1 (Metzler y col., 1985).

7.4.4. EPIDEMIOLOGÍA

El HVBo-1 se transmite fácilmente en **forma directa** (figura 61) de un animal a otro ya que una gran cantidad del virus se disemina principalmente por secreciones respiratorias, oculares y reproductivas de animales infectados, pero también puede hacerlo en **forma indirecta** (figura 61), a través de personas o equipos. El período de incubación varía entre 2 y 6 días, ya que depende de una serie de factores como: la dosis, la ruta de inoculación, etc. Aunque se acepta que, para el caso de la IBR, el virus se disemina en las secreciones nasales por aproximadamente 12-14 días pi, se ha recuperado el virus en forma intermitente por un período de hasta 578 días (Studdert, 1989).

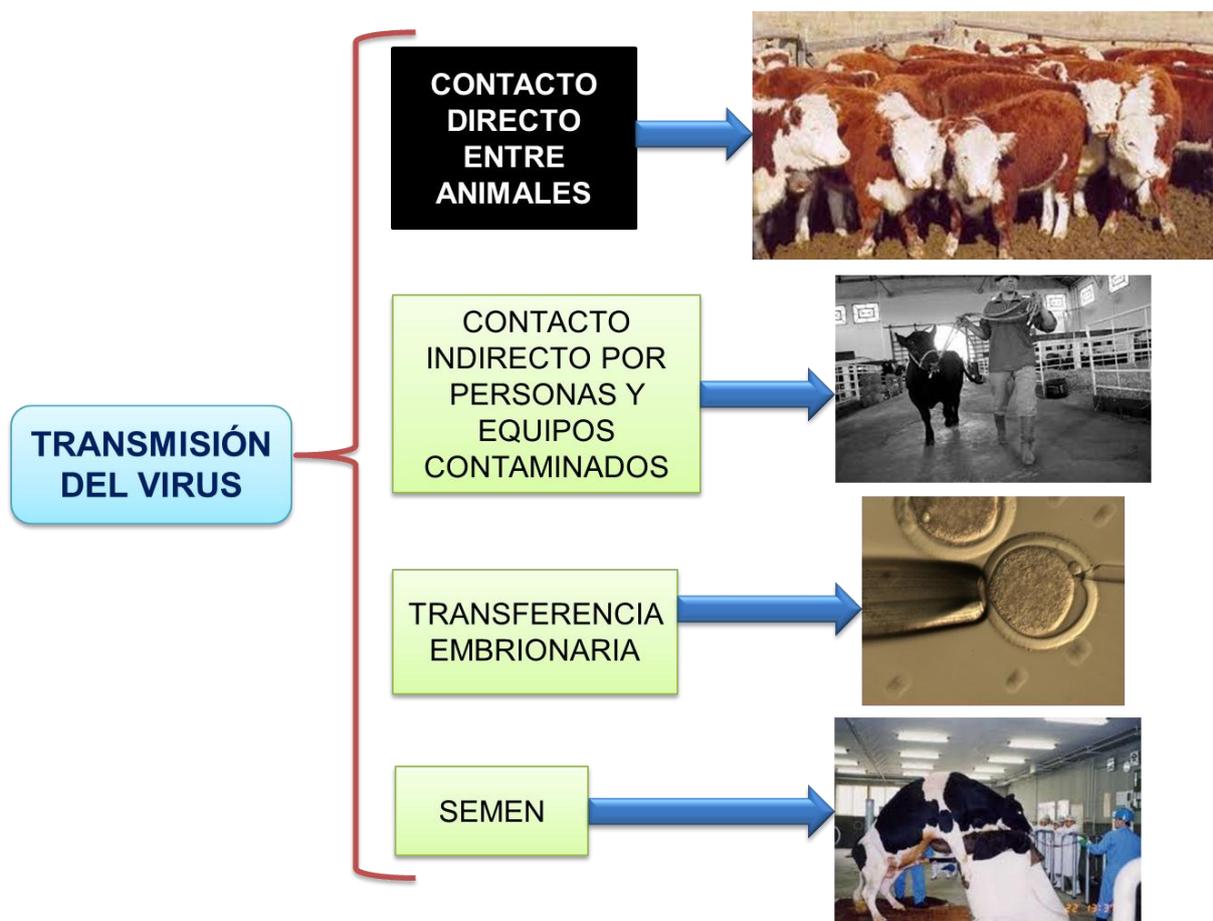


Figura 61. Transmisión del virus del IBR en los bovinos. Fuente: Br. Gabriel Mosca.

Otras fuentes importantes de diseminación son el **semen** y la **transferecia embrionaria** (figura 58). Se ha podido comprobar que toros serológicamente positivos sin sintomatología son portadores del virus, el que se ha logrado aislar de muestras de semen congelado, incluso 12 meses después de su almacenamiento a -196° C. Sin embargo, el riesgo de transmisión de HVBo-1 en hembras fertilizadas con semen de toros seropositivos proveniente de centros de inseminación artificial no se considera muy alto, y el tratamiento del semen infectado - con gammaglobulinas de suero hiperinmune o con una solución de tripsina - puede reducir el riesgo de transmisión de HVBo-1 en la inseminación artificial (van Oirschot, 1995).

El bovino es el principal reservorio del HVBo-1; sin embargo, muchas especies de rumiantes como caprinos y ovinos, etc, e incluso el cerdo, son susceptibles a este virus. El conejo, por su parte, es la especie que actualmente se estudia como modelo experimental (Silva y col., 1998).

Latencia

Una vez que el HVBo-1 ingresa al organismo y se multiplica en el sitio de infección se desplaza a través de prolongaciones nerviosas hacia los ganglios trigémino y sacro, en donde permanece en un **estado latente** (Narita y col., 1983) pudiendo aislarse también a partir de muestras tomadas del ganglio trigémino provenientes de bovinos adultos que no presentaban signos clínicos de la enfermedad. Otros sitios en el organismo que aparecen como lugares de acantonamiento viral son el tejido epitelial y los leucocitos (Thielscher y Huth, 1986).

La **reactivación** del virus puede ocurrir o ser inducida por **estímulos naturales** o **artificiales**, como ser: parto, transporte, tratamientos inmunosupresores con corticoides, superinfección con otros virus o microorganismos, irradiación ultravioleta, tratamiento con ciclofosfamida, etc. La reactivación inducida por los glucocorticoides (dexametasona) se origina como consecuencia de un mecanismo indirecto vía supresión de funciones de neutrófilos y linfocitos. Generalmente no se presentan signos clínicos durante la reexcreción de virus latente. La latencia en los alfa herpesvirus involucra el mantenimiento del ADN viral en forma extracromosomal, típicamente en las neuronas de los ganglios sensoriales (**trigémino** y **sacro**) y es una de las características principales que condicionan la patogenia del HVB (Studdert, 1989).

7.4.5. PATOGENIA

Una vez que el virus ingresa en el organismo se replica en el sitio de inoculación para luego diseminarse por medio de la sangre, el sistema nervioso o a través de puentes intercelulares y así alcanzar los órganos blanco. En el sistema nervioso periférico el virus avanza sin estar expuesto a la actividad neutralizante de los anticuerpos al igual que cuando lo hace por medio de los puentes intercelulares. Algunos autores sugieren que los virus son transportados por los leucocitos (Yates, 1982).

A nivel respiratorio, el virus destruye el epitelio del tracto respiratorio superior lo que, sumado a la inmunosupresión que provoca en el organismo, favorece el

asentamiento de infecciones bacterianas secundarias. Entre otros factores, el HVBo-1 inhibe la migración de polimorfonucleares neutrófilos, la citotoxicidad mediada por células y la respuesta mitótica de los linfocitos sanguíneos periféricos, así como algunas actividades funcionales del macrófago alveolar (Wyler y col., 1989).

La **VPI/BPI** (Vulvovaginitis pustular infecciosa en la hembra y la Balanopostitis pustular infecciosa en el macho) es una típica enfermedad venérea en donde HVBo-1 alcanza directamente las células blanco, que son las células de las mucosas de la vulva, vagina y prepucio (Wyler y col., 1989).

En relación al tema del **aborto**, existen datos experimentales y de campo que sugieren que el virus permanece latente en la placenta, y cuando pasa al feto, si lo infecta, produce lesiones necróticas diseminadas. Bajo ciertas circunstancias aún no determinadas, según esta hipótesis, el virus se reactivaría, invadiría el feto y ocasionaría su muerte (Miller y col., 1991).

En el caso de las **meningoencefalitis**, el virus llega al cerebro a través de las ramas maxilar y mandibular del nervio trigémino o bien puede hacerlo a través de los bulbos olfatorios y/o de las meninges a partir del hueso etmoides (Furuoka y col., 1995).

7.4.6. PATOLOGÍA

Los virus HVBo-1 y HVBo-5 pueden originar 3 diferentes cuadros clínicos que se presentan a continuación:

➤ **Enfermedad respiratoria - Aborto**

La IBR es una enfermedad contagiosa y aguda de los bovinos caracterizada por fiebre (40.5-42 °C) y depresión general, descenso en la producción láctea y emaciación. La virosis afecta el tracto respiratorio superior y las lesiones patológicas suelen describirse como rinotraqueítis necrótica aguda, faringitis y laringotraqueobronquitis. Luego puede complicarse con una invasión bacteriana secundaria y derivar en una bronconeumonía (Yates, 1982). La histopatología puede revelar la presencia de cuerpos de inclusión, pero éstos no son constantes (Wyler y col., 1989).

Algunos animales con IBR desarrollan también una conjuntivitis uni o bilateral (Wyler y col., 1989), que puede confundirse fácilmente con queratoconjuntivitis causada por *Moraxella bovis* (Blood y col., 1988).

Cuando en el rodeo existen vacas preñadas, la enfermedad puede incluir **abortos** luego de una incubación de 3 a 6 semanas, principalmente entre el **5º y el 8º mes de preñez** (Wyler y col., 1989). Los fetos abortados presentan autólisis, coloración parduzca, tejidos friables y fluidos en las cavidades corporales como hallazgos característicos (Kahrs, 1977).

➤ **Enfermedad genital**

Un segundo síndrome causado por HVBo-1 es la **VPI** (Vulvovaginitis pustular infecciosa) en las **hembras** o la **BPI** (Balanopostitis pustular infecciosa) en los **machos**, que se caracteriza, en el primero de los casos, por una vulva edematosa e hiperémica en donde se observan pequeñas pústulas diseminadas sobre la superficie mucosa, acompañadas a veces con una descarga vaginal mucopurulenta, pues la invasión bacteriana secundaria es una secuela frecuente. La fase aguda de la enfermedad dura 2-4 días y las lesiones desaparecen 10-14 días después (Wyler y col., 1989). En los toros, la sintomatología clínica incluye también el área genital en la forma de inflamación de pene y prepucio (Thielscher y Huth, 1986).

➤ **Enfermedad nerviosa**

Los signos neurológicos se caracterizan por depresión, anorexia, ptialismo, amaurosis, rechinar de dientes, incoordinación, temblor muscular, ceguera y eventualmente la muerte (Wyler y col., 1989). Muchos de los casos tienen un diagnóstico presuntivo de poliencfalomalasia. La encefalitis usualmente ocurre sin otros signos clínicos de enfermedad por HVBo-1 (Brake y Studdert, 1985).

7.4.7. DIAGNÓSTICO

Las muestras a remitir al laboratorio para la confirmación de la enfermedad son las siguientes:

- **Histología:** muestras fijadas en formol de **abortos/neonatos:** pulmones, hígado, tráquea, riñones, glándulas suprarrenales, rumen, esófago, faringe; para la forma respiratoria: cornetes nasales, tráquea, faringe y pulmones; para la forma encefálica: mitad del encéfalo seccionado sagitalmente. Las pruebas a realizar son de **Microscopía óptica** e **Inmunohistoquímica** (Radostits y col., 1999).
- **Virología:** de los **abortos/neonatos:** pulmones, hígado, riñones, rumen; para la forma respiratoria: pulmones, tráquea, hisopados nasales: para la forma encefálica: mitad del encéfalo seccionado sagitalmente. Las pruebas a realizar son de **Inmunofluorescencia**, **Aislamiento** y **PCR** (Radostits y col., 1999).

Para la identificación del agente (virus de la IBR) se tienen en cuenta las siguientes pruebas:

➤ **AISLAMIENTO DEL VIRUS**

Para realizar el aislamiento (figura 62) de los virus se pueden utilizar varios tipos de cultivos celulares, como las células primarias o secundarias de riñón de bovinos, de pulmón o de testículos, las cepas celulares derivadas de pulmón fetal bovino, de cornetes nasales o de tráquea, y las líneas celulares establecidas, como la línea celular Madin–Darby de riñón bovino. Los cultivos celulares pueden cultivarse en tubos de vidrio o de plástico, en placas o en discos. Cuando se utilizan placas de plástico de 24 pocillos, se inoculan en los cultivos celulares de 100–200 µl de sobrenadantes. Después de un período de absorción de 1 hora, se lavan los cultivos y se añade medio de mantenimiento. El suero empleado como suplemento del

medio de mantenimiento debe estar libre de anticuerpos contra el HVBo-1. Los cultivos celulares se observan diariamente para comprobar el **ECP (efecto citopático)**, que normalmente aparece a los tres días de la inoculación. Se caracteriza por la agrupación de células redondeadas en forma de racimos que se juntan alrededor de un hueco en la monocapa, observándose algunas veces células gigantes con varios núcleos. Se requiere de cierta experiencia para poder reconocer esta apariencia característica del virus. Si después de 7 días no aparece el ECP, se debe realizar otro pase. El cultivo celular se congela y se descongela, se clarifica por centrifugación, y se usa el sobrenadante para inocular monocapas recién preparadas (Edwards y col., 1983; Brunner y col., 1988).

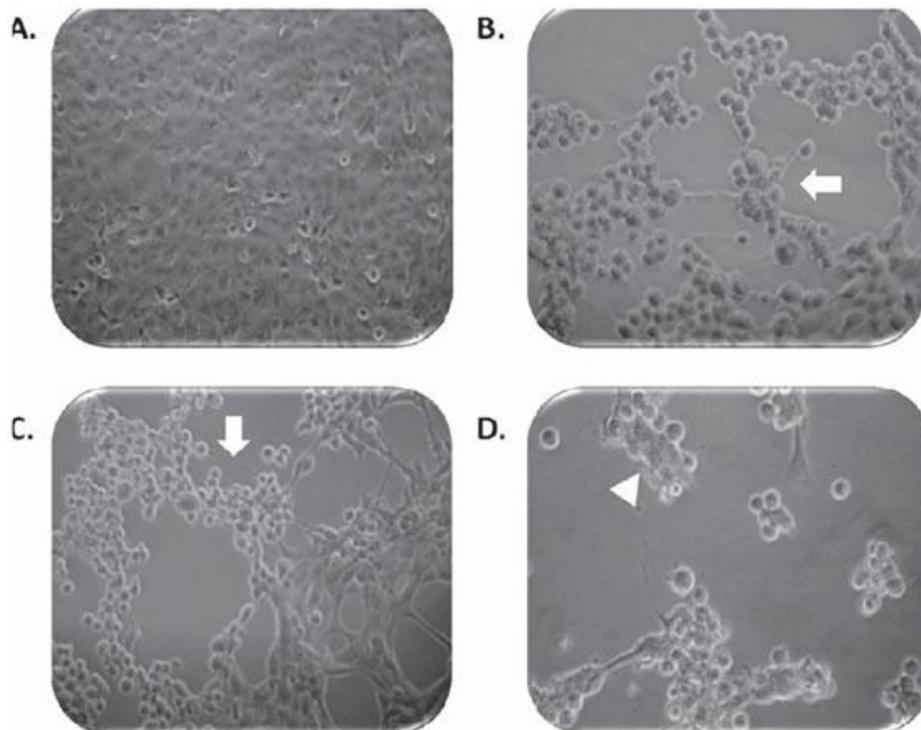


Figura 2. Aislamiento de BHV-1 en cultivos de células MDBK.
A. Control negativo; B. Control positivo – cepa Iowa 48 horas post-infección (h.p.i.); C. Muestra de campo 48 h.p.i.; D. Muestra de campo 72 h.p.i. Nótese la presencia del efecto citopático característico conocido como formación de racimos de células (flechas) y formación de sincitios (cabeza de flecha), con posterior desprendimiento de la monocapa celular (B-D).

Figura 62. Aislamiento del HVBo-1 en cultivos de células MDBK.

Fuente: <http://www.rccp.udea.edu.co>

➤ DETECCIÓN DEL ANTÍGENO VIRAL

Los hisopados nasales, oculares o genitales se pueden extender directamente, en portaobjetos de vidrio o bien, después de centrifugar, se puede colocar en los portas el depósito celular. Estos portaobjetos se someten a una prueba estándar de **inmunofluorescencia directa** o **indirecta**. En la prueba de inmunofluorescencia directa, el antisuero monoespecífico se conjuga con isotiocianato de fluoresceína, mientras que, en el procedimiento indirecto, es el segundo anticuerpo contra la inmunoglobulina de la especie el que se conjuga con el isotiocianato de fluoresceína (Terpstra C, 1979).

Para obtener los mejores resultados, se necesita muestrear varios animales procedentes de una población que presenten fiebre y con una leve rinorrea serosa. Los frotis deben secarse al aire y se fijan con acetona dentro de las 24 horas. La ventaja de esta técnica de detección de antígeno es que puede permitir el diagnóstico en el mismo día, pero la sensibilidad de este procedimiento es menor que la del aislamiento del virus. Se deben incluir controles positivos y negativos en cada prueba (Edwards y col., 1983).

El tejido recogido post mórtem se puede usar para detectar la presencia del antígeno del HVBo-1 mediante la prueba de inmunofluorescencia en secciones o cortes congelados. También se puede utilizar la **inmunohistoquímica**. La ventaja de esta prueba radica en que se puede determinar la localización del antígeno. Otra posibilidad para la detección rápida y directa del antígeno viral es la utilización de un enzimoimmunoanálisis (**ELISA**) (Collins y col., 1988).

➤ DETECCIÓN DEL ÁCIDO NUCLEICO

En la última década se han descrito varios métodos para demostrar la presencia del ADN del HVBo-1 en muestras clínicas. La utilización de la **PCR** (figura 63) en el diagnóstico rutinario está creciendo. En comparación con el aislamiento del virus, la PCR tiene la ventaja principal de que es **más sensible** y **más rápida**, pudiendo realizarse en 1–2 días. También puede detectar ADN en ganglios sensoriales con infección latente. La desventaja es que es **fácil de contaminar** y por consiguiente, hay que tomar medidas para evitar falsos resultados positivos. El riesgo de contaminación disminuye notablemente con las nuevas técnicas de la PCR, como la denominada PCR en tiempo real o cuantitativa (**QPCR**) (Moore y col., 2000).

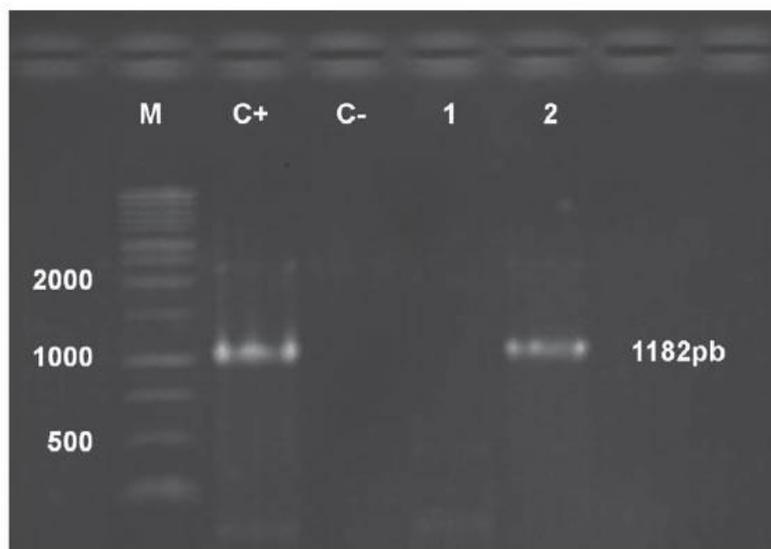


Figura 3. Visualización de productos de PCR de la gD del BHV-1. Gel de electroforesis de agarosa al 0,8% coloreado con bromuro de etidio. M: Marcador de peso molecular (GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder Fermentas®, Vilnius, Lithuania); C+: control positivo de la reacción (ADN extraído de cepa de cepa IOWA); C-: control Negativo de reacción (H2O MQ). 1: ADN de células sin infectar; 2: ADN de muestra de aislamiento viral que presentó efecto citopático positivo.

Figura 63. Prueba de PCR para el HVBo-1. Fuente: <http://www.rccp.udea.edu.co>

La **PCR en tiempo real** se diferencia de la PCR estándar en que los productos de la PCR amplificados se detectan directamente durante el ciclo de la amplificación

utilizando una sonda de hibridación, lo que mejora la especificidad de la prueba. Las pruebas de la PCR en tiempo real tienen varias ventajas sobre las pruebas de la PCR convencional. Las pruebas de la PCR en tiempo real en las que solo se utiliza un par de cebadores son capaces de proporcionar una sensibilidad casi igual o igual que las pruebas de la PCR anidada, con un riesgo de contaminación mucho menor. La amplificación y la detección de la diana se realizan de forma simultánea. No hay que manipular el producto de la PCR tras la amplificación, lo que reduce de forma significativa el riesgo de contaminación, y permite realizar análisis cuantitativos con sistemas de PCR en tiempo real (Van Engelenburg y col., 1993).

En cada prueba de PCR, deben incluirse los **controles positivos y negativos** así como los reactivos control. Como control negativo, puede utilizarse el semen negativo procedente de aislamientos virales negativos de toros seronegativos. Como control positivo, es preferible utilizar el semen positivo de toros infectados de forma natural. No obstante, puede resultar difícil de obtener. Como alternativa, los controles positivos pueden derivarse de semen al que se añaden cantidades conocidas del HVBo-1 (Ashbaugh y col., 1997).

➤ PRUEBAS SEROLÓGICAS

Las pruebas serológicas se pueden utilizar para diferentes fines:

- i. Para diagnosticar una **infección aguda**: se examinan en una prueba muestras de suero de las fases agudas y de convalecencia de la infección en los mismos animales. Una seroconversión de negativos a positivos o un aumento de cuatro veces o más en el título de anticuerpos se considera que es indicativo de la infección.
- ii. Para demostrar la **ausencia de infección**, por ejemplo, con relación al mercado internacional.
- iii. Para determinar la **prevalencia** de la infección en los estudios seroepidemiológicos.
- iv. Para apoyar **programas de erradicación** y el **control** subsiguiente.
- v. Para fines de **investigación**, por ejemplo, la evaluación de la respuesta de anticuerpos después de la vacunación y de una infección de desafío. (Wellemans y Leunen, 1973).

Para detectar los anticuerpos contra el HVBo-1 en el suero, normalmente se utilizan pruebas de **neutralización viral** (NV) y varios **ELISA**. Una prueba serológica alternativa es la **inmunofluorescencia indirecta**. Como la latencia del virus es una secuela normal de la infección por HVBo-1, la identificación de los animales serológicamente positivos supone un indicador útil y fiable del estado infectivo. Cualquier animal con anticuerpos contra el virus se considera portador y excretor potencial intermitente del virus. Las únicas excepciones a esto son los terneros jóvenes que han adquirido de modo pasivo los anticuerpos por el calostro de sus madres y el ganado no infectado, vacunado con vacunas inactivadas (Wellemans y Leunen, 1973).

En general, las pruebas serológicas para el HVBo-1 pueden dividirse en **convencionales** y **marcadoras**. La única prueba serológica marcadora de la que se dispone en la actualidad es el **ELISA de bloqueo** de anticuerpos antiE de HVBo-1.

Para la serología convencional, se utilizan la prueba de **neutralización viral**, el ELISA bloqueador de anticuerpos frente al HVBo-1 y los ELISA indirectos (Kramps y col., 1993).

❖ **NEUTRALIZACIÓN DEL VIRUS (NV)**

Las pruebas de **NV** se llevan a cabo con varias modificaciones. Las pruebas varían respecto de la cepa de virus utilizada en el protocolo de la prueba, la dilución inicial de suero, el período de incubación de la mezcla virus/suero (1–24 horas), el tipo de células utilizadas, el día de la lectura final, y la lectura de punto final (50% frente a 100%). De estas variables, el período de incubación de la mezcla virus/suero posee el efecto más importante sobre el título de anticuerpos. Un período de incubación de 24 horas puede detectar títulos hasta 16 veces superiores a los obtenidos tras un período de incubación de 1 hora, y se recomienda cuando se requiere la máxima sensibilidad (por ejemplo, a efectos del mercado internacional). En la prueba de NV resulta adecuado utilizar varias células bovinas o líneas celulares, incluyendo células secundarias de riñón o de testículo de bovino, estirpes celulares de pulmón de bovino o de células de la tráquea, o la línea celular establecida de Madin–Darby de riñón bovino (Perrin y col., 1993).

❖ **ENZIMOINMUNOANÁLISIS (ELISA)**

No hay establecido un procedimiento **ELISA estándar** y hay disponibles en el mercado varios tipos de ELISA, incluyendo ELISA indirectos y de bloqueo. Existen diversas preparaciones comerciales ELISA, algunas de las cuales son también adecuadas para detectar anticuerpos en la leche (Kramps y col., 2004).

Existen ciertas variaciones en los procedimientos para el ELISA. Los más comunes son: las preparaciones de antígenos y los recubrimientos, la dilución de la muestra de ensayo, el período de incubación del antígeno y la muestra de ensayo, y la solución de substrato/cromógeno. Antes de su uso rutinario, un ELISA debería validarse respecto a la sensibilidad, especificidad y reproducibilidad. Con este fin, se debería probar un juego de sueros bien definidos (por ejemplo, mediante la prueba de NV) que fueran muy positivos, débilmente positivos y negativos (Kramps y col., 2004).

• **ENZIMOINMUNOANÁLISIS INDIRECTO (ELISA INDIRECTO)**

El principio del ELISA indirecto se basa en la unión de los anticuerpos específicos para el HVBo-1 presentes en la muestra de prueba con el antígeno del HVBo-1 inmovilizado. Los anticuerpos unidos se detectan mediante el uso de antisuero para la inmunoglobulina anti-bovina macada con enzimas. La presencia de anticuerpos en la muestra de prueba provocará el desarrollo del color después de añadir la solución de cromógeno/substrato (Kramps y col., 2004).

• **ENZIMOINMUNOANÁLISIS DE BLOQUEO (ELISA DE BLOQUEO)**

El principio del ELISA de bloqueo o competitivo se basa en bloquear la unión del antígeno a un antisuero contra el HVBo-1 o a un MAb anti-HVBo-1 marcado con una enzima mediante los anticuerpos presentes en la muestra de prueba. La presencia

de anticuerpos en la muestra de prueba bloqueará la unión, originando un descenso en el desarrollo del color después de añadir la solución de cromógeno/substrato (Kramps y col., 2004).

❖ ESTANDARIZACIÓN DE LAS PRUEBAS SEROLÓGICAS

En cada prueba serológica se deberían incluir controles adecuados de **suero muy positivo**, de **suero débilmente positivo**, y de **suero negativo**. En Europa, un grupo de científicos encabezado por el grupo de veterinarios de inseminación artificial de la Unión Europea (UE) ha acordado utilizar un suero muy positivo (UE1), uno débilmente positivo (UE2) y otro negativo (UE3) para la estandarización de las pruebas sobre el BoHV-1 en los laboratorios que examinan rutinariamente muestras de los centros de inseminación artificial. Estos sueros se han adoptado como estándares internacionales de la OIE para pruebas con el BoHV-1 y están disponibles en cantidades limitadas en los laboratorios de referencia de la OIE. Las pruebas ordenadas con fines de comercialización internacional (NV o ELISA) deben ser capaces de registrar como positivos tanto los estándares positivos fuertes como los débiles (o los estándares nacionales secundarios de potencia equivalente). Debido a la limitada disponibilidad de los sueros estándar internacionales, es preciso preparar un nuevo y amplio panel de muestras de suero liofilizado de referencia (y de leche) tomadas de animales infectados y de animales vacunados. Este panel debe utilizarse para validar las nuevas pruebas que se vayan elaborando y para armonizar las pruebas de los distintos laboratorios (Perrin y col., 1994).

8. ENFERMEDADES VENÉREAS

La **campylobacteriosis genital bovina** y la **trichomoniasis** causan muerte del embrión, abortos y reducción de la fertilidad en la hembra. Los agentes etiológicos **Trichomonas foetus** y **Campylobacter fetus** habitan en el tracto genital de los bovinos adultos infectados (Dillon y col., 1995).

Ambas enfermedades son asintomáticas en los toros sin afectar su libido ni su fertilidad siendo más frecuente en machos adultos y viejos. Los toros permanecen infectados para toda su vida. Los signos de la enfermedad en el rodeo son principalmente repetición de servicios y celos irregulares. La pérdida del embrión o expulsión del feto en estadios tempranos de la gestación (2-4 meses) hacen que el productor vea como algunos animales repiten el celo al finalizar el servicio. Debido al escaso desarrollo del feto, muchas veces el aborto pasa desapercibido al realizar las recorridas en el rodeo una vez sacados los toros del servicio (Skirrow, 1994).

La infección puede ser introducida al rodeo mediante el ingreso de toros infectados, compra de toros que se incorporan a servicio sin los exámenes correspondientes, adquisición de vacas o vaquillonas desconociendo su status con respecto a la enfermedad o bien la presencia de vacas portadoras sin que manifiesten signos de la misma. Dichas vacas pueden llevar incluso su preñez a término y seguir infectadas de un servicio al otro. La persistencia de hembras infectadas con C.fetus hasta 208 días post servicio enfatiza el rol de las hembras portadoras en la transmisión de la enfermedad (Campero y col., 1996).

8.1. DATOS EN EL URUGUAY

Los siguientes datos fueron extraídos del trabajo de campo realizado por Repiso y col. en el año 2004, en diversos establecimientos de cría en el Uruguay.

El análisis estadístico de muestras analizadas en el laboratorio de DILAVE, revela una prevalencia estimada de *Campylobacter fetus* para todo el país, en toros por IFD del 28,05% y una prevalencia estimada para los establecimientos del 37%.

De los 47 aislamientos de *Campylobacter fetus*, el **75%** de dichos aislamientos fue biotipificado como ***Campylobacter fetus sub. venerialis*** y el **25%** restante como ***Campylobacter fetus sub. fetus***.

Tabla 27. Prevalencias estimadas para *Campylobacteriosis genital bovina* por IFD en animales y en establecimientos.

Prevalencia	Porcentaje
En toros	28% (23 a 33%)
En establecimientos	37% (25 a 48%)

Fuente: Repiso y col., 2004

Tabla 28. Resultados de los aislamientos de Campylobacter fetus en los establecimientos positivos por IFD.

Establecimientos	Nº	% de la Población
Negativos a IFD	87	63%
Positivos a IFD sin aislamiento	95	25%
Positivos a IFD con aislamiento	47	12%

Fuente: Repiso y col., 2004

Para poder determinar la distribución de los establecimientos según la prevalencia, se estratificó la misma en 5 categorías, en donde en el mayor porcentaje de los establecimientos fue negativo y en los establecimientos positivos la fracción mayor (15%) presentó prevalencias entre 26 a 50%.

Para el estudio a nivel individual se estratificaron los establecimientos según el número de animales y se analizaron las prevalencias observadas en cada estrato.

Tabla 29. Distribución de las prevalencias a Campylobacter a nivel de los establecimientos.

Prevalencias	% de Establecimientos
Negativo	63
<= 15%	4
16 a 25%	4
26 a 50%	15
> 50%	14

Fuente: Repiso y col., 2004

Tabla 30. Estimaciones de las prevalencias a nivel individual/animal, según estratos por número de bovinos en el establecimiento.

Estratos bovinos	Prevalencia
Hasta 100 animales	16,1%
De 101 a 300 animales	20,1%
De 301 a 1000 animales	29,8%
Más de 1000 animales	30,3%

Fuente: Repiso y col., 2004

La prevalencia mayor de toros positivos está presente sobre todo en aquellos establecimientos que tienen más de 1000 animales, observándose un aumento en el porcentaje de animales positivos en la medida en que aumenta el tamaño de la población.

Si relacionamos los mismos estratos y la presencia de Campylobacter a nivel de establecimientos observamos que la proporción es distinta según los estratos. El mayor porcentaje de establecimientos positivos tiene una población animal de más de 1000 animales, siendo esto estadísticamente significativo ($p=0,02$).

Tabla 31. Relación entre el número de bovinos en los establecimientos y el porcentaje de establecimientos con presencia de Campylobacter.

Estratos bovinos	Establecimientos positivos
Hasta 100 animales	20%
Entre 100 y 300 animales	38%
Entre 301 y 1000 animales	52%
Más de 1000 animales	68%

Fuente: Repiso y col., 2004

Al relacionar la presencia o no de la enfermedad con el origen de los toros, ya sean criados o adquiridos, no explicaría la prevalencia en establecimientos como lo muestra el siguiente cuadro (diferencia no significativa $P=0,80$).

Tabla 32. Distribución del origen de los toros según la categoría de establecimientos frente a Campylobacter.

Establecimientos	Toros criados	Toros adquiridos
Negativos	60%	63%
Positivos	39%	36%

Fuente: Repiso y col., 2004

En cuanto al manejo reproductivo, los establecimientos que realizan exámenes de **control en toros** para Campylobacteriosis, **previo al servicio**, es del orden del **2%**.

La proporción de establecimientos que utilizan la inseminación artificial es de alrededor del 6%. El siguiente cuadro muestra que solo el 4% del total de los establecimientos dicen vacunar a los animales, de los cuáles solo el 1,2% lo hace en la totalidad del ganado.

Tabla 33. Vacunación contra Campylobacteriosis por establecimiento, según la categoría animal.

Categoría	% de Establecimientos
No vacuna	96
Solo vacas	0,5
Solo vaquillonas	0.08
Solo toros	0.83
Vacas y toros	0,82
Vaquillonas y toros	0,21
Vacunan todo el ganado	1.2

Fuente: Repiso y col., 2004

Los establecimientos que vacunan a los animales, lo hacen porque dicen que existen antecedentes de Campylobacteriosis en sus rodeos.

Tabla 34. Relación entre la vacunación y los establecimientos con antecedentes de Campylobacteriosis bovina.

Campylobacteriosis	Vacunación
Sin antecedentes	1,6%
Con antecedentes	83,1%

Fuente: Repiso y col., 2004

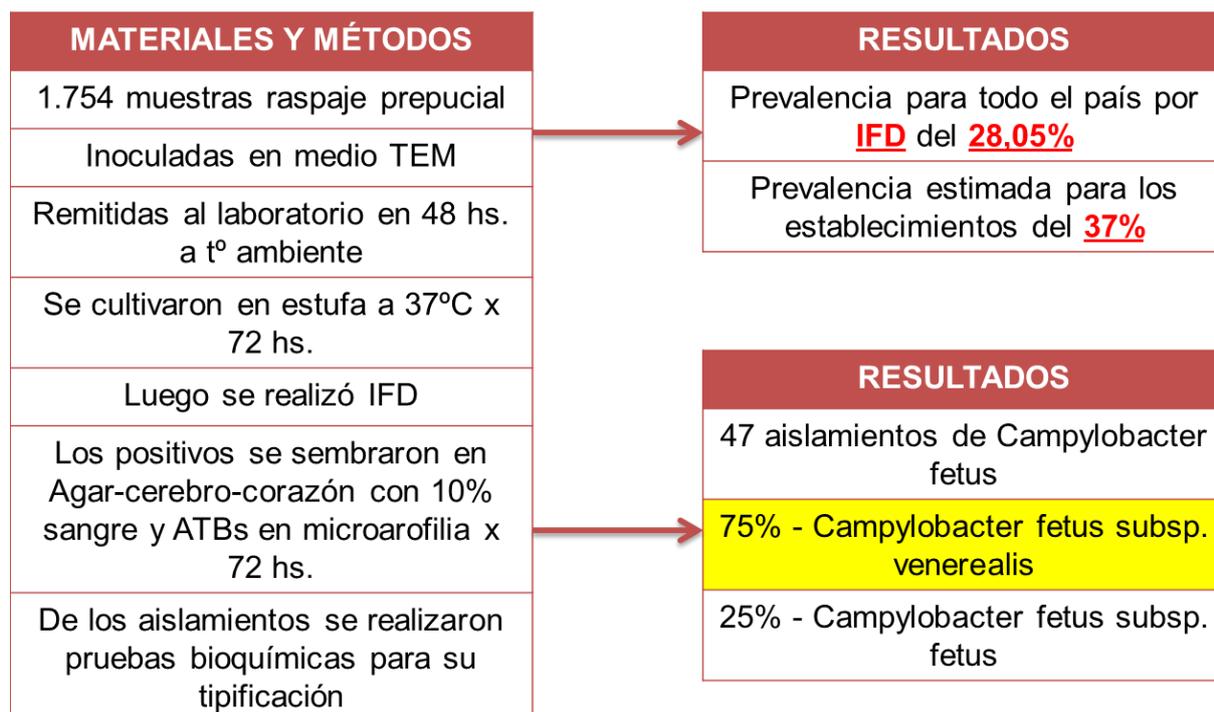


Figura 64. Aislamientos de Campylobacter en el Uruguay.

Fuente: Repiso y col., 2005.

En cuanto a la presencia de **Trichomonas foetus** en los establecimientos en el **Uruguay** se procesaron **1.754 muestras** del raspaje prepucial de los toros, utilizando luego un medio de cultivo de Diamonds para Trichomonas, resultando todas las muestras negativas para la presencia de este agente.

8.2. CAMPYLOBACTERIOSIS

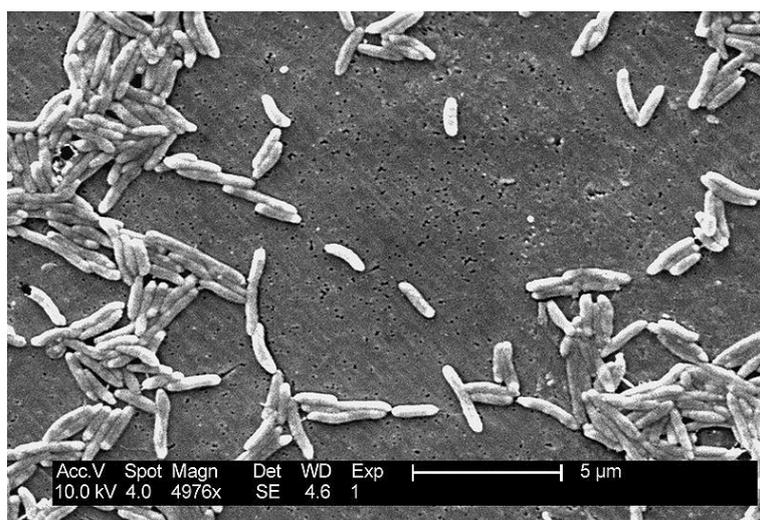


Figura 65. Micrografía electrónica de barrido de *Campylobacter fetus*.
Fuente: <http://www.cdc.gov>

Tabla 35. Clasificación Taxonómica del género *Campylobacter*.

Clasificación Taxonómica	
Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Epsilon Proteobacteria
Orden	Campylobacterales
Familia	Campylobacteraceae
Género	<i>Campylobacter</i>
Especies	<i>C. fetus</i> , <i>C. concisus</i> , <i>C. curvus</i> , <i>C. faecalis</i> , <i>C. gracilis</i> , <i>C. helveticus</i> , <i>C. hominis</i> , <i>C. hyointestinalis</i> , <i>C. insulaenigrae</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lanienae</i> , <i>C. lari</i> , <i>C. mucosalis</i> , <i>C. rectus</i> , <i>C. showae</i> , <i>C. sputorum</i> , <i>C. upsaliensis</i>

Fuente: Brock-Biología de los Microorganismos (10^o edición)

8.2.1. HISTORIA EN EL URUGUAY

La presentación de esta enfermedad en rodeos de leche del Uruguay data de fines de la década de los años 60. Su control tuvo logros importantes a nivel de la cuenca lechera, basados en medidas de manejo, como inseminación artificial, separación de animales por categorías, eliminación de toros positivos y vacunaciones sistemáticas. (Stella y Canabez, 1971).

En rodeos de carne esta enfermedad no fue sospechada durante muchos años, atribuyendo el pobre comportamiento de nuestros rodeos a innumerables causas, donde las enfermedades de la reproducción no ocupan el lugar que les corresponde.

Es histórico el hecho de que el ganado de carne no tiene demasiado control reproductivo, así los toros permanecen, en muchos casos, largos periodos trabajando en los rodeos, no existiendo un control sanitario de los toros, los mismos se compran, se alquilan o se prestan sin conocer su estatus sanitario. La tradicional baja performance reproductiva generalmente se atribuye a disturbios nutricionales. Como regla general, todo toro que se comercialice tendría que tener un certificado sanitario que lo acredite como libre de *Campylobacter fetus*. Esto hoy no sucede y es la vía más común de ingreso de ésta y otras enfermedades, a los establecimientos (Repiso y col., 2004).

8.2.2. ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA

La Campylobacteriosis genital bovina es una enfermedad infecto contagiosa de transmisión venérea producida por bacterias del género *Campylobacter*, que afecta tanto a los bovinos de leche como a los de carne, y se encuentra asociada a infertilidad, repetición de celos y ocasionales abortos (Dekeyser, 1986).

El género *Campylobacter* (antes incluido en el género *Vibrio*) comprende muchas especies, de las que *C. fetus*, *C. sputorum*, *C. jejuni* y *C. coli* pueden aislarse del ganado bovino. Existen dos subespecies de *C. fetus*: *C. fetus* subesp. *venerealis* y *C. fetus* subesp. *fetus*. La que causa la campilobacteriosis genital bovina es *C. fetus* subesp. *venerealis*. Se han descrito y designado como *C. fetus* subesp. *venerealis* biotipo *intermedius*, algunas variantes de *C. fetus* subesp. *venerealis* que toleran la glicina. Utilizando los modelos de bandas de las proteínas de células enteras, que aparecen mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), no pueden distinguirse las dos subespecies de *C. fetus*. Mediante diferencias antigénicas, se han descrito varios serotipos de *C. fetus* (Berg y col., 1971).

No son esporulados, reaccionan positivamente a la oxidasa y la catalasa y su temperatura óptima de crecimiento oscila entre los 25 y 42 °C. Las colonias de este género no suelen presentar pigmentación y poseen metabolismo respiratorio microaerófilo (3-5 % de O₂) con un grado bajo de oxígeno 5% , dióxido de carbono 10% y 85% en nitrógeno. Los medios de cultivo de *Campylobacter* son medios nutritivos enriquecidos como el Preston 1/10 y el Park-Sanders 1/10, y en algunos casos cultivados a 42 °C. Debido a que presentan un flagelo, son organismos muy móviles, con un movimiento peculiar por razón de su forma morfológica, al igual que los *Helicobacter*, se desplazan en forma de sacacorcho. Se destruyen por cloración y pasteurización. Tienen una morfología característica al observarlas al microscopio, en forma de "S", de "coma", o también llamada "en caballito de mar" (Ryan y Ray, 2004).

La diferenciación taxonómica de *C. fetus* en dos subespecies está justificada debido a las diferencias clínicas y epidemiológicas entre ellas. Epidemiológicamente, *C. fetus* subesp. *venerealis* es la más importante de las dos debido a su tropismo genital. *Campylobacter fetus* subesp. *fetus* se puede recoger del tracto intestinal del ganado bovino y de otros animales. Su papel patogénico es menor comparado con el de *C. fetus* subesp. *venerealis*, aunque *C. fetus* subesp. *fetus* se aísla con frecuencia de fetos bovinos abortados indicando que esta subespecie tiene relevancia clínica en el ganado. *Campylobacter fetus* subesp. *fetus* persiste en

novillas vírgenes después de la infección experimental durante al menos varias semanas y hasta 10 meses o más (Ryan y Ray, 2004).

8.2.3. PATOLOGÍA



Figura 66. Hígado de feto bovino, en donde se observan grandes focos de necrosis redondeados de distribución multifocal. Fuente: <http://www.exopol.com> (Atlas).



Figura 67. Aborto por *Campylobacter* a los 4 meses de la gestación. Fuente: <http://www.veterinariajauke.com.ar>

Esta enfermedad es transmitida del toro a la vaca en el momento del coito, se localiza en la parte anterior de la vagina, invade el útero y oviducto, produciendo endometritis y salpingitis. Esta inflamación temporaria produce la muerte del embrión. Cuando ocurre el aborto (figura 67) este se presenta con placentitis (Cattaneo y Bermudez).

Las hembras se recuperan en 2 o 3 celos posteriores si no hay reinfección. En el macho el germen se aloja en las criptas del prepucio en la parte distal de la uretra. Los animales jóvenes se recuperan en pocos meses, lo que no ocurre en toros mayores de 5 años los que permanecen crónicamente infectados aunque hayan sido tratados. Otra forma de adquirir la infección es por el comportamiento homosexual que presentan los toros (Cattaneo y Bermudez).

8.3. TRICHOMONIASIS

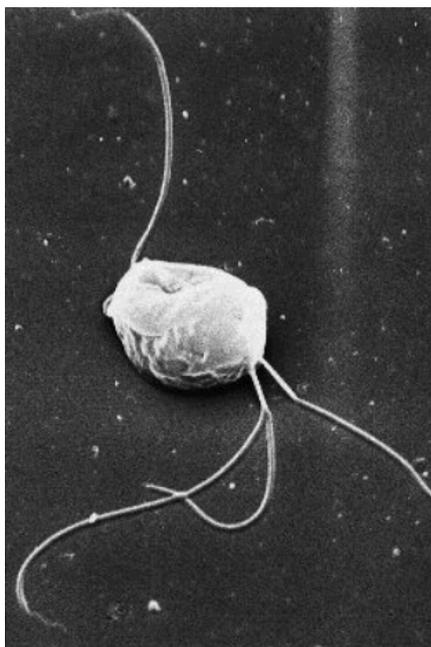


Figura 68. *Trichomonas foetus*.
Fuente: <http://www.lookfordiagnosis.com>

Tabla 36. Clasificación Taxonómica de *Trichomonas foetus*.

Clasificación Taxonómica	
Dominio	Eucariota
Reino	Protozoa
Subreino	Biciliata
Infrareino	Excavata
Filo	Metamonada
Subfilo	Trichozoa
Superclase	Parabasalia
Clase	Trichomonadea
Orden	Trichomonadida
Familia	Trichomonadidae
subfamilia	Trichomonadinae
Género	Trichomonas
Especie	Foetus

Fuente: Brock-Biología de los Microorganismos (10^o edición).

8.3.1. ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA

La tricomoniasis está causada por el parásito protozoario flagelado *Trichomonas foetus*. *T. foetus* no tiene vida libre ni formas quísticas de sobrevivencia ya que la formación de pseudoquistes es solo un fenómeno de adaptación al huésped en condiciones desfavorables. No posee huéspedes intermediarios y debe siempre habitar un huésped que será definitivo en el desarrollo parasitario. El huésped de *T.*

foetus es el bovino, ya sea *Bos taurus* como *Bos indicus*, aunque puede ocasional y probablemente en forma temporaria colonizar otras especies incluyendo búfalo, equino, cerdo, roedores e inclusive humanos, donde se lo menciona en un caso incidental asociado a un trasplante de médula ósea (Okamoto y col., 1998).

T. foetus es piriforme y mide de 9 a 18 μm x 4 a 8 μm , aunque debido a la plasticidad de su protoplasma adopta diversas formas según requerimientos fisiológicos. Como característica del subreino eucariota, *T. foetus* posee un núcleo usualmente esférico u ovoide. Se identificaron dos formas de *T. foetus*: una en estado de trofozoito caracterizado por una forma elongada que constituye la mayor parte de la población normal, y otra forma pseudoquistica, oval e inmóvil, que aparece en condiciones de medio ambiente desfavorable como temperatura hostil o deficiencias nutricionales. *T. foetus* posee tres flagelos anteriores de 11 a 17 μm de largo y un flagelo posterior de 16 μm que conforma una membrana ondulante que recorre todo el cuerpo formando 2 a 5 ondas (Honigberg y col., 1971; Talbot y col., 1991).

Las trichomonas presentan unos organelos únicos, los hidrogenosomas, que tienen doble membrana, se dividen por fisión e importan proteínas en post translación. Los hidrogenosomas realizan la glicólisis y producción de ATP anaeróbica del piruvato y malato ya que este protozoo carece de mitocondrias y peroxisomas. Si bien los hidrogenosomas tienen una función similar a las mitocondrias, los primeros carecen de genoma propio, cadena respiratoria y citocromos (Kania y col., 2001). El complejo blefaroplasto es otro organelo característico de *T. foetus*, formado por los gránulos basales denominados kinetosomas que se conectan con los flagelos. Desde el blefaroplasto surge el axostilo, estructura tubular prominente, delgada e hialina que se curva alrededor del núcleo y pasa longitudinalmente a través del protozoo emergiendo en una corta proyección a caudal, y la costa que es un cuerpo basal débilmente cromático que corre por debajo de la membrana ondulante (Mattos y col., 1997).

Los microorganismos vivos se desplazan con un movimiento rotatorio entrecortado y pueden detectarse mediante la microscopía visible. Pueden utilizarse la microscopía de campo oscuro y de contraste de fases u otros métodos para observar los detalles necesarios para la identificación. Es importante diferenciar *T. foetus* de otros protozoos flagelados contaminantes que pueden encontrarse presentes en las muestras procedentes del tracto reproductor bovino (Mancebo y col., 1995; Taylor y col., 1994).

Una característica importante es el número de flagelos observados bajo iluminación de contraste de fases, ya que puede ayudar a diferenciar *T. foetus* de algunos flagelados bovinos de aspecto similar. *Tritrichomonas foetus* se multiplica mediante fisión binaria longitudinal; no se ha observado la reproducción sexual y no se han observado estadios del parásito resistentes al medio ambiente. Sin embargo, *T. foetus* puede cultivarse in vitro empleando un kit comercial o un medio preparado internamente, como el medio de Diamond (Diamond, 1983).

El microorganismo también puede detectarse mediante métodos moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Por el método de aglutinación se reconocieron tres serotipos (Skirrow, 1987): la cepa "belfast", descrita como predominante en Europa, África y EE.UU. (Gregory y col., 1990); la cepa "brisbane"

en Australia; y la cepa “manley”, que ha sido descrita solamente en algunos brotes (Skirrow, 1987) (Felleisen y col., 1998).

8.3.2. PATOLOGÍA

En el Toro T. foetus coloniza exclusivamente los estratos superficiales de la mucosa de la cavidad prepucial, incluyendo las criptas peneanas, fornix y parte distal de la uretra, menos frecuentemente las criptas prepuciales (Campero y col., 1983). Es por ello que existe una mayor frecuencia de presentación en los toros adultos y viejos, pese a ello la enfermedad esta presente en toros jóvenes (Campero, 2000). Clínicamente, la trichomoniasis bovina en el macho cursa en forma asintomática y en toros mayores de 4 a 5 años es rara la recuperación espontánea (Clarke, 1971). Dicho fenómeno hace del toro una fuente permanente de infección y transmisión en el rodeo (Campero, 2000).



Figura 69. Feto momificado por infección con *Trichomonas foetus*.
Fuente: <http://www.veterinariajauke.com.ar>

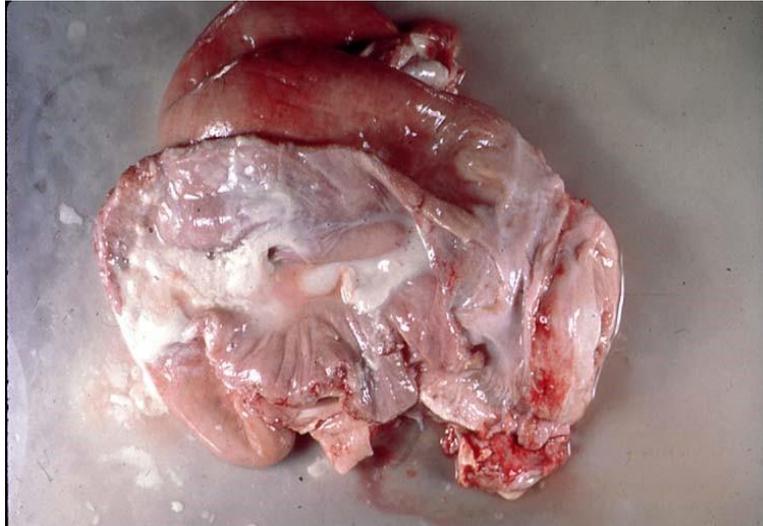


Figura 70. Útero de vaca Jersey con piómetra por infección con *Trichomonas*.
Fuente: <http://www.veterinariajauke.com.ar>

En la vaca *T. foetus* induce a una precoz pérdida de la preñez que se extiende desde la muerte embrionaria o fetal antes del día 120 de gestación, infertilidad transitoria, descargas uterinas, piómetra (figura 70) y ocasionales abortos tardíos (Clarke, 1971). Luego del coito, *T. foetus* invade la vagina induciendo una respuesta inflamatoria leve caracterizada por proliferación de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas en la lámina propia vaginal persistiendo en las secreciones genitales por 13 a 28 semanas. También coloniza tempranamente el cérvix, útero y oviductos y durante la gestación, la placenta y el feto generando una moderada a severa endometritis con presencia de agregados linfoideos y células inflamatorias en el estrato compacto. *T. foetus* no es invasiva y se adhiere superficialmente al epitelio endometrial siendo rodeada por células inflamatorias y detritus celulares (Anderson y col., 1996). Por otra parte, *T. foetus* puede ocasionalmente infectar el útero preñado en tiempo de gestación avanzada e inclusive llegar la gestación a término y parir un ternero normal denominándose a estas vacas carrier o portadoras crónicas llegando a persistir hasta por 6 a 9 semanas post-parto. Este fenómeno determina que dichas vacas resulten en una importante fuente de infección para el rodeo en el próximo servicio (Skirrow, 1987).

En la placenta y el feto produce placentitis con presencia de infiltrado a base de macrófagos y neutrófilos a nivel cotiledonario y en carúnculas. En los fetos, la lesión mas frecuente es una bronconeumonía piogranulomatosa con ocasionales células gigantes, enteritis necrotizante y la presencia de flagelados libres o fagocitados (Rhyan y col., 1988). Al ocurrir el aborto, el feto es expulsado aunque esporádicamente, puede ser retenido, momificarse (figura 69) o macerarse y originar una piómetra (figura 70) (BonDurant, 1997).

8.4. DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES VENÉREAS

El diagnóstico de las enfermedades venéreas en los bovinos se realiza mediante toma de muestras (tanto en el macho como en la hembra), examen de la placenta, del feto y de los anexos. La toma de muestras para *Campylobacter fetus* y para

Trichomonas foetus es la misma, variando el método de cultivo empleado para cada uno de ellos.

Se han descrito varias técnicas para obtener muestras prepuciales de los toros o muestras vaginales de las vacas. Es importante evitar la contaminación fecal, ya que se pueden introducir protozoos intestinales que podrían confundirse con *T. foetus*. La contaminación de las muestras debe minimizarse eliminando el material externo y los pelos sucios de alrededor del orificio prepucial o de la vulva; sin embargo, debe evitarse la limpieza del área, concretamente con desinfectantes, ya que puede disminuir la sensibilidad del diagnóstico (Taylor y col., 1994).

8.4.1. TOMA DE MUESTRAS EN EL MACHO

En los toros, el esmegma puede obtenerse por diferentes métodos: raspado (figura 68), aspiración y lavado. Normalmente el esmegma se obtiene mediante raspado y puede utilizarse para el aislamiento de las bacterias o puede aclararse en un tubo con unos 5 ml de tampón fosfato salino (PBS) que contenga 1% de formalina para el diagnóstico mediante la prueba de la inmunofluorescencia indirecta (IFI). El esmegma también puede tomarse en una vagina artificial después de la toma del semen, lavando la vagina artificial con 20–30 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS). Para los lavados prepuciales, se introducen en el saco prepucial 20–30 ml de PBS. Después de un masaje vigoroso de 15–20 segundos, se recoge el líquido. El semen se recoge en condiciones tan asépticas como sea posible. Las muestras de semen, deben diluirse con PBS e inocularse directamente en medio de cultivo, de transporte o de enriquecimiento (OIE, 2013).

Método de raspaje en el toro (figura 71)

1. Esterilizar el raspador por fuego directo o ebullición en agua durante 5 minutos.
 2. Higienizar el orificio prepucial: recortar pelos, lavar y secar.
 3. Introducir el raspador en la cavidad prepucial.
 4. Efectuar 20 a 30 movimientos en sentido antero posterior, sin raspar el pene; debe hacerse sobre el prepucio y sus pliegues.
 5. Introducir el raspador junto con el material extraído en solución fisiológica estéril (4 ml).
 6. Esperar 20 minutos.
 7. Se extraen 2 ml de la parte superior del suero fisiológico y se colocan en el medio de transporte (T.E.M.) para *Campylobacter*.
 8. Los 2 ml restantes se colocan en el medio Diamond para *Trichomonas*.
 9. Introducir el raspador junto con el material extraído en solución fisiológica formulada.
- (Cattaneo y Bermudez)



Figura 71. Toma de muestras en el macho con raspador.
Fuente: <http://www.laboratorioazul.com.ar>



Figura 72. Raspadores de plástico. Fuente: <http://www.laboratorioazul.com.ar>



Figura 73. Muestras del prepucio para diagnóstico de *Campylobacter* y *Trichomonas*.
Fuente: <http://www.produccion-animal.com.ar>

8.4.2. TOMA DE MUESTRAS EN LA HEMBRA

Para el diagnóstico de las enfermedades venéreas en la hembra la eficiencia aumenta cuanto más próxima a la infección inicial se hace la obtención de la muestra del mucus cérvicovaginal (MCV). La presencia de animales positivos a una o ambas enfermedades tiene valor desde el punto de vista de rodeo infectado y no como diagnóstico individual. La extracción de muestras debe realizarse cuando se observen hembras que repiten celo luego de retirados los toros del servicio o bien en el momento del tacto rectal al detectar las hembras vacías. Al obtener un muestreo de un 10-20% de animales permitirá registrar datos de valor. Sin embargo, si dicho muestreo se realiza lejos de la época de servicio (más de 4 meses), el valor de una muestra negativa es relativo, mientras que todo diagnóstico positivo por cultivo es de importancia. El hecho de tener un solo muestreo con resultado negativo no es suficiente información teniendo en cuenta las variaciones provocadas por el ciclo estral y el momento de la infección. La aparición de inmunoglobulinas locales se inicia dentro del primer mes post infección produciéndose la negativización del animal infectado en un período de 90 a 120 días (Campero, 2000).

En las hembras las muestras pueden obtenerse por aspiración o por lavado de la cavidad vaginal. Es importante el uso de un espéculo estéril, preferiblemente desechable. Para la aspiración, se limpia la zona de la vulva con un papel absorbente y se introduce en la cavidad vaginal una pipeta de inseminación artificial o una pipeta de Cassou (vaina azul), de forma que la parte anterior alcance el cuello uterino. Se succiona suavemente mientras se mueve la pipeta hacia delante y hacia atrás. Se retira la pipeta y el mucus recogido se siembra directamente en un medio de cultivo o en un medio de transporte o de enriquecimiento. El MCV también puede recogerse mediante el lavado de la cavidad vaginal: se introducen en la cavidad 20–30 ml de PBS con una jeringuilla unida a una pipeta de inseminación artificial. El líquido se aspira y se reintroduce en la cavidad cuatro o cinco veces antes de recogerlo y extenderlo directamente en medio de cultivo o de añadirlo a un medio de transporte o de enriquecimiento (OIE, 2013).

También se puede recoger líquido a partir del lavado de la cavidad vaginal con un tampón de gasa estéril mantenido en la vagina durante 5–10 minutos después de introducir PBS. Las muestras de MCV obtenidas por succión pueden diluirse con PBS, o sembrarse directamente en un medio de cultivo, de transporte o de enriquecimiento (OIE, 2013).

8.4.3. TOMA DE MUESTRAS EN LA PLACENTA Y FETOS ABORTADOS

Las mejores muestras para el aislamiento de estas bacterias son la placenta, el contenido estomacal, los pulmones y el hígado del feto. Se inoculan las muestras directamente en un medio de transporte y enriquecimiento, o en PBS con 1% de formalina para la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) (OIE, 2013).

8.4.4. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA CAMPYLOBACTER FETUS

➤ AISLAMIENTO DE CAMPYLOBACTER FETUS

Medio de cultivo para aislamiento

Como medio selectivo de aislamiento de *C. fetus* se recomienda el de Skirrow. Se trata de un medio basado en sangre con 5–7% de sangre (lisada) desfibrinada y que contiene los siguientes agentes selectivos: sulfato de polimixina B (2,5 UI/ml), trimetoprima (5 µg/ml), vancomicina (10 µg/ml), y cicloheximida (50 µg/ml). De forma alternativa se puede utilizar un medio no selectivo basado en sangre (5–7%) en combinación con la filtración (0,65 µm); no obstante, puede ser menos sensible que el medio selectivo (OIE, 2013).

Condiciones de incubación

Las placas se incuban a 37°C y en una atmósfera microaerobia con un 5–10% oxígeno, 5–10% dióxido de carbono y preferiblemente 5–9% de hidrógeno para un crecimiento óptimo. Las condiciones microaerobias pueden establecerse mediante varios métodos. En algunos laboratorios se crea una atmósfera adecuada sustituyendo gas en una jarra. Existen kits disponibles comercialmente para la generación del gas. También se pueden utilizar incubadores atmosféricos. Las condiciones de cultivo e incubación se verifican de forma sistemática utilizando cepas control de *C. fetus* subesp. *fetus* y *C. fetus* subesp. *venerealis*. Deberían utilizarse esos controles cada vez que se lleva a cabo un aislamiento (OIE, 2013).

Identificación de especies de campylobacter

Normalmente las colonias de *C. fetus* aparecen después de 2–5 días en los medios de cultivo. Para evitar que el crecimiento de los contaminantes se superponga a las colonias específicas, se recomienda evaluar diariamente los medios y subcultivar las colonias sospechosas. Después de 3–5 días de incubación, las colonias miden 1–3 mm de diámetro. Son ligeramente grisáceas-rojizas, redondas, convexas, lisas y brillantes y con un borde regular (OIE, 2013).

Campylobacter es móvil, aunque esta propiedad puede desaparecer después de los subcultivos. A menudo *Campylobacter* presenta la forma de un bacilo curvado fino, de 0,3–0,4 µm de ancho y 0,5– 8,0 µm de largo. En vivo se pueden observar simultáneamente formas cortas (en forma de coma), medias (en forma de S) y largas (helicoidales con varias espirales). Los cultivos viejos pueden contener formas cocoides (OIE, 2013).

Tabla 37. Identificación bioquímica de la subespecie *Campylobacter fetus*.

	25°C	42°C	Oxidasa	Catalasa	NaCl 3.5%	Glicina 1%	H ₂ S ^(b)	Ácido Nalidíxico
<i>C. fetus</i> sub. venerialis	V	-	+	V	-	-	-	V
<i>C. fetus</i> sub. fetus	+	V ^(a)	+	+	-	+	-	R
<i>C.</i> jejuni	-	V ^(c)	+	V ^(d)	-	V	-	S ^(e)
<i>C.</i> hyointestinalis	-	+	+	+	-	V	V	R
<i>C.</i> sputorum	-	+	+	v	+	+	+	V

(a) = Aunque *C. fetus* no es una especie termófila de *Campylobacter*, se ha descrito el crecimiento de esta especie a 42°C; (b) = En medio de triple azúcar-hierro; (c) *C. jejuni* subesp. *jejuni* es positivo, *C. jejuni* subesp. *Doyley* es negativo; (d) *C. jejuni* subesp. *jejuni* es positivo, *C. jejuni* subesp. *Doyley* es variable; (e) según el Manual de Bergey, las cepas son sensibles, aunque a menudo se han descrito cepas resistentes; (+) = reacción o crecimiento positivo y (-) = reacción negativa o ausencia de crecimiento de la cepa en un medio adecuado bajo condiciones especificadas; V = resultados variables; S = sensible; R = resistente.

Fuente: <http://www.web.oie.int/>

8.4.5. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA TRICHOMONAS FOETUS

➤ IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE MEDIANTE EXAMEN DIRECTO DEL CULTIVO

El diagnóstico presuntivo de la tricomoniasis como causa de la ausencia de reproducción en el rebaño se basa en el historial clínico, los signos clínicos de aborto, la vuelta reiterada al estro, o unos ciclos de celo irregulares. La confirmación de la infección se basa en la observación de los microorganismos en el líquido placentario, el contenido estomacal de los fetos abortados, los lavados uterinos, las secreciones de la piometra, el mucus vaginal o el esmegma prepucial. En los rebaños contaminados, el material más fiable para el diagnóstico son los lavados o raspados prepuciales o vaginales (Parker y col., 1999).

El número de microorganismos varía en función de varias situaciones. Son numerosos en los fetos abortados, en el útero se mantienen varios días después del aborto y, en las vacas recién infectadas; son muy abundantes en el mucus vaginal 12–20 días después de la infección. En el toro infectado, los microorganismos están presentes en la mucosa del prepucio y del pene, aparentemente sin invadir la submucosa. Generalmente, se recomienda dejar pasar al menos 1 semana después de la última inseminación o monta antes de tomar una muestra prepucial (Parker y col., 1999).

Cuando las muestras deban enviarse a un laboratorio y no puedan entregarse en 24 horas, debe emplearse un medio de transporte que contenga antibióticos, (por

ejemplo, caldo tioglicolato con antibióticos (Thomas y col., 1990) o el recipiente de plástico para cultivo de campo). Los microorganismos deben protegerse durante el transporte de la exposición a la luz del sol y de las temperaturas extremas, las cuales deben permanecer por encima de los 5°C y por debajo de los 38°C (Bryan y col., 1999).

La ventaja que se obtiene en este método, es que el tropismo negativo de la tricomonas respecto al oxígeno, hace que estas se desplacen hacia el fondo del tubo, donde crecen sin competencia de hongos o bacterias, los cuales quedan con el esmegma, pelos y tierra, suspendidos en la parte superior (Bryan y col., 1999).

Medios de cultivo

Cuando los microorganismos son demasiado escasos para una detección directa y una identificación precisa, deben prepararse cultivos. Los medios elegidos son el medio de Diamond para tricomonas o el kit comercial de cultivo. La inoculación de las muestras en los medios de cultivos debe realizarse lo antes posible después de la recogida. Las muestras recogidas mediante lavado prepuccial es necesario procesarlas mediante centrifugación (Bryan y col., 1999).

o Medio de Diamond modificado

El material de vidrio utilizado para el cultivo debe lavarse en agua destilada (evitando el empleo de detergentes). El medio de Diamond modificado (figura 74) consiste en: 2 g de tripticasa de peptona, 1 g de extracto de levadura, 0,5 g de maltosa, 0,1 g de clorhidrato de L-cisteína, y 0,02 g de ácido Lascórbico; se completa hasta 90 ml con agua destilada que contiene 0,08 g de K₂HPO₄ y de KH₂PO₄, y se ajusta hasta pH 7,2–7,4 con hidróxido sódico o ácido clorhídrico. Después de añadir 0,05 g de agar, el medio se esteriliza en autoclave durante 10 minutos a 121 °C, se deja enfriar hasta los 49°C, y a continuación se añaden asépticamente 10 ml de suero bovino inactivado mediante calentamiento hasta 56°C durante 30 minutos, 100.000 unidades de penicilina G cristalina y 0,1 g de sulfato de estreptomina. El medio se reparte asépticamente en alícuotas de 10 ml en viales estériles de 16 x 125 mm con tapón de rosca, y se refrigera a 4°C hasta su uso. Los medios deben cultivarse hasta 7 días y las muestras examinarse en intervalos diarios. La incorporación de agar en el medio limita a los microorganismos contaminantes en gran medida a la porción superior del medio de cultivo, mientras que ayuda a mantener las condiciones microaerófilas en el fondo del tubo, donde las trichomonas se encuentran en grandes cantidades (BonDurant, 1997).

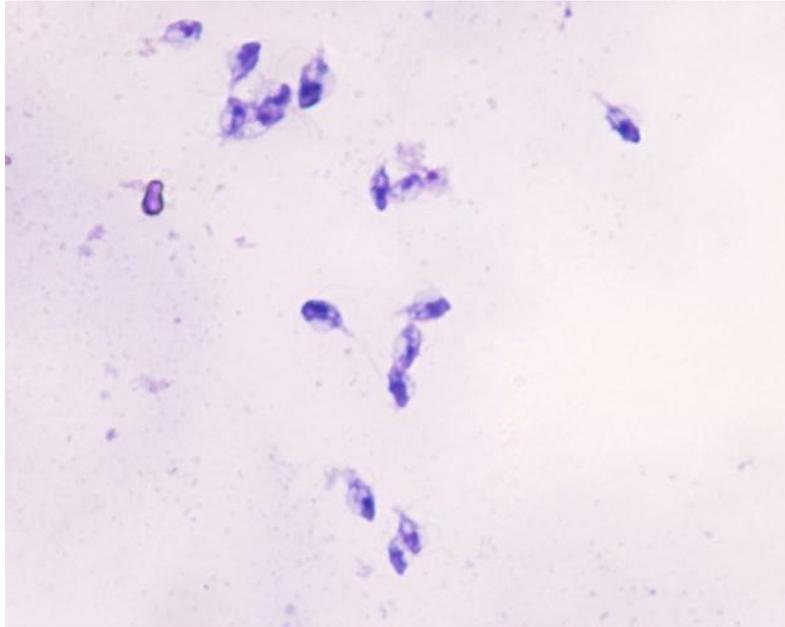


Figura 74. *Trichomonas foetus* en el Medio de Diamond.
Fuente: <http://www.laboklin.com>

- **Kit comercial de cultivo**

Cuando se requiere una combinación de comodidad y sensibilidad, puede utilizarse el kit de cultivo para *Trichomonas* (BonDurant, 1997). Consiste en un recipiente de plástico transparente y flexible con dos cámaras. La cámara superior contiene un medio especial en el que se introduce la muestra. Las muestras de campo para la inoculación directa en el cultivo se recogerían normalmente mediante la técnica de raspado prepucial (Schonmann y col., 1994). Las muestras recogidas mediante el lavado prepucial requieren una centrifugación antes de introducir el sedimento en la cámara superior. Después de mezclar, el medio se introduce en la cámara inferior, y a continuación el recipiente se sella y se incuba a 37°C. El examen microscópico de las trichomonas puede realizarse directamente a través del recipiente de plástico (Borchardt y col., 1992).

- **REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)**

Se han desarrollado técnicas moleculares basadas en la PCR para la identificación de *T. foetus* (Gregory y col., 1990). La PCR ofrece varias posibles ventajas, como una alta sensibilidad analítica, un diagnóstico más rápido, y el hecho de que los microorganismos de la muestra recogida no tienen que ser viables. Una PCR de diagnóstico consiste en una extracción específica y la amplificación del ADN utilizando técnicas de PCR con cebadores específicos. La especificidad y sensibilidad de la prueba se verán afectadas por el tipo de extracción, el tipo de circunstancias en que se realiza la PCR y el tipo de cebadores (Mc Millen y Lew, 2006; Parker y col., 2001).

➤ PRUEBAS INMUNOLÓGICAS

En el feto abortado no existen lesiones específicas macroscópicas ni microscópicas y, para realizar el diagnóstico, es necesaria la identificación de los microorganismos. Se ha descrito una técnica inmunohistoquímica para detectar a *T. foetus* en la placenta y los pulmones fetales de abortos bovinos fijados con formaldehído e incluidos en parafina empleando un anticuerpo monoclonal (MAb) (Rhyan y col., 1995; Bastida-Corcuera y col., 2000).

9. PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS ENFERMEDADES ABORTIVAS EN EL URUGUAY

9.1. BRUCELOSIS

9.1.1. LEGISLACIÓN NACIONAL

➤ Etapas de la Brucelosis bovina en el Uruguay

En la legislación nacional sobre la Brucelosis bovina cabe destacar el desarrollo de una serie de etapas (Chans, 2003).

1. Etapa de Desarrollo natural de la enfermedad.
2. Etapa de Profilaxis libre.
3. Etapa de control de la Brucelosis bovina (Profilaxis obligatoria):
 - Normas aplicables:
 - Ley 12.937 del 9 de Noviembre de 1961, parcialmente modificada por la ley 13.892 (de Rendición de Cuentas y Balance de Ejecución Presupuestal), del 19 de Octubre de 1970, artículos 470 y 471 y por sus distintos decretos reglamentarios, el último vigente es el decreto 233/971, del 30 de Abril de 1971. Se declara obligatoria la lucha contra la Brucelosis en todo el territorio nacional y se establecen una serie de medidas al respecto.
 - El decreto del 24 de Octubre de 1963 y concordantes, reglamento de disposiciones sobre la elaboración, importación, comercialización y uso de la vacuna a *Brucella abortus* cepa 19.
 - A partir del año 1984, normas referidas a la eliminación de bovinos brucelósicos, decreto 79/984 del 22 de Febrero de 1984 y el 607/985 del 6 de Noviembre de 1985.
 - Medidas implementadas:
 - La medida sanitaria más importante establecida para el control de la Brucelosis bovina es la vacunación de las terneras a determinada edad. Para cumplir con tal cometido, se disponen una serie de obligaciones, prohibiciones y controles a los distintos actores de la campaña sanitaria (productores, veterinarios particulares, veterinarios oficiales, laboratorios, rematadores, etc), referidos a la vacuna y la vacunación de los animales.

➤ Normas vigentes

1. Ley 3.606 del 13 de Abril de 1910 (Ley de Policía Sanitaria de los Animales).
2. Ley 12.937 del 9 de Noviembre de 1961 (declara la lucha obligatoria contra la Brucelosis bovina en todo el territorio nacional).
3. Decretos 79/984 del 22 de Febrero de 1984 y el 607/985 del 6 de Noviembre de 1985 (se dictan normas reglamentarias referentes a la eliminación de los bovinos brucelósicos).
4. Decreto 522/996 del 30 de Diciembre de 1996 (se suspende la vacunación sistemática de las hembras bovinas, entre determinado período de edad, con la vacuna *Brucella abortus* cepa 19).
5. Decreto 20/998 del 22 de Enero de 1998 (establece los procedimientos para la declaración de predios oficialmente libres de Brucelosis y Tuberculosis bovina).
6. Manuales de Procedimiento para la calificación, declaración y certificación de Rebaños Oficialmente Libres de Brucelosis y Tuberculosis bovina.
7. Resolución de la D.S.A. sobre el control del movimiento de bovinos de determinadas Sec. Pol. De Rocha.
8. Decreto 432/002 del 6 de Noviembre del 2002 (se autoriza la importación y la aplicación de la vacunación contra Brucelosis bovina con cepa RB51).
9. Resolución de la D.G.S.G. Nº 57 del 12 de Noviembre del 2002 (se dispone la vacunación obligatoria de los bovinos hembra a partir de los cuatro meses, no preñadas,, exclusivamente en los establecimientos que determine la D.S.A. según criterios técnicos).
10. Resolución de la D.G.S.G. Nº 60 del 12 de Noviembre del 2002 (se dispone que los animales positivos a brucelosis, enviados a faena obligatoria, quedan exceptuados de la certificación e identificación, correspondiente a animales para embarque con destino a plantas de faena de exportación (Chans, 2003).

9.1.2. MANEJO DEL RODEO AFECTADO

La siguiente información es extraída del Manual de Revisión del Programa de Brucelosis bovina en el Uruguay y Recomendaciones para su mejora realizados por los Médicos Veterinarios Valerie E. Ragan y John R. Ragan.

Una vez que fue diagnosticada la Brucelosis bovina en un rodeo para un exitoso control y posterior eliminación de la enfermedad se requiere de un plan de acción que combine sólidas prácticas epidemiológicas con buenas prácticas ganaderas, lo que implica mucho más que sangrar al rodeo y eliminar a los animales positivos. Se trata de abordar una serie de factores en el manejo del rodeo para detener la transmisión de la enfermedad lo más rápidamente posible dentro del rodeo.

➤ Elementos para el plan sanitario

1. **Cuarentena** – se descubren animales positivos en el rodeo o se rastrea un animal infectado hasta su origen, colocando el rodeo inmediatamente en cuarentena. Cualquier otro rodeo que sea del mismo propietario, independientemente de su ubicación, debe ponerse en cuarentena hasta que se determine su estado sanitario. Todos los animales de un rodeo en cuarentena, excepto novillos y vacas castradas, deben restringirse en sus predios. Al ganado

de cualquier categoría puede permitirsele pasar directamente al sacrificio con controles para garantizar que no se desvíen.

2. **Eliminación de los animales positivos** – se deben de definir claramente los plazos y la identificación requerida para la disposición de los animales al sacrificio (como serán identificados y manejados los animales positivos y en caso de no ser sacrificados de inmediato deberán adoptarse medidas para su aislamiento).
3. **Manejo de los partos y abortos** – es el punto más importante ya que la transmisión de la brucelosis se centraliza en este momento. El plan debe incluir una serie de factores que el productor se compromete a hacer a fin de minimizar la transmisión de la enfermedad. Dentro de estos factores tenemos:
 - Cría estacional (en especial en rodeos de carne), confinando la temporada de reproducción y posterior parto a solo tres meses consecutivos.
 - División del rodeo en grupos más pequeños, reduciendo considerablemente la probabilidad de exposición, es decir, si dividimos un rodeo afectado a la mitad se reduce la exposición relativa potencial en un 50%.
 - Seguir dividiendo el rodeo basado en la etapa de gestación puede reducir la exposición aún más, ya que las vacas de primera cría son más susceptibles que los animales más viejos.
 - Separación de las madres antes y durante el parto, evitando la exposición de todo el rodeo a terneros recién nacidos, fetos, placentas y materiales infecciosos asociados con el parto, permitiendo una adecuada limpieza y desinfección de las áreas de partos.
4. **Manejo de las vaquillonas** – un punto importante a destacar es que las vaquillonas pueden estar infectadas en cualquier punto de su vida, desde el útero a la madurez, pero son más sensibles durante la preñez. Las pruebas serológicas habituales utilizadas para la identificación de los animales positivos no son fiables hasta que las novillas son sexualmente maduras, por lo tanto, las novillas infectadas que están incubando la enfermedad realmente pueden dar negativo hasta el final de la preñez o en el momento del parto o aborto. El plan del rodeo debe incluir una de estas tres opciones para el manejo de las vaquillonas en un rodeo afectado:
 - Vender para faena.
 - Aislar hasta dar una prueba negativa post-parto.
 - Tenerla en el rodeo manteniendo al mismo en cuarentena hasta que hayan parido todas las novillas y el rodeo entero tenga una prueba negativa (esta es la opción más costosa y menos deseable).Las vaquillonas hijas de rectoras positivas no deberían de mantenerse en el rodeo ya que son animales de muy alto riesgo en la transmisión de la enfermedad.
5. **Calendario de sangrados** – el calendario de prueba para el rodeo debe ser descrito en el plan de rodeo y debe adaptarse al rodeo individual y a la situación de la enfermedad en el mismo. Actualmente en el Uruguay, dos pruebas negativas con cuatro meses de diferencia, es todo lo que se requiere para la

liberación de restricciones de un rodeo (junto con la eliminación de los animales positivos y la vacunación).

6. **Pruebas luego de levantada la cuarentena** – los rodeos infectados que han sido liberados de la cuarentena pueden seguir siendo rodeos de alto riesgo por un tiempo debido a la posibilidad de los largos períodos de incubación. Un período de cuarentena de 1 año se utiliza en la mayoría de los países y como seguro adicional se recomienda un sangrado adicional 1 año más tarde, ya que las condiciones primarias por las que el ganado se infectó aún pueden existir.
7. **Reemplazos** - si es posible dentro del manejo del rodeo, es deseable que los animales de cría no se agreguen a un predio foco hasta que el rebaño ha sido liberado de la infección y se levantó la cuarentena. Los animales nuevos añadidos pueden tener un menor nivel de resistencia y se infectan, perpetuando así la infección en el rebaño.
 - Si es necesario agregar animales a un rebaño en cuarentena, deberán obtenerse de un rebaño que ha sido probado negativo a brucelosis.
 - Los animales añadidos deben dar negativo dentro de los treinta días, vacunados, aislados del resto durante al menos treinta días y sangrados nuevamente antes de ser incorporados al rodeo.

9.1.3. VACUNACIÓN CON CEPA RB51

La prevención de la diseminación de la Brucelosis bovina en los rodeos, depende (entre otras cosas) de un estricto plan de vacunación con vacunas adecuadas contra la *Brucella abortus*, utilizándose clásicamente cepas bacterianas atenuadas y componentes antigénicos propios de la *Brucella* (Stevens y col., 1994).

A partir del 30/12/1996 (decreto 522/996, 30 de diciembre de 1996), se suspendió la vacunación sistemática de las hembras bovinas entre tres y seis meses de edad, con la vacuna *Brucella abortus* cepa 19, así como los requisitos de identificación y certificación conexos a la misma. La obligatoriedad de la vacunación contra la Brucelosis bovina queda restringida a los planes de control predial y en aquellas circunstancias expresamente autorizadas por la D.S.A. (Dirección de Sanidad Animal) (Chans, 2003).

Las razones esgrimidas para dejar de vacunar con la Cepa 19 fueron:

- 1) Situación de alto control de la Brucelosis bovina a nivel nacional, con el objetivo de la erradicación definitiva.
- 2) El mantenimiento de la vacunación sistemática es un factor que incide en la declaración oficial de rodeos libres de la enfermedad.
- 3) Es un requisito establecido en el Código Sanitario de Animales Terrestres para declarar un rebaño libre de brucelosis bovina.
(Chans, 2003).

Por estudios seroepidemiológicos, realizados en el año 2002, se detectaron en algunas áreas geográficas, altos porcentajes de bovinos positivos a brucelosis bovina, lo que ameritaba la necesidad de implementar nuevamente un plan de

vacunación contra la enfermedad. En esta nueva etapa de vacunación, se recomienda utilizar la vacuna Brucella abortus Cepa RB 51, la cual permite vacunar terneras mayores de cuatro meses y animales adultos, brindando una buena inmunidad, sin incidir en los resultados serológicos. En consecuencia, por decreto N° 432/002, de 6 de noviembre de 2002, se autoriza la importación, comercialización y uso de la vacuna Brucella abortus Cepa RB51 (Chans, 2003).

➤ **Características de la cepa RB51**

La vacuna cepa RB51 es una mutante de la cepa 2308 de Brucella Abortus, genéticamente estable y de morfología rugosa, que perdió la cadena lateral O de polisacárido de la superficie de la bacteria (Manual de Vacunación con cepa RB51).

Fue desarrollada por Schurig en el Virginia Polytechnic Institute, Virginia, Estados Unidos, mediante pasajes seriados en medio selectivo, lo cual dio como resultado una cepa igualmente inmunogénica, pero menos virulenta que la vacuna cepa 19. En ratones, ovejas y bovinos la RB51 protege contra desafíos experimentales con Brucella Abortus y es menos abortígena que la cepa 19 cuando se aplica durante la preñez, reportándose escasos abortos cuando se ha aplicado a ganado gestante (Manual de Vacunación con cepa RB51).

La vacunación con RB51 no da como resultado títulos de anticuerpos post vacunales contra Brucella que puedan ser medidos por las pruebas standard, lo que es una característica muy importante para ser utilizada cuando se desea erradicar la brucelosis del ganado. La cepa RB51 produce inmunidad protectora frente a desafíos de Brucella abortus, tanto en ratones como en bovinos, en los que produce un nivel de protección equivalente a la cepa 19 (Manual de Vacunación con cepa RB51).

Por otra parte, las evaluaciones serológicas de animales vacunados con la cepa RB51 han demostrado la inhabilidad de la cepa para inducir la producción de anticuerpos asociados a la cadena O de lipopolisacáridos. Con ello se introduce una gran ventaja, dado que no interfiere con el diagnóstico de infecciones con cepas de campo de Brucella abortus (Manual de Vacunación con cepa RB51).

Hay que tener en cuenta que tanto la vacunación con cepa 19 como con RB51, solo produce una protección entre 65 a 75% en forma individual, por lo tanto la inmunidad para que sea efectiva debe ser conferida a todo el rodeo susceptible, teniendo la vacunación oficial el objetivo de establecer una inmunidad de masa en un rebaño bovino (Manual de Vacunación con cepa RB51).

➤ Diferencias entre la cepa 19 y la cepa RB51

Tabla 38. Características diferenciales entre las dos cepas bacterianas más comúnmente utilizadas en la vacunación contra la Brucelosis bovina.

Cepa 19	Cepa RB51
Cepa lisa.	Cepa rugosa, más atenuada que la cepa 19.
Posee la cadena O en su LPS.	No posee la cadena O en su LPS.
Genera anticuerpos que interfieren en las pruebas diagnósticas, impidiendo diferenciar entre un animal vacunado y otro enfermo.	Los anticuerpos que genera no interfieren en las pruebas diagnósticas.
Administrada en vacas en gestación puede provocar abortos en el 1,4% de los casos.	En vacas gestantes provoca abortos en el 0,1% de los casos.

Fuente: Castro y col., 2005

9.1.4. OTRAS VACUNAS

Existen otras vacunas utilizadas en la prevención y el control de la Brucelosis en los bovinos, dentro de las cuales podemos citar:

1. Bacterias Atenuadas:

- **Brucella abortus S19** – es una cepa lisa que posee la cadena O del LPS, por ello, en animales inmunizados con esta cepa se pueden observar anticuerpos específicos contra este antígeno, del tipo IgG1, IgG2b e IgM. (Vemulapalli y col, 2000). Su efectividad en el ganado bovino depende de variables como la edad de vacunación, dosis, ruta de administración y de la prevalencia de la brucelosis en el rebaño vacunado (Schurig y col, 2002). Los anticuerpos inducidos por la vacunación con esta cepa interfieren con el diagnóstico tradicional de bovinos infectados con cepas silvestres de *B. abortus*, por lo que tiene un uso limitado en la vacunación del ganado; esta cepa puede también inducir aborto en hembras preñadas y es patógena para la especie humana (Olsen, 2000). Fue utilizada hasta el 20 de Diciembre de 1996, siendo sustituida por la cepa RB51 a partir del 6 de Noviembre del 2002 (Chans, 2003).
- **Brucella abortus 45/20** – es una cepa rugosa y fue desarrollada por 20 pasajes repetidos de *Brucella abortus* 45 en cobayos. A pesar de que no induce anticuerpos contra la cadena O del LPS e induce una protección significativa contra la infección por *Brucella abortus*, no es muy utilizada porque es inestable y puede revertir a su forma virulenta in vivo (Corbel y col., 1983).

2. **Vacunas subcelulares** – utilizan antígenos de *Brucella* con capacidad de inducir una respuesta inmune mediada por células, las cuales presentarían una protección equivalente a la alcanzada con la cepa 19 de *Brucella abortus* probada en ratones de laboratorio. Los antígenos forman parte de la estructura de la bacteria; algunos ejemplos son:
 - a) La lipoproteína de 18 kDa presente en la superficie de *Brucella*.
 - b) La proteína periplásmica P39.
 - c) La proteína bacterioferritina.
 - d) La proteína ribosomal L7/L12.
(Oliveira y col., 1994).
3. **Vacunas de tercera generación (ADN y ARN)**
 - **Vacunas ADN** - La inmunización con vectores de expresión plasmidial se basa en la expresión in vivo de algún antígeno seleccionado, que induciría una respuesta inmune protectora, y tienen algunas de las ventajas que presenta el uso de los patógenos vivos o atenuados, pero sin el riesgo de la infección (Tang y col 1992).
 - **Vacunas ARN** - Además de los vectores plasmidiales existen otros vectores de expresión como los basados en el virus Semliki Forest (SFV), el cual es un Alfavirus perteneciente a la familia Togaviridae. Estos vectores son partículas virales suicidas del virus Semliki Forest, cuyo genoma corresponde a un ARN desnudo autorreplicable, cuya secuencia contiene inserto el gen de interés que codifica para la proteína con capacidad inmune (Andersson y col, 2001, Fleeton y col, 1999).

9.2. LEPTOSPIROSIS

La vacunación es una de las prácticas más extendidas tanto en el Uruguay como en otros países del mundo (Thiermann, 1984), siendo considerada para algunos autores como la mejor herramienta de control de la leptospirosis en los bovinos (Ellis, 1994); sin embargo dicha práctica presenta una serie de desventajas:

1. En primer lugar, las vacunas comerciales son bacterinas y no proporcionan protección cruzada entre los distintos serovares y sólo permiten una protección limitada frente a cepas distintas de un mismo serovar, variando los serovares y las cepas entre los distintos países, por lo que la protección ofrecida por las vacunas elaboradas con las cepas de un país o región, en otras zonas o países puede resultar poco efectiva (Thiermann, 1984).
2. En segundo lugar, diversos estudios sobre las vacunas existentes han demostrado que la vacunación frente a *hardjo* con vacunas tanto monovalentes como polivalentes, no evitan la infección, la migración al útero y oviducto ni la persistencia de la infección renal y por consiguiente, tampoco evitan la eliminación de leptospiras en la orina ni el nacimiento de algunos terneros débiles y mortinatos (Bolin y col., 1991).

Por lo tanto la profilaxis higiénico-sanitaria es esencial en el control de la leptospirosis en un rodeo, pero siempre debe formar parte de un sistema general de control, junto con la vacunación y el tratamiento, ya que ninguna de estas medidas es eficaz por separado (Ellis, 1994). Las medidas higiénico-sanitarias

deben basarse en dos puntos esenciales: el control de hospedadores de mantenimiento silvestres y el control de hospedadores domésticos.

En la Tabla 39 se resumen las principales medidas recomendadas por diferentes autores (van der Hoeden, 1958; Ellis, 1994; etc).

Tabla 39. Medidas de Control frente a la Leptospirosis en los bovinos.

Medida	Control sobre...
Desratización general de la explotación y construcción de edificios “a prueba de roedores”.	Hospedadores silvestres asociados a la actividad humana (ratas y ratones).
Evitar el uso de fuentes de agua comunales.	Hospedadores silvestres y domésticos.
Reducir el pastoreo conjunto con otras especies domésticas y con otros rebaños de ganado bovino.	Hospedadores de <i>L. hardjo</i> (bovinos y ovinos), de <i>L. bratislava</i> (porcinos y equinos) y de <i>L. pomona</i> (porcinos).
Mantener una política de ciclo cerrado y en su defecto, someter a una cuarentena estricta a los animales de reposición que entran nuevos en la explotación.	Entrada de Leptospirosis en la explotación a través de bovinos infectados subclínicamente.
No separar a las crías de las madres.	Entrada constante de animales susceptibles.
Evitar el uso del toro para la monta natural.	Posible transmisión venérea.

Fuente: consultagro.com.ve

Centros de IA

- Los centros dedicados a la inseminación artificial (IA) deberían realizar un control de la leptospirosis en los sementales (Eaglesome y García, 1992). La adición de antibióticos, como la penicilina y la estreptomina, en el momento de preparación de las dosis seminales ha demostrado ser útil para el control de la capacidad infectante de las leptospirosis presentes en el semen, por lo que actualmente supone la medida más eficaz de prevención de la transmisión a través de la IA (Eaglesome y García, 1992).

Policía Sanitaria

- La leptospirosis está incluida dentro de la «lista B» de la Oficina Internacional de Epizootias (O.I.E.), estando por ello obligados los países miembros a realizar un informe anual sobre el estado de esta enfermedad en sus países respectivos (art. 1.2.0.3) pudiéndose solicitar, en algunos casos, informes más frecuentes (O.I.E., 1992).

9.3. NEOSPOROSIS

El control estratégico de la Neosporosis bovina se basa en:

- 1) Disminuir la transmisión vertical reduciendo el número de vacas seropositivas, para lo que se deben efectuar algunas acciones:
 - a. Eliminar las vacas abortadas seropositivas.
 - b. No utilizar la reposición de vacas seropositivas.
 - c. En los casos que se utilice la transferencia embrionaria de hembras donantes positivas, usar vacas receptoras negativas.
 - d. A los fines de disponer mayor reemplazo de terneras en vacas seronegativas se sugiere usar ia con semen sexado.
 - e. Usar semen de toros para carne.(Campero, 2000)
- 2) Disminuir el riesgo de la transmisión horizontal controlando los perros.
(Campero, 2000).

➤ CONTROL DE LA POBLACIÓN CANINA

La presencia de perros en los establecimientos es un factor de riesgo considerable. Si bien el riesgo de transmisión horizontal es bajo, se debe prevenir el acceso de los perros al pasto, alimentos y agua de los animales. Al disminuir al máximo la población canina se disminuye el riesgo de transmisión horizontal por contaminación de alimentos y agua por heces (Campero, 2000).

➤ ELIMINACIÓN DEL MATERIAL ABORTADO

A los fines de disminuir el riesgo de infección en el hospedador definitivo, los fetos y placentas abortadas deberían eliminarse de forma segura y rápida. Está demostrada la eliminación de ooquistes de *N. caninum* en las heces de perros después de haber ingerido tejidos bovinos infectados con *N. caninum* (Campero, 2000).

➤ CALOSTRO

El calostro es una posible vía de transmisión por lo que el calostro de las vacas infectadas no debería administrarse en la recría ni tampoco debería formar parte de un eventual banco de calostro congelado. Esta vía de infección ha sido demostrada en condiciones experimentales en calostro y leche aunque no ha sido probada en forma natural (Campero, 2000).

➤ CONTROL DE ROEDORES

N. caninum ha sido detectado recientemente mediante serología y PCR en ratas y ratones naturalmente infectados. Los roedores podrían constituir un reservorio de la infección para el perro por lo que deberían ser controlados (Campero, 2000).

9.4. DIARREA VIRAL BOVINA

Las medidas de control y de prevención del Complejo de la Diarrea Viral Bovina – Enfermedad de las Mucosas consisten en:

1. Evitar la introducción de la infección en un rodeo - mediante programas de cuarentena y chequeo de los animales previa entrada (Lindberg y Alenius, 1999).
2. Identificar y eliminar a los animales con infección persistente - la utilización de pruebas diagnosticas en los programas de control permiten: la vigilancia o monitoreo de la prevalencia a nivel del hato así como también a nivel regional; establecer el estatus del hato frente a la enfermedad, e identificar animales PI para su posterior eliminación (Sandvik, 2005). Entre las metodologías diagnósticas se tienen: la detección de antígeno, la detección de anticuerpos y la detección del genoma viral (Houe y col., 2006).
3. Vacunar a los animales en edad de reproducción antes de la fecundación.

9.5. RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA

Una de las principales diferencias para el control de esta enfermedad es que los animales infectados transportan al virus de por vida, ya que el HVBo-1 permanece integrado por un período indefinido en células preferenciales. En primer lugar es necesario definir la decisión de controlar la enfermedad clínica o eliminar la infección. La vacunación protege contra la primera pero no contra la segunda. Si se decide vacunar se debe considerar que la vacunación no previene la superinfección con cepas de campo, el estado inmunitario que provee una vacuna influye en la reexcreción de virus latente, la posibilidad de eventos tales como recombinación entre cepa vacunal y de campo y la reversión a cepa virulenta no puede ser excluida, y salvo que existan marcadores específicos en las cepas vacunales o diferentes patrones de restricción de ADN, los anticuerpos resultantes de la vacuna no permiten la utilización de análisis serológicos que diferencien cepas vacunales de cepas de campo en los programas de control y erradicación (Thielscher y Huth, 1986).

9.6. ENFERMEDADES VENÉREAS

A continuación se exponen las medidas de control y prevención de las ETS (Enfermedades de Transmisión Sexual). Hay que tener en cuenta que no se cuentan con registros actualizados acerca de la Trichomoniasis en los bovinos, ya que es una enfermedad muy difícil de diagnosticar, a menudo confundiendo al parásito con otros agentes.

➤ MEDIDAS DE CONTROL Y PREVENCIÓN DE LAS ETS

1. Implementar la IA en rodeos problemas, al menos en vaquillonas siendo una herramienta de elección para el control de las ETS.
2. Lograr que los toros tengan los dos controles prepucciales pre-servicio negativos a ETS sucesivos con suficiente antelación.
3. Emplear en el servicio toros jóvenes, controlados y negativos a las ETS.
4. Venta a faena de los toros infectados con Trichomoniasis.

5. Vacunación contra Campylobacteriosis, dos dosis pre-servicio y repetir anualmente en los rodeos en riesgo o con enfermedad endémica.
6. Revisar y muestrear sistemáticamente todo toro que ingrese al establecimiento.
7. No rotar los toros en diferentes lotes durante el servicio.
8. Eventual vacunación de las hembras contra Trichomonas en los rodeos en riesgo y/o infectados.
(Campero y Ladds, 1991)

➤ **OTRAS MEDIDAS COMPLEMENTARIAS**

1. Reponer los toros cada 4 años de servicio por el mayor riesgo de adquirir infecciones venéreas en toros más viejos además de los problemas osteomusculares y de dominancia.
2. Identificar los toros que sirven en cada lote mediante un doble sistema (doble juego de caravanas, números a fuego y tatuaje, etc.).
3. Vender los toros saltadores de alambrados.
4. Vender a faena los vientres vacíos al tacto rectal.
5. Limitar el período de servicio (90 días).
6. Eliminar las vacas vacías o sin cría al pie al final de parición.
7. No mezclar vacas preñadas introducidas en el rodeo con el resto de los animales.
8. Estricto control de los toros ya que no existen hasta el presente vacunas comerciales para prevenir la Trichomoniasis en los mismos.
9. Disponer y mantener adecuadamente los alambrados, especialmente los linderos.
10. Mantener a los toros en lotes con excelentes alambrados, agregar eléctrico si fuere necesario.
(Campero, 2000)

10. OTRAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS CAUSANTES DE ABORTO EN BOVINOS

Se han reportado otras enfermedades infecciosas como posibles causantes de abortos en bovinos, pero que presentan una menor incidencia con respecto a las enfermedades anteriormente descritas. Cabe recordar que el aborto en los bovinos no está dado pura y exclusivamente por un solo tipo de agente infeccioso ó por una causa determinada, sino que es un conjunto de signos y síntomas que engloban a muchas patologías y que por lo tanto se le conoce como Síndrome de aborto bovino (SAB), no pudiendo en muchos casos determinar cuál es la causa del aborto. Dentro de las enfermedades con menor incidencia, pero que estarían actuando dentro del SAB se encuentran:

1. Salmonella dublin
2. Listeria monocytogenes
3. Anaplasma
4. Fiebre Aftosa
5. Parainfluenza 3
6. Haemophilus somnus
7. Bacillus lichiniformis

8. Corynebacterium sp.
9. Estreptococo beta hemolítico
10. Mycoplasma sp.
11. Chlamydothila abortus
12. Aspergillus fumigatus
13. Actinomyces pyogenes
14. Mucor
15. Rhizopus

11. CONCLUSIONES

Para poder llegar a un correcto diagnóstico etiológico en el aborto bovino es necesario tomar en cuenta una serie de factores:

- ❖ Primero hay que tener en cuenta que cuando llegamos al establecimiento como resultado de una consulta de aborto, lo que vamos a tener disponible es el feto abortado (siempre y cuando no se encuentre en estado muy autolítico) y la constatación de vacas que previamente fueron diagnosticadas como preñadas y que ahora se encuentran vacías. Es a partir de estas vacas abortadas y de la presencia de los fetos (sí se disponen de los mismos) que se llega a un diagnóstico etiológico de aborto, teniendo en cuenta que el aborto pudo ser producido por más de un agente patógeno, producto de un sinergismo entre dos agentes infecciosos como ocurre con *Leptospira* sp. y *Neospora caninum*.
- ❖ Hay que destacar que resulta de fundamental importancia para llegar a un correcto diagnóstico del aborto, el contacto del equipo profesional del laboratorio con él o los veterinarios actuante/s en el medio, siendo ellos de vital importancia para aportar una serie de datos del establecimiento, rodeo, historia (actual y antecedentes) que, complementado con las pruebas a ser realizadas en el laboratorio de diagnóstico, permitirán llegar a un diagnóstico más certero acerca de la o las causa/s del aborto, y así poder evaluar las medidas de control y de posterior erradicación de la enfermedad del rodeo.

❖ ESTUDIO DE LA POBLACIÓN

Para realizar el estudio de una población determinada, el mismo podrá realizarse de dos formas diferentes:

- Si queremos estudiar el 100% de los animales en la población estamos haciendo un **screening**, el cual es fundamental en la implementación de un programa de control o de erradicación de una determinada enfermedad en un área.
- Si sólo queremos conocer los problemas sanitarios en una población de animales haremos un monitoreo sobre un porcentaje de los animales de la población afectada frente a determinados agentes infecciosos. Este estudio solo exige una determinación a dilución única, realizando un monitoreo correcto sobre un 20% de los animales “objetivo” de la explotación, debiendo centrarse en el “objetivo” que se quiere controlar:
 - Hembras de partos múltiples.
 - Terneros al pie de la madre.
 - Terneros de destete.

- **Hembras abortadas**
- En una segunda etapa se pueden titular los anticuerpos y darle una interpretación diagnóstica, analizando solo los seropositivos (los que han dado positivo en el screening). Los picos altos de títulos de anticuerpos 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.

❖ PRUEBAS SEROLÓGICAS

Hay que tener en cuenta que existen una serie de resultados en 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** con otros agentes patógenos y por lo tanto produce **reacciones cruzadas** dando como resultado **falsos positivos**, por lo tanto el resultado positivo no es sinónimo de enfermedad en la totalidad de los casos. De la misma forma un animal puede resultar **negativo** cuando realmente está **infectado**, lo que ocurre si la infección no permitió un adecuado desarrollo de los anticuerpos en el organismo del animal contra dicha enfermedad, o el estado crónico de la enfermedad lo ha hecho pasar a un estado de anergia.

Por lo mismo un título elevado de anticuerpos no siempre se va a corresponder con una enfermedad en evolución o con una enfermedad reciente.

Es por esto que la serología no tiene valor diagnóstico si no se demuestra un aumento significativo del título de anticuerpos entre el 1º y 2º muestreo, tomando la primera muestra al inicio de la enfermedad y la segunda a los 15-30 días después. Dicho estudio puede ser **cuantitativo**, 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.

❖ LEPTOSPIROSIS

En relación a la Leptospirosis se debe de restar importancia a la presentación o no de sintomatología clínica en la madre y en el resto de los animales, ya que la misma es muy variable y no siempre se encuentra presente con lo que no se proporciona información suficiente para llegar al diagnóstico del aborto.

La consulta se hace por un aborto en un animal determinado, y generalmente el serovar de *Leptospira* causante de aborto cursa en forma crónica, no pudiendo detectarse niveles adecuados de anticuerpos en la madre contra dicho agente.

Debemos recordar que aparte de presentarse una “**tormenta de abortos**” en el tercio final de la gestación, *Leptospira* también produce natimortos, nacimiento de animales débiles y muerte embrionaria temprana producida por el serovar **hardjo bovis**.

Para poder realizar un correcto diagnóstico del suero de la madre tendrían que hacerse muestras pareadas con una separación de 2 a 3 semanas, en donde, un

aumento significativo en los anticuerpos contra *Leptospira* demostraría la infección de la madre, aunque esto no significaría que el feto murió de dicha enfermedad, existiendo otros patógenos que podrían estar interactuando con la *Leptospira*, siendo un ejemplo de ellos la *Neospora caninum*.

Para un diagnóstico más certero de aborto por *Leptospira* se deben tomar muestras de suero y líquido pericárdico del feto para la realización de pruebas serológicas. Las más comunes son la **Prueba de Aglutinación Microscópica (MAT)** y el **Enzimoimmunoanálisis (ELISA)**.

Se debe de considerar también que los anticuerpos protectores que confieren las vacunas son anticuerpos **neutralizantes**, mientras que los anticuepos detectados por la prueba de MAT utilizada en la detección de Leptospirosis en nuestro país son anticuerpos **aglutinantes**.

❖ NEOSPOROSIS

En cuanto a *Neospora caninum*, la presencia de anticuerpos en el suero de la madre contra dicho agente indica que el animal estuvo expuesto a la enfermedad, pero no indica que el aborto se produjera por dicho agente.

El hallazgo de anticuerpos específicos contra *Neospora caninum* en el **suero fetal** o en el **suero precalostral** de los terneros es indicativo de infección; por el contrario, el resultado negativo no implica que el feto no se haya infectado con este patógeno, debido a que la síntesis de anticuerpos en el feto depende del tiempo de gestación, del nivel de exposición y del tiempo transcurrido entre la infección y el aborto. Otra razón por la que puede fallar la detección de anticuerpos es la **autólisis fetal** que puede provocar la degradación de sus inmunoglobulinas, lo que generaría bajos niveles de anticuerpos específicos.

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.

Hay que tener en cuenta además que pueden existir reacciones cruzadas con *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* sp. y con otras especies Apicomplexas, pudiendo evitarse las mismas con la utilización de **Anticuerpos Monoclonales**. De lo expuesto anteriormente se concluye que sólo el **diagnóstico histopatológico** del feto abortado permite el diagnóstico definitivo de la Neosporosis, y para eso se requiere de hallar las lesiones características que se presentan en los fetos abortados y además, que *Neospora caninum* sea encontrada en dichas lesiones.

❖ BAJO PORCENTAJE DE DETECCIÓN DE LAS ENFERMEDADES VIRALES

El bajo porcentaje de detección de las enfermedades virales se atribuye a que en el país no se cuenta con técnicas específicas que puedan determinar que el aborto se produjo por tal agente, además de los costos elevados que implica el desarrollo del diagnóstico de las enfermedades virales en el país.

Es por esto que para el control de dichas enfermedades hay disponible en el mercado una serie de **vacunas polivalentes** que contienen una variedad de agentes infecciosos (tanto bacterianos como virales).

En caso de **IBR** en lo que refiere a la vacunación debemos destacar que la misma no previene la superinfección con cepas de campo, influyendo además en la posibilidad de reexcreción de virus latente y la posibilidad de una combinación de la vacuna y una cepa de campo, así como la reversión de la vacuna a la forma virulenta. La vacunación conlleva además que a no ser que existan **marcadores específicos** en las cepas vacunales o en los diferentes patrones de restricción de ADN, los anticuerpos resultantes de la vacuna no permiten la utilización de análisis serológicos que diferencien cepas vacunales de cepas de campo en los programas de control y erradicación.

En la **DVB** debemos tener especial atención en los **animales PI**, los que son los principales diseminadores de la enfermedad dentro del rodeo. Para eso se deben de realizar una serie de pruebas de laboratorio con el fin de detectarlos y eliminarlos del rodeo.

❖ REPERCUSIONES ECONÓMICAS

En cuanto a las repercusiones económicas que presentan los abortos en nuestro país, como se mostraba en la tabla "x" (pag.) a partir de datos estadísticos proporcionados por DICOSE del 2012, se observaba que de un total de **4.098.905** vacas de cría que habían sido entoradas, se obtuvo un total de **2.689.079** terneras y terneros, lo que no significa que esta diferencia se deba en su totalidad a los abortos, pero los mismos ocupan un porcentaje importante dentro de las pérdidas. Dentro de otras causas que podrían estar involucradas en esta diferencia tendríamos:

Muerte embrionaria temprana

- El bajo porcentaje de terneros y terneras podría estar asociado también a la presencia de **muerte embrionaria temprana**, tanto en los animales con historia de **infertilidad** como en aquellos animales que presentan una **fertilidad normal**. Los animales que presentan pérdida embrionaria antes del reconocimiento materno de la gestación regresan al estro en un período equivalente a un ciclo normal.

Factores metabólicos en vacas lecheras

- En el caso de las vacas lecheras los fallos en la concepción se deben a los **cambios metabólicos** que ocurren en los animales, como la gran producción

de leche y el inadecuado consumo de nutrientes por parte de los animales, lo cual lleva a que los animales caigan en un balance energético negativo, lo que significa que la suma de la energía para su propio mantenimiento y la que requieren para producir es mayor que la consumida, por lo que se ven obligadas a utilizar sus **reservas corporales**, las cuales llegan a su punto más bajo de balance energético entre los días 10 y 20, y continúan en el balance negativo hasta los días 70 u 80, y en algunos casos, sobre todo en las vacas de primera cría hasta el día 100 posparto. Este balance energético negativo va a tener repercusión sobre el control neuroendócrino de la reproducción, que se asocia a una baja fertilidad.

Factores genéticos

- Dentro de los factores genéticos se consideran a las **anormalidades cromosómicas**, las que pueden producirse espontáneamente durante la gametogénesis, fertilización o embriogénesis. Durante los primeros días de desarrollo el embrión depende totalmente de las secreciones uterinas y oviductales, las que son reguladas por la progesterona; lo que lleva a que una anomalía en la función del cuerpo lúteo representa una causa importante en el fallo de la concepción.

Muerte neonatal

Dentro de las causas de mortalidad neonatal en los terneros tendríamos que dividirlos en una serie de grupos:

1. Causas relacionadas con la madre
 - Edad de la vaca.
 - Condición corporal de la vaca en el momento del parto.
 - Presencia de enfermedades que cursan con una anemia severa.
 - Habilidad materna.
 - Calidad del calostro (depende de la nutrición de la vaca).
 - Características morfológicas y funcionales de la ubre.
 - Características anatómicas del canal obstétrico.
2. Causas relacionadas con el nacimiento
 - Hipoxia o anoxia cerebral.
 - Distocia
 - Deficiencias en la asistencia del parto.
3. Causas congénitas
 - Anormalidades físicas heredadas.
 - Enfermedades infecciosas adquiridas verticalmente.
 - Enfermedades parasitarias adquiridas verticalmente.
 - Baja capacidad para aprovechar el calostro.
 - Inmadurez respiratoria.
4. Causas adquiridas por el ternero recién nacido
 - Enfermedades infecciosas

- Diarreas neonatales (*Rotavirus*, *E.coli* K99, *Cryptosporidium*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, y asociaciones entre ellos).
- Neumonías (*IBR*, *PI3*, *DVB*, virus sincitial respiratorio, *Mycoplasma bovis* y *Mycoplasma dispar*).
- Pasteurelisis neumónica de los terneros (*Pasteurella* sp. en asociación con *Mycoplasmas*).
- Síndrome Respiratorio (*Histophilus somni* asociado en algunas ocasiones con otras bacterias oportunistas como *Pasteurellas*, *Actinomyces*, *Fusobacterium* y *Clostridios*).
- Enfermedades parasitarias.
- Traumas por accidentes.

❖ ESQUEMA DIFERENCIAL DE LAS ENFERMEDADES ABORTIVAS

En la siguiente tabla se muestran las principales características de las enfermedades que fueron desarrolladas anteriormente, destacando la importancia de la etapa de la gestación en que se produjo el aborto así como también las características de la patología fetal para poder llegar a un diagnóstico más certero acerca del agente patógeno involucrado en el aborto. Se destaca también la presencia de otros signos que podrían estar presentes en el rodeo pero que no siempre aparecen, recurriendo en la gran mayoría de los casos a la visualización macroscópica y microscópica del feto abortado y a la posterior realización de pruebas diagnósticas específicas que fueron desarrolladas anteriormente en cada una de las enfermedades.

Tabla 40. Esquema diferencial de las principales enfermedades abortivas en los bovinos.

Enfermedad	Etapa gestación produce aborto	Patología Fetal	Otros signos
Brucelosis	5 y 9 meses	Placenta coreácea, fibrina en el tórax y bronconeumonía supurativa.	Orquitis, epididimitis y seminovesiculitis
Leptospirosis	6 y 9 meses	Autólisis fetal, ascitis, peritonitis hemorrágica, nefritis e ictericia.	Enfermedad sistémica en animales con serovares accidentales
Campylobacteriosis	<42 días (muerte embrionaria), abortos (4 y 7 meses)	Pericarditis fibrinosa, pleuritis, peritonitis, necrosis hepática, momificaciones y fetos deshidratados	- Infertilidad del rodeo. Repeticiones.
Diarrea viral bovina	<45 días (muerte embrionaria), 45 a 125 días	Fetos frescos, autolisados o momificados; malformaciones fetales.	Pool de enfermedades, depende de la etapa de la gestación
Rinotraqueítis infecciosa bovina	De la mitad de la gestación al término de la misma	Autólisis del feto.	Conjuntivitis, descarga nasal y salivación, VPI y BPI.
Neosporosis	A partir de los 3 meses	Autólisis del feto.	Terneros con signos neurológicos y bajo peso.
Trichomoniasis	Muerte embrionaria o fetal (antes 120 días)	Momificaciones (raras).	Infertilidad del rodeo. Repeticiones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acha P, Szyfres B. (1986). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica N° 503, 2ª. ed.
2. Acosta AM y Ortiz MM (2007). Prueba del Anillo en leche para la vigilancia epidemiológica de brucelosis bovina. SENASA (Perú). Disponible en: <http://www.senasa.gob.pe/RepositorioAPS/0/4/JER/INFOINTER/prueba%20del%20anillo%20en%20leche%20para%20la%20vigilancia%20epidemiologica%20de%20brucelosis%20bovina.pdf>. Fecha de consulta: 15/08/13.
3. Alves D, B McEwen, M Hazlett, G Maxie, N Anderson. (1996). Trends in bovine abortions submitted to the Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, 1993-1995. *Can Vet J* 37:287-288.
4. Amatredjo A., Campbell R.S.F. (1975). Bovine leptospirosis. *Vet Bull* 43, 875-891.
5. Andersson C, Vasconcelos N, Sievertzon M, Haddad D, Liljeqvist S, Berglund P, Liljeström P, Ahlborg N, Stahl S, Berzins K. (2001). Comparative immunization study using RNA and DNA constructs encoding a part of the Plasmodium falciparum antigen Pf332. *Scand J Immunol* 54, 117-24.
6. Anderson ML, BonDurant RH, Corbeil RR, Corbeil LB, (1996), Immune and inflammatory responses to reproductive tract infection with Tritrichomonas foetus in immunized and control heifers. *J Parasitol* 82:594-600.
7. Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA. (2000). Neosporosis in cattle. *Anim Reprod.Sci.* 60-61:417-431.
8. Aréstegui MB, Gualtieri CS, Domínguez J, Scharovsky G (2001). El género Brucella y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico. *Vet Mex* 2001; 32(2):131-139.
9. Ariza Cardenal J. (1995). Brucelosis. En: Farreras-Rozman, Medicina Interna. 13a ed. Barcelona: Mosby-Doyma libros S.A.; 1995, p.2312-2317.
10. Ashbaugh SE, Thompson KE, Belknap EB, Schultheiss PC, Chowdhury S, Collins JK (1997). Specific detection of shedding and latency of bovine herpesvirus 1 and 5 using a nested polymerase chain reaction. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9:387-394.
11. Baker JC. (1987). Bovine viral diarrhoea virus: a review. *J Am Vet Med Assoc* 1987; 190:1449-1458.
12. Bañales P, Delucchi L, Easton C, Piaggio J (2011). Enfermedades que afectan reproducción en bovinos. Neosporosis. INIA Tacuarembó. p.11-16.

13. Barr BC, Anderson ML, Sverlow K, Conrad PC (1995): Diagnosis of bovine fetal Neospora infection with an indirect fluorescent antibody test. *Vet. Rec.* 137:611-613.
14. Bastida-Corcuera F., Butler J.E., Heyermann H., Thomford J.W., Corbeil L.B., (2000). *Tritrichomonas foetus* extracellular cysteine proteinase cleavage of bovine IgG2 allotypes. *J Parasitol* 86:328-332.
15. Baszler TV, Knowles DP, Dubey JP, Gay JM, Mathison BA, McElwain TF (1996): Serological Diagnosis of Bovine Neosporosis by Neospora caninum Monoclonal Antibody-Based Competitive Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Jou of Clinic Microbiol.* 34:1423-1428.
16. Berg R.L., Jutila J.W. y Firehammer B.D. (1971). A revised classification for *Vibrio fetus*. *Am. J. Vet. Res.*, 32:11–22.
17. Bielefeldt Ohmann H. 1995. The pathologies of bovine viral diarrhea virus infection. *Vet. Clinc. Of N.A. Food Anim. Pract.* 11:447–476.
18. Birk A, Dubovi E, Cohen-Gould L, Donis R, Szeto H (2008). Cytoplasmic vacuolization responses to cytopathic bovine viral diarrhea virus. *Virus Research*;132:76-85.
19. Bjerkas I, Mohn SF, Presthus J (1984). Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dog. *Z.Parasitenkd.* 70:271-274.
20. Bjerkas, I, Dubey JP. (1991). Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma*-like parasite of Norwegian dogs. *Acta Vet.Scand.* 32:407-410.
21. Björkman C, Näslund K, Stenlund S, Maley SW, Buxton D, Uggla A. (1999). An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11:41-44.
22. Blood DC, Radostits OM, Henderson JA (1988). Rinotraqueítis bovina infecciosa (nariz roja) (RIB). En: *Medicina Veterinaria. Nva. 6º ed. México, D.F .Editorial Interamericana.* p.873-879.
23. Bofill P, Rivas A, Ramírez W, et al. (1996). Brucelosis. En: *Manual de Enfermedades Infecciosas. Talleres Gráficos de la Dirección de Publicaciones del Inst. Politéc. Nacional, México.* 2:60- 84.
24. Bolin CA, Cassells JA, Phil B, Zuerner RL, Trueba G (1991). effect of vaccination with a monovalent leptospira interrogans serovar hardjo type hardjo-bovis vaccine on type hardjo-bovis infection of cattle. *am. j. vet. res* 52:1639-1643.
25. Bolin S, Grooms D (2004). Origination and consequences of bovine viral diarrhea virus diversity. *Vet Clin of NA. Food Anim. Pract.* 20:51-86.
26. Bolin SR, Ridpath JF (1992). Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhea virus in calves. *Am. J. Vet. Res.* 53:2157–2163.

27. Bolin SR, Ridpath JF, Black J, Macy M, Roblin R (1994). Survey of cell lines in the American Type Culture Collection for bovine viral diarrhea virus. *J. Virol. Methods.* 48:211-221.
28. BonDurant R.H (1997). Pathogenesis, diagnosis and management of trichomoniasis in cattle. *Vet Clin NA. Food Anim Pract.* 13:345-361.
29. Borchardt KA, Norman BB, Thomas MW, Harmon WM (1992). Evaluation of a New Culture Method for Diagnosing *Tritrichomonas foetus*. *vet. med.,* 87:104-112.
30. Brake F, Studdert MJ (1985). Molecular epidemiology and pathogenesis of ruminant herpesviruses including bovine, buffalo and caprine herpesvirus 1 and bovine encephalitis herpesvirus. *Aust Vet J,* 62(10):331-334.
31. "Brock-Biología de los Microorganismos". Madigan Michael T. , Martinko John M. , Parker Jack , Sánchez Pérez Miguel (2003). 10a ed. Pearson, Príncipe Hall. ISBN: 8420536792, 9788420536798. 1011p.
32. Brodersen BW, Kelling CL (1998). Effect of concurrent experimentally induced bovine respiratory syncytial virus and bovine viral diarrhea virus infections on respiratory tract and enteric diseases in calves. *Am. J. Vet. Res.* 59:1423–1430.
33. Brunner D, Engels M, Schwyzer M, Wyler R. (1988). A comparison of three techniques for detecting bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) in naturally and experimentally contaminated bovine semen. *Zuchthygiene (Berlin).* 23:1-9.
34. Bryan LA, Cambell JR, Gajadhar AA (1999). Effects of Temperature on the Survival of *Tritrichomonas foetus* in Transport, Diamond's and Inpouch™ media. *vet. rec.,* 144:227–232.
35. Campero C.M., Ladds P.W., (1991). Cuantificación de inmunoglobulinas en fluidos genitales y células contenedoras de inmunoglobulinas en el tracto genital de toros vacunados y desafiados con *Tritrichomonas foetus*. *Rev Med Vet* 72:36-39.
36. Campero C.M., Palladino M.R., Villar J.A. (1983). Actualización sobre Trichomoniasis Bovina. *Rev Arg Prod Anim* 3:387-432.
37. Campero CM, Odriozola E, Casaro A, Chayer R, Odeon A (1996). Evaluación de las pérdidas reproductivas en rodeos de cría desde la gestación al parto. XV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Campo Grande, Brasil, 21 al 25 de octubre 1996, Abstracts PN13 330:400p.
38. Campero, C.M. (2000). Las enfermedades reproductivas de los bovinos: ayer y hoy. *Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, Anales* 53:88-112.
39. Canning PC, Roth JA, Deyoe BL (1986). Release of 5'- guanosine monophosphate and adenine by *Brucella abortus* and their role in the intracellular survival of the bacteria. *J Infect Dis* 1986; 154(3):464-70.

40. Casas Olascoaga R. (2008). Brucelosis bovina. Veterinaria (Montevideo). Abril – Junio, 2008. 43(170):p.7.
41. Cattaneo M, Bermudez J. Laboratorios Santa Elena Uruguay. “Vibriosis genital bovina”. Disponible en: http://www.santaelena.com.uy/uc_95_1.html. Fecha de consulta: 12/05/13.
42. Chans L (2003). Legislación Nacional e Internacional sobre Brucelosis bovina. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/DGSG/Capacitaci%C3%B3n/JornadasBrucelosis/AspectosLegalesDrChans.pdf>. Fecha de consulta: 24/02/13.
43. Clarke BL (1971). Venereal diseases of cattle. Veterinary Review 11, Univ. of Sydney, Australia. p.29.
44. Cloeckaert A, Verger JM, Grayon M, Paquet JY, Garin- Bastuji B, Foster G, et al. (2001). Classification of Brucella spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. Microbes Infect. 3(9):729-38.
45. Collins JK, Ayers VK, Carman J. (1988). Evaluation of an antigen-capture ELISA for the detection of bovine herpesvirus type 1 shedding from feedlot cattle. Vet. Microbiol. 16:101-107.
46. Conrad PA, Barr BC, Sverlow KW, Anderson M, Daft B, Kinde H, Dubey JP, Munson L, Ardans A. (1993). In vitro isolation and characterization of a Neospora sp. from aborted bovine fetuses. Parasitol. 106 (Pt 3):239-249.
47. Corbel MJ, Stuart FA, Brewer RA. (1983). Observations of serological cross reactions between smooth Brucella species and organisms of other genera. Dev Biol Stand. 56:341-348.
48. Cornish TE, van Olphen AL, Cavender JL, Edwards JM, Jaeger PT, Vieyra LL, Woodard LF, Miller DR, O’toole D (2005). Comparison of ear notch immunohistochemistry, ear notch antigen capture ELISA, and buffy coat virus isolation for detection of calves persistently infected with bovine viral diarrhea virus. J. Vet. Diagn. Invest. 17:110–117.
49. David GP, Crawshaw TR, Gunning RF, Hibberd RC, Lloyd GM, Marsh PR (1994). Severe disease in adult dairy cattle in three UK dairy herds associated with BVD virus infection. Vet. Rec. 134:468–472.
50. De Verdier Klingenberg K. (2000). Enhancement of clinical signs in experimentally rotavirus infected calves by combined viral infections. Vet. Rec. 147:717–719.
51. Dekeyser P.J. (1986). Bovine Genital Campylobacteriosis in Current Therapy in Theriogenology 2. Philadelphia, Saunders Company.
52. Deregts D, Loewen KG. (1995). Bovine viral diarrhea virus: biotypes and disease. Can. Vet. J. 36:371–377.

53. Diamond LS (1983). Lumen dwelling protozoa: entamoeba, trichomonads and giardia. In: *In Vitro Cultivation of Protozoan Parasites*, Jensen J.B., ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. p.65-109.
54. Dillon JH, Casaro AP, Cipolla AL, Ibarra O, Crenovich H, Bianchi M (1995). Programa regional de control de enfermedades venéreas de bovinos (Plan Toros). *Rev. Arg. Prod. Anim.* 15:764-767.
55. Dubey J.P (1999). Recent advances in Neospora and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 1589:1-19.
56. Dubey JP (2003). Neosporosis in cattle. *J.Parasitol.* 89 (Suppl):S42-S56.
57. Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS, Topper MJ (1988). Neonatal Neospora caninum infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 193:1259-1263.
58. Dubey JP, Schares G. (2006) Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol.*140:1-34.
59. Dubovi EJ (1994). Impact of bovine viral diarrhea virus on reproductive performance in cattle. *Vet. Clinic. Of N.A. Food Anim. Pract.* 10:503–514.
60. Eaglesome MD, García MM (1992). Microbial agents associated with bovine genital tract infections and semen. Part I. Brucella abortus, Leptospira, Campilobacter foetus and Tritrichomonas foetus. *Vet. Bull.* 62:743-775.
61. Easton Aizen, María Cristina DMTV (2006). “Estudio patológico de las principales causas infecciosas en el aborto bovino en Uruguay”. Tesis de Maestría en Salud Animal. Universidad de la República – Facultad de Veterinaria – Programa de Posgrados.
62. Edwards S (1993). Bovine viral diarrhea virus. En: *Cell & Tissue Culture: Laboratory Procedures*, Doyle A., Griffiths J.B. & Newell D.G., eds. John Wiley & Sons, Chichester, UK. Module 7B:5:1-8.
63. Edwards S, Chasey D, White H (1983). Experimental infectious bovine rhinotracheitis: comparison of four antigen detection methods. *Res. Vet. Sci.* 34:42-45.
64. Ellis W.A. (1986). The diagnosis of leptospirosis in farm animals, En: Ellis W.A., Little T.W.A. (Eds.) *Present state of leptospirosis diagnosis and control*. Martinus Nijhoff Publishers. p.13-31.
65. Ellis W.A. (1994). Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. clin. Of N.A. Food anim. pract.* 10:463-478.
66. Erosa Barbachano A. (2001). «Leptopirosis». *Rev. bioméd. (México)* 12(4):282-287.

67. Faine S (1991). The genus *Leptospira*, In: Barlows A., Trüper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K-H. (Eds.) *The prokariotes*. Springer-Verlag, 2nd edition. p.3568-3582.
68. Felleisen RSJ, Lambelet N, Bachmann P, Nicolet J, Muller N, Gottstein B. (1998). Detection of *Tritrichomonas foetus* by PCR and DNA enzyme immunoassay based on rRNA gene unit sequences. *J. Clin. Microbiol.*, 36:513–519.
69. Fetrow J, McClary D, Harman R, Butcher K, Weaver L, Studer E, Ehrlich J, Etherington W, Guterbock W, Klinborg D, Reneau J, Williamson N. (1990). Calculating selected reproductive indices: recommendations of the American Association of Bovine Practitioners. *J Dairy Sci* 73:78-90.
70. Fiori P, Mastrandrea S, Rappelli P, Cappuccinelli P. (2000). *Brucella abortus* infection acquired in microbiology laboratories. *J Clin Microbiol* 38:2005-2006.
71. Fleeton M, Sheahan B, Gould E, Atkins G, Liljeström P. (1999). Recombinant Semliki Forest virus particles encoding the prME or NS1 proteins of louping ill virus protect mice from lethal challenge. *J Gen Virol* 80:1189–1198.
72. Forar A, Gay J, Hancock D. (1996). The frequency of edemic fetal loss in dairy cattle: a review. *Theriogenology* 43:989-1000.
73. Formento P, Chans L. (2013). Ficha Técnica: Legislación sobre Brucelosis bovina. Legislación Sanitaria 2013. Facultad de Veterinaria (UDELAR). Disponible en la Bolsa del Libro de la Facultad de Veterinaria.
74. Fray MD, Mann GE, Clarke MC, Charleston B. (1999). Bovine viral diarrhea virus: its effects on estradiol, progesterone and prostaglandin secretion in the cow. *Theriogenology* 51:1533–1546.
75. Fray MD, Paton DJ, Alenius S. (2000). The Effects of Bovine Viral Diarrhea virus on cattle reproduction in relation to disease control. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61:615–627.
76. Fray MD, Prentice H, Clarke MC, Charleston B. (1998). Immunohistochemical evidence for the localization of bovine viral diarrhea virus, a single-stranded RNA virus, in ovarian oocytes in the cow. *Vet. Pathol.* 35:253–259.
77. Fredriksen B, Sandvik T, Loken T, Odegaard SA. (1999). Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 144:111–114.
78. Furuoka H, Izumida N, Horiuchi M, Osame S, Matsui T (1995). Bovine herpesvirus meningoencephalitis association with infectious bovine rhinotracheitis (IBR) vaccine. *Acta Neuropathol.* 90:565-571.
79. Gil A, Sienna R, Guarino H, Piaggio J, Arrillaga C. (2000). Sistema de monitoreo en Salud Animal: Primera experiencia en ganado lechero en el Uruguay. XXI Congreso Mundial de Buiatria. Abstracts. p.122.

80. Goldbaum FA, Velikosky CA, Baldi PC, Mörtl S, Bacher A, Fossati CA. (1999). The 18 kDa cytoplasmic protein of *Brucella* spp., an antigen useful for diagnosis, is a lumazine synthase. *J Med Microbiol.* 48:833-839.
81. Gondim LFP, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE (2004). Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum* *International Journal for Parasitology.* 34:159-161.
82. Gregory MW, Ellis B, Redwood DW (1990). Comparison of sampling methods for the detection of *Tritrichomonas foetus*. *Vet. Rec.*, 127:16.
83. Gröhn Y, Erb H, Mc Culloch Ch, Saloniemi H (1990). Epidemiology of reproductive disorders in dairy cattle: associations among host characteristics, disease and production. *Prev Vet Med* 8:25-39.
84. Guarino H, Maisonnave J, Capano F, Pereira J. (1982). Primer aislamiento e identificación del virus de la Rinotraqueítis infecciosa bovina en Uruguay. *Veterinaria* 78:131-134..
85. Guarino, H. (2000). Bovine Pestivirus in Uruguay. Tercer Encuentro de Virología do Mercosul XI Encuentro Nacional de Virología. San Lorenzo, MG 25-29 noviembre.
86. Honigberg BM, Mattern CF, Daniel WA (1971). Fine structure of the mastigont system in *Tritrichomonas foetus* (Riedmuller). *J Protozool* 18:183-198.
87. Houe H (1999). Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.* 64:89–107.
88. Houe H, Lindberg A, Moennig V (2006). Test strategies in Bovine Viral Diarrhea Virus control and eradication campaigns in Europe. *J Vet Diagn Invest.* 18:427-436.
89. Houe H. (1995). Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. *Vet Clinic. Of N.A. Food Anim. Pract.* 11:521–547.
90. Hovingh E (2002). Abortions in dairy cattle II. Diagnosing and preventing abortion problems. Regional College of Veterinary Medicine. Virginia, Virginia Cooperative Extension Publication 404:289p.
91. Hoyos AJ, Arango JH, De Lima E (1998). "Leptospirosis icterohemorrágica". Presentación de un caso. *Colombia médica.* 29 (1):43-46.
92. Huttner M, Pereira H, Tanaka R (2002). Leptospiral pneumonia. *J. Pneumologia.* 28(4):229-232.
93. Iowa State University (2009). The Center for Food Security and Public Health. Brucellosis en mamíferos marinos (última actualización 28 de Julio del 2009). Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucellosis-en-mamiferos-marinos.pdf> Fecha de consulta: 20/03/13.

94. Jonshon RC, Faine S (1984). Family II. Leptospiraceae Pillot 1965, 79a. En: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol I. Krieg N.R. y Holt J.G. (Eds.) Williams & Wilkins, Ed. Baltimore, USA. p.39-66.
95. Kahrs RF (1977). Infectious Bovine Rhinotracheitis: A Review and Update. JAVMA. 171 (10):1055-1064.
96. Kania SA, Reed SL, Thomford JW, BonDurant RH, Hirata K, Corbeil RR, North MJ, Corbeil LB (2001). Degradation of bovine complement C3 by trichomonad extracellular proteinase. Vet Immunol Immunopathol. 78:83-96.
97. Kelling CL (1996). The effects of BVDV infection on cattle. Vet. Med. 91:862–863.
98. Kirkbridge C. (1990). Laboratory Diagnosis of Livestock Abortion. 3a. ed. Iowa, Iowa State University Press. 260p.
99. Kramps JA, Quak S, Weerdmeester K, Van Oirschot JT (1993). Comparative study on sixteen enzymelinked immunosorbent assays for the detection of antibodies to bovine herpesvirus 1 in cattle. Vet. Microbiol. 35:11–21.
100. Kramps JA, Banks M, Beer M, Kerkhofs P, Perrin M, Wellenberg GJ, Van Oirschot JT (2004). Evaluation of tests for antibodies against bovine herpesvirus 1 performed in national reference laboratories in Europe. Vet Microbiol. 102:169-181.
101. Laboratorio Linear Chemicals S.L. Rosa de Bengala. Determinación de anticuerpos anti-brucella. Prueba en porta. Barcelona (España). Disponible en: http://www.linear.es/ficheros/archivos/322_2210005cas.pdf. Fecha de consulta: 13/06/13.
102. Laguna Torres VA (2000). "Leptospirosis". Oficina general de epidemiología – Instituto Nacional de Salud en Lima – Perú. Serie documentos monográficos n° 2:1-56.
103. Lindberg ALE, Alenius S (1999). Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. Vet. Microbiol. 64:197-222.
104. Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB (1999). Confirmation that the dog is a definitive host for Neospora caninum. Veterinary Parasitology. 82:327-333.
105. López-Gatius F, Santolaria J, Yaniz J, Rutllant J, López-Béjar M (2002). Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. Theriogenology 57:1251-1261.
106. Manual de Procedimiento de Vacunación con RB51. MGAP – DGSG – DSA. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/DGSG/Resoluciones/Res185_270809/3_Procedimiento_VacunacionRB51.pdf. Fecha de consulta: 10/01/13.

107. Mancebo OA, Russo SM, Carabajal II, Monzon CM (1995). Persistence of *Tritrichomonas foetus* in naturally infected cows and heifers in Argentina. *Vet. Parasitol.* 59:7–11.
108. Mandell Gerald L., Bennett John E., Dolin Raphael. (2000). "Principles and practice of infectious diseases. 5a. ed. Vol. 2. Churchill livingstone. p.2495-2500.
109. Mars MH, Brusckke CJ, Van Oirschot JT. (1999). Airborne transmission of BHV1, BRSV, and BVDV among cattle is possible under experimental conditions. *Vet. Microbiol.*66:197-207.
110. Mattos A, Sole-Cava AM, DeCarli G, Benchimol M, (1997). Fine structure and isozymic characterization of trichomonadid protozoa. *Parasitol Res.* 83:290-295.
111. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. (1998). Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int.J.Parasitol.* 28:1473-1478.
112. McGowan MR, Kafi M, Kirkland PD, Kelly R, Bielefeldt Ohmann H, Occhio MD, Jillella D. (2003). Studies of the pathogenesis of bovine Pestivirus–induced ovarian dysfunction in superovulated dairy cattle. *Theriogenology* 59:1051–1066.
113. McMillen L, Lew AE (2006). Improved detection of *Tritrichomonas foetus* in bovine diagnostic specimens using a novel probe-based real time PCR assay. *Vet. Parasitol.*141:204-215.
114. Mederos A, Hirigoyen D. (1998) Relevamiento epidemiológico de Diarrea Viral Bovina, Rinotraqueítis Infecciosa Bovina, y Leucosis bovina en predios lecheros del noreste de Uruguay. XXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú. p.19-20.
115. Metzler AE, Matile H, Gassmann U, Engels M, Wyler R (1985). European isolates of bovine herpesvirus 1: a comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides, and reactivity with monoclonal antibodies. *Arch. Virol.* 85:57-69.
116. Meyers G, Tautz N, Dubovi EJ, Heinz–Jürden T (1996). Origin and diversity of cytopatogenic Pestivirus. *International Symposium Bovine Viral Diarrhea Virus a 50 Year Review*, Cornell University, USA, p.24-34.
117. Michna SW (1970). Leptospirosis. *Vet. Rec.* 86:484-496.
118. Miller JM, Whetstone CA, Bello LJ, Lawrence WC (1991). Determination of ability of a thymidine kinasenegative deletion mutant of bovine herpesvirus-1 to cause abortion in cattle. *Am J Vet Res.* 52(7):1038-1043.
119. Miller R (1986). Bovine Abortion. En: Morrow D (ed). *Current Therapy In Theriogenology*. WB Michigan State University. Michigan, Saunders Company.

120. Ministerio de Salud Pública (Dirección General de la Salud), Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (Dirección General de Servicios Ganaderos), Organización Panamericana de la Salud (OPS), Organización Mundial de la Salud (OMS). "Guía de Control y Manejo de Leptospirosis". Disponible en: <http://www.bvsops.org.uy/pdf/leptos.pdf>. Fecha de consulta: 14/04/13.
121. Moore S, Gunn M, Walls D (2000). A rapid and sensitive PCR-based diagnostic assay to detect bovine herpesvirus 1 in routine diagnostic submissions. *Vet. Microbiol.* 75:145–153.
122. Moore D, Overton W, Chebel R, Truscott M, BonDurant R (2005). Evaluation of the factors that affect embrionic loss in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 226:1112-1118.
123. Moreno E, Speth SL, Jones LM, Berman DT. (1981). Immunochemical characterization of Brucella lipopolysaccharides and polysaccharides. *Infect Immun.* 31(1):214-222.
124. Narita M, Inul S, Nanba K, Shinizu Y (1983). Detection of Virus Particles in Trigeminal Ganglion cells in a Calf Recurrently Infected with Infectious Bovine Rhinotracheitis. *Jpn J Vet Sci.* 45(5):691- 693.
125. Nettleton PF, Entrican G (1995). Ruminant Pestiviruses. *Br. Vet. J.* 151:615-642.
126. O.I.E. (Organización Mundial de Sanidad Animal). *Campylobacteriosis genital bovina. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres* (2013). Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/>. Fecha de consulta: 26/04/13.
127. O.I.E. (Organización Mundial de Sanidad Animal). *Leptospirosis. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres 2013.* Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/>. Fecha de consulta: 25/02/13.
128. O.I.E., 1992. *International Animal Health Code (mammals, birds and bees)*. O.I.E., Paris. Disponible en: <http://www.oie.int/doc/ged/d7649.pdf>. Fecha de consulta: 14/05/13.
129. Obritzhauser W, Obritzhauser G, Deutz A, Kofer J, Mostl K, Scheibner H (2002). Influence of cows persistently infected with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) on BVD bulk milk diagnosis. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift.* 89:254–259.
130. Okamoto S, Wakui M, Kobayashi H, Sato N, Ishida A, Tanabe M, Takeuchi T, Fukshima S, Yamada T, Ikeda Y (1998). Tritrichomonas foetus meningoencephalitis after allogenic peripheral blood stem cell transplation. *Bone Marrow Transpl* 21:89-91.
131. Olafson P, MacCallum AD, Fox FH. (1946). An apparently new transmissible disease of cattle. *CornellVet.* 36:205-213.

132. Oliveira S, Y Zhu, G Splitter. (1994). Recombinant L7/L12 ribosomal protein and gamma-irradiated *Brucella abortus* induce a T-helper 1 subset response from murine CD4⁺ T cells. *Immunology* 83:659-664.
133. Olsen S. (2000). Responses of adult cattle to vaccination with a reduced dose of *Brucella abortus* strain RB51. *Res Vet Sci* 69:135-140.
134. Paré J, Thurmond MC, Hietala S (1997). Neospora caninum antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *Journal of Parasitology* 83:82 - 87.
135. Parker S, Campbell JR, Ribble C, Gajadhar AA (1999). Comparison of two sampling tools for diagnosis of tritrichomonas foetus in bulls and clinical interpretation of culture results. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 215:231–235.
136. Parker S, Lun Z-R, Gajadhar A (2001). Application of a PCR assay to enhance the detection and identification of Tritrichomonas foetus in cultured preputial samples. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13:508–513.
137. Paton DJ (1995). Pestivirus Diversity. *J. Comp. Path.* 112:215–236.
138. Pérez V, Corpa J, Ortega-Mora L, Pereira-Bueno J (1999). Patología e inmunidad. En: Patología de la reproducción de etiología parasitaria (II). Neosporosis. España. Disponible en: http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/curriculum/c_juan.manuel.corpa.arenas.html. Fecha de consulta: 21/06/13.
139. Perrin B, Bitsch V, Cordioli P, Edwards S, Eloit M, Guerin B, Lenihan P, Perrin M, Ronsholt L, Van Oirschot JT, Vanopdenbosch E, Wellemans G, Wizigmann G, Thibier M. (1993). A European comparative study of serological methods for the diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 12:969–984.
140. Perrin B, Calvo T, Cordioli P, Coudert M, Edwards S, Eloit M, Guerin B, Kramps JA, Lenihan P, Paschaleri E, Perrin M, Schon J, Van Oirschot JT, Vanopdenbosch E, Wellemans G, Wizigmann G, Thibier M. (1994). Selection of European Union standard reference sera for use in the serological diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 13:947-960.
141. Pizarro-Cerda J, Meresse S, Parton RG, van der Goot G, Sola-Landa A, Lopez-Goni I, et al. (1998). *Brucella abortus* transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. *Infect Immun.* 66(12):5711-5724.
142. Prescott J.F. (1993). Leptospirosis, In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (Eds.) *Pathology of domestic animals*. Academic Press, Inc, 4th edition. pp. 503-511.

143. Pumarola A (1995). Leptospira. En: Microbiología y Parasitología Médica. Pumarola A., Rodríguez A., García A., y Piédrola G. (Eds.). Ed. Masson Salvat Medicina. 2.^a ed. p.554-550.
144. Radostits, Otto M.; Gay, Clive C.; Blood, Douglas C.; Hinchcliff, Kenneth W. (1999). Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. McGraw – Hill Interamericana. Novena edición. Vol. 1 y 2. 2215 p.
145. Ragan Valerie E., Ragan John R. (2012). Consultores para el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP), Dirección General de Servicios Ganaderos (DGSG). “Manual de Revisión del Programa de Brucelosis bovina en el Uruguay y Recomendaciones para su mejora”. Disponible en: http://sacl.com.uy/wordpress/wp-content/uploads/BrB-Ragan_-espa.pdf. Fecha de consulta: 17/03/13.
146. Ramsey FK, Chivers WH. (1953). Mucosal disease of cattle. *Nort. Am. Vet.* 34:629-633.
147. Reisinger L, Reimann H. (1928). Beitrag zur Aetiologie des Blaschenaussschlages des Rindes. *Wien. Tierarztl, Mschr.* 15:249-261.
148. Repiso MV, Gil A, Bañales P, D’Anatro N, Fernandez L, Guarino H, Herrera B, Nuñez A, Olivera M, Osawa T, Silva M (2004). Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas que afectan el comportamiento reproductivo en la ganadería de carne y caracterización de los establecimientos de cría del Uruguay. Premio Sociedad de Buiatría del Uruguay 2004. p.11-12.
149. Rhyan JC, Stackhouse LL, Quinn WJ (1988). Fetal and placental lesions in bovine abortion due to *Tritrichomonas foetus*. *Vet Pathol.* 25:350-355.
150. Rhyan JC, Wilson KL, Bengess DE, Staokhouse LL, Quinn WJ (1995). The immunohistochemical detection of *Tritrichomonas foetus* in formalin-fixed paraffin-embedded sections of bovine placenta and fetal lung. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7:98–101.
151. Riechel MP, Drake JM (1996). The diagnosis of *Neospora* abortions in cattle. *New Zealand Vet. Jou.* 44:151-154.
152. Rivera H (2001). Causas frecuentes de aborto bovino. *Rev. Inv. Perú.* 12(2):117-122.
153. Romand S, Thulliez P, Dubey JP (1998): Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Parasitol Res.* 84:50-53.
154. Ryan KJ, Ray CG (editors) (2004). *Sherris Medical Microbiology* (4a. ed.). McGraw Hill. p.378-380.

155. Saizar J. (1997). Determinación de la prevalencia de la Rinotraqueítis Infecciosa bovina (IBR) en rodeos de leche y carne en Uruguay. *Veterinaria*: 33(133):3-6.
156. Sandvik T (2005). Selection and use laboratory diagnostic assays in BVD control programmers. *Prev Vet Medicine*. 72:3-16.
157. Sanz A, Bruñes A, Villalba D (2004). Influence of management and nutrition on postpartum interval in Brown Swiss and Pirenaica cows. *Livest Prod Sci*. 86:179-191.
158. Schares G, Peters M, Wurm R, Tackmann K, Henning K, Conraths F (1997). Neospora caninum verusacht aborte in einem Rinderbestand in Nordrhein-Westfalen. (en línea). Disponible en: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=articleURL&_udi=B6TD73V8VB1&_user=10&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&view=c&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=93b49c1e13684168d5b02b9b5267576d. Fecha de consulta: 01/07/13.
159. Schonmann MJ, Bondurant RH, Gardner LA, van Hoosear K, Baltzer W, Kachulis C (1994). Comparison of sampling and culture methods for the diagnosis of Tritrichomonas foetus infection in bulls. *Vet. Rec.* 134:620–622.
160. Schurig G, Sriranganathan N, Corbel M (2002). Brucellosis vaccines: past, present and future. *Vet Microbiol* 90:479- 496.
161. SENASA (2009). “Manual de Diagnóstico Serológico de la Brucelosis bovina 2009”. Laboratorio de Referencia de la OIE para Brucelosis. Coordinación General de Laboratorio Animal. Dirección de Laboratorio y Control Técnico. Disponible en: <http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Documentos%20novedades/Senasa/Documentos/ManualBrucelosisSENASA202009.pdf>. Fecha de consulta: 23/04/13.
162. Silva AM, Brum MCS, Canto MC, Weiblen R, Roehe PM, Flores EF (1998). Pathogenesis of Meningoencephalitis in Weanling Rabbits by Bovine Herpesvirus type-5 (BHV-5). Simpósio Internacional sobre Herpesvirus Bovino (tipo 1 y 5) e virus da Diarréia Viral Bovina (BVDV).
163. Silva Paravis, M.; Repiso, M.V. (1999). Rol del Laboratorio Oficial en la campaña de Brucelosis Bovina. Publicación de las Jornadas técnicas del Mercosur M.G.A.P- D.G.S.G , p.H1-H10.
164. Skirrow MB (1994). Diseases due to Campylobacter, Helicobacter and related bacteria. *J. Comp. Pathol.* 111:113-149.
165. Skirrow S (1987). Identification of trichomonad-carrier cows. *J Am Vet Med Assoc* 191:553-554.

166. Stella, J.L.; Canabez, F. (1971). El diagnóstico de la Vibriosis genital de los bovinos del Uruguay. Actos V. Congreso Latinoamericano de Microbiología. Punta del Este, Uruguay.
167. Stevens M, Olsen S, Pugh G (1994). Lymphocyte proliferation in response to *Brucella abortus* 2308 or RB51 antigens in mice infected with strain 2308, RB51, or 19. *Infect Immun* 62:4659-4663.
168. Stevenson J. (1997). Clinical reproductive physiology of the cow. In: Youngquist R (ed). Current Therapy In Large Animal Theriogenology. WB Saunders Company, University of Missouri, Missouri, USA.
169. Stringfellow DA, Givens MD. (2000). Epidemiologic concerns relative to in vivo and in vitro production of livestock embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:629-642.
170. Studdert MJ. (1989). A brief review of studies of bovine and equine herpesvirus. *Aust Vet J*; 66.12:401-402.
171. Sullivan ND (1974). Leptospirosis in animals and man. *Aus.Vet.J.* 50:216-223.
172. Talbot JA, Nielsen K, Corbeil LB, (1991). Cleavage of proteins of reproductive secretions by extracellular proteinases of *Tritrichomonas foetus*. *Can J Microbiol* 37:384-390.
173. Tang D, M Devit, S Johnston. (1992). Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. *Nature* 356:152-154.
174. Taylor MA, Marshall RN, Stack M (1994). Morphological differentiation of *Tritrichomonas foetus* from other protozoa of the bovine reproductive tract. *Br. Vet. J.*, 150:73-80.
175. Terpstra C. (1979). Diagnosis of infectious bovine rhinotracheitis by direct immunofluorescence. *Vet. Q.*1:138-144.
176. The Leptospirosis Information Center. The history of leptospirosis and Weil's disease. Disponible en: <http://www.leptospirosis.org/topic.php?t=36> Fecha de consulta: 14/05/13.
177. Thielscher H and Huth F (1986). IBR/IPV: Vaccination or Culling?. *Landbauforschung Völkenrode* 1986; 36:171-176.
178. Thiermann AB (1984). Leptospirosis: current developments and trends. *JAVMA* 184:722-725.
179. Thilsted JP, Dubey JP. (1989). Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J.Vet.Diagn.Invest* 1:205-209.

180. Thomas MW, Marmon WM, White C (1990). An improved method for the detection of *Tritrichomonas foetus* infection by culture in bulls. *Agri-Practice*, 11:13-17.
181. Thrusfield M. (1995). *Veterinary epidemiology*. 2nd ed. The University Press, Cambridge, United Kingdom.
182. Thurmond M, Picanso J, Hietala S (1990). Prospective serology analysis in diagnosis of dairy cows abortion. *J Vet Diagn Invest* 2:274-282.
183. Ugglä A, Hilali M, Lövgren K (1987). Serological responses in *Sarcocystis cruzi* infected calves challenged with *Toxoplasma gondii*. *Res. Vet. Sci.* 43:127-129.
184. Van Der Hoeden J. (1958). Epizootiology of Leptospirosis. *Adv. Vet. Sci.* 4, 278-339.
185. Van Engelenburg FAC, Maes RK, Van Oirschot JT, Rijsewijk FA. (1993). Development of a rapid and sensitive polymerase chain reaction assay for detection of bovine herpesvirus type 1 in bovine semen. *J. Clin. Microbiol.* 31:3129–3135.
186. Van Oirschot JT (1995). Bovine Herpesvirus 1 In Semen of Bulls and the Risk of Transmission: a Brief Review. *Veterinary Quarterly*.17(1):29-33.
187. Vanroose G, De Kruif A, Van Soom A. (2000). Embryonic mortality and embryo–pathogen interactions. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61:131-143.
188. Vemulapalli R, He Y, Buccolo L, Boyle S, Sriranganathan N, Schurig G (2000). Complementation of *Brucella abortus* RB51 with a functional *wboA* gene results in O-antigen synthesis and enhanced vaccine efficacy but no change rough phenotype and attenuation. *Infect Immun* 68:3927- 3932.
189. Venturini MC, Venturini L, Bacigalupe D, Machuca M, Echaide I, Basso W, Unzaga JM, Di Lorenzo C, Guglielmone A, Jenkins MC, Dubey JP (1999). *Neospora caninum* infections in bovine fetuses and dairy cows with abortions in Argentina. *International Journal for Parasitology*. 29:1705-1708.
190. Vilcek S, Paton DJ, Durkovic B, Strojny L, Ibata G, Moussa A, Loitsch A, Rossmannith W, Vega S, Scicluna MT, Paifi V. (2001). Bovine viral diarrhoea virus genotype 1 can be separated into at least eleven genetic groups. *Arch. Virol.* 146:99-115.
191. Voges H, Horner GW, Rowe S, Wellenberg GJ (1998). Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immuno–competent, non–viremic bull. *Vet. Microbiol.* 61:165-175.
192. Wellemans G, Leunen J (1973). La rhinotrachéite infectieuse des bovins et sa serologie. *Ann. Med. Vet.* 117:507–512.

193. Wilfert CM. (1986). Brucella. En: Zinsser, Microbiología. Joklik WK, Willet HP, Amos AB. 18 Edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1986, p.764-771.
194. Williams DJL, Guy GS, McGarry JW, Guy F, Tasker L, Smith RF, MacEachern K, Cripps PJ, Kelly DF, Trees AJ (2000). Neospora caninum-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. Parasitology.121:347-358.
195. Wyler R, Engels M, Schwyzer M (1989). Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis (BHV1). En: G. Wittman and Y. Becker (ed.), Herpesvirus diseases of cattle, horses, and pigs. Developments in veterinary virology ser. Kluwer Academics Publishers, Boston, 1-72.
196. Yates WDG (1982). A Review of Infectious Bovine Rhinotracheitis, Shipping Fever Pneumonia and Viral-Bacterial Synergism in Respiratory Disease of Cattle. Can J comp Med; 46: 225-263.

ANEXO

ABORTO MIXTO

Feto bovino (figura 1,2 y 3). En la membrana corioalantoidea se observan vesículas de forma redondeada, color blanquecino y aspecto perlado. Al cortarlas hay líquido seroso. Las vesículas desde la membrana corioalantoidea pasan a cordón umbilical y llegan al feto. No se observan en la superficie externa del feto ni en placenta. Por inmunoperoxidasa (IPX) el feto resultó positivo a Neospora (Membrana corioalantoidea y corazón), Coxiella (Membrana corioalantoidea y contenido de estómago) y Campylobacter (contenido de estómago).



Figura 1. Fuente: <http://www.exopol.com/diagnostico/atlas-fotografico/>



Figura 2. Fuente: <http://www.exopol.com/diagnostico/atlas-fotografico/>



Figura 3. Fuente: <http://www.exopol.com/diagnostico/atlas-fotografico/>

Cavidad peritoneal de feto bovino (figura 4). El hígado estaba aumentado de tamaño y decolorado, muy friable. Se observa un importante acúmulo de líquido serohemorrágico en cavidad torácica, abdominal y subcutáneamente. Por inmunoperoxidasa (IPX) resultó positivo a Neospora (Membrana corioalantoidea y corazón), Coxiella (Membrana corioalantoidea y contenido de estómago) y Campylobacter (contenido de estómago).

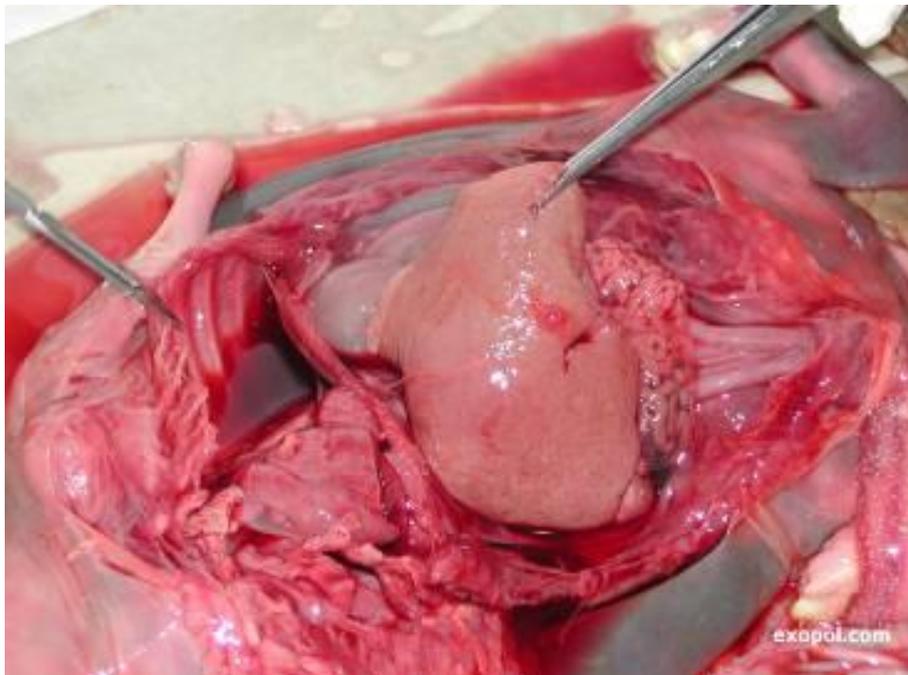


Figura 4. Fuente: <http://www.exopol.com/diagnostico/atlas-fotografico/>

DIARREA VIRAL BOVINA



Figura 5. Bovino cursanso con la Enfermedad de las Mucosas.
Fuente: <http://www.patologia-veterinaria.com/enfermedad-mucosa/>



Figura 6. Bovino con múltiples úlceras de labios, paladar y encías.
Fuente: <http://www.patologia-veterinaria.com/enfermedad-mucosa/>



Figura 7 y 8. Dermatitis provocada por el virus de DVB, cepa no citopática.
Fuente: http://www.lab9dejulio.com.ar/fotos/diarrea-viral- bovina_a235



Arriba: *embrión normal* Abajo: *embrión muerto en vías de reabsorción*

Figura 9. Muerte embrionaria por el virus de la DVB.
Fuente: <http://handresen.perulactea.com/2009/05/19/capitulo-8-problemas-reproductivos/>