

---

## ROL DE LA HEMBRA EN LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y PARASITARIAS QUE AFECTAN LA REPRODUCCIÓN EN EL BOVINO

Dr. Carlos M. Campero

Agentes infecciosos como bacterias, virus, hongos y protozoos han sido identificados como causales de pérdidas reproductivas y abortos en bovinos del país. El impacto de las enfermedades infecciosas sobre la eficiencia reproductiva del rodeo va en detrimento de su rentabilidad. Las pérdidas pueden presentarse en los distintos estadios del ciclo reproductivo, a saber: fallas en la fertilidad de celos, fallas durante el servicio, fallas en la concepción, mortalidad del embrión, abortos y mortalidad en el periparto y en el período neonatal. En el INTA Balcarce se han realizado avances en la puesta a punto de técnicas diagnósticas adecuadas y probadas, en condiciones de campo mediante el esfuerzo de ayudantes, técnicos y veterinarios privados, las cuales mejoraron el conocimiento de los problemas reproductivos en los bovinos en los últimos 30 años. Estos resultados muestran la asociación entre los agentes infecciosos y los desórdenes reproductivos de los bovinos, incluyendo el aborto. Nuestros trabajos permiten concluir que la detección diagnóstica etiológica de las enfermedades infecciosas y parasitarias de la reproducción no supera el 45%. Si bien el apoyo dado por el diagnóstico molecular por PCR demuestra una mejora en dicha eficiencia, su implementación práctica aún es limitada. Analizando la casuística a lo largo de los años, se consideran de relevancia los estudios de la problemática a fin de conocer su posible impacto en la producción ganadera bovina. Las metodologías hoy disponibles sirven de apoyo para el laboratorista y el profesional de la actividad privada, permitiendo mejorar la caracterización reproductiva de los rodeos.

### El laboratorio y los especímenes

El laboratorio debe prestar un servicio adecuado para lo cual interactuará de la forma más eficiente, rápida y de costo aceptable para que resulte de utilidad al usuario y pueda resolver el problema en cuestión. Se crea así un contacto fluido y confianza entre el laboratorio, el veterinario, el productor y el personal del campo. Frente a una problemática reproductiva en la cual la sospecha se orienta hacia agentes infecciosos y/o parasitarios, la fuente primordial del material diagnóstico a ser procesado por los laboratoristas se basa en una adecuada metodología de obtención de muestras y su transporte en los medios adecuados para maximizar los resultados con la tecnología disponible. La complejidad del agente infeccioso y la disponibilidad del material por parte del veterinario harán que el laboratorista acceda mediante el auxilio de diferentes técnicas para caracterizar el problema.

### Las causas

Las pérdidas reproductivas por causas infecciosas y parasitarias en bovinos a nivel nacional permiten aún identificar a diferentes agentes para los cuales existen algunas medidas para su control (Tabla 1). En las Tablas 2, 3 y 4 se mencionan algunas características de muestreos según especímenes, destino de las muestras y técnicas auxiliares para mejorar la eficiencia diagnóstica a partir de materiales de origen genital o abortigénico en bovinos.

La brucelosis bovina causada por *Brucella abortus* es una importante enfermedad zoonótica. La principal fuente de infección para el rodeo es la vaca infectada que aborta, dado que elimina millones de bacterias al medio ambiente con el feto, la placenta, los fluidos fetales, loquios y flujo vaginal. También se elimina al medio ambiente a través de fluidos y secreciones de animales que, aunque no aborten, siguen infectados y seropositivos. Existen varias técnicas serológicas para identificar y confirmar la enfermedad como BPA, ELISA, 2-mercaptoetanol, prueba lenta en tubo, fijación de complemento y prueba de luz polarizada. Otras técnicas como cultivos bacteriológicos, inmunohistoquímica y PCR se pueden implementar según las circunstancias, para mejorar el diagnóstico.

La leptospirosis es otra zoonosis de importancia provocada por organismos del género *L. interrogans*. En el ganado bovino *L. Hardjo* y sus genotipos (*Hardjobovis* y *Hardjoprajtino*) adaptadas al huésped, son responsables de abortos, nacimiento de terneros débiles y problemas de infertilidad en el rodeo, mientras que *L. pomona* y otros serovares que no adaptados al bovino, provocan infecciones accidentales con abortos epidémicos de importancia. En la leptospirosis aguda los principales signos incluyen fiebre, anemia hemolítica, hemoglobinuria, ictericia y alta tasa de mortalidad en el ganado joven. En la forma crónica el aborto es el único signo que se observa en el rodeo. En las vacas lactantes puede observarse agalactia y mastitis con ubres flácidas y secreción amarillenta o sanguinolenta. Los abortos por *L. hardjo* pueden ocurrir en cualquier estadio de la gestación variando desde 3-10% en los rodeos endémicos, mientras que los abortos por *L. pomona* usualmente ocurren en el último trimestre de la gestación pudiendo alcanzar hasta un 30%. La mayoría de las leptospiras se localizan y persisten en los túbulos proximales de los riñones y se excretan por orina en forma intermitente. El feto es abortado autolítico y con ictericia. El bovino adulto suele ser un portador inaparente con eliminación intermitente por orina. El aislamiento de la bacteria resulta costoso, poco práctico y lento, por ello no se realiza de rutina. El aislamiento a partir de tejidos fetales es difícil por la frecuente autólisis. El test de aglutinación microscópica (MAT) es el que se ha utilizado con mayor frecuencia para el diagnóstico serológico en bovinos. Sin embargo, se debe ser cauteloso al diferenciar los títulos serológicos producidos por infecciones naturales versus títulos vacunales. También se pueden utilizar técnicas tintoriales argénticas a partir de frotis e improntas de órganos afectados, inmunofluorescencia directa (IFD) de órganos fetales y de orina, inoculación en animales de laboratorio, PCR, ELISA y otras técnicas diagnósticas menos frecuentes.

El protozoo *Neospora caninum* es el agente causal de la neosporosis provocando ingentes pérdidas reproductivas y abortos en rodeos para carne y para leche de nuestro país. En el bovino la enfermedad se manifiesta con abortos, usualmente entre los 3-4 y 8 meses de gestación, o bien nacimiento de terneros débiles con muerte en el período neonatal o nacimiento de terneros clínicamente normales pero crónicamente infectados. Pueden existir abortos endémicos o epidémicos. El endémico o enzoótico está asociado a infecciones verticales frecuentes con tasas de abortos que no superan el 10% y pérdidas en forma de goteo en los rodeos. La presentación epizootica suele manifestarse como tormentas de abortos y ocurre cuando la enfermedad ingresa por primera vez al rodeo. En dicha instancia se encuentran alta proporción de animales que son expuestos a ooquistes de *N. caninum* por primera vez asociándose con tasas de abortos que pueden superar el 30%.

La neosporosis se transmite muy eficientemente de forma vertical (de la madre a su descendencia) en el 70-90% de los casos cuando no ocurre el aborto. La transmisión horizontal (por pasturas y alimentos contaminados por ooquistes) es menos frecuente.

Para el diagnóstico de la neosporosis se utilizan en forma rutinaria dos pruebas serológicas: la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el ELISA. En el caso de los fetos se utiliza además de la histopatología, la serología fetal (IFI), la inmunohistoquímica y PCR. La serología aislada sobre una hembra que abortó no permite asociar a *N. caninum* con el aborto. La determinación del título final suele sugerir un aborto reciente dado que los títulos séricos suelen incrementarse en las cercanías del aborto aunque no es un dato absoluto. Lo ideal es obtener el suero de vacas abortadas y no abortadas del mismo rodeo. La comparación de las proporciones de animales seropositivos en ambos grupos permitirá inferir si *N. caninum* estuvo involucrada en los abortos observados. También ayuda al conocimiento del status de la enfermedad es conocer la seroprevalencia en las terneras de cría y en el lote de vaquillonas de reposición. Si se pudiera sangrar a las terneras al nacer antes que mamen calostro, sería una prueba auxiliar de valor pues si es positiva significa que adquirió la infección congénita de su madre y debería descartarse. Una vez que la cría mamó el calostro, la seropositividad puede ser originaria de los anticuerpos maternos, los cuales desaparecen aproximadamente a los 4 meses de vida. De manera que si las terneras mamaron calostro,

habría que sangrarlas después del 4 mes de vida a los fines de establecer su estatus serológico. La presencia de anticuerpos en fluidos fetales demuestra contacto con la enfermedad y probable infección congénita pero con solo ese dato no se podría confirmar que el aborto fue causado por *N. caninum*. Sin embargo, la presencia de anticuerpos en fluidos fetales acompañado con lesiones fetales en el SNC son características que permitirían pensar que *N. caninum* pudo ser la causa del aborto. Dado que la enfermedad se encuentra muy difundida especialmente en sistemas de alta carga, hace que se deban estudiar en cada caso las medidas de manejo a implementar.

Los agentes casuales de las **enfermedades de transmisión sexual** como son la Trichomonosis y Campylobacteriosis afectan los parámetros reproductivos y pueden provocar pérdidas de preñez del 15% al 25% o aún mayores, según se encuentren solas o asociadas. Sus agentes *Tritrichomonas foetus* y *Campylobacter fetus* con sus subespecies *venerealis*, *intermedius* y *fetus* pueden diagnosticarse a partir de fluidos genitales de machos, hembras y fetos utilizando técnicas como cultivos, IF, PCR, IHQ.

El virus de **diarrea viral bovina (vDVB)** produce pérdidas económicas importantes por fallas en la fecundación, mortalidad embrionaria, abortos, malformaciones congénitas y mortalidad perinatal. El virus se difunde desde la sangre al útero preñado siendo particularmente patógeno para fetos de 2 a 4 meses de edad provocando su muerte y posterior aborto o bien severos daños congénitos. Si la infección fetal ocurre después de los 5 meses, la mayoría de los terneros nacen a término ya sea normales o débiles según en que momento se infecte la madre, pudiendo adquirir infecciones propias del primer mes de vida del ternero (diarrea, neumonía). La existencia de bovinos persistentemente infectados (PI) con el vDVB es la forma más común del mantenimiento de la enfermedad en el rodeo pudiendo eventualmente difundirse mediante el semen u ovocitos infectados de animales viables al período postpúber. El diagnóstico de la enfermedad se basa en el aislamiento viral o bien en la presencia de seroconversión de muestras séricas pareadas de hembras sospechosas o abortadas.

El **Herpes virus bovino (HVB)** se presenta en varias formas clínicas que afectan directa o indirectamente la producción ganadera. El incremento de brotes a HVB observado en los últimos años, sumado al aislamiento viral a partir de muestras genitales de vacas en rodeos donde se han observado pérdidas reproductivas, señalan el rol relevante como agente emergente. La enfermedad tiene diversas formas de presentación desde cuadros respiratorios, encefalíticos, abortigénicos y con localización genital (vulvovaginitis/balanopostitis). Luego de la infección natural el virus puede replicar en la mucosa del pene, mucosa del prepucio y uretra distal siendo poco factible el aislamiento viral a partir de la uretra proximal, epidídimo, testículo y glándulas sexuales accesorias. Un toro infectado puede eliminar virus de por vida dependiendo de las condiciones de estrés a que está sometido. La relevancia de HVB asociado a problemas reproductivos como infertilidad, mortalidad embrionaria, abortos y mortalidad perinatal, fue establecida mediante estudios diagnósticos. Trabajos realizados por nuestro grupo en rodeos en seguimiento donde las pérdidas tacto/parición variaron entre el 3,5 y 7,5% permitieron aislar el HVB en muestras de MCV obtenidas hasta 23 días post-aborto. De igual forma, la edad de gestación de los fetos abortados varió entre los 5 meses y fetos a término. Estos resultados demuestran la importancia de HVB como responsable de pérdidas reproductivas en rodeos bovinos. Recientemente se han logrado aislamientos de Herpesvirus bovino tipo 4 (HVB-4) de bovinos aparentemente sanos y de casos asociados a abortos, metritis, endometritis, vaginitis, enteritis o infecciones respiratorias. Si bien este virus tiene tropismo por el endometrio bovino, su patogenia aún no está bien esclarecida. HVB-4 ha sido recientemente aislado y caracterizado por PCR en Argentina por nuestro grupo de virología. Dentro de las técnicas de diagnóstico para el caso de HVB se utilizan la seroconversión, serología fetal, cultivo celular y técnicas de biología molecular.

## Especímenes necesarios para intentar determinar la causa del aborto

### 1. Muestras refrigeradas para cultivo bacteriológico y/o virológico

Placenta: 3 ó más cotiledones, especialmente si existen lesiones. 1/8 de los siguientes órganos: Pulmón, riñón, hígado, bazo.

Fluidos: 3 ml de contenido de abomaso recolectados con jeringa y aguja estériles para cultivo. Fluidos de la cavidad abdominal, torácica y/o pericárdica.

### 2. Tejidos fijados en formol al 10%

Relación órganos/volumen de fijador 1:10.

Cortar trozos no mayores de 1 cm x 2 cm y 3 mm de espesor de corazón, pulmón, hígado, riñón, glándulas suprarrenales, timo, bazo, cerebro, cerebelo, linfonódulo, músculo esquelético, abomaso, intestino delgado, lengua, músculos periorbitales y de cualquier otro órgano con lesiones. Placenta.

### 3. Suero

Suero de la madre (3-5 ml). Es conveniente enviar dos muestras extraídas con 20 días de intervalo (muestras pareadas) para comprobar seroconversión (enfermedades virales, leptospirosis, etc).

### Examen del rodeo

-Condición corporal de los vientres, Signos oculares (conjuntivitis), Descargas vulvares, vacas con cola elevada, vaginitis, etc, Examen ginecológico, Preñez, Piómetra, Feto momificado, Ecografía

**Tabla 1:** Agentes causales más frecuentes, momento de las pérdidas reproductivas y medidas de control en bovinos

Etiología	Periodo gestacional	Control toros controlados, venta vacas vacías vacunación, IA, venta toros (+)
<i>Tritrichomonas foetus</i>	temprano, medio	vacías vacunación, IA, venta toros (+)
<i>Campylobacter fetus</i>	temprano, medio	toros controlados, venta vacas vacías vacunación, IA, servicio toros jóvenes
<i>Neospora caninum</i>	medio, tardío	serología, reposición con hembras (-)
vDVB	temprano, medio	serología, detección PI, vacunación
<i>Herpes virus</i>	medio, tardío	serología, vacunación
<i>Brucella abortus</i>	medio, tardío	serología, eliminación (+), vacunación terneras con cepa 19
<i>Leptospira sp.</i>	medio, tardío	serología, vacunación, tratamiento
<i>Listeria monocytogenes</i>	tardío	no existe
<i>Salmonella thyphimurium</i>	tardío	eliminar vacas (+)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	tardío	no existe

**Tabla 2:** Muestras a extraer de la vaca abortada

Muestra	Observaciones
Sangre	cultivo (vDVB), serología, repetir muestreo a los 15-20 días
calostro	cultivo, serología
orina	cultivo, frotis, IF
útero	biopsia: cultivo, histología
mucus	
cérvico vaginal	frotis, IF, cultivo (cuando mas tardío del momento del aborto se realice, más difícil será determinar su causa)
carúncula y/o placenta	cultivo, histología

**Tabla 3:** Cultivos de Mucus cérvico vaginal en vacas: medios de transporte y cultivo Medio Propósito

Medio	Propósito
Amies	Transporte de aerobios/cadmófilos
Cary Blair	Transporte de Campylobacter sp.
Infusión hígado	Transporte y cultivo Tritrichomonas foetus
Sol. fisiol. formolada 1%	IF para Campylobacter
Agar sangre	Cultivo de Aerobios/cadmófilos
Agar McConkey	Cultivo de Enterobacterias
Agar Skirrow	Cultivo de Campylobacter sp.
Sol. Hanks	Transp. para aislamiento viral

**Tabla 4:** Casos de fetos abortados procesados en el INTA Balcarce con distintos grados de autólisis de los cuales pudieron identificarse sus etiologías por diferentes técnicas (Campero, datos sin publicar)

Nº de protocolo	Autólisis (de 0 a 3)	Agente aislado y/o identificado	Técnica diagnóstica
07-058	3	Salmonella sp.	Cultivo + HP*
07-352	3	Campylobacter fetus	Cultivo + HP
07-379	3	Campylobacter fetus	Cultivo + HP
07-415	2	Neospora caninum	IH + IHQ**
07-439	2	Neospora caninum	IH + IHQ
07-447	1	Neospora caninum	IH + IHQ
07-485	1	Campylobacter fetus	Cultivo + HP
07-487	2	Neospora caninum Tritrichomonas foetus	IHQ + Cultivo
07-518	1	Campylobacter fetus	Cultivo + HP
07-555	1	Neospora caninum	IH + IHQ
07-577	3	Neospora caninum	
07-602 (2 fetos)	1	Brucella abortus	Cultivo + HP
07-678	2	Campylobacter fetus	Cultivo + HP
07-719	3	Neospora caninum	IH + IHQ
07-883	3	DVB	Seroneutralización
07-928	3	Neospora caninum	IH + IHQ
08-52	1	Neospora caninum	IH + IHQ
08-245	0	Campylobacter fetus	Cultivo + HP
08-248	2	Brucella abortus	Cultivo + HP

\* HP: histopatología; \*\*IHQ: inmunohistoquímica