MANCHA DE LOS BOVINOS, CONCEPTOS BÁSICOS PARA SU PREVENCIÓN

A.A. Koval¹, M. M. Vena¹ y J.A. Margueritte¹. 2007. Veterinaria Argentina, 24(232):113-119.

1)Biogénesis Bagó S.A., Garín, Argentina.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: <u>Infecciosas bovinos en general</u>

RESUMEN

La Mancha de los Bovinos es una miositis clostridial causada por Clostridium chauvoei (C.chauvoei), que afecta a bovinos jóvenes de 6 meses a dos años de vida. El diagnóstico de mancha se efectúa mediante el cultivo microbiológico e identificación del agente etiológico en el músculo de animales afectados. La Inmunofluorescencia (I.F.) en improntas de músculo es una alternativa al cultivo anaeróbico, que resulta confiable sólo si es efectuada por profesionales especialistas y usando conjugados específicos que garanticen ausencia de reacción cruzada con otros clostridios, tales como C.septicum, C.novyi, C.sordelli y C.perfringens. La prevención mediante el uso de vacunas, demostró a lo largo de los años ser muy efectiva. Se formularon vacunas experimentales polivalentes conteniendo C.chauvoei, las cuales fueron evaluadas mediante el test internacional de potencia en cobayos y el test alternativo de potencia en ratones. En base a la información obtenida, se estandarizó la masa antigénica de C.chauvoei en las vacunas polivalentes de serie, tomando como referencia al test de potencia en cobayos, que es el más exigente.

Palabras clave: Mancha, Bovinos, Clostridium, Diagnóstico, Prevención.

INTRODUCCIÓN

Blood y col. (1986) definen a la "pierna negra" (black leg o black quarter) como "una enfermedad infecciosa aguda, causada por Clostridium chauvoei (C.chauvoei) caracterizada por inflamación de los músculos, severa toxemia y alta mortalidad".

Señalan la diferencia entre "verdadera pierna negra", causada por Clostridium chauvoei, y "falsa pierna negra", en la cual están involucrados otros clostridios (C. septicum, C.novyi y C.sordelli)³.

Esta enfermedad infecciosa de los bovinos jóvenes, es motivo de equívocos e imprecisiones, causados en algunos casos por el hábito de denominarla "Carbunclo Sintomático" y en otros, por diagnósticos erróneos.

Frecuentemente se efectúan necropsias de bovinos a campo que concluyen con un diagnóstico de Mancha, basado en el antecedente de muerte repentina y la evidencia de lesión oscura circunscripta en una región de las masas musculares que "mancha" el cuero adyacente.

En este artículo se utilizará el término "Mancha" para definir a la miositis clostridial que afecta a bovinos jóvenes de 6 meses a 2 años de edad aproximadamente, cuyo agente etiológico es la bacteria C.chauvoei. Es importante señalar que no es esperable que vacas adultas que han recibido sucesivas vacunaciones contra C.chauvoei, enfermen de Mancha.

Desde el punto de vista epidemiológico, los bovinos adultos son naturalmente resistentes a la infección por este microorganismo ^{7,8}.

PRESENTACIÓN CLÍNICA

La enfermedad es de presentación aguda y pueden encontrarse animales muertos sin haberse detectado signos clínicos previos. Cuando se detectan animales con sintomatología, se observa profunda depresión producto de una toxemia generalizada y cojera manifiesta si la infección está instalada en alguna masa muscular de los miembros. En estos casos, puede detectarse a la palpación profunda una débil crepitación debida a la presencia de gas ^{3,7,8}.

A la necropsia, el músculo afectado tiene una coloración oscura, con presencia de edema serosanguinolento en el tejido subcutáneo adyacente.

Si bien la lesión descripta es característica de la infección causada por C.chauvoei, no es patognomónica y es fácilmente confundible con lesiones causadas por otros clostridios productores de gangrenas ^{1,3,7,8}.

DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO

El diagnóstico confirmatorio se consigue por el aislamiento y tipificación del microorganismo por un laboratorio con experiencia en el cultivo de anaerobios. Existen alternativas menos engorrosas como la inmunofluorescencia directa, la cual sólo será confiable si es efectuada por un especialista, que:

a) Ejecute la técnica e interprete los resultados en relación a la muestra recibida.

- b) Conozca la epidemiología y patogenia de estas enfermedades.
- c) Utilice una batería de conjugados contra todos los clostridios que pueden estar involucrados en miositis gangrenosas (C.chauvoei, C.septicum, C.novyi, C.sordelli y C.perfringens) ⁸.
- d) Emplee conjugados que hayan sido sometidos a controles de especificidad y no den reacciones cruzadas ¹.

Si no se cumplen todas estas condiciones, las posibilidades de arribar a un diagnóstico correcto se reducen al mínimo ^{1,3,7,8}.

PREVENCIÓN

La prevención mediante el uso de vacunas, demostró a lo largo de los años ser muy efectiva. Siendo una enfermedad del bovino joven, es conveniente que los terneros reciban 2 dosis de vacuna conteniendo C. chauvoei antes de los 6 meses de vida.

Si bien el esquema propuesto es vacunar al segundo mes y revacunar al tercer mes de vida, cada establecimiento deberá diseñar una estrategia acorde con tipo de explotación, sus condiciones de manejo, estacionamiento y duración de los servicios, distribución de la parición, etc.

En ganado de cría, la aplicación de una tercera dosis de vacuna a todos los terneros que se destetan, cumple con el objetivo de garantizar que todos los terneros nacidos en esa época de parición hayan recibido por lo menos 2 dosis.

Es recomendable la vacunación de refuerzo a los vientres un mes antes de la parición para transferir inmunidad a los terneros a través del calostro.

VACUNAS: ASPECTOS RELACIONADOS CON LA ELABORACIÓN Y CONTROL

Las vacunas destinadas a la prevención de "Mancha" están elaboradas con cultivos de C. chauvoei inactivados con formol. Los antígenos protectores están ubicados en la pared de la célula bacteriana, siendo importante preservar su estructura y evitar su deterioro por envejecimiento de los cultivos o exceso de inactivante ⁷.

A principios de la década del 90, el SENASA estableció un modelo de potencia en ratón para las vacunas que se comercializaban en Argentina. Esa medida fue de vital importancia para el mejoramiento de la calidad de las vacunas que se elaboraban hasta ese momento ^{2,9}.

En ese modelo, los ratones reciben 4 vacunaciones con 0,25 ml de vacuna, los días 1, 4, 7 y 10 de la prueba, y son desafiados al día 21 con 100 DL 50 de esporos de C. chauvoei, resuspendidos en cloruro de calcio al 2,5 %, el cual actúa como necrosante muscular, favoreciendo la instalación de la infección.

Para que una serie de vacuna sea satisfactoria mediante la prueba en ratones, se requiere un mínimo de 60 % de animales vacunados sobrevivientes a las 24 horas post desafío.

Las normas internacionales y regionales vigentes para el control de vacunas que contengan C.chauvoei (Farmacopea Europea, C.F.R.-USA y normativa MERCOSUR) exigen como requisito para aprobación, el ensayo de potencia en cobayos ^{4,5,6,10}.

Este consiste en la vacunación de 8 cobayos con 1/5 de la dosis bovina, 2 inmunizaciones con un intervalo entre ambas de 21 a 23 días, y un desafío 15 días después de la última vacunación, con 100 DL., de esporos resuspendidos en cloruro de calcio al 5 %. Como control de la prueba, se desafían 5 cobayos no vacunados. Los animales se observan durante 3 días.

Este modelo califica como satisfactoria a una serie cuando logra por lo menos el 87,5 % de protección, es decir, cuando sólo muere 1 de los 8 cobayos vacunados. Para validez de la prueba, 4 de los 5 controles (80%) deben morir por la infección a los 3 días de inoculados.

El empleo de una especie más susceptible a la infección, la concentración dos veces superior de necrosante muscular y el requisito de casi 90% de protección, hacen que esta prueba sea más exigente que la prueba en ratones y por lo tanto sólo es superada por vacunas de óptima calidad.

PRUEBAS DE POTENCIA EFECTUADAS EN EL MODELO RATÓN Y EL MODELO COBAYO

Se efectuaron pruebas de potencia utilizando paralelamente el modelo ratón y el modelo cobayo, a partir de formulaciones experimentales y vacunas de serie.

Para ello, se efectuaron ensayos de dosis-respuesta con 12 formulaciones experimentales conteniendo distintos lotes de C.chauvoei, combinado con C.septicum y toxoides de C.perfringens C y D.

Por otra parte, se evaluaron 5 series de producto terminado, mediante los dos modelos en paralelo.

ANIMALES DE LABORATORIO

Ratones: albinos, CF1, adultos de 18 a 22 g de peso.

Ensayo en ratones: Según indicaciones del Manual de Control de Vacunas Bacterianas GELAB-SENASA 1995.

Cobayos. Raza Hartley, de 500 +/- 50 g de peso.

Ensayo en cobayos: De acuerdo con la Resol. 77/96 Mercosur, Resol. 12/97 SENASA y Manual de Control de Vacunas Bacterianas GELAB-SENASA 1995.

Los ensayos en animales fueron efectuados por un laboratorio acreditado perteneciente a la Red Oficial de Control de Vacunas Bacterianas ¹⁰.

RESULTADOS

En las tablas I y II, se detallan los resultados obtenidos con doce formulaciones experimentales y 5 series de vacuna, evaluadas simultáneamente con los dos modelos.

Formulaciones experimentales Lote de C.chauvoei	Ensayo en ratones		Ensayo en cobayos	
	Protección	Calificación	Protección	Calificación
058	80%	Satisfactoria	62,5%	No satisfactoria
060	80%	Satisfactoria	62,5%	No satisfactoria
066	100%	Satisfactoria	62,5%	No satisfactoria
069	100%	Satisfactoria	75%	No satisfactoria (a recontrol)
076	90%	Satisfactoria	62,5%	No satisfactoria
081	100%	Satisfactoria	75%	No satisfactoria (a recontrol)
005	100%	Satisfactoria	100 %	Satisfactoria
006	100%	Satisfactoria	100 %	Satisfactoria
008	90%	Satisfactoria	100 %	Satisfactoria
086	90%	Satisfactoria	100%	Satisfactoria
087	100%	Satisfactoria	100%	Satisfactoria
088	100%	Satisfactoria	100%	Satisfactoria

Vacuna / № Serie	Ensayo en ratones		Ensayo en cobayos	
to aluigno toi ornisen	Protección	calificación	Protección	calificación
Bioclostrigen J5 / 51	100%	Satisfactoria	100%	Satisfactoria
Bioclostrigen J5 / 53	100%	Satisfactoria	100%	Satisfactoria
Bioclostrigen.J5 / 54	100%	Satisfactoria	100%	Satisfactoria
Bioclostrigen J5 / 55	100%	Satisfactoria	100%	Satisfactoria
MGE / 134	100%	Satisfactoria	100%	Satisfactoria

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Como se observa en la Tabla I, formulaciones que fueron calificadas como satisfactorias mediante el ensayo en ratones, resultaron no-satisfactorias en el ensayo en cobayos. Incluso, formulaciones con 80 y 100 de protección en ratones, tampoco resultaron satisfactorias.

La necesidad de armonizar métodos de control de biológicos para el comercio dentro del MERCOSUR, motivó que se unificaran los criterios en base a las exigencias que dictan los organismos de referencia internacionales. Para el caso de los controles de potencia de C.chauvoei, la adopción del modelo cobayo se origina en su buena correlación con la protección en el bovino.

La información generada por los ensayos dosis-respuesta utilizando ambos modelos en paralelo, permitió ajustar la masa antigénica incluida en cada dosis de vacuna de serie, en base al test más exigente. La aparición de casos de miositis clostridial diagnosticadas a campo sin el diagnóstico etiológico (aislamiento y caracterización

del microorganismo), lleva frecuentemente a confusiones e interpretaciones erróneas respecto de la capacidad protectiva de las vacunas.

La posibilidad de contar con vacunas que superen los estándares más exigentes de calidad, bien utilizadas a campo, minimiza el riesgo de sufrir brotes de Mancha en rodeos correctamente inmunizados.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. ASSIS R.A., LOBATO F.C.F., UZAL F.A., MARTINS N.E., SILVA N. 2001. Producción y evaluación de conjugados fluorescentes para diagnóstico de mancha y gangrena gaseosa. 2001. Rev.Med. Vet. 82 (2): 68-70.
- 2. BENTANCOR L., LÚQUEZ R. 1990. Empleo de ratones para la prueba de potencia de vacunas contra el carbunclo sintomático. Vet.Arg. VII (70): 683-685
- 3. BLOOD D.C., HENDERSON J.A. y RADOSTITS O.M. Enfermedades cusadas por diversas especies de clostridlos. En: Medicina Veterinaria, 6á Edición. Trad. 1988 Nueva Editorial Interamericana.
- 4. Code of Federal Regulations 9. 2003. Part 113.106 Clostridium chauvoei bacterin.
- 5. Mercosul /GMC / Res N°- 77/96.Regulamento Técnico para o controle das vacunas contra Carbúnculo Sintomático, Gangrena Gaseosa, Enterotoxemia e Tétano, inativadas e conservadas sob refrigeração.
- 6. Representación Regional de la OIE para las Américas. Productos Biológicos Armoniza-dos. A.1.4.2. Clostridium chauvoei.
- 7. STERNE M. 1981. Ciostridial Infections. Br. Vet.J. 137 (5): 443-454
- 8. STERNE M., Batty I. 1978. Clostridios Patógenos. Editorial Acribia.
- 9. SENASA, Disposición Nº 222/90, ClostridlosModificación-Control-Acreditación. 19 de abril de 1990.
- 10.SENASA, Resolución 12/97.- Carbunclo Sintomático Gangrena GaseosaEnterotoxemia-Tétano-Vacuna-Control-Requisitos.
- 11.SENASA, Resol 988/04.- Red de Laboratorios autorizados -Controles de Esterilidad, Inocuidad y Eficacia Vacunas Bacterianas. Set. 1994.

Volver a: <u>Infecciosas bovinos en general</u>