

ABORTOS EN PEQUEÑOS RUMIANTES: CLAVES PARA UN DIAGNÓSTICO EFICIENTE

Extramiana, A.B; Esnal, A.;
ANALÍTICA VETERINARIA

1. Complejidad diagnóstica

El diagnóstico de abortos presenta una elevada complejidad derivada de varios factores. Por un lado, el alto número de microorganismos potencialmente causantes de abortos, además de diversas causas de naturaleza no infecciosa. *Chlamydia abortus*, *Coxiella burnetii*, *Toxoplasma gondii*, *Pestivirus*, *Salmonella abortus ovis*, salmonelas entéricas, *Campylobacter* spp, *Neospora caninum*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Brucella* spp o *Trueperella pyogenes* son algunos de los principales microorganismos habitualmente causantes de aborto en los pequeños rumiantes

Por otro lado, la identificación de tan diverso número de agentes infecciosos, tanto bacterianos como parasitarios y víricos, requiere del uso de numerosas técnicas laboratoriales. Nuestro laboratorio utiliza al menos 5 medios de cultivo, 2 tinciones microscópicas, 5 ELISAs de anticuerpos, 1 ELISA de antígeno, 1 inmunocromatografía y 5 técnicas de PCR, además del examen histopatológico en casos necesarios.

Finalmente, los diversos microorganismos tienen distintos órganos diana para su diagnóstico, de forma que las diversas muestras que pueden ser recogidas presentan muy distintas sensibilidades de detección para cada uno de los patógenos, por lo que no recoger el tipo de muestra más adecuado limita las posibilidades de detección y por tanto el éxito diagnóstico.

2. Principales causas del fallo diagnóstico

Esta complejidad diagnóstica implica en no pocos casos el fracaso en el diagnóstico del proceso abortivo. En resumen, las principales causas de dicho fracaso son las siguientes:

- Existencia de una gran diversidad de causas.

- Diagnóstico laborioso y con un coste económico alto.
- Existencia probable de agentes aún desconocidos.
- Causas de naturaleza no infecciosa y de difícil identificación.
- Intervalo entre la muerte fetal y el aborto, con rápida degradación del feto.
- Presencia en el feto de microorganismos que no son la causa real del aborto.
- Identificación de varios agentes infecciosos concurrentes en un mismo aborto.
- Disposición inadecuada y/o insuficiente de muestras por parte del laboratorio.

3. Protocolo analítico

Nuestro protocolo analítico para el diagnóstico de abortos incluye:

- Cultivos generales y selectivos para *Salmonella*, *Campylobacter* y *Brucella* de placenta, hisopo vaginal y órganos fetales (abomaso, pulmón, hígado etc.).
- Tinción de Stamp en placenta e hisopo vaginal para detección de *Chlamydia*, *Coxiella* y *Brucella*.
- Tinción de Gram de abomaso fetal para identificación bacteriana general y en especial de *Campylobacter*.
- ELISA para la detección de anticuerpos en suero materno frente a *Chlamydia*, *Coxiella*, *Toxoplasma*, *Virus Border* y opcionalmente *Neospora*.
- ELISA para la detección de antígeno de *Virus Border* en fluidos fetales.
- PCR para la detección directa en muestras clínicas (feto, placenta, hisopo vaginal) de *Chlamydia*, *Coxiella*, *Toxoplasma*, *Neospora*, *Campylobacter*, *Leptospira* etc.

4. Idoneidad de la muestra

Es fundamental que el veterinario clínico comprenda que en el diagnóstico de abortos cada una de las muestras que puede recoger en la explotación van a tener un

objetivo distinto en el laboratorio, y que sin todas ellas algunos patógenos no podrán ser convenientemente investigados. En la figura 1 se puede observar el grado de idoneidad de

cada tipo de muestras para la detección de los distintos patógenos.





				
BACTERIAS	***	**	*	NO
CHLAM / COX	NO	***	**	*
TOXOPLASMA	***	*	NO	*
VIRUS	***	*	NO	*

Figura 1. Idoneidad de cada tipo de muestra para la detección de los distintos patógenos

4.1. Placenta

La placenta es una de las muestras más importantes y eficaces para el diagnóstico de abortos en pequeños rumiantes, dado que la patogenia de algunos de los principales patógenos se focaliza en este órgano. Por un lado, su examen lesional permite orientar la posible etiología del proceso, diferenciando por ejemplo entre causas bacterianas, causantes de placentitis supurativas, fibrinosas o necróticas pericotiledonarias, de los abortos protozoarios, causantes principalmente de placentitis necróticas multifocales localizadas a nivel de cotiledones. Por otro lado, albergan normalmente grandes cantidades del microorganismo implicado, pudiendo ser en general fácilmente detectado. Es aconsejable el envío de la placenta completa, dado que en ocasiones sólo se encuentra afectada un área de la misma. Es útil para el laboratorio aunque se encuentre muy sucia y hasta con avanzada autólisis, aunque es preferible limpiarla bajo el agua y secada con papel absorbente antes de enviarla.

4.2. Hisopo vaginal

El hisopo vaginal es una muestra interesante únicamente cuando no es posible recoger placenta, como por ejemplo en abortos tempranos o en animales abortados en los días precedentes a la visita a la explotación. Las torundas deben portar siempre un medio semisólido de conservación. Para su recogida, se debe introducir de forma profunda en la vagina, evitando la contaminación con la parte más externa de la misma y haciendo un raspado enérgico contra la pared vaginal para recoger suficiente carga celular.

El hisopo vaginal sirve para el aislamiento en cultivo de bacterias y para la detección de Chlamydia y Coxiella, pero su sensibilidad es bastante inferior a la que permite la placenta. Según nuestros datos, en brotes de aborto en los que se diagnosticó Chlamydia, más del 90% de las placentas analizadas fueron positivas a dicho patógeno, mientras que únicamente se detectó en el 49% de los hisopos vaginales.

4.3. Feto

El feto raramente aporta información anatomopatológica útil desde el punto de vista macroscópico, pero es una muestra muy eficaz para el aislamiento en cultivo de bacterias como *Salmonella abortus* o *Campylobacter*. Sin embargo, no es una muestra interesante para el diagnóstico de agentes tan prevalentes como *Chlamydia* y *Coxiella*, de forma que sin placenta o hisopo vaginal (o al menos suero materno), estos patógenos quedan sin diagnóstico. Por el contrario, es la muestra preferente para la confirmación de un diagnóstico por protozoos (*Toxoplasma*, *Neospora*) mediante detección directa del parásito por PCR en encéfalo fetal (las lesiones placentarias también son útiles para este fin). Finalmente, el feto es también la muestra de

elección para la detección de Pestivirus (*Virus Border*) en fluidos y órganos fetales.

4.4. Significación diagnóstica del aislamiento de bacterias

La interpretación del aislamiento bacteriano en los cultivos debe realizarse con cautela, dada la posibilidad de que las especies aisladas no estén realmente implicadas en el proceso. En este sentido, la patogenicidad y características epidemiológicas de la especie bacteriana y su localización deberán tenerse en cuenta a la hora de emitir el diagnóstico. En la figura 2 se muestra el grado de significación diagnóstica de las principales especies bacterianas aisladas en procesos abortivos en función de la localización en la que han sido aisladas.

BACTERIA	GRADO DE RELEVANCIA	
	Organos fetales	Placenta/H. vaginal
Salmonella abortus	Alta	Alta
Brucella spp	Alta	Alta
Campylobacter	Alta	Media
Listeria ivanovii	Alta	Media
A. pyogenes	Alta	Baja
Mycoplasma spp	Media	Baja
Enterobacterias	Media	Nula
Estreptococos	Media	Nula

Figura 2. Significación diagnóstica de las diferentes especies bacterias

5. Serología

La serología materna, si bien constituye un diagnóstico indirecto y está sometida a diversos factores distorsionantes (antigüedad de los anticuerpos detectados, vacunación, etc.), es un complemento analítico que consideramos fundamental para la interpretación de otros hallazgos laboratoriales y para emitir un diagnóstico final. Para ello, es importante que el veterinario clínico sepa interpretar los siguientes aspectos:

- Dinámica inmunológica de cada enfermedad.

- Interferencia vacunal de cada patógeno y tipo de vacuna.

- Interpretación de los valores de ELISA para las distintas enfermedades.

Dado que la serología se interpreta en relación al resto de hallazgos microbiológicos, es importante que los sueros estén identificados y en la medida de lo posible asociados a los fetos, placentas e hisopos vaginales.

5.1. Tipos de ELISA

Es interesante conocer el comportamiento e interpretación de resultados de los dos principales tipos de ELISA. Así, los ELISAs indirectos, utilizados en nuestro laboratorio para la serología de Chlamydia, Coxiella, Toxoplasma y Neospora, ofrecen una positividad proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en el suero, por lo que tienen un alto valor cuantitativo que permite aproximarse a aspectos importantes como por ejemplo la antigüedad de la infección (asumiendo valores de ELISA altos con probable infección reciente). Por su parte, los ELISAs de competición o de bloqueo, utilizados en nuestro laboratorio para serología de virus Border o herpesvirus, ofrecen una altísima sensibilidad a costa de no aportar una información relevante en términos cuantitativos (interpretación “positivo/negativo”).

5.2. Seroconversión

Por lo general y en la mayor parte de patógenos, por el carácter progresivo de las lesiones fetales y placentarias, y por el intervalo entre la muerte fetal y el aborto, el animal ya ha seroconvertido en el momento del aborto. En cualquier caso, el análisis serológico de un número suficiente de animales abortados no debe dejar lugar a dudas sobre la interpretación serológica respecto a la seroconversión. No obstante, en un animal puntual no debe descartarse la necesidad de repetir una serología transcurridas 3 semanas desde el aborto.

5.3. Edad del animal seropositivo

Una vez infectado, el animal permanece seropositivo durante meses, años o toda su vida, según los casos.

Hay dos formas de confirmar mediante serología una infección reciente en el rebaño:

- Analizar animales jóvenes (6-18 meses de edad).
- Identificar una población centinela seronegativa para poder realizar chequeos periódicos.

En este sentido, deben seleccionarse para el muestreo preferentemente animales abortados de primera gestación, y realizar serocheques en la reposición.

5.4. Interferencia de la vacunación

La interferencia producida por la vacunación en la interpretación de los resultados serológicos varía según el patógeno y el tipo de vacuna utilizada.

En el caso de la vacunación frente a Fiebre Q, la vacuna inactivada disponible en el mercado induce una potente respuesta humoral con presencia de anticuerpos en sangre detectables durante al menos varios años. Lo mismo ocurre con las vacunas inactivadas frente a Chlamydia abortus y la vacuna (viva) de Toxoplasma, por lo que la serología tiene escasa utilidad diagnóstica en animales vacunados.

En el caso de las vacunas vivas atenuadas de Chlamydia abortus, tras una respuesta humoral transitoria, normalmente los animales se convierten en seronegativos o con valores de ELISA bastante bajos (la inmunidad protectora es principalmente de tipo celular), por lo que valores serológicos altos (en ELISAs indirectos) sugieren normalmente infección, con menor margen de error si se analiza un colectivo suficientemente numeroso. En este caso, por tanto, la serología mantiene su utilidad diagnóstica.

6. Biología molecular

Las herramientas de PCR (“reacción en cadena de la polimerasa”) detectan ADN bacteriano y por tanto son técnicas de diagnóstico directo. Tiene la principal característica de su elevada sensibilidad y permiten detectar bacterias que no crecen en medios de cultivo convencionales, además de parásitos o virus. Son además técnicas rápidas que ofrecen resultados en el plazo de horas.

Su especificidad es también muy alta, aunque hay que tener muy presente que la especificidad de una técnica en la detección de un microorganismo es diferente de la especificidad del diagnóstico, dado que un patógeno puede estar presente y por tanto

detectarse sin que sea la causa real del aborto. De hecho, en ocasiones, la altísima capacidad de la PCR para detectar mínimas cantidades de un microorganismo puede inducir a una sobrevaloración del papel que puede estar jugando en el proceso clínico.

En este sentido, hay agentes infecciosos cuya detección, por su intrínseca asociación al animal, es muy concluyente desde el punto de vista diagnóstico, como puede ser el caso de *Toxoplasma*, *Pestivirus* o *Salmonella abortus ovis*. Otros como *Coxiella burnetii*, por el contrario, deben ser valorados con cautela ante positivos débiles de PCR (trazas o bajas cantidades de ADN), dado que están presentes en el medio ambiente de muchas explotaciones, contaminando camas, comederos y hasta el propio aire en forma de aerosoles, por lo que la contaminación de las muestras, en especial de las placentas, no es en absoluto descartable. En el caso concreto de la Fiebre Q, diversos estudios científicos han establecido una débil correlación entre la

positividad a PCR y la participación real de *Coxiella burnetii* en los abortos, en especial si la cantidad de ADN detectada es baja.

En base a todo ello, hay algunas preguntas que conviene hacerse ante un resultado positivo a PCR:

- ¿Qué significado clínico real puede tener (o no tener) la detección de un determinado patógeno?
- ¿Qué relación puede tener la cantidad de patógeno detectada (resultado numérico de la PCR) con su participación en el aborto?
- ¿Qué influencia puede tener el tipo de muestra en la que se ha detectado?
- Y muy especialmente, ¿Qué otros hallazgos laboratoriales y clínicos se pueden relacionar con el patógeno detectado por PCR?

En la figura 3 se muestra la distinta significación de la detección por PCR de diversos patógenos en función del grado de positividad en el resultado.

PATÓGENO	GRADO DE SIGNIFICACIÓN	
	PCR POSITIVA	PCR DÉBIL
CHLAMYDOPHILA	Alta	Media
COXIELLA	Media	Baja
TOXOPLASMA	Alta	Alta
VIRUS BORDER	Alta	Alta

Figura 3. Grado de significación del resultado de PCR para diversos patógenos

7. Pongamos todo en orden ...

Podemos afirmar que el análisis de abortos puede llegar a ser concluyente en unos casos y tan solo aproximativo en otros, y puede requerir de una interpretación experimentada para evitar emitir diagnósticos erróneos.

A modo de resumen de todo lo comentado, en la figura 4 se ofrece el grado de significación de los distintos hallazgos diagnósticos en relación con algunos de los principales agentes infecciosos implicados en los abortos de los pequeños rumiantes.

PATÓGENO	GRADO DE SIGNIFICACIÓN			
	perfil lesional	Frotis / Tinción	PCR	Serología
CHLAMYDOPHILA	***	***	**	**
COXIELLA	***	***	*/**	**
TOXOPLASMA	**	-	***	**
VIRUS BORDER	*	-	***	*

Figura 4. Grado de significación de los distintos hallazgos diagnósticos

8. Otros aspectos prácticos del diagnóstico

8.1. Cantidad de muestras

Un número insuficiente de muestras o la ausencia de un tipo concreto de ellas (feto, placenta, suero etc.) puede aumentar significativamente el fracaso diagnóstico. Como se puede observar en la figura 5, según datos recopilados por nuestro laboratorio, del envío de 1-2 muestras por caso al envío de más de 5 muestras por caso, el éxito diagnóstico varió del 49% al 82%. Buscando un equilibrio entre éxito diagnóstico y coste, nuestra propuesta es la siguiente:

- En abortos tempranos con ausencia de feto y placenta: 3 hisopos vaginales + 3 sueros.
- En aborto más tardíos: 1 feto + 2 placentas + 1 hisopo vaginal + 3 sueros.

8.2. Calidad y trazabilidad de las muestras

Aunque no debe descartarse el envío al laboratorio de un feto o placenta en mal estado de conservación (por lo general es posible el diagnóstico a pesar de ello), un buen estado de limpieza de los fetos y placentas retrasa su autólisis y su colonización por flora saprofita. Si es posible es recomendable lavarlos bajo un chorro de agua y secarlos con papel absorbente. El hisopo vaginal debe portar un gel semisólido de transporte.

Con frecuencia se envían las muestras sin la identificación del animal al que pertenecen, de forma que no es posible relacionar los fetos, placentas e hisopos

vaginales con los sueros maternos. Sin embargo, poder asociarlos es muy importante para interpretar los resultados e incluso para hacer un seguimiento clínico o analítico de determinados individuos (por ejemplo, estudiar una seroconversión).

Finalmente, el envío de un historial clínico completo es también de gran ayuda para el laboratorio, tanto para la elección de pruebas analíticas como para la interpretación de resultados. Algunos datos fundamentales son las vacunaciones aplicadas (patógeno y tipo de vacuna), la edad de los animales afectados, la edad gestacional típica en la que se produce el aborto, y los signos clínicos principales del proceso.

En este enlace es posible descargar la ficha clínica de nuestro laboratorio:

https://analiticaveterinaria.com/pdf/Ficha_abortos_Formulario.pdf

8.3. Conservación y envío

Las muestras deben embalsarse individualmente e introducirse en un envase sellado herméticamente y sin posibilidad de fuga de líquidos. Es aconsejable incluir algunos acumuladores de frío, y enviar al laboratorio mediante una empresa de transportes por un servicio de entrega en menos de 24 horas.

El historial clínico debe incluirse asegurando que no va a tener contacto directo con las muestras.

