

al virus y la presencia de anticuerpos es detectable durante el resto de su vida.

En el segundo caso, cuando se contagia una hembra gestante y se produce la infección fetal, las consecuencias dependen de la fase gestacional y de la gravedad de la infección, y van desde la reabsorción embrionaria hasta el nacimiento de terneros sanos, pasando por abortos o neonatos afectados clínicamente. Cuando la infección es anterior al desarrollo de la inmunidad fetal pero el animal es capaz de sobrevivir al virus (habitualmente cuando la infección fetal se produce entre los días 40 y 120 de gestación), se puede producir el nacimiento de un animal seronegativo, virémico permanente y que no desarrollará respuesta de anticuerpos. Es el denominado animal PI (“persistentemente infectado”). Los animales PI pueden estar perfectamente sanos, aunque con frecuencia presentan escaso crecimiento, bajos índices productivos o infertilidad.

Las consecuencias, desde el punto de vista diagnóstico, son las siguientes:

- El animal infectado en vida es seropositivo y no infectado, y por tanto es positivo a anticuerpos y negativo al virus (Ac+ / Ag-), por lo que puede considerarse como un animal sano no contagioso.
- El animal PI es seronegativo y positivo persistente al virus (Ac- / Ag+), por lo que debe considerarse como un animal contagioso.

3. Diagnóstico de un proceso clínico

Se puede realizar de forma directa o indirecta:

- Diagnóstico directo: se basa en detectar el virus en tejidos de animales con infección aguda (sangre, mucosas afectadas, abortos etc.), principalmente mediante técnicas de PCR, ELISA de antígeno o inmunohistoquímica. En el caso del análisis de detección de virus en sangre, hay que tener presente que los terneros infectados de menos de 6 meses de edad (y en especial aquellos de menos de 3) pueden sufrir un enmascaramiento de la viremia debida a la neutralización del virus por anticuerpos de origen materno (colostral), dando lugar a falsos negativos. El

uso de la muesca de oreja como alternativa de muestreo pretende evitar este problema.

- Diagnóstico indirecto: se basa en la detección de anticuerpos. Respecto al diagnóstico indirecto de un proceso clínico o brote de BVD, hay que tener en cuenta:

- La necesidad de demostrar seroconversión o incremento de títulos pareando sueros (con un intervalo de 15-30 días entre el primer y segundo análisis)
- La posible interferencia con anticuerpos de origen materno (colostral) en terneros de edad inferior a 6-9 meses.
- La posible interferencia con anticuerpos vacunales (en vacunas vivas principalmente).

4. Serología: interpretación del ELISA

Disponemos de dos tipos principales de ELISA:

- ELISA de anticuerpos totales. Es POSITIVO en animales infectados y en vacunados con cualquier tipo de vacuna.
- ELISA de anticuerpos anti-p80. Es POSITIVO en animales infectados y en vacunados con vacunas vivas, y en general negativo en animales sanos y en vacunados con vacunas inactivadas.

Dada la utilidad de los ELISAs anti-p80 para discriminar entre animales infectados y animales sanos vacunados, se utilizan de forma mayoritaria.

5. Detectar la enfermedad en el rebaño

Se pueden distinguir cuatro situaciones que permiten estrategias diagnósticas diferenciadas según tipo productivo (vacuno de leche vs vacuno de carne) y pauta vacunal (vacuna inactivada o ausencia de vacunación vs vacuna viva).

5.1. Detección de la enfermedad en rebaños de leche sin vacuna viva.

Cuando existe un animal PI en la explotación, se produce una transmisión horizontal persistente, por lo que paulatinamente se produce la seroconversión de un número creciente de animales, hasta

alcanzar seroprevalencias que habitualmente son superiores al 70%. Por ello, la serología es una herramienta muy interesante para detectar la circulación del virus en la explotación.

En el caso del vacuno lechero (Figura 2), podemos utilizar la serología en muestra de leche de tanque, que permite en un solo análisis detectar anticuerpos en una población grande de animales. Algunos kits de ELISA permiten además establecer rangos aproximados de seroprevalencia en base al resultado numérico de la serología, y el monitoreo en el tiempo de dichos valores permite sospechar de un posible incremento de la seroprevalencia, indicativo de la existencia de animales PI. Un resultado negativo en leche de tanque no descarta la existencia de animales seropositivos, pero sí permite sospechar de seroprevalencia bajas, normalmente por debajo del 10%.

En caso de poder segregar las novillas de primer parto en el ordeño y coger muestra


de leche de su conjunto, un ELISA positivo es especialmente relevante porque indica la existencia de animales jóvenes seropositivos (seroconversiones cercanas en el tiempo) y por tanto la alta probabilidad de la existencia actual de animales PI.

Al margen de la leche de tanque, es necesario realizar chequeos serológicos en animales individuales. Los seroperfiles por edades nos aportan información sobre la antigüedad y evolución de la enfermedad, pero en general el muestreo más interesante es el de novillas de entre 6 y 24 meses edad (con un número de entre 10 y 20 animales, según tamaño del rebaño), cuya seropositividad nos informa de infecciones recientes. Hay que tener en cuenta que la existencia de animales seropositivos solo nos permite asegurar la existencia de un PI en el rebaño (anterior o presente) si han nacido en el rebaño, ya que si han nacido fuera pueden haberse infectado y seroconvertido en origen.

Detectar la enfermedad en el rebaño

EN REBAÑOS DE LECHE SIN VACUNA VIVA

SEROLOGÍA EN LECHE DE TANQUE (P80)

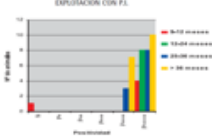


- POSITIVO: Rangos de prevalencia
- NEGATIVO: Prevalencia baja (< 10%)

Ordeño de novillas de 1º parto: CIRCULACIÓN RECIENTE

PCR EN LECHE DE TANQUE

SEROLOGÍA INDIVIDUAL (P80)



Seroperfil por edades: ANTIGÜEDAD / EVOLUCIÓN

10-20 animales de 6-24 meses: CIRCULACIÓN RECIENTE

Ojo con animales foráneos




Figura 2. Detección de la enfermedad en vacuno leche sin vacunas vivas

5.2. Detección de la enfermedad en rebaños de carne sin vacuna viva.

Dado la inexistencia de la leche de tanque como muestra de elección, es necesario realizar chequeos serológicos en animales individuales tal y como se explica en el

apartado anterior. De igual forma, la existencia de animales seropositivos solo nos permite asegurar la existencia de un PI en el rebaño (anterior o presente) si han nacido en el rebaño, ya que si han nacido fuera pueden haberse infectado y seroconvertido en origen. Además, si los rebaños tienen contacto entre sí

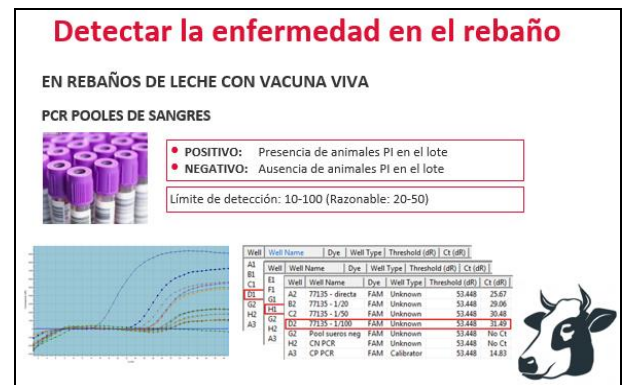
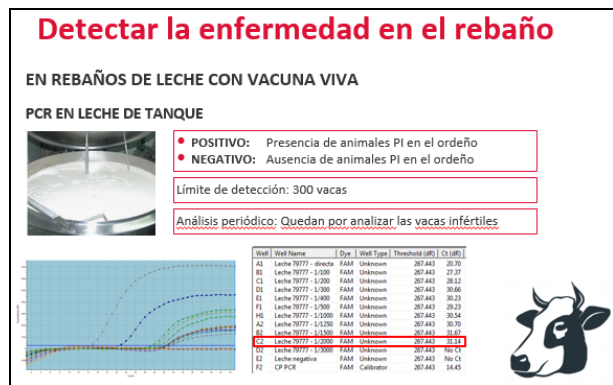
en los pastos, los animales pueden contagiarse a partir de portadores foráneos y por tanto detectarse seropositividad en el rebaño sin que exista en él animales PI.

5.3. *Detección de la enfermedad en rebaños de leche con vacuna viva.*

Dado que la vacunación con vacuna viva impide discriminar entre seropositividad de origen vacunal y aquella debida a infección por el virus de campo, la serología pierde gran parte de su utilidad diagnóstica, por lo que la detección directa del virus en animales portadores se convierte en la principal herramienta (Figuras 3 y 4).

En el ganado lechero, la PCR en leche de tanque, gracias a su elevada sensibilidad, es

un análisis que permite detectar, con un coste mínimo, portadores en un colectivo grande de animales (el efectivo en ordeño), cifrado según algunos estudios en hasta 300 vacas (aunque puede ser aconsejable ordeñar y muestrear seriadamente lotes más pequeños). Si se realiza de forma frecuente, se conseguirá incluir en el análisis de tanque a la mayor parte de los animales del rebaño según se vayan incorporando a ordeño. Únicamente quedarían por analizar vacas infértiles y fuera de ordeño, así como novillas no paridas. En este caso, se puede recurrir a análisis individual en sangre mediante ELISA de antígeno, o bien a PCR de pools (sangre de 20 en animales de más de 6 meses o de 10 en animales de menos de 6 meses).



Figuras 3 y 4. Detección de la enfermedad en vacuno leche con vacunas vivas

5.4. *Detección de la enfermedad en rebaños de carne con vacuna viva.*

Para la detección de la existencia de PIs en rebaños de carne vacunados con vacuna viva, es necesario recurrir al análisis en sangre de todos los animales, sea mediante ELISA individual de antígeno o mediante PCR en pools de animales, tal y como se describe en el apartado anterior.

No obstante, la serología no queda totalmente invalidada en rebaños en los que se utilizan vacunas vivas. La vacunación tiene dos objetivos principales: proteger a las vacas gestantes de la infección fetal, y reducir los efectos inmunodepresores de un posible pase vírico. En base a ello, es planteable dejar una pequeña población centinela (5 a 20 novillas, según el tamaño del rebaño) que no sea

vacunada hasta la pre-cubrición, momento en el que se puede realizar en ella un chequeo serológico de cara a detectar posibles seroconversiones indicativas de la circulación vírica en el rebaño.

5.5. *Detectar la enfermedad en el cebadero*

En el caso de cebaderos, habitualmente el interés principal es diagnosticar la implicación del virus en un brote clínico. Para ello, utilizaremos dos estrategias:

- Diagnóstico directo: detectar la presencia del virus en muestras patológicas (muestras de necropsia, sangre de animales en fase clínica aguda o en pools de sangres para chequeo colectivo) mediante técnicas de PCR o ELISA de antígeno.

- Diagnóstico indirecto: detectar la seroconversión de los animales enfermos mediante el análisis de suero en el momento de la infección aguda y 3-4 semanas después.

6. Control / erradicación en el rebaño

Dado que la enfermedad se perpetúa en el rebaño a través de los animales PI, la detección y retirada de éstos conduce de forma directa a la erradicación del virus. Ahora bien, en un plan de erradicación hay que tener en cuenta que los PIs presentes pueden estar

representados por tres tipos de animales (Figura 4):

- Animales PI en el momento del plan de erradicación.

- Las hijas de los animales PI, hayan nacido o estén en estado fetal en la madre PI gestante.

- Posibles animales aún en estado fetal de hembras no PI gestantes que se han contagiado durante la preñez. Esta posibilidad exige mantener la vigilancia analítica sobre nuevos animales nacidos durante 9 meses a partir del inicio del programa.

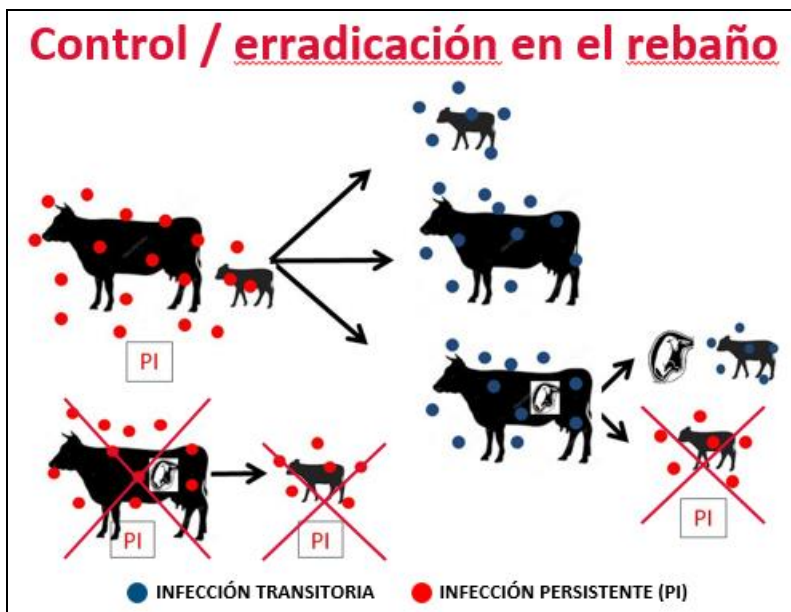


Figura 4. Posibles orígenes del animal PI a tener en cuenta en un plan de erradicación

La búsqueda de animales PI se puede plantear mediante distintas estrategias laboratoriales, tal y como se describe a continuación. Las opciones 1 y 2 se corresponden con las estrategias utilizadas antes de la generalización de las técnicas de PCR, mientras que la tercera está basada en el uso de esta última (Figuras 5 y 6).

6.1. Opciones 1 y 2. Uso de ELISAs de anticuerpos y de antígeno

Assumiendo que el coste de los ELISAs de antígeno es algo superior a los ELISAs de anticuerpos, y que los animales PI son en principio seronegativos, la opción 1 se basa en analizar la presencia de anticuerpos en todos los animales mayores de 6 meses (por debajo de esta edad, la seropositividad podría ser de

origen calostrado y por tanto un ternero PI podría ser seropositivo por serlo su madre), así como el resto de animales jóvenes cuando supere esta edad. En una segunda fase, se analiza mediante ELISA de antígeno todos los animales que han sido seronegativos previamente. Finalmente, quedaría por investigar todos los animales que nazcan en los siguientes nueve meses, dado que podrían ser también animales persistentemente infectados.

La opción 2 se basa en utilizar solamente el ELISA de antígeno para testar todos los animales, evitando la fase previa de análisis de anticuerpos. En los animales de menos de 6 meses, en los que se puede producir una neutralización de la viremia por los anticuerpos maternos, la muesca de oreja puede ser una alternativa.

En caso de una seroprevalencia del rebaño muy alta, la primera opción tiene la ventaja de un ahorro de costes, ya que serán pocos los animales que deban testarse con ELISA de antígeno. En prevalencias bajas o medias, será necesario duplicar la prueba en muchos animales, por lo que se pierde esa rentabilidad. Por otro lado, no puede descartarse totalmente que un animal PI sea débilmente seropositivo (se describe esta situación cuando el animal sufre una reinfección con una cepa heteróloga, por lo que es siempre más seguro, además de rápido, optar por la opción de analizar la presencia de antígeno en todos los animales (opción 2).

6.2. Opción 3. Combinación de PCR y ELISA de antígeno

Esta estrategia se basa en utilizar la PCR para el análisis de pooles de animales y el ELISA de antígeno para testar en una segunda fase los animales pertenecientes a pooles positivos. En el ganado vacuno lechero, se

puede analizar la leche de tanque (completa o por lotes de ordeño) para detectar PIs entre los animales en ordeño, recurriendo a la muestra de sangre únicamente en animales en periodo seco o novillas. Tanto para conseguir una sensibilidad suficiente como para alcanzar un mejor equilibrio de costes entre el número de pooles y el número de animales individuales que haya que analizar en función del número de PIs detectados, un número de 20 animales por pool puede ser adecuado. En el caso de animales de menos de 6 meses de edad, es aconsejable no confeccionar pooles de más de 10 animales.

Teniendo en cuenta que el coste de una PCR es 3-5 veces superior al ELISA de antígeno, esta opción es con mucha diferencia la más económica y sencilla desde el punto de vista laboratorial. Como único inconveniente cabe destacar una cierta incertidumbre que el trabajo con pooles genera respecto a la posible pérdida de sensibilidad de detección de animales PI poco excretores del virus.

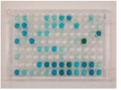
Control / erradicación en el rebaño

OPCIÓN 1

- ELISA-Ac (suero/plasma) a todo el rebaño adulto
- ELISA-Ag (suero/plasma/SANGRE) a animales seronegativos
- ELISA-Ag (muesca de oreja) a animales < 6-9 meses

VENTAJAS: Con prevalencia alta, más barato que la 2

INCONVENIENTES: Posibilidad de que un PI sea seropositivo



OPCIÓN 2

- ELISA-Ag (suero/plasma/SANGRE) individual a todo el rebaño
- Suero / Plasma / SANGRE CON EDTA
- Muesca de oreja en animales < 6 meses

VENTAJAS: Con prevalencia media, más barato que la opción 1
Óptimo en eficacia de detección de PIs
Óptimo en rapidez

INCONVENIENTES: Con prevalencia alta, más caro que la opción 1

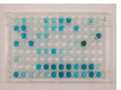


Figura 5. Erradicación basada en ELISA de anticuerpos y de antígeno

Control / erradicación en el rebaño

OPCIÓN 3

- OPCIONAL: PCR en leche de tanque (hasta 300 o por lotes/parques)
- PCR en pooles de 20 animales en lote de secas (suero/plasma/SANGRE)
- PCR en pooles de 20 animales en lote de ordeño (si Tanque POS)
- PCR en pooles de 10 animales < 6-9 meses (muesca de oreja)
- ELISA-Ag (suero/plasma/SANGRE) a animales de pooles positivos
- ELISA-Ag (muesca de oreja) a animales < 6-9 meses de pooles positivos

VENTAJAS: Permite un importante abaratamiento de costes

INCONVENIENTES: Incertidumbre por el trabajo con pooles (seguimiento)

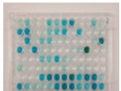
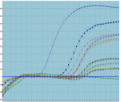



Figura 6. Erradicación basada en PCR y ELISA de antígeno