

# Seroperfiles reproductivos en el ganado vacuno: objetivos, muestreo e interpretación

Olaia Akesolo-Atutxa, Belén Extramiana, Antón Esnal

DIAGNÓSTICO

Los **seroperfiles reproductivos** en ganado **vacuno** son una herramienta fundamental en el **diagnóstico de abortos e infertilidad**, pero su diseño e interpretación requieren criterio epidemiológico. Repasamos cómo planificar el **muestreo**, qué **pruebas** incluir y cómo **estimar prevalencias** para tomar decisiones sanitarias acertadas en el rebaño.

# 1. Consideraciones sobre el diagnóstico

## 1.1. SEROLOGÍA

Los análisis serológicos para la detección de anticuerpos frente a diversos agentes causantes de patologías reproductivas son demandados a los laboratorios veterinarios de forma generalizada. Sin embargo, en muchas ocasiones estos análisis aportan escasa o nula información, como consecuencia de una elección errónea de los animales a muestrear o en un número insuficiente y no representativo del rebaño. La recogida de sueros de unos pocos animales abortados es la práctica más frecuente, sin tener en cuenta datos relevantes como el estatus vacunal o la edad de los animales.

### Limitaciones de la serología

Las principales limitaciones que tienen los análisis serológicos son:



Tras el contacto del animal con el agente infeccioso, la presencia de anticuerpos no implica necesariamente la existencia de infección, sino que puede responder a diferentes situaciones: infección presente y activa; infección antigua y superada; infección latente.



Presencia de anticuerpos como consecuencia de vacunaciones anteriores.



Presencia de anticuerpos de origen calostrado y por tanto de procedencia materna.

Por ello, los animales abortados no son necesariamente los más interesantes para realizar un análisis serológico, o al menos no sólo ellos, sino que puede haber otros (jóvenes, no vacunados, etc.) que ofrezcan mejor información sobre los microorganismos que pueden estar implicados en los abortos o en otras patologías reproductivas del rebaño. Además, el número de animales analizados debe ser el suficiente como para representar con fiabilidad a todo el rebaño. En general, 10 animales (o un 10% en rebaños de más de 100 cabezas) podría ser una cifra orientativa adecuada.



La **detección de anticuerpos no** equivale necesariamente a **infección activa**.

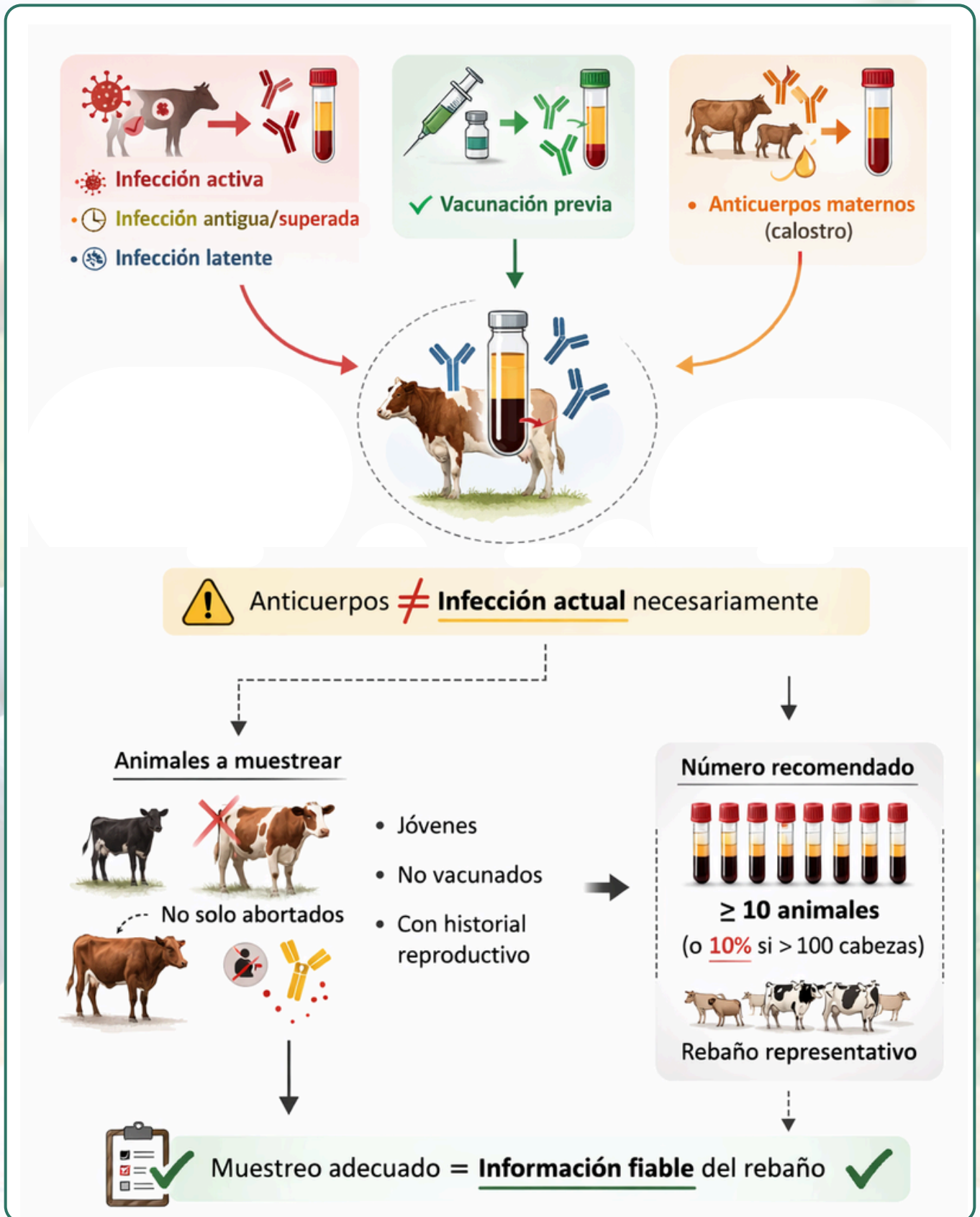


Figura 1. Esquema sobre las principales limitaciones de la serología en patología reproductiva bovina y recomendaciones para un muestreo adecuado y representativo del rebaño.

## Perfiles serológicos

Se pueden definir como **análisis serológicos** más o menos **sistemáticos** de un **número representativo de animales** seleccionados con criterios diversos y previamente definidos. Siempre y cuando se tengan en cuenta las limitaciones ya comentadas de la serología y la interpretación variable que puede tener un resultado, la realización de perfiles puede ser de gran utilidad para el diagnóstico de patologías reproductivas en el rebaño. De esta manera, el análisis de abortos pasaría a un segundo plano y serviría principalmente para confirmar la implicación en ellos de las patologías ya diagnosticadas, así como para descartar o confirmar otras posibles etiologías no chequeadas serológicamente, principalmente de tipo bacteriano.

La elección de los **animales a muestrear** puede hacerse en base a diferentes **criterios**, que pueden buscar asimismo distintos objetivos o conclusiones. Algunos de estos criterios se exponen a continuación:



En general, deben muestrearse animales no vacunados, salvo cuando se usan vacunas cuya respuesta inmune puede ser diferenciada a nivel analítico de la generada por el microorganismo "de campo" (vacunas marcadas).



Chequear tanto animales sanos como enfermos o problemáticos puede servir para observar diferencias significativas de prevalencia entre ambos grupos que permitan sospechar la implicación del agente.



El estudio de la prevalencia distribuida por edades nos da idea de la evolución que ha seguido la enfermedad a lo largo de los años. Por otro lado, hay que tener en cuenta que los animales jóvenes seropositivos que ya han perdido sus anticuerpos colostrales indican infección reciente. Estos animales son por lo general los que más información pueden aportar.



Distribución de prevalencia por líneas familiares del rebaño.



Distribución de prevalencia por origen de los animales (recría/compra).



El chequeo serológico de los animales de nueva compra debe ser una práctica sistemática a asumir en la explotación.



Figura 2. Criterios esenciales para el muestreo serológico en vacuno.

## 1.2. MUESTRAS DE ABORTOS



Figura 3. Esquema de muestreo diagnóstico en abortos bovinos.

## 2. Diagnóstico de abortos

Un **panel diagnóstico de abortos** debe incluir:



Cultivos generales y selectivos (Salmonella, Campylobacter, Trueperella, Listeria, etc.) de placenta, hisopo vaginal y órganos fetales.



Tinción de Stamp en placenta e hisopo vaginal para detección de Chlamydia y Coxiella.



Tinción de Gram de abomaso fetal para identificación bacteriana general y en especial de Campylobacter.



PCR para la detección directa en muestras clínicas (feto, placenta, hisopo vaginal) de IBR, BVD, Neospora, Chlamydia, Coxiella, Leptospira, Trichomonas, Campylobacter, etc.



ELISA para la detección de anticuerpos en suero materno frente a IBR, BVD, Neospora, Chlamydia, Coxiella, Leptospira y Schmallenberg.



ELISA para la detección de antígeno de BVD en fluidos fetales.

## 3. Seroperfiles reproductivos

### 3.1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El **objetivo** general de los seroperfiles es poner en evidencia las posibles patologías infecciosas y su impacto en los índices reproductivos de las explotaciones.

El **éxito diagnóstico y las conclusiones** que puedan extraerse son variables en función de varios parámetros: tamaño del rebaño y tipo de muestreo, prevalencia del rebaño, nivel de confianza y precisión que se desee alcanzar, etc.

La **información** que pueden aportar los seroperfiles es la siguiente:

- Existencia o no del patógeno (o de un contacto anterior con él) en el grupo poblacional analizado.
- Estimación de la prevalencia de cada patógeno en dicho grupo poblacional.
- Estimación (con valor estadístico limitado) de la seroprevalencia a nivel de rebaño completo mediante análisis de leche de tanque.
- Seroconversiones: si el seroperfil se realiza sobre los mismos animales transcurrido un determinado intervalo de tiempo (por ejemplo 6 meses), las seroconversiones indicarán la circulación en el momento actual del patógeno en el rebaño.

El valor de este seroperfil es el de **establecer un diagnóstico inicial** de las posibles patologías infecciosas presentes en la explotación. Si se identifica la existencia de una o varias de ellas, se podrían establecer conclusiones más avanzadas, como la posible correlación entre seropositividad y fracaso reproductivo (aborto, infertilidad, etc.).

### 3.2. PLANIFICACIÓN BÁSICA DEL MUESTREO

El muestreo puede ser **"simple"**, si consideramos el rebaño como una única población, o **"estratificado"**, si establecemos diferentes subpoblaciones, como por ejemplo diferenciar entre primíparas y multíparas. En este último caso, el tamaño muestral necesario sería mayor, por lo que puede ser interesante centrar el estudio en los animales con un mayor valor diagnóstico por edad y circunstancias epidemiológicas, que es el de novillas primerizas. El hecho de chequear animales jóvenes permite acotar en el tiempo la antigüedad de las infecciones que sean detectadas mediante serología.

Una vez concretada la población, la selección de los animales puede ser **"aleatoria simple"**, a través de una randomización a partir del listado de animales, o **"aleatoria sistemática"**, seleccionando al azar el primer animal (en la sala de ordeño o en los amarres) y escogiendo el resto a intervalos regulares. Este último suele ser más operativo a la hora de trabajar en la granja.

Para el seroperfil se trabaja en general con **suero sanguíneo**. No obstante, en el caso del vacuno lechero se recomienda recoger también una muestra de **leche de tanque**, ya que algunos tests permiten trabajar con ella e incluso establecen unas estimaciones de prevalencia en función del resultado (que son orientativas, con un valor estadístico limitado). Además, en la leche de tanque se puede realizar detección directa de algunos patógenos mediante biología molecular (PCR), como es el caso del BVD o Coxiella burnetii, dado que en ambos casos los animales portadores excretan el microorganismo en leche.

Para explotaciones lecheras de hasta 100 animales, el muestreo se podría adaptar a un **sistema "9+1"**, que incluiría **9 muestras de suero** y **una muestra de leche** de tanque.

Para la selección de animales una opción básica sería:

- 2-3 animales abortados recientemente (en caso de existir patología abortiva).
- 7-8 animales jóvenes pero que ya hayan tenido contacto con el ganado adulto. Por ejemplo de primer parto. En caso de problemas de infertilidad, un 50% de animales con fallo reproductivo y un 50% de animales sin fallo reproductivo.
- En la ficha clínica se debe indicar especialmente las vacunaciones realizadas (nombre de la vacuna y fechas de últimas aplicaciones) y el historial clínico de la ganadería. Además, en cada animal se debe anotar el crotal, la edad, su estatus vacunal y su historial clínico (aborto, reabsorción, repetición, etc.).

El perfil serológico debe ser diseñado por el veterinario clínico según sus objetivos, proponiéndose las siguientes pruebas serológicas:

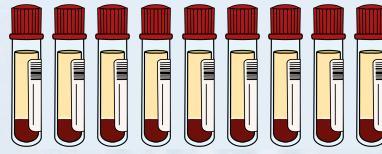
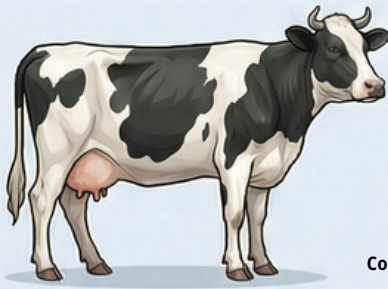
- IBR - Ac totales (IBR – Ac gB / IBR-Ac gE)
- BVD - Ac p80
- BVD - Antígeno (opcional, para búsqueda de Pls)
- Neospora - Ac IgG
- Chlamydia abortus - Ac IgG
- Coxiella burnetii - Ac IgG
- Leptospira serovar Pomona y Hardjo - Ac IgG

No obstante, si queremos afinar más el número de animales a muestrear, podremos calcularlo mediante una "calculadora epidemiológica" en función del objetivo establecido, como se explica en los apartados siguientes.

## Diseño del Muestreo: El Sistema '9+1'

### Aplicación para Granjas < 100 animales

Este protocolo está optimizado específicamente para explotaciones lecheras de pequeña y mediana escala para garantizar la representatividad.



9 Tubos de Suero Individual

1 Muestra de Leche de Tanque

**Composición de la muestra '9+1':** Consiste en la toma de 9 tubos de suero individual y 1 muestra de leche de tanque para un análisis integral.



**Representatividad en rebaños grandes:** En granjas de más de 100 animales, se recomienda muestrear al menos el 10% del censo total.

## Selección Estratégica de Animales



### 2-3 Vacas Abortadas Recientemente

En caso de existir patología abortiva, estas muestras son prioritarias para identificar el agente causal inmediato.



### 7-8 Vacas Jóvenes (Primíparas)

Se seleccionan animales de primer parto que hayan tenido contacto estrecho con el ganado adulto para detectar circulación vírica reciente.



### Criterio por Infertilidad

Si el problema es de infertilidad, dividir el lote en un 50% con fallo reproductivo y un 50% sin fallo para comparar seroprevalencias



**Animales jóvenes (6-18 meses):** Su positividad es el mejor indicador de la presencia reciente del agente en el rebaño, descartando ya los anticuerpos maternos (colostrales)

## La Ficha Clínica y Documentación



### Identificación y Edad

Es obligatorio anotar la edad para diferenciar posibles interferencias por anticuerpos colostrales (comunes hasta los 4-6 meses).



### Estatus y Calendario Vacunal

Indicar nombre de la vacuna y fechas de aplicación para que el clínico pueda diferenciar anticuerpos vacunales de virus de campo.



### Historial Reproductivo Individual

Registrar eventos específicos por animal: abortos (con fecha exacta), reabsorciones embrionarias o repetición de celos.

## Perfil Serológico Recomendado

Prueba / Patógeno	Tipo de Marcador / Objetivo
IBR	Ac totales (gB / gE)
BVD	Ac p80
BVD Ag	Antígeno (Búsqueda de animales Pls - persistentemente infectados)
Neospora	Ac IgG
Chlamydia abortus	Ac IgG
Coxiella burnetii	Ac IgG
Leptospira	Serovares Pomona y Hardjo (Ac IgG)

Figura 4. Diseño del sistema de muestreo serológico "9+1" en rebaños lecheros.

### 3.3. DETECCIÓN DE LA ENFERMEDAD EN UN REBAÑO

Para saber si en la población ha existido un contacto con cierto patógeno, será necesario determinar el número mínimo de animales a chequear necesario para detectar al menos un individuo positivo. Dicho número dependerá del tamaño del grupo, de la seroprevalencia que exista en él y del nivel de confianza que deseemos alcanzar en el cálculo.

Para ello se puede utilizar una “calculadora epidemiológica”. A continuación se exponen las tablas con el tamaño muestral necesario para detectar al menos un animal positivo, en función del tamaño poblacional y de la prevalencia estimada, para un grado de confianza del 95% (Tabla 1) y del 90% (Tabla 2).

Tabla 1. Muestras con valores próximos al punto de corte del ELISA, donde aumenta la probabilidad de falsos positivos y falsos negativos.

Prevalencia	Tamaño de la población							
	10	25	50	100	150	200	300	500
5	11	23	35	45	49	51	53	56
10	10	17	22	25	26	27	28	28
20	8	11	12	13	13	13	14	14
30	6	8	8	9	9	9	9	9
40	5	6	6	6	6	6	6	6
50	4	5	5	5	5	5	5	5
60	3	4	4	4	4	4	4	4
70	3	3	3	3	3	3	3	3
80	2	3	3	3	3	3	3	3
90	2	2	2	2	2	2	2	2
100	2	2	2	2	2	2	2	2

Tabla 2. Tamaño muestral mínimo, en función de la prevalencia y el tamaño del rebaño, para detectar al menos un animal positivo con un nivel de confianza del 90 %.

Prevalencia	Tamaño de la población							
	10	25	50	100	150	200	300	500
5	11	21	30	37	39	41	42	43
10	9	15	18	20	21	21	22	22
20	7	9	10	10	10	11	11	11
30	5	6	7	7	7	7	7	7
40	4	5	5	5	5	5	5	5
50	3	4	4	4	4	4	4	4
60	3	3	3	3	3	3	3	3
70	2	3	3	3	3	3	3	3
80	2	2	2	2	2	2	2	2
90	2	2	2	2	2	2	2	2
100	2	2	2	2	2	2	2	2

En base a ello, podemos afirmar que con un chequeo de 9 animales, tendremos entre un 90 y un 95% de probabilidad de encontrar un animal positivo siempre que la prevalencia en la población sea de al menos el 20-30%. Para prevalencias más bajas, habría que incrementar el tamaño muestral o se considerará un nivel de confianza inferior.

### 3.4. DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA

El tamaño muestral necesario para establecer la seroprevalencia de la población es sustancialmente mayor que para determinar la presencia o ausencia de la enfermedad. No obstante, considerando un nivel de confianza del 90% y un discreto grado de precisión del 20%, en la Tabla 3 se indican los tamaños muestrales necesarios en función del tamaño poblacional y la prevalencia.

Tabla 3. Tamaño muestral mínimo, en función de la prevalencia y el tamaño del rebaño, para estimar la prevalencia con un nivel de confianza del 90 % y un grado de precisión del 20%.

Prevalencia	Tamaño de la población							
	10	25	50	100	150	200	300	500
5	3	3	3	4	4	4	4	4
10	4	5	6	6	6	6	6	6
20	6	8	9	10	11	11	11	11
30	6	10	12	13	13	14	14	14
40	7	10	13	14	15	15	16	16
50	7	11	13	15	16	16	16	17
60	7	10	13	14	15	15	16	16
70	6	10	12	13	13	14	14	14
80	6	8	9	10	11	11	11	11
90	4	5	6	6	6	6	6	6

Por ejemplo, para tres rebaños A, B y C, con un número de novillas primerizas de 10, 25 y 50 respectivamente, analizando 7 animales en el rebaño A, 11 animales en el rebaño B y 13 animales en el rebaño C, podremos establecer con un 90% de fiabilidad la prevalencia de cada uno de ellos con un margen de error de  $\pm 20\%$ .

Como se ve, la capacidad de estimación de la prevalencia con solamente 9 animales es bastante limitada. No obstante, una vez detectada la existencia de un patógeno concreto, se podría plantear en una segunda fase un cálculo de prevalencia más fiable mediante un chequeo serológico más amplio frente al patógeno concreto.

### 3.5. INFORME DE RESULTADOS

En el informe de resultados del laboratorio se puede incluir la siguiente información:

- El resultado de cada animal para cada patología, incluyendo los valores numéricos de ELISA obtenidos.
- La probabilidad de presencia/ausencia de cada patógeno en el grupo poblacional investigado.
- La prevalencia estimada, advirtiendo del nivel de confianza, grado de precisión y otros parámetros estadísticos que se consideren de interés.
- A nivel de rebaño completo, el resultado del análisis de leche de tanque y su interpretación.
- Posibles medidas de actuación complementarias desde el punto de vista diagnóstico.

## 4. Ejemplo de seroperfil reproductivo

### Resultados serológicos

\* IBR (ELISA-Ac gE) ; BVD (ELISA-Ac p80); Leptospira serovar hardjo(ELISA-Ac IgG); Neospora (ELISA-Ac IgG); Chlamydia abortus (ELISA-Ac IgG); Fiebre Q (ELISA-Ac IgG)

Muestra	IBR gE	I	BVD p80	I	Leptospira	I	Neospora	I	Chlamydia	I	Fiebre Q	I
Vaca 1	Negativo	2,04	Positivo	4,40	Negativo	3,00	Negativo	2,90	Negativo	1,8	Negativo	12,6
Vaca 2	Negativo	1,01	Positivo	4,49	Negativo	6,60	Negativo	3,20	Negativo	3,95	Positivo	50,27
Vaca 3	Negativo	0,99	Positivo	4,66	Negativo	12,00	Negativo	-1,20	Negativo	5,42	Positivo	111,1
Vaca 4	Negativo	0,86	Positivo	4,23	Negativo	15,50	Negativo	0,00	Negativo	5,89	Negativo	23,88
Vaca 5	Negativo	0,98	Positivo	27,70	Negativo	10,50	Negativo	-0,60	Negativo	3,68	Negativo	4,38
Vaca 6	Negativo	1,19	Positivo	4,84	Negativo	15,70	Negativo	-0,70	Negativo	3,08	Positivo	46,72
Vaca 7	Positivo	0,11	Positivo	5,53	Negativo	8,60	Negativo	4,30	Negativo	0,53	Positivo	109,1
Vaca 8	Positivo	0,09	Positivo	15,50	Negativo	8,60	Negativo	-0,50	Negativo	2,27	Positivo	64,97
Vaca 9	Positivo	0,43	Positivo	5,87	Negativo	5,90	Negativo	4,80	Negativo	4,55	Negativo	-1,39
Leche tanque	Positivo	0,80	Positivo	39,32	Positivo	76,30	Positivo	3,60				

IBR-gE (suero): Negativo: > 0,7; Positivo: < 0,6.

IBR-gE (leche): Negativo: > 0,8; Positivo: < 0,8.

BVD-Ac (suero): Negativo: > 50; Positivo : < 40.

BVD-Ac (leche): Negativo: > 80; Positivo : < 80. Estimación orientativa de seroprevalencia: >80: seroprevalencia <10%; 45-80: seroprevalencia entre 10 y 30%; <45: seroprevalencia >30%.

Neospora (suero): Negativo: <6; Dudoso: 6-10; Positivo: >10

Neospora (leche): Negativo: <3,0 (seroprevalencia inferior al 5-10%); Positivo: >3,0 (seroprevalencia superior al 10%).

Leptospira serovar Hardjo (suero): Negativo: <20; Dudoso: 20-45; Positivo: >45.

Leptospira serovar Hardjo (leche): Negativo: <40; Dudoso: 40-60; Positivo: >60

Chlamydia: Negativo: <90; Dudoso: 90-100; Positivo: >100.

Fiebre Q: Negativo: <30; Dudoso: 30-40; Positivo: >40

## Valoración de resultados

- **IBR:** Presencia de infección en tres de los animales analizados. Estimación de seroprevalencia en novillas: 33% (estadísticamente: nivel de confianza del 90% y grado de precisión del 20%). Presencia de anticuerpos en la muestra de leche de Tanque, confirmando la existencia de animales portadores en el rebaño.
- **BVD:** Estimación de seroprevalencia en novillas: 100% (estadísticamente: nivel de confianza del 90% y grado de precisión del 20%). Resultado en leche de Tanque: seroprevalencia a nivel de rebaño superior al 30%.
- **Leptospira:** Ausencia de infección en todos los animales analizados. Se estima que la seroprevalencia poblacional en novillas es inferior al 30% (nivel de confianza estadística: 95%). Presencia de anticuerpos en leche de Tanque. Probable contacto del ganado adulto con el patógeno.
- **Neospora:** Ausencia de infección en todos los animales analizados. Se estima que la seroprevalencia poblacional en novillas es inferior al 30% (nivel de confianza estadística: 95%). Resultado en leche de Tanque: seroprevalencia a nivel de rebaño superior al 10%.
- **Chlamydia:** Ausencia de infección en todos los animales analizados. Se estima que la seroprevalencia poblacional en novillas es inferior al 30% (nivel de confianza estadística: 95%).
- **Coxiella burnetii (Fiebre Q):** Estimación de seroprevalencia en novillas: 55% (estadísticamente: nivel de confianza del 90% y grado de precisión del 20%).

## Conclusiones

- Asumiendo la aplicación exclusivamente de vacunas marcadas, los resultados indican la infección en varias novillas por IBR. Aunque pueden haberse infectado en el centro de recría, teniendo en cuenta el carácter infectante de por vida de este virus, se debe asumir el carácter infectado del rebaño. Se aconseja un programa de control/erradicación.
- Activa circulación del virus BVD. Los contagios pueden haberse producido en el centro de recría y el rebaño estar libre, pero se aconseja vigilancia epidemiológica: estudio de seroconversiones sobre población negativa, análisis de la recría antes de incorporarla al rebaño e investigación de animales sospechosos de viremia persistente (animales PIs).
- Ninguna de las novillas analizadas es portadora de Neospora. No obstante, el resultado de leche de Tanque sí sugiere la presencia de animales infectados en el rebaño. Se aconseja un seguimiento analítico del rebaño. Un plan de erradicación pasaría por el análisis e identificación de seropositivos en todo el rebaño.
- Anterior circulación de Leptospira en el rebaño. La negatividad en todas las novillas sugiere que actualmente puede no estar presente el patógeno. Se aconseja un seguimiento analítico del rebaño.
- Probable no circulación actual de Chlamydia en el rebaño.
- Contacto anterior de varias novillas con Coxiella (Fiebre Q). Aunque pueden haberse contagiado en el centro de recría, los animales pueden quedar como portadores excretores, por lo que el rebaño está en riesgo.