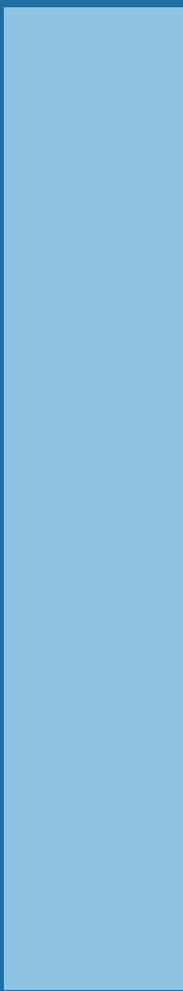




VACAS ABORTADAS



Vacas abortadas

Germán Cantón, María Andrea Fiorentino, Enrique Louge Uriarte, Prando Moore

La identificación de vientres que perdieron la gestación es difícil en las condiciones de los sistemas de producción extensiva. Frecuentemente, estos vientres suelen identificarse una vez que terminan de parir la mayoría de las vacas, muchas veces registradas como “vacas que no presentan ternero” (NPT), siendo que, en el momento del diagnóstico de gestación habían quedado preñadas.

Es imprescindible, para tener mayor éxito en la identificación de un agente infeccioso, ya sea de forma directa (detectando el patógeno) o indirecta (por estudios serológicos, para identificar o cuantificar los anticuerpos específicos contra estos agentes), hacer el muestreo lo más próximo posible al momento en que ocurrió el aborto. En este sentido, cuanto más tiempo pase más difícil será identificar estos agentes en una muestra de mucus cérvico-vaginal (MCV) (porque ese ambiente suele “limpiarse” luego de un tiempo por acción del sistema inmune) o detectar anticuerpos o seroconversión contra la infección que lo provocó, que incluso podría haber ocurrido varios meses antes de que el feto muriese y fuese expulsado.

Resumidamente, se recomienda el muestreo de MCV en vientres que perdieron la gestación en los últimos 30-40 días, por lo que deberían haberse observado “sucias” (con presencia de loquios) o efectivamente, haberlas visto mientras abortaban. Es necesario siempre considerar que cuanto más tiempo pase entre el aborto y el muestreo, el valor de un resultado negativo será relativo, mientras que todo diagnóstico positivo por cultivo será de importancia diagnóstica. Por tal motivo, se desaconseja el muestreo de MCV en vacas que resulten vacías al tacto, a excepción de que se sospeche de campilobacteriosis o tricomonosis, ya que sus agentes todavía podrían estar presentes por varios meses. Tampoco es aconsejable hacerlo en vacas NPT, ya que el aborto podría haber ocurrido hace mucho tiempo.

Muestreo de vacas abortadas

Una vez identificado el animal para muestrear, y teniendo en cuentas las recomendaciones previas, es importante ser metódico y prolijo para recolectar la muestra. Al identificar las vacas abortadas, se recomienda obtener muestras de MCV y sangre (para estudios serológicos).

Muestreo de MCV

Al igual que lo mencionado en la sección anterior, cabe recordar que varios de los patógenos de la reproducción que podrían estar en el MCV son zoonóticos, por lo cual es imprescindible tomar los cuidados necesarios (tanto la persona que tomará la muestra como quien eventualmente colabora sosteniendo la cola del animal), utilizando siempre guantes descartables para realizar el muestreo.

Hasta el momento del muestreo, los medios se pueden conservar refrigerados (bacteriología, tricomonosis) o congelados (virales). Luego de sembrarlos, deben mantenerse refrigerados, a excepción del medio para *T. foetus*, que se recomienda mantener a temperatura ambiente (Tabla 3).

Para un correcto muestreo se recomienda:

1. La muestra de MCV puede ser recolectada desde cérvix y fondo de vagina mediante aspiración utilizando una pipeta de inseminación y vainas descartables. Primero, realizar una higiene del área perineal si presentase restos de heces. Para esto se puede usar una esponja con agua y luego secar la región con toallas de papel descartable.
2. Luego, los labios vulvares se separan evitando manipular el extremo que se introduce en vulva para no contaminar la muestra. La pipeta se introduce por dorsal hacia el fondo de vagina (Foto 21), sin necesidad de fijar el cérvix manualmente por recto.
3. Haciendo vacío, se podrá extraer una muestra de MCV suficiente para colocar alícuotas en los diferentes medios de transporte suministrados por el laboratorio (Foto 22). Si por alguna razón, no se extrajera un volumen suficiente, se podría inyectar 5 ml de solución fisiológica estéril en el fondo de vagina, utilizando una nueva vaina

para evitar contaminar la solución fisiológica. De esta manera se puede hacer un lavado extrayendo el líquido para su colocación en los medios. Se desaconseja mantener el MCV en la pipeta y que esta sea enviada al laboratorio, ya que los patógenos no suelen sobrevivir mucho tiempo si no son colocados en los medios apropiados.

4. La muestra de MCV se reparte en alícuotas (2 o 3 gotas) que serán colocadas en los diferentes medios de transporte, descargando en la parte superior de los medios sin agitar o mezclarlos. En algunos casos, de acuerdo con las características viscosas o filantes del MCV, puede dificultarse su fraccionamiento dentro del tubo con medio, por lo que se recomienda “cortar” el MCV contra el borde del tubo o hacerlo con el tapón. Los medios no deberían ser expuestos a la luz solar durante un tiempo prolongado, ni a temperaturas extremas (menor a 5 °C o mayor a 37 °C).



Foto 20. Material necesario para realizar la extracción de mucus cérvico vaginal: pistolete de inseminación artificial y vainas azules; medios de transporte o cultivo.

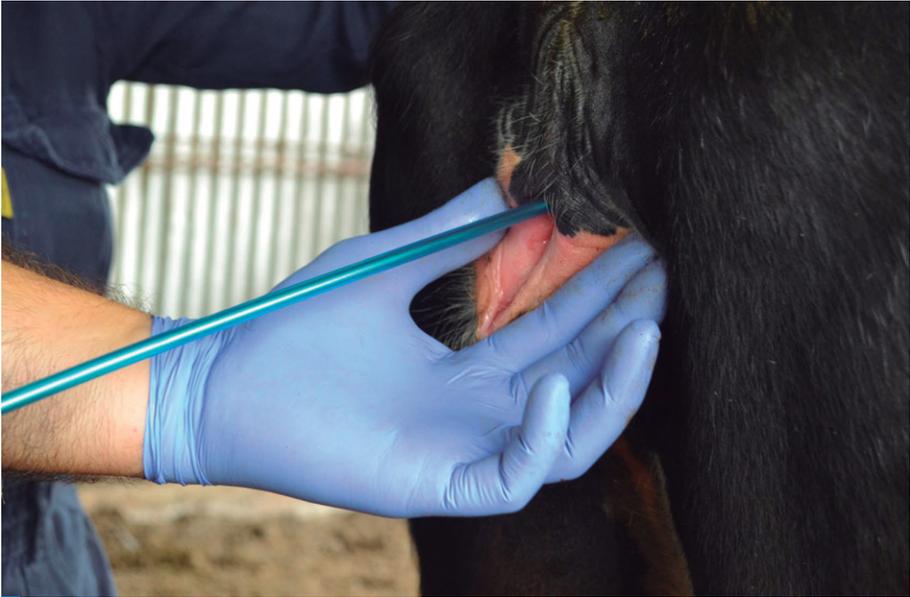


Foto 21. Extracción de mucus cérvico-vaginal con pistolette de inseminación artificial y vainas azules descartables, luego de separar labios vulvares.



Foto 22. Colocación de alícuotas de mucus cérvico-vaginal en los diferentes medios de transporte o cultivo suministrados por el laboratorio.

Tabla 3. Medios de transporte o cultivo para realizar el muestreo de mucus cérvico-vaginal y esmegma prepucial de bovinos.

Medio	Patógeno	Metodología	Observaciones
Diamond / Platridge	<i>Tritrichomonas foetus</i>	Cultivo	Mantener a temperatura ambiente luego del muestreo
Cary Blair	<i>Campylobacter fetus</i>	Cultivo / Inmunofluorescencia directa posesriquecimiento	Mantener refrigerado
Amies	<i>Brucella abortus</i> y otras bacterias	Cultivo	Mantener refrigerado
Hank's	Agentes virales	Aislamiento viral / PCR	Mantener refrigerado luego del muestreo
Solución fisiológica formulada	<i>Campylobacter fetus</i>	Inmunofluorescencia directa	Colocar la muestra en último lugar, ya que al contener formol podría interferir con los otros patógenos para buscar

Serología

En el mismo momento del muestreo de MCV, se recomienda extraer una muestra de sangre de la vaca abortada, ya sea de vena yugular o coccígea, para realizar estudios serológicos e identificar anticuerpos contra diferentes patógenos de la reproducción: *B. abortus* (brucelosis), *N. caninum* (neosporosis), serovares de *Leptospira* spp. (leptospirosis), alfa herpesvirus bovino 1 (Bovine alpha herpesvirus 1, BoHV-1), y virus de la diarrea viral bovina (Bovine viral diarrhea virus, BVDV).

Para alguno de estos patógenos la presencia de ciertos títulos de anticuerpos es suficiente para poder afirmar con certeza que ese vientre podría haber abortado por ese agente (leptospirosis, por ejemplo). En el caso de brucelosis la presencia de títulos positivos no necesariamente nos indica que el animal abortó por *B. abortus* (si bien sería muy sugestivo en el caso de las vaquillonas de primera preñez, por ejemplo), pero sí demuestra infección en el animal, y como se trata de una bacteria que produce infecciones crónicas todo animal positivo debería ser considerado una fuente de contagio y por lo tanto

descartado. Para otros patógenos hay que tener en cuenta que los animales pueden estar infectados desde hace mucho tiempo (o incluso haber nacido infectados) y recién en ese momento presentar el aborto (neosporosis, serovares adaptados de *Leptospira*). Mientras que, para otros, infecciones recientes podrían explicar el aborto (BVDV o BoHV-1). Entonces, la interpretación de los resultados serológicos puede variar de patógeno a patógeno.

Tradicionalmente se pretendía identificar un aumento en el título de anticuerpos específicos (seroconversión) para poder detectar una infección activa con el agente, lo cual sigue siendo igualmente válido. Sin embargo, al tener en cuenta la patogenia de los abortos, conociendo que las infecciones con patógenos podrían haber ocurrido muchas semanas o meses antes de que el feto fuese expulsado y la vaca fuese muestreada, detectar esta seroconversión resulta difícil. Además, algunos patógenos están incluidos en las vacunas que suelen aplicarse en el preservicio y tacto para prevenir enfermedades reproductivas (ej. BVDV, BoHV-1 y serovares de *Leptospira*), siendo muy difícil diferenciar vacunación de exposición natural. Por lo enumerado, la interpretación de los resultados serológicos es compleja. Por tal razón, se recomienda realizar un muestreo de animales que hayan perdido la gestación, y simultáneamente, de algunos animales compañeros del mismo rodeo que no hayan abortado. Se sugiere recolectar una buena cantidad de muestra, pensando que hay que realizar diferentes determinaciones.

Para poder interpretar los resultados, comparando vientres que perdieron la gestación y vientres que permanecen preñados, se sugiere muestrear al menos 10 animales de cada grupo. Una vez obtenidos los resultados serológicos, establecer un punto de corte para cada prueba (en el caso que detecte títulos de anticuerpos), siendo más sencillo para aquellas técnicas que establecen resultados positivos o negativos (ELISA, por ejemplo). Con estos resultados, para evaluar la asociación entre la seropositividad a un agente patógeno y el evento de aborto, se utiliza una medida de asociación estadística usualmente empleada en estudios epidemiológicos, denominada *odds ratio* (OR, o razón de las probabilidades). Para estimarla se debería completar un cuadro de doble entrada, con la cantidad de animales seropositivos o seronegativos para cada agente, y si corresponden a las categorías abortadas o gestantes. Por ejemplo: hemos muestreado 10 vacas abortadas y 10

vacas preñadas, del mismo lote; del grupo de animales abortados, 8 resultaron seropositivos a *N. caninum* y de los animales gestantes, solo 3 resultaron seropositivos. De esta forma se puede realizar el cálculo del OR, utilizando por ejemplo programas disponibles online: https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php

De esta forma, se puede calcular el OR, el que en este ejemplo resultó igual 9,33. La interpretación de este resultado sería que la probabilidad que una vaca seropositiva a neosporosis aborte es 9,33 veces mayor que si fuera seronegativa. Este resultado debe ser considerado relevante, solo en el caso que el menor valor del intervalo de confianza (IC) no incluya a 1 (como en este ejemplo, entre el IC 1,1934 y 72,9934) y el nivel de significancia menor a 0,05 (en este ejemplo, $p = 0,03$) (Gráfico). Al analizar toda esta información, tenemos la posibilidad de afirmar que la seropositividad a neosporosis fue un factor de riesgo para que ocurran abortos. Esto permitiría inferir que al menos gran parte de estos abortos pudieron haber estado asociados con esta enfermedad.

Este análisis puede realizarse para cada uno de los agentes infecciosos investigados, y lo podemos aplicar también para otras situaciones: comparar vacas vacías vs. vacas gestantes (al realizar un muestreo en el momento del tacto) o comparando vacas NPT vs. vacas paridas (al finalizar la parición), siempre con los recaudos necesarios teniendo en cuenta lo previamente mencionado, en relación con el tiempo transcurrido entre la ocurrencia de la infección y la detección de la pérdida en asociación con la dinámica de los anticuerpos.

Individuos con un resultado positivo ("malo")
(**"abortado"** en nuestro caso)

Animales en el grupo expuesto: animales abortados y seropositivos

Animales en el grupo control: animales abortados y seronegativos

Individuos con un resultado negativo ("bueno")
(**"gestantes"** en nuestro caso)

Animales en el grupo expuesto: animales gestantes y seropositivos

Animales en el grupo control: animales gestantes y seronegativos

Resultados

Odds ratio	9,3333
95 % intervalo de confianza	1,1934 a 72,9934
Nivel de significancia	P = 0,0333

A continuación, brevemente se mencionará sobre la interpretación de resultados serológicos para los agentes infecciosos de la reproducción más relevantes:

- Brucelosis: la interpretación de análisis serológico contra esta enfermedad suele ser sencilla ya que hay reglamentaciones vigentes del SENASA, razón por la cual no se harán mayores menciones.
- Leptospirosis: la interpretación de resultados serológicos para esta enfermedad puede ser complejo, sobre todo porque existe una gran variedad de serovares y el comportamiento de estas infecciones difiere en el bovino. Los serovares adaptados al bovino (Hardjo o Wolffi) generalmente no suelen inducir títulos elevados de anticuerpos en los animales infectados. Incluso, animales infectados por estos serovares pueden resultar seronegativos. Por lo tanto, la interpretación de estos puede ser un desafío. Tal es así que títulos de 1/100 o 1/200 pueden encontrarse en animales abortados por este agente y es muy difícil detectar seroconversión.

En cambio, las infecciones recientes con serovares no adaptados al bovino (ej.: Pomona, Icterohaemorrhagiae y Canicola) suelen generar una respuesta de anticuerpos marcada (títulos superiores a 1/800), e incluso se puede detectar seroconversión. Generalmente, los títulos de anticuerpos elevados frente a esta enfermedad son indicativos de una exposición reciente al agente, ya sea por una infección o resultado de una vacunación que contenga el serovar al que reaccionaron. Por ello, es importante contar con esta información para poder interpretar los resultados.

- Neosporosis: para esta enfermedad generalmente no se pretende evaluar títulos de anticuerpos, sino que usualmente se utilizan técnicas de ELISA (otorgan resultados positivos, sospechosos o negativos) o inmunofluorescencia indirecta (donde generalmente se utiliza un punto de corte y no un título final para su interpretación). Es probable tener animales seropositivos a neosporosis que nunca hayan abortado. En ese sentido, para esta enfermedad en particular, es muy recomendable realizar el diagnóstico serológico de animales abortados y gestantes para calcular el OR y poder interpretar así los resultados.

- Enfermedades virales (BoHV-1 y BVDV): la interpretación de resultados serológicos para estos agentes también suele ser un desafío, ya que son infecciones endémicas en nuestros rodeos (gran proporción de animales que en algún momento han tomado contacto con uno ambos virus) y porque suelen estar incluidos en las vacunas contra enfermedades reproductivas, que podría hacer confundir un diagnóstico. Existen también diferentes técnicas de diagnóstico serológico, generalmente algunos kits de ELISA, o la técnica de seroneutralización. Se recomienda el muestreo de vacas abortadas y vacas gestantes para poder realizar el cálculo de OR así como poder detectar seroconversión (aumento significativo en el título de anticuerpos entre un primer y segundo muestreo en un intervalo de 3 semanas, aproximadamente).

Otras muestras

Para algunas enfermedades en particular, se recomienda el envío de otras muestras que pueden contribuir en la identificación de algunos agentes infecciosos. En el caso de sospecha de leptospirosis como causal del aborto, se podrían extraer muestras de orina de los vientres abortados, con la intención de detectar el agente por diferentes métodos diagnósticos (inmunofluorescencia directa o cultivo). En el caso de *B. abortus* como causal de aborto se podría también extraer de forma estéril una muestra de leche para cultivo.

Seguimiento tacto-parto

Teniendo en cuenta los comentarios previos donde se hacen evidentes las dificultades que existen en la identificación temprana de los vientres que pierden la gestación en sistemas de producción bovina extensivos, esto representa un desafío diagnóstico.

Es por esa razón que en aquellos establecimientos que tienen elevados porcentajes de mermas entre el tacto y la parición y no se identifican tempranamente los abortos, se sugiere realizar un seguimiento durante ese periodo. Para esto se recomienda armar un lote "centinela" con animales preñados al momento del tacto, que sea representativo del rodeo del establecimiento, lo más tempranamente posible. Una vez

armado este rodeo "centinela", se recomienda recolectar una muestra de sangre y preservar el suero de esos animales en ese primer muestreo. Luego, cada 30-40 días, se recomienda volver a tectar solo los animales del rodeo "centinela", con la intención de detectar animales que hayan perdido la gestación entre los tactos realizados. A todos los vientres abortados, que fueron identificados mediante los tactos seriados, se le tomarán muestras de MCV y suero (corresponderán al segundo muestreo, en relación con el suero que ya tenemos preservado de este animal al iniciar el seguimiento). Estos tactos se deberán realizar las veces que sea posible hasta el comienzo de la parición del rodeo. Mediante este seguimiento tendremos más chances de detectar alguna causa de pérdida reproductiva de origen infeccioso al realizar la identificación temprana del animal abortado.