

DIARREA VIRAL BOVINA: PRESENTACIÓN DE CASOS CLÍNICOS Y EVALUACIÓN DE DIVERSAS TÉCNICAS PARA EL DIAGNOSTICO

Eleonora Morrell^{*1}, Erika González Altamiranda¹, Anselmo Odeón¹,
Ernesto Odriozola¹, Juan García¹

¹Grupo Sanidad Animal, EEA INTA Balcarce, Buenos Aires, Arg. * Autor de correspondencia: morrell.eleonora@inta.gov.ar

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar distintas técnicas de diagnóstico en casos clínicos de Diarrea Viral Bovina (DVB). En el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) de INTA Balcarce se diagnosticaron casos de DVB en seis establecimientos de la provincia de Buenos Aires, durante los meses de febrero y octubre de 2013. Los diagnósticos fueron realizados en base a los signos clínicos, hallazgos macroscópicos/microscópicos, aislamiento viral y al empleo de técnicas complementarias como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) e inmunohistoquímica (IHQ). Las técnicas de PCR e IHQ presentaron mayor sensibilidad que el aislamiento viral. Por lo tanto se sugiere la implementación de ambas técnicas para el diagnóstico de DVB-EM (Enfermedad de las mucosas) y la detección temprana de los animales persistentemente infectados (PI).

SUMMARY

The objective of this work was to evaluate different diagnostic techniques in clinical cases of Bovine Viral Diarrhea (BVD). Cases of BVD were diagnosed in six establishments in Buenos Aires province, between February and October 2013 in the Specialist Service of Veterinary Diagnostic (SDVE) of INTA Balcarce. Diagnoses were made based on clinical signs, macroscopic and microscopic findings, virus isolation and the use of complementary techniques such as Polymerase Chain Reaction (PCR) and immunohistochemistry (IHC). The PCR and IHC techniques showed higher sensitivity than virus isolation. Therefore the implementation of both techniques for the diagnosis of BDV-MD (Mucosal Disease) and early detection of animals persistently infected (PI) is suggested.

INTRODUCCIÓN

La Diarrea Viral Bovina (DVB), es una enfermedad de origen viral que afecta a bovinos y esporádicamente a otros rumiantes.

Existen diversas presentaciones clínicas de la enfermedad. El cuadro reproductivo y el de Enfermedad de las Mucosas (EM) son los más frecuentes en Argentina, siendo de presentación esporádica los cuadros de DVB crónica y el Síndrome Trombocitopénico ó Hemorrágico Sistémico asociado al genotipo II (Odeón 2003). No obstante, se estima que entre un 70-90% de las infecciones cursan un cuadro subclínico o clínicamente leve, con ligeros aumentos en la temperatura corporal y diarrea transitoria leve (Evermann & Barrington 2005). El aislamiento viral a partir de muestras de órganos frescos o sangre, es el método de referencia para el diagnóstico de la enfermedad, y junto con la seroneutralización viral, son los más utilizados. Otros métodos disponibles son la PCR, el ELISA (Enzimo inmunoensayo) de Ag y la técnica de inmunohistoquímica (IHQ).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para los 6 casos analizados (A, B, C, D, E, F) se realizó una detallada anamnesis, obteniendo datos del establecimiento, del rodeo, del manejo general y del curso de la enfermedad. Se efectuó la necropsia de al menos un animal en cada caso, se registraron las lesiones y se obtuvieron muestras en esterilidad de bazo para aislamiento viral (Odeón y col 2003); en formol de diversos órganos para el estudio histopatológico e inmunohistoquímico, muestras congeladas y sangre heparinizada para PCR.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El cuadro clínico, curso, edad de presentación y morbilidad de los brotes puede observarse a continuación en la **tabla 1**.

Caso	A	B	C	D	E	F
Cuadro clínico compatible	EM	DVB crónica	EM	Cuadro reproductivo	EM	EM
Edad de presentación	12-22 Meses	12-18 meses	4-8 meses	Neonatos	12 meses	12 meses
Morbilidad	15% (28/188)	10% (30/300)	2,6% (12/450)	35% (35/100)	2,1% (23/1080)	4% (10/250)
Curso (días)	5-20 d	30-60 d	15-20 d	1-2 d	5-10 d	3-4 d

Tabla1: cuadros clínicos, curso, morbilidad y edad de presentación en 6 casos de DVB.



En los casos A, C, E y F, se observaron lesiones erosivas/ulcerativas diseminadas en distintas zonas de la mucosa digestiva, cutánea y unión mucocutánea, compatibles además en la microscopia con el cuadro de EM. En el caso B, las lesiones se limitaron a piel no involucrando tejido mucoso. El neonato del caso D presentó únicamente dilatación de uno de los ventrículos laterales del cerebro.

La vía de ingreso no pudo ser comprobada en ninguno de los casos; no obstante, la incidencia $\leq 3\%$ en 3/6 casos (C, E y F) puede atribuirse a niveles esperados de animales PI en rodeos endémicos, a pesar de que solo el caso E (Tabla 2) fue confirmado como EM. La presentación en forma de brote en 3/6 casos (A, B y D), con morbilidades \geq al 10%, sugiere la entrada del virus a un rodeo libre o el ingreso de nuevas cepas a un rodeo endémico.

En la **tabla 2** se presentan los resultados del aislamiento viral, PCR e IHQ

Técnica/ Resultados*	Aislamiento	PCR	IHQ
Animales + / total	6/16 caso B cepa NCP caso D cepa CP caso E cepa CP y NCP	10/11	13/13 (24/26)
% + detectados	37,5	90,9	100 (92)

Tabla 2: resultados del aislamiento, PCR e IHQ en casos de DVB.

En el caso B se aislaron cepas NCP únicamente, indicando una infección aguda de animales no PI, probablemente asociadas a cepas NCP de elevada virulencia y patogenicidad (Odeón 2003).

En los casos D y E se aislaron cepas del biotipo CP, lo cual permite confirmar en el caso E el cuadro de Enfermedad de las Mucosas. En el caso D, el aislamiento de cepas CP en 2 neonatos es un hallazgo poco frecuente que podría asociarse a la presencia de madres PI.

En el presente trabajo se observa una reducción en la eficiencia del aislamiento viral, pudiendo ser diversas las causas: conservación y transporte de la muestra, presencia del pestivirus atípico denominado Hobi-like (Bauermann et al 2013), etc.

Por otro lado, 10/11 animales resultaron positivos por PCR, con excepción del animal B-1, solo positivo por IHQ. Una de las principales ventajas de la PCR es la elevada sensibilidad analítica que posee, logrando detectar muy pequeñas cantidades de Ag (Dubovi 2013) y el tiempo reducido que se requiere para obtener los resultados.

Con respecto a la IHQ, la misma fue utilizada con éxito tanto para detectar animales PI (caso D y E) como

animales con infecciones transitorias (caso B). En este último caso difiriendo de otros autores (Ridpath 2002) quienes han reportado una baja sensibilidad en las infecciones agudas.

La técnica de IHQ bajo condiciones normales en casos de campo no controlados, tuvo una mayor sensibilidad que el aislamiento viral e incluso que la PCR. Estos resultados son de importancia, ya que cualquier plan de control y erradicación de la DVB se basa primero en la correcta identificación de los animales PI, pilares epidemiológicos de la enfermedad (Dubovi 2013).

La falta de eficacia de la vacunación en estos casos pudo deberse a una inadecuada protección de las cepas vacunales frente a las cepas de campo. Es de suma importancia generar protección vacunal con cepas locales devDVB, debido a la variabilidad genética y de protección cruzada entre las cepas (Ridpath 2010). Aunque la vacunación ha demostrado otorgar protección contra la enfermedad aguda, el riesgo de viremia y posterior invasión de los tejidos fetales permanece latente.

CONCLUSIONES

A pesar de que el aislamiento viral en cultivo celular es la prueba de oro o "gold estándar" para determinar si un animal es PI; el empleo de técnicas complementarias como la IHQ y la PCR, permitieron confirmar el diagnóstico en los casos de aislamientos negativos. Asimismo, la técnica de IHQ aportó una mayor sensibilidad final, tanto en casos de DVB como EM, pudiendo atribuirse a menores exigencias en el muestreo y remisión de materiales, en comparación con las técnicas de PCR y aislamiento viral.

BIBLIOGRAFÍA

- Bauerman FV, Ridpath JF, Weiblen R, Flores EF. HoBi-like viruses: an emerging group of pestiviruses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2013, 25(1) 6-15.
- Duvovi EJ. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhea virus. *Biologicals* 2013, 4: 8-13
- Evermann JF and Barrington GM: Clinical features. In: *Bovine Viral Diarrhea Virus: Diagnosis, Management, and Control*, ed Goyal SM and Ridpath JF, pp. 105-120. Blackwell Publishing Professional, Ames, IA, 2005.
- Odeón AC, Rissatti G, Kaiser GG, Leunda MR, Odriozola E, Campero CM, Donis RO. Bovine viral diarrhea virus genomic associations in mucosal disease, enteritis and generalized dermatitis



outbreaks in Argentina. *Veterinary Microbiology* 2003, 96: 133-144.

• Ridpath JF, Hietala SK, Sorden S, Neill JD. Evaluation of the reverse transcription-polymerase chain reaction/probe test of serum samples and immunohistochemistry of skin sections for

detection of acute bovine viral diarrhoea infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2002, 14:303-307

Ridpath. Bovine Viral Diarrhoea Virus- Global Status. *Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice*. 2010. 26 (1) 105-121.

DESCRIPCION DE TRES FOCOS DE CALCINOSIS ENZOOTICA EN OVINOS (INTOXICACION POR NIEREMBERGIA REPENS RUIZ & PAV.) DIAGNOSTICADOS EN URUGUAY

Preliasco, M. *; López, F. ; Balserini, A. ; Freire, I. ; Collazo, S.¹; Uriarte, G.²; Bove, R.²; González, A.C.⁵

¹Departamento de Patobiología, DILAVE "Miguel C. Rubino", Ruta 8 Km 17,500, Montevideo, Uruguay. *Autor de correspondencia: mprieliasco@mgap.gub.uy. ²Laboratorio Regional Norte de la DILAVE, Ruta 5 Km 386, Tacuarembó, Uruguay. ³Regional Paso de los Toros de la División Sanidad Animal, Tacuarembó, Uruguay. ⁴Veterinario de ejercicio liberal, Paso de los Toros, Tacuarembó, Uruguay. ⁵Laboratorio de Botánica. Facultad de Agronomía, UDELAR, Garzón 780, Montevideo, Uruguay

RESUMEN

En tres establecimientos criadores de ovinos localizados en los departamentos de Tacuarembó y Durazno, se detectó enfermedad caquectizante crónica y muerte de ovinos. Se realizó evaluación clínica, análisis de calcemia y fosfatemia, eutanasia y necropsia a una oveja de cada uno de los establecimientos foco. Severo desmejoramiento de estado general, depresión, claudicación moderada, xifosis e intolerancia al ejercicio fueron las principales manifestaciones clínicas observadas en los animales enfermos inspeccionados. Se observó normocalcemia en las tres ovejas estudiadas e hiperfosfatemia en dos de ellas. Los principales hallazgos de necropsia incluyeron severo desmejoramiento del estado general, caquexia y severo engrosamiento de arterias cardíacas a expensas de la deposición de placas mineraloides en su cara interna. Áreas de mineralización similares fueron observadas en endocardio, válvulas cardíacas y pulmones. Histológicamente se observó mineralización sistémica de tejidos y coloración Von Kossa positiva en arteria aorta, pulmones y riñón. En todos los establecimientos se constató la presencia de *Nierembergia repens* Ruiz & Pav.

SUMMARY

In three sheep farms, located in the departments of Durazno and Tacuarembó, chronic wasting

disease and death of sheep was detected. Clinical evaluation, analysis of serum calcium and serum phosphorus, euthanasia and necropsy of three sheep was performed. Severe deterioration of general condition, depression, moderate claudication, xiphosis and exercise intolerance were the main clinical manifestations observed in diseased animals inspected. In the three sheep serum calcium values were normal while hyperphosphatemia was observed in two of them. The main autopsy findings included severe deterioration of general condition and cachexia, severe stiffness of heart at the expense of mineral deposition in the inside of arteries. Similar areas of mineralization were observed in endocardium, heart valves and lungs. Histologically systemic tissue mineralization was found and Von Kossa staining was positive in aorta, lungs and kidneys. *Nierembergia repens* Ruiz & Pav. was found in all farms.

INTRODUCCIÓN

Calcinosis enzoótica es una enfermedad tóxica que afecta a rumiantes que consumen plantas ricas en principios activos con acción metabólica similar al de la vitamina D. Esto desencadena una enfermedad crónica a causa de la calcificación distrófica de tejidos blandos (Tokarnia y col. 2000, Peixoto y col. 2012). Las especies botánicas identificadas como responsables del desarrollo de esta enfermedad a nivel regional son *Solanum glaucophyllum* (malacoxylon), *Nierembergia veitchii*, *Nierembergia repens* y