

DETERMINACIÓN DE AGENTES PATÓGENOS ASOCIADOS A INFERTILIDAD Y ABORTO EN VAQUILLONAS HOLANDO

Ignacio Lluberas¹, Valentina Skuras¹, Laureana De Brun^{1}, Paulina Meny¹, Felipe Schelotto²,*

Rodrigo Puentes¹.

1- Instituto de Patobiología, Unidad de Microbiología, Facultad de Veterinaria, UdelaR.

Ruta 8 y 102 Km 18 Montevideo, Uruguay.

* laureanadebrun@gmail.com

2- Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue analizar la asociación entre los principales patógenos y la falla reproductiva en vaquillonas Holando. Para esto se trabajó con un rodeo con inseminación artificial en un establecimiento de cría de vaquillonas Holando. Se conformaron tres grupos de animales: un grupo control de vaquillonas que resultaron preñadas al diagnóstico de gestación, un grupo de vaquillonas que resultaron vacías (no gestadas) y un grupo de vaquillonas que abortaron durante el periodo de estudio. Se determinó mediante serología, empleando las técnicas de ELISA indirecto, Seroneutralización (SN) *in vitro* y Microaglutinación en placa (MAT), la presencia de anticuerpos contra Herpesvirus bovino 1 - BoHV-1 (IBR), Diarrea viral bovina (DVB), Leucosis bovina enzoótica (BLV), *Neospora caninum* y *Leptospira spp.* Además, mediante Nested-PCR se diagnosticó BoHV-4 y a los animales que resultaron serológicamente negativos a DVB, se les realizó PCR para descartar la presencia de animales persistentemente infectados (PI). Del total de vaquillonas que abortaron (n=59) el 67,3% resultaron positivas a BLV, mientras que 48,3% resultaron positivas en el grupo de las que mantuvieron la gestación (n=31); y el 68,5% del grupo de abortadas fueron positivas a *Neospora*, mientras que 27,6% resultaron positivas en el grupo de las que mantuvieron la gestación. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la condición de aborto y la presencia de estos agentes (p=0,034 y p=0,006 respectivamente). Por otra parte, se evidenció una alta positividad en el rodeo a DVB en los tres grupos de estudio. No se pudo determinar una asociación estadística

para la causalidad de infertilidad. A partir de los resultados obtenidos se concluyó que ninguno de los agentes estudiados tuvo el potencial por sí mismo para ser el causante de la infertilidad/ aborto, siendo necesarios más estudios sobre la temática para lograr comprender estas fallas reproductivas.

SUMMARY

The objective of this study was to analyze the association between the main pathogens and reproductive failure in Holando heifers. For this purpose, we worked with a rodeo with artificial insemination in a breeding establishment of Holando heifers. Three groups of animals were formed: a control group of heifers that were pregnant at the diagnosis of gestation, a group of heifers that were empty (not pregnant) and a group of heifers that aborted during the study period. Serology was used to determine the presence of antibodies against bovine herpesvirus 1 - BoHV-1 (IBR), bovine viral diarrhea (DVB), enzootic bovine leukosis (BLV), using indirect ELISA techniques, *in vitro* seroneutralization (SN) and plate microagglutination (MAT), *Neospora caninum* and *Leptospira spp.* In addition, BoHV-4 was diagnosed with Nested-PCR and PCR was performed on animals that were serologically negative for BVD to rule out the presence of persistently infected animals (PI). Of the total number of heifers who aborted 67.3% were positive for BLV, while 48.3% were positive for those who maintained pregnancy; and 68.5% of this group were positive for *Neospora*, while 27.6% were positive in the group of those who maintained gestation. A statistically significant association was found between the abortion condition and the presen-

ce of these agents ($p=0.034$ and $p=0.006$ respectively). On the other hand, there was a high positivity in the rodeo to DVB in the three study groups. No statistical association could be determined for infertility causality. Based on the results obtained, it was concluded that none of the agents studied had the potential by itself to be the cause of infertility/abortion, being necessary more studies on the subject to understand these reproductive failures.

INTRODUCCIÓN

En Uruguay, las pérdidas reproductivas han sido identificadas como problemas relevantes en la ganadería de cría a nivel nacional y a pesar de que pueden deberse a una multiplicidad de causas, los agentes infecciosos con conocido o potencial efecto sobre la reproducción, no han sido exhaustivamente explorados. Se debe considerar que el correcto diagnóstico etiológico de las fallas reproductivas ya sea infertilidad y/o aborto es fundamental para controlar y prevenir estas pérdidas, que impactan no solo en la economía del productor, sino también en la salud pública, considerando que algunos de los microorganismos causales de estas patologías en bovinos son zoonóticos. En cuanto a los agentes etiológicos involucrados en estas fallas reproductivas, podemos mencionar al virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR-BoHV-1), el virus de la diarrea viral bovina (vDVB), y el gammaherpesvirus tipo 4 (BoHV-4), la Leptospirosis y Neosporosis. Sumado a esto puede presentarse en conjunto enfermedades virales inmunosupresoras que pueden jugar un papel clave, tales como el virus de la Leucosis bovina (BLV) y vDVB.

Partiendo de rodeos con óptimas condiciones de alimentación y aptos para el inicio de la reproducción, la hipótesis de este estudio se basó en que existe una asociación entre los agentes nombrados con el estado de infertilidad o la causalidad del aborto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron muestras de sangre extraídas

de la vena coccígea de un rodeo de vaquillonas Holando de 14 meses de edad de un Campo de Recría ubicado en el departamento de Florida (Uruguay), seronegativo para Brucelosis, pertenecientes a un mismo lote de animales que ingresaron al periodo reproductivo 2021 (inseminación artificial). Luego del diagnóstico de gestación se conformaron tres grupos de estudio, uno de vaquillonas vacías ($n=22$), otro de vaquillonas preñadas ($n=31$) y otro de vaquillonas abortadas ($n=59$). Las muestras fueron obtenidas en tubos secos y tubos con anticoagulante (EDTA), se refrigeraron y almacenaron a -20°C . Se detectaron en suero mediante ELISA anticuerpos anti-gp51 para BLV, anticuerpos anti-DVB, y anticuerpos anti-*N. caninum*, y mediante seroneutralización para el BoHV-1. Se utilizó la técnica MAT en la detección en suero de anticuerpos para 12 serovares de *Leptospira* de importancia en bovinos. A los animales que no se detectaron Ac. Anti-DVB ($n=3$), se les realizó PCR en suero para detección de antígeno del vDVB. Además, se realizó Nested-PCR para BoHV-4, detectando los fragmentos del gen que codifica para la glicoproteína B (161pb).

Se realizó un análisis descriptivo de los resultados y la asociación entre la presencia de cada patógeno y el resultado reproductivo mediante la prueba de Chi cuadrado (STATA V14).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fueron positivas a BLV el 67,3% de las vaquillonas que abortaron durante el período de estudio, mientras que el 68,5% de este grupo también fueron positivas a Neospora, encontrando para ambas enfermedades una asociación estadísticamente significativa ($p=0,034$ y $p=0,006$ respectivamente) (Tabla 1).

Es de destacar la alta positividad en el rodeo a DVB, habiendo tan solo 3 animales negativos lo cual representa un 97,3% de prevalencia. En estos animales que fueron serológicamente negativos a DVB se les realizó PCR buscando la presencia de animales persistentemente infectado (PI). Se encontró un PI, lo que indica

la circulación viral (Lértora 2016) en el rodeo estudiado y explica la alta prevalencia a DVB en el mismo. El problema de estos animales es que excretan enormes cantidades de virus y de forma constante a lo largo de su vida, repercutiendo precisamente en los índices reproductivos del rodeo de cría (Khodakaram-Tafti y Farjanikish 2017; Moennig y Becher 2018). Esta podría ser la causa de las pérdidas encontradas en este ensayo (55 abortos), aunque es difícil de demostrar por la alta seroprevalencia.

En bovinos, los virus son una de las causas más comunes de inmunosupresión en condiciones de campo. En ese sentido, es sabido que BLV así como DVB son las enfermedades virales inmunosupresoras más prevalentes en bovinos en nuestro país, permitiendo que otros patógenos afecten la producción y reproducción de los animales (Mionetto Cabrera y Rodríguez Terra 2018). Ambas infecciones generan un estado de disfunción temporal o permanente del sistema inmunológico de varias células, especialmente linfocitos y células mononucleares (Muneer et al. 1988), que resulta en una respuesta inmune inapropiada y un aumento en la susceptibilidad hacia los agentes patógenos (Dohms and Saif 1984).

Por lo que en el grupo de vaquillonas abortadas el estado de inmunosupresión inducido por las virosis (BLV y DVB) puede haber tenido un efecto directo entre la presencia de Neospora y la posterior causalidad del aborto. Para el grupo de vaquillonas vacías no se encontraron asociaciones significativas entre las enfermedades estudiadas. Se debe considerar que el diagnóstico etiológico del aborto bovino es complejo, requiriendo de exámenes en

el laboratorio de muestras como fetos, suero, sangre entera y placentas de vaquillonas abortadas, sumado al examen patológico macroscópico e histológico y una amplia variedad de pruebas microbiológicas para la detección de los agentes infecciosos abortigénicos; más aún el diagnóstico de infertilidad, que lo observable son repeticiones de celo o la presencia de vacas falladas al diagnóstico de gestación, poco diagnosticado. Es así que se transforman los métodos de diagnóstico en puntos claves en los programas de control de esta problemática.

Por otra parte, los resultados obtenidos para BoHV-4 en el rodeo fue de 31,3% (31/99) fueron similares a lo descrito por Cvetojević et al. (2016), donde analizaron su presencia en vacas abortadas (21% de positividad). No se encontraron diferencias entre los grupos (Tabla 1). Este patógeno ha sido recientemente detectado en nuestro país, vinculándose al aborto bovino (De Brun et al. 2020), pero en el presente ensayo no se pudo demostrar el rol de este virus en la performance reproductiva de los bovinos estudiados, por lo que se requiere de más investigaciones para lograr comprenderlo. Se estudió en 65 animales la seropositividad a *Leptospira*, siendo un 53,8% de los animales del rodeo positivos. El título de corte utilizado para clasificar a los bovinos como positivos fue de mayor o igual a 1/200 (recomendados por el DILAVE - MGAP). Es de destacar la presencia de *Leptospira borgpetersenii serovar Castellonis*, el cual si bien se encontró en un 26.5% de vaquillonas serológicamente positivas, lo cual no tuvo asociaciones significativas, esto hace pensar que puede estar implicada en estas fallas reproductivas al no encontrarse contemplado en ninguna de las

Tabla 1: Resultados para Leucosis, Neosporosis y Herpesvirus tipo 4 según grupo

	BLV		Neospora		BoHV-4	
	P (+)	N (-)	P (+)	N (-)	P (+)	N (-)
Abortadas	67,3% ^a (37/55)	32,7% (18/55)	68,5% ^b (37/54)	31,5% (17/54)	32% (16/50)	68% (34/50)
Vacías	63,6% (14/22)	36,4% (8/22)	52,4% (11/21)	47,6% (10/21)	19% (4/21)	81% (17/21)
Preñadas	48,3% (14/29)	51,7% (15/29)	27,6% (8/29)	72,4% (21/29)	39,3% (11/28)	60,7% (17/28)

a: p= 0,034; b: p= 0,006

vacunas comerciales, considerando además el posible impacto zoonótico de la misma. En resumen, este trabajo demostró las condiciones de salud de un rodeo de vaquillonas “tipo” de Uruguay, dejando abierta la discusión sobre uso de la serología para el diagnóstico de causas infecciosas que repercuten en la reproducción, así como reafirmando la presencia de BoHV-4 en el país y la importancia de la detección de rastrear animales persistentemente infectados con DVB. Continuar investigando en esta temática resultará fundamental para comprender la dinámica de infección de estos agentes y poder mejorar la eficiencia productiva de los establecimientos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- De Brun, Laureana, Valeria da Silva, Cecilia Castro, Lucía Rivero, Marcos Mionetto, Federico Rodríguez, Fabrício Campos, and Rodrigo Puentes. 2020. “Detección de Herpesvirus Bovino 4 (BoHV-4) En Rodeos Lecheros de Uruguay.” *Veterinaria* 56 (213). http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?pid=S1688-48092020000101202&script=sci_arttext&tlng=pt.
- Cvetojević, Đ., B. Savić, V. Milićević, B. Kureljušić, N. Jezdimirović, D. Jakić-Dimić, M. Pavlović, and Lj Spalević. 2016. “Prevalence of Bovine Herpesvirus Type 4 in Aborting Dairy Cows.” *Polish Journal of Veterinary Sciences* 19 (4): 731–36.
- Dohms, J. E., and Y. M. Saif. 1984. “Guest Editorial: Criteria for Evaluating Immunosuppression.” *Avian Diseases* 28 (2): 305–10.
- Khodakaram-Tafti, A., and G. H. Farjanikish. 2017. “Persistent Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) Infection in Cattle Herds.” *Iranian Journal of Veterinary Research* 18 (3): 154–63.
- Lértora, W. J. 2016. “Diarrea viral bovina: actualización.” *Revista Veterinaria* 14 (1): 42–51.
- Mionetto Cabrera, Marcos, y Adrián Federico Rodríguez Terra. 2018. “Asociación entre leucosis bovina enzoótica y la respuesta inmune humoral natural contra enfermedades infecciosas de interés reproductivo.” <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/25172>.
- Moennig, Volker, and Paul Becher. 2018. “Control of Bovine Viral Diarrhea.” *Pathogens* 7 (1). <https://doi.org/10.3390/pathogens7010029>.
- Muneer, M. A., I. O. Farah, J. A. Newman, and S. M. Goyal. 1988. “Immunosuppression in Animals.” *The British Veterinary Journal* 144 (3): 288–301.