

Ecología de las enfermedades infecciosas en los establecimientos lecheros.

Ynte Hein Schukken^{1*}, Ruth Zadoks².

1- Wageningen University - Royal GD, The Netherlands,

2- The University of Sydney, Australia.

* Autor de correspondencia: ynte.schukken@wur.nl

RESUMEN

Las infecciones en los establecimientos lecheros han crecido en importancia en los años recientes. Las enfermedades infecciosas han resultado en enfermedad subclínica y clínica en las vacas lecheras, riesgo aumentado de eventos zoonóticos por las infecciones de los bovinos transmitidas a los humanos y también la preocupación social sobre el bienestar de vacas y terneros. En esta presentación se compartirán las recientes experiencias en los Países Bajos. Se discutirá las lecciones aprendidas y los importantes desarrollos necesarios en la salud bovina.

SUMMARY

Infectious on dairy farms have gained in importance in recent years. Infectious diseases have resulted in sub-clinical and clinical disease in dairy cows, increased risk of zoonotic events whereby infections from cattle transmit to humans and also to increased societal concerns on welfare of calves and cows. In this presentation the recent experiences from the Netherlands will be shared. Lessons learned and important necessary developments in bovine health will be discussed.

INTRODUCCIÓN

En los años recientes se han desarrollado programas de control para las enfermedades infecciosas para la industria lechera holandesa. Esto incluye programas para reducir o eliminar las infecciones por *Leptospira hardjo*, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, Tuberculosis, *Brucella abortus*, Virus de la Leucosis Bovina Enzootica (EBLv), especies de *Salmonella*, Diarrea Viral Bovina (BVDv), el virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBRV) y hasta cierto punto, el virus de la Lengua Azul (BTV). A la cabeza de esto, se presentaron programas para diagnosticar y controlar las enfermedades de la lista A, pero que no han sido necesarios en la última década.

Con el creciente interés y preocupación sobre pa-

tógenos zoonóticos, el control de *Leptospira hardjo*, *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (MAP), Tuberculosis, *Brucella abortus*, y especies de *Salmonella* constituyen pasos importantes para disminuir esa preocupación. El control del virus de la Leucosis Enzoótica Bovina, el del virus de la Diarrea Viral Bovina y el de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina no están indicados debido a su interés zoonótico sino para la mejora de la salud en general y por razones comerciales (Hodnik et al. 2021). El desarrollo de estos programas es particularmente dependiente de la habilidad para controlar la transmisión entre animales dentro de la granja y la transmisión entre granjas (Mitchell et al. 2015). La evidencia para la transmisión entre animales y entre granjas puede obtenerse mediante modelos matemáticos o por evidencia de transmisión clonal empleando las herramientas del diagnóstico molecular (Nigsch et al. 2021).

Transmisión, evidencia mediante modelación.

La llave para controlar las enfermedades infecciosas en los establecimientos lecheros es un detallado entendimiento de los patrones de transmisión de los agentes infecciosos entre los animales dentro de la granja y la transmisión de esos agentes infecciosos entre granjas. Son necesarios modelos básicos de transmisión para obtener suficiente entendimiento de la transmisión de la enfermedad infecciosa dentro y entre granjas. Un punto de partida en el desarrollo de los modelos de transmisión es, a menudo, el llamado modelo SIR que desarrolla un modelo de transmisión estático con tres estados, Sus-

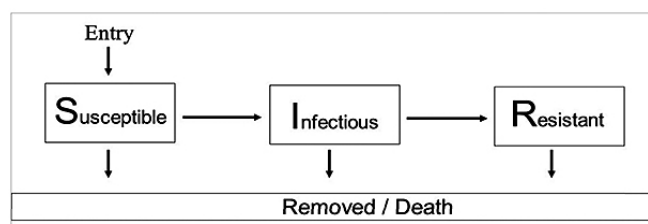


Figura 1. Modelo SIR (Susceptible, Infeccioso y Resistente)

transmisión inter granjas (Nigsch et al. 2021). En el caso del control de Salmonela, esto fue obtenido a través de un estímulo económico y un programa de control intensivo para granjas con estatus de infección positiva durante mucho tiempo.

Transmisión, evidenciada mediante epidemiología molecular.

Como la secuenciación de ADN y ARN se ha vuelto progresivamente asequible y accesible, los métodos moleculares han contribuido significativamente a nuestro entendimiento de la transmisión y control de las enfermedades bacterianas, parasitarias y virales del ganado. Han aportado una visión del movimiento pasado de los patógenos y su distribución actual, y dado forma a un diseño racional para futuras estrategias de erradicación, test diagnósticos, y vacunas (Muellner et al. 2011). También nos han ayudado a entender como es la fisiopatología de la enfermedad y la transmisión de los microorganismos y, partir de ahí como las estrategias de control pueden ser diferentes, o necesitan serlo, para los diferentes sistemas de producción, países, o continentes. Los parásitos son, comparativamente, grandes agentes infecciosos. Son eucarióticos como el ganado o los humanos, y tienen grandes genomas distribuidos en múltiples cromosomas, lo que significa que la secuenciación de genomas enteros es todavía muy desafiante. Las bacterias son procariontas, con genomas más pequeños y simples que los parásitos. Hace menos de 15 años, la secuenciación del genoma del primer *Streptococcus agalactiae* bovino costó más que el salario anual del investigador de postdoctorado que lo analizó. Ahora, esto puede hacerse en pocos días o semanas y sale menos de 100 euros. Los virus son aún mucho más pequeños, y la secuenciación de genomas enteros es más barata y rápida que para una bacteria, aunque puede ser complicado para genomas segmentados tales como aquellos de la influenza D, que fue descrito por primera vez para el ganado en 2011.

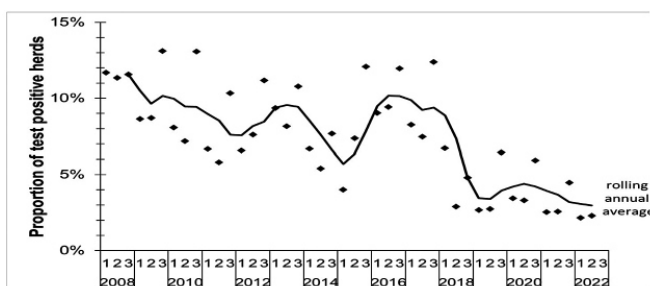


Figura 4. Desarrollo del control de Salmonela en las granjas lecheras holandesas.

Bacteria:

Las diferencias en las características de los patógenos entre continentes pueden ser considerables, y las estrategias de control basadas en evidencia pueden diferir entre países. En nuestra contribución a la epidemiología molecular de mastitis, la diferencia entre Nueva Zelanda y el Reino Unido es empleada a manera de ejemplo, mientras que el *Streptococcus uberis* de la mastitis es casi exclusivamente ambiental en Nueva Zelanda, pero comúnmente contagioso en el Reino Unido, así como en el resto de Europa y en USA. De la misma forma, *S. agalactiae* es una infección bacteriana muy variable genéticamente con diferentes presentaciones fenotípicas en múltiples especies huésped, como se muestra en la figura 5.

Otra sorprendente diferencia geográfica es la observada para *Coxiella burnetti*, el agente causal de la Fiebre Q en humanos y coxiellosis en rumiantes. En USA, hasta el 95% de la leche de los tanques puede ser positiva a *Coxiella*, pero los reportes de Fiebre Q son inusuales en Europa, la Fiebre Q está principalmente asociada con pequeños rumiantes. Por el contrario, los bovinos son considerados como la principal Fuente de Fiebre Q en Australia. La diferencia puede ser debida, al menos en parte, a las diferencias en las cepas de *Coxiella*, que puede también impactar sobre la eficacia de los ensayos diagnósticos cubiertos con antígenos de diferentes partes del mundo.

Virus:

La información más detallada sobre la epidemiología molecular está disponible para los virus. La tipificación de las cepas virales es esencial para informar sobre la

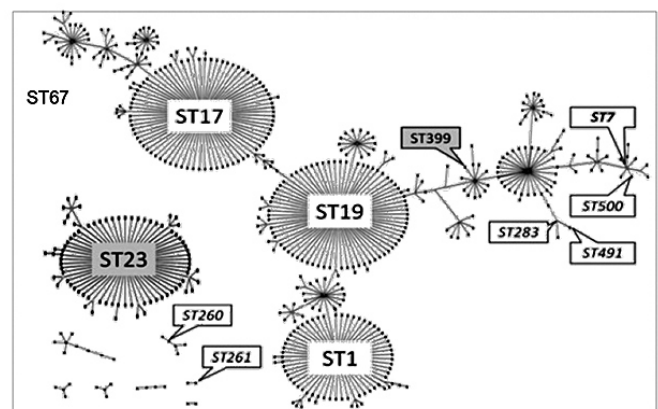


Figura 5. *Streptococcus agalactiae* en un diagrama diente de león basado en MLST (Zadosk et al. 2011). Complejos clonales ST1, ST19, ST23 and ST17 son de origen humano; ST67 es de origen bovino y ST7 y otros son de peces.

selección de vacunas para patógenos de alto impacto como el de la aftosa, porque los serotipos dominantes pueden ser diferentes entre países o cambiar luego de un tiempo. También debe informar sobre el rol de los movimientos animales y especies huésped, otras especies no bovinas, como reservorio, tanto para las enfermedades virales epidémicas como la aftosa o endémicas como la

diarrea viral bovina. Los análisis de las secuencias virales han mostrado que ovinos, humanos, o fómites inanimados pueden actuar como fuentes de Virus de la Diarrea Viral Bovina (Booth et al. 2013). En conocimiento de la ocurrencia y prevención de tales excepciones se vuelve muy importante, a medida que los programas para BVDV progresan, lo que parece probable ahora ya que la OIE

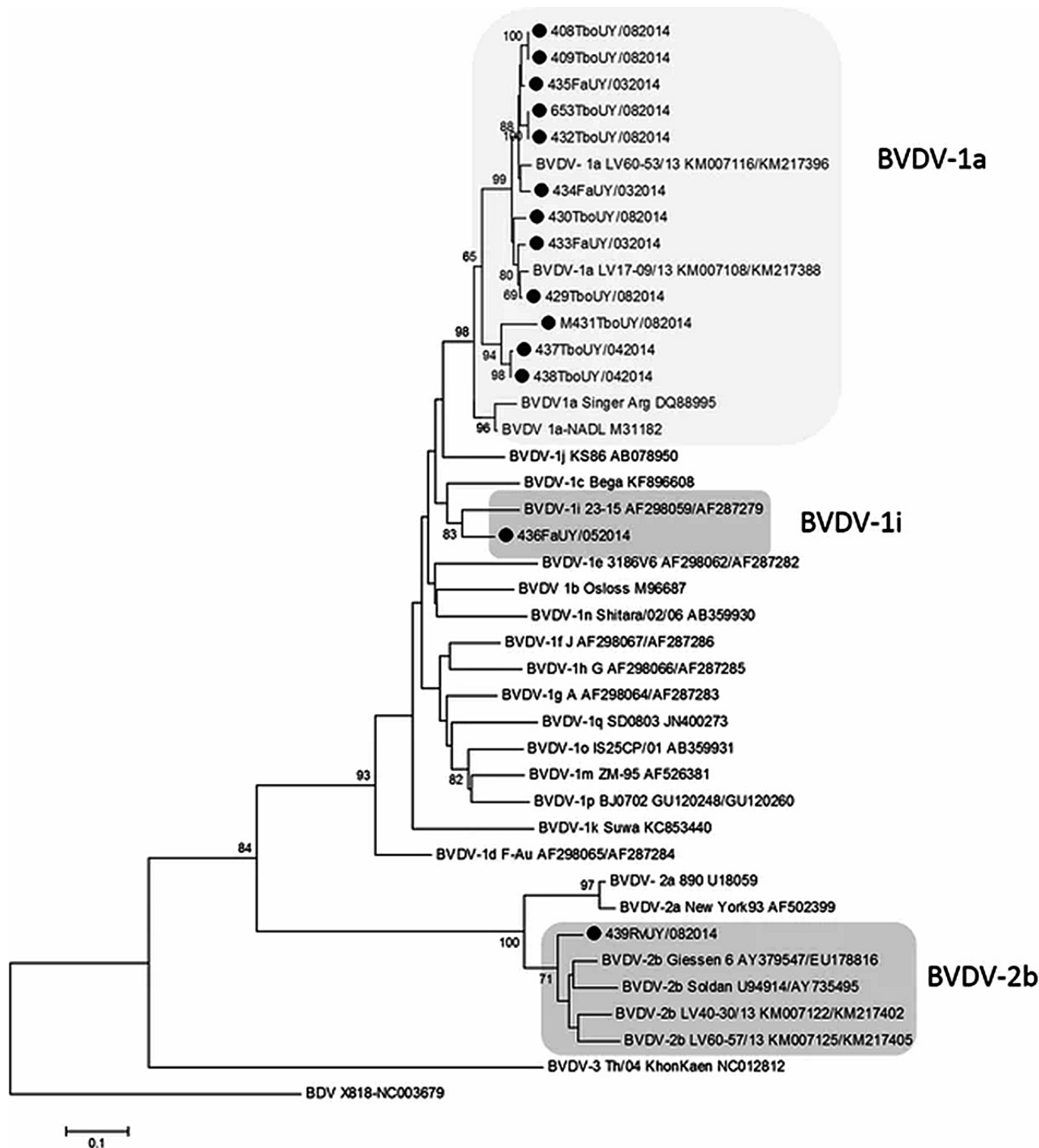


Figura 6. Cepas de Diarrea Viral Bovina identificadas en el ganado lechero uruguayo (Maya et al. 2016).

la ha puesto en la lista de enfermedades denunciadas. Los resultados de un estudio de prevalencia en Uruguay mostró una alta prevalencia del Virus de la DVB y también una gran diversidad genética en los aislamientos efectuados (Figura 6).

Estudio de caso: mastitis bovina

En años recientes, nuestro conocimiento de las principales rutas de infección que conducen a las infecciones intramamarias ha cambiado sustancialmente. Las razones principales para esto fueron el aumento en el empleo del diagnóstico molecular que condujo a una tipificación precisa de las cepas bacterianas y como resultado un cambio de paradigma sobre los microorganismos causantes de mastitis. El encare clásico fue dividir a los microorganismos causantes de mastitis en ambientales y contagiosos, siendo los contagiosos los estrepto y estafilococos y los gram-negativos, ambientales. No obstante, la aplicación incremental de esquemas de tipificación molecular ha mostrado que tal distinción no aplica y que todas las bacterias que pueden causar infecciones intramamarias persistentes pueden adquirir un comportamiento contagioso en los establecimientos lecheros. Esto resultó en un portafolio de factores de riesgo donde la transmisión se ha vuelto una parte importante pero no singular en la dinámica de las infecciones intramamarias.

La epidemiología de las mastitis se describe generalmente como contagiosa y ambiental. Los patógenos contagiosos tienen su reservorio en la glándula mamaria y se transmiten de animal a animal en el ordeño. Los patógenos ambientales, por el contrario, tienen su reservorio en el ambiente y las infecciones pueden ocurrir en cualquier momento, aún en bovinos no lactantes. Hay excepciones a esta clasificación dicotómica. Por ejemplo, los insectos

pueden actuar como vectores, como fue demostrado para la transmisión de *Staphylococcus aureus* entre vaquillonas por moscas, siendo así que puede ocurrir transmisión contagiosa sin mediación de la máquina de ordeñar. Por el contrario, la glándula mamaria infectada puede servir de reservorio de infección, pero con transmisión vía ambiente, como fue demostrado para *Klebsiella* spp. en rodeos de estabulación libre. Ocasionalmente vemos la iatrogenia como fuente de transmisión, como fue demostrado para agua o trapos contaminados con *Pseudomonas* o recipientes de sellador de pezones (Teatdip) contaminados con *Serratia* (Figura 7).

La debilidad principal del paradigma de contagiosos versus ambientales, no obstante, es como nosotros como veterinarios lo interpretamos e implementamos. Muchas currículas veterinarias, libros de texto, informes de extensión, y publicaciones de revisiones clasifican las especies bacterianas en contagiosas y ambientales, sin tomar en cuenta la evidencia. Como profesión, deberíamos tener un mayor entendimiento de las fuentes y rutas de transmisión de los patógenos productores de mastitis, debido a que los estudios de epidemiología molecular nos proveen de una amplia evidencia que muchas bacterias pueden diseminarse de múltiples formas. Cuando abrimos nuestras mentes a esta posibilidad, la distinción entre los modos de transmisión puede a menudo, realizarse sin recurrir a la tipificación molecular. Las herramientas que normalmente utilizamos para la investigación de las mastitis, tales como la inspección de la sala de ordeño, establos y animales con relación a la higiene y los riegos de manejo, y evaluación de los datos de parición, estado de la lactación y cuartos afectados pueden ser ampliamente confiables como para realizar un diagnóstico e intervenciones. El éxito de estas intervenciones informará entonces sobre lo acertado o no del diagnóstico o si se

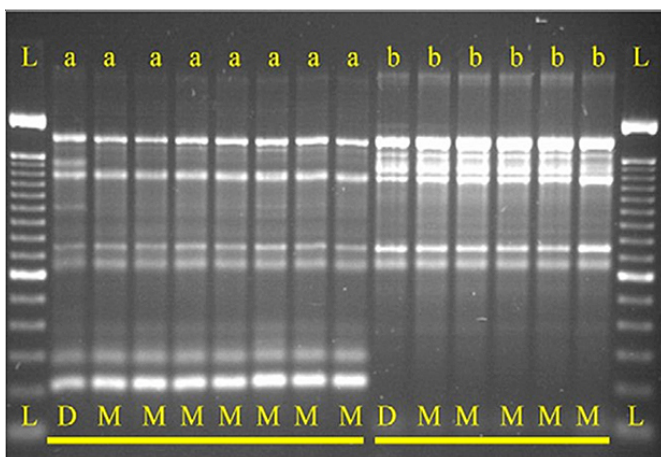


Figura 7. Tipificación molecular de aislamientos de *Serratia* tanto de Teatdip (D) como de casos de mastitis (M) en dos granjas (a y b) (Zadoks et al. 2006).

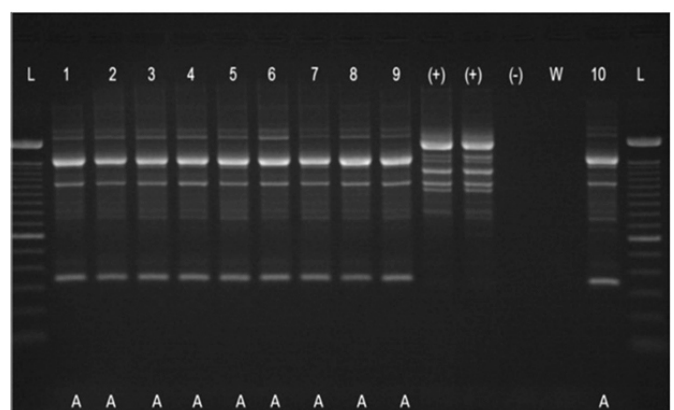


Figure 8. Tipificación molecular de 9 aislamientos de *S. uberis* de la misma granja de Nueva Zelanda mostrando evidencia la transmisión por contagio (Zadoks et al. 2003).

requiere una investigación ulterior.

En epidemiología genómica, se generan secuencias genómicas enteras y se comparan, tal como se hizo por ejemplo con el SARS-CoV-2. Este nivel de complejidad no es necesario para las investigaciones en mastitis, que pueden ser llevadas a cabo a menudo usando herramientas relativamente simples de biología molecular que incluyen PCR o el más lento antes método de oro de electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE). PCR amplifica el ADN bacteriano, PFGE lo corta. De las dos maneras, se genera un patrón similar a un código de barras, revelando si los aislamientos bacterianos de diferentes fuentes tienen la misma o distinta huella de ADN, sean de cuartos, vacas, y rodeos, o entre los animales y la ordeñadora, cama, fecas, agua de bebida, teatdips y trapos, etc. (Gurjar et al. 2012). Muchos veterinarios de campo y clínicas podrían no tener acceso a esta tecnología en sus laboratorios, pero el trabajo científico para general esta evidencia ya fue realizado. Muestra que la mayoría de los patógenos de mastitis tales como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, y *Streptococcus uberis* pueden, todos ellos, “comportarse” como patógenos contagiosos, tanto como patógenos ambientales (Muellner et al. 2011). Su manifestación en una granja específica o aún en un país dependerá de la combinación de la cepa de patógeno y el manejo del rodeo. Por ejemplo *S. uberis* es casi exclusivamente ambiental en N. Zelanda (diferentes huellas de ADN en diferentes vacas), mientras que la mayoría de las mastitis clínicas en Inglaterra es el resultado de una transmisión contagiosa como se muestra en la Figura 8.

Si nosotros sugerimos que la higiene del ordeño o el teat dipping no es una prioridad cuando ellos tienen mastitis por *S. uberis* en el rodeo, estamos agravando el problema. Aún *Streptococcus agalactiae* descrito desde hace mucho como “patógeno obligado intramamario”, puede provenir de fuentes ambientales, incluyendo fecas humanas o bovinas. Varias publicaciones describen que los problemas por *S. agalactiae* podrían ser controlados solamente al considerarlos como un problema de mastitis ambiental. Presentando algunos ejemplos descritos en esta presentación, se espera que un número creciente de veterinarios estén deseosos de confrontar el paradigma contagioso versus ambiental con la evidencia de la epidemiología molecular y abrir sus mentes ante el hecho de que muchas especies bacterianas son más sofisticadas que el pensamiento dicotómico.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El control de las enfermedades infecciosas en los establecimientos lecheros ha ganado en importancia en los años recientes. Preocupaciones con relación a las enfermedades zoonóticas, bienestar animal y reducción del uso de antimicrobianos en su conjunto, confluyen en una necesidad creciente de mejora continua de la salud animal y reducción o eliminación de las enfermedades infecciosas de los establecimientos lecheros. Importantes cambios en la biología, diagnóstico, manejo y tratamiento de la mastitis bovina en la década reciente culminaron en una comprensión abrumadoramente diferente de las infecciones intramamarias y el tratamiento y prevención de estas infecciones. Empleando tanto la modelación matemática y los métodos de diagnóstico molecular, las rutas de transmisión pueden ser estudiadas. Los programas de control deberían estar basados en evidencia científica confiable y muchos países han demostrado que un control exitoso es realista en granjas, regiones y países.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bassett J, Gethmann J, Blunk P, Conraths FJ, Hövel P. Individual-based model for the control of Bovine Viral Diarrhea spread in livestock trade networks. *J Theor Biol.* 2021 Oct 21;527:110820
- Booth RE, Thomas CJ, El-Attar LM, Gunn G, Brownlie J. A phylogenetic analysis of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) isolates from six different regions of the UK and links to animal movement data. *Vet Res.* 2013 Jun 19;44(1):43.
- Chapagain PP, van Kessel JS, Karns JS, Wolfgang DR, Hovingh E, Nelen KA, Schukken YH, Grohn YT. A mathematical model of the dynamics of Salmonella Cerrro infection in a US dairy herd. *Epidemiol Infect.* 2008 Feb;136(2):263-72.
- Gurjar A, Gioia G, Schukken Y, Welcome F, Zadoks R, Moroni P. Molecular diagnostics applied to mastitis problems on dairy farms. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2012 Nov;28(3):565-76.
- Hodnik JJ, Acinger-Rogić Ž, Alishani M et al. Overview of Cattle Diseases Listed Under Category C, D or E in the Animal Health Law for Which Control Programmes Are in Place Within Europe. *Front Vet Sci.* 2021 Jul 30;8:688078.
- Maya L, Puentes R, Reolón E, Acuña P, Riet F, Rivero R, Cristina J, Colina R. Molecular diversity of bovine viral diarrhoea virus in Uruguay. *Arch Virol.* 2016 Mar;161(3):529-35.
- Mitchell RM, Beaver A, Knupfer E, Pradhan AK, Fyock

T, Whitlock RH, Schukken YH. Elucidating Transmission Patterns of Endemic *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis Using Molecular Epidemiology. *Vet Sci*. 2019 Mar 20;6(1):32.

Mitchell RM, Whitlock RH, Gröhn YT, Schukken YH. Back to the real world: connecting models with data. *Prev Vet Med*. 2015 Feb 1;118(2-3):215-25.

Muellner P, Zadoks RN, Perez AM, Spencer SE, Schukken YH, French NP. The integration of molecular tools into veterinary and spatial epidemiology. *Spat Spatiotemporal Epidemiol*. 2011 Sep;2(3):159-71.

Nigsch A, Robbe-Austerman S, Stuber TP, Pavinski Bitar PD, Gröhn YT, Schukken YH. Who infects whom?-Reconstructing infection chains of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis in an endemically infected dairy herd by use of genomic data. *PLoS One*. 2021 May 13;16(5):e0246983.

Stalder H, Hug C, Zanoni R, Vogt HR, Peterhans E, Schweizer M, Bachofen C. A nationwide database linking information on the hosts with sequence data of their virus strains: A useful tool for the eradication of bovine viral diarrhea (BVD) in Switzerland. *Virus Res*. 2016 Jun 15;218:49-56.

Zadoks RN, Middleton JR, McDougall S, Katholm J, Schukken YH. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2011 Dec;16(4):357-72.

Zadoks RN, Schukken YH. Use of molecular epidemiology in veterinary practice. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2006 Mar;22(1):229-61.

Zadoks RN, Gillespie BE, Barkema HW, Sampimon OC, Oliver SP, Schukken YH. Clinical, epidemiological and molecular characteristics of *Streptococcus uberis* infections in dairy herds. *Epidemiol Infect*. 2003 Apr;130(2):335-49