

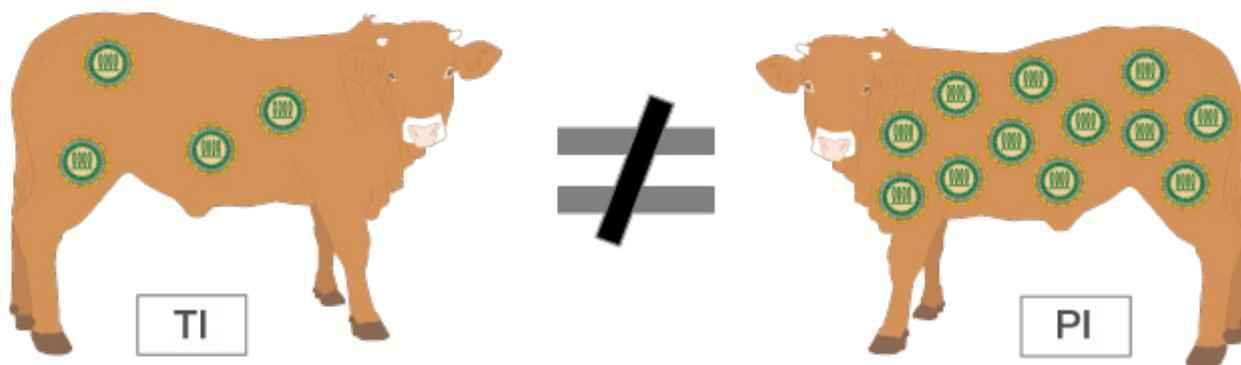
Diagnóstico dependiendo de casos concretos

Diagnóstico de la infección aguda

Dado que los signos clínicos asociados con la infección aguda por el virus de la BVD suelen ser leves, el propósito de diagnosticar la infección aguda en un individuo suele ser el de determinar:

1. Si una hembra preñada corre el riesgo de parir un ternero PI.
2. Si una infección es secundaria a una inmunosupresión asociada al virus de la BVD.
3. Si la pérdida reproductiva es consecuencia de la infección aguda por el virus de la BVD.

El desarrollo de protocolos de RT-PCR cuantitativa (Bhudevi and Weinstock, 2001) para la detección del virus de la BVD puede ofrecer la posibilidad de distinguir entre infecciones agudas e infecciones persistentes en función de la cantidad de virus presente.



Alternativamente la ausencia de virus en una muestra consecutiva recogida como mínimo 19 días después confirmará una infección aguda (Meyling et al., 1990).

Un animal con infección aguda deberá volverse seropositivo para los anticuerpos específicos contra el virus de la BVD en dos a tres semanas después de la infección. Por consiguiente, puede utilizarse la determinación de anticuerpos (por ejemplo, ELISA) varias semanas después de la prueba inicial para distinguir entre infección aguda e infección persistente en animales con resultados positivos en la RT-PCR.

Alternativamente pueden bastar determinaciones pareadas de anticuerpos antes y después de la infección que demuestren una elevación de la concentración de Ac para confirmar la existencia de una infección aguda.

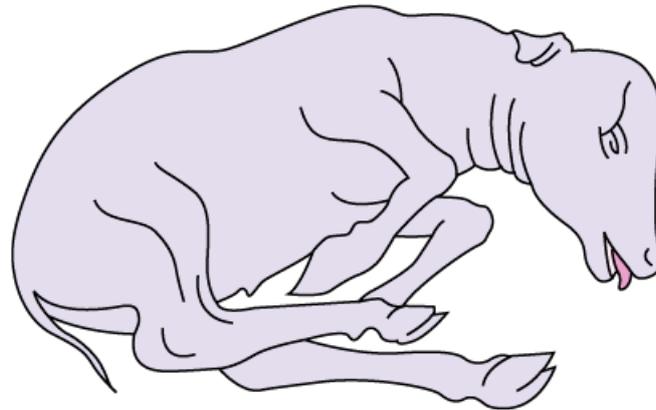
Sin embargo, suele ser difícil obtener muestras antes de la infección o muestras recogidas durante el periodo de viremia aguda. Por consiguiente, la determinación seriada de anticuerpos después de la infección puede ser el método más común de detección de infección aguda: una elevación de la concentración de anticuerpos, demostrado mediante neutralización vírica (NV) o Ac ELISA, lo que sugiere una infección aguda en las 10 a 12 semanas anteriores (Lambot et al., 1997; Fredriksen et al., 1999).

Diagnóstico de malformaciones fetales

Si las lesiones inducidas por la infección del virus de la BVD son graves, el feto morirá y se producirá un aborto (Brownlie et al., 1998). Otros fetos pueden sobrevivir y nacer con diversas malformaciones dependiendo del tejido afectado.

La demostración de la presencia del virus de la BVD en cualquier tejido de los fetos o terneros afectados mediante aislamiento del virus, IHC (Ellis et al., 1995; Njaa et al., 2000), Ag ELISA del líquido o piel fetal y PCR del líquido fetal (Hyndman et al., 1998) confirmarían la infección fetal por el virus de la BVD.

Cuando la infección se adquiere después de 150-180 días de gestación, el feto es capaz de producir una respuesta inmunitaria eficaz y eliminar el virus, y el ternero nacerá con Ac frente al virus y ausencia de virus o Ag (Hansen et al., 2010). Por consiguiente, las pruebas de NV o Ac ELISA serán positivas en esos animales antes de la ingesta del calostro.



La demostración de virus o anticuerpos en fetos abortados o en serología pre-calostroal en terneros confirmará la infección fetal.

Diagnóstico de aborto o fallo reproductivo

Investigar si el fallo reproductivo se debió a la infección por el virus de la BVD requeriría la demostración de seroconversión de la madre durante las primeras etapas de la gestación. Muestras sanguíneas seriadas de la madre con una diferencia de cuatro a seis semanas (utilizando una prueba de neutralización del suero o Ac ELISA para demostrar un aumento de los anticuerpos después de la infección) indicarían una infección aguda; sin embargo, el aborto de un feto PI induce la disminución de la concentración de anticuerpos (Brownlie et al., 1984) lo que hace difícil interpretar sus valores. También sería necesario conocer la historia vacunal para interpretar los títulos de anticuerpos.

Si bien es difícil diagnosticar de manera concluyente que el virus de la BVD sea la causa directa del fallo reproductivo, debe reconocerse el virus como un factor contribuyente significativo a la enfermedad reproductiva. Cuando se sospecha del virus de la BVD en casos concretos está justificada la valoración a nivel de rebaño.



Si se produce aborto y puede recuperarse el feto, pueden realizarse pruebas para el diagnóstico de infección fetal en la piel o líquidos fetales.

Diagnóstico de animales PI

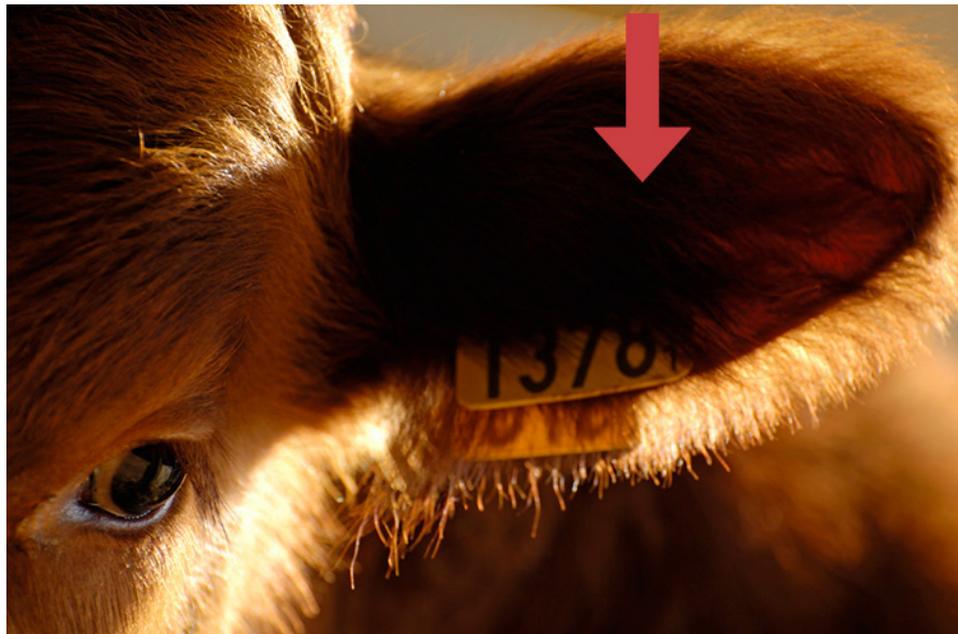
Debido a la carga vírica excepcionalmente elevada de los animales PI, la detección de adultos PI es bastante sencilla con diversas pruebas diagnósticas, como el aislamiento del virus, la IHC, la RT-PCR y el Ag ELISA, que consiguen una excelente sensibilidad y especificidad cuando se utilizan para este propósito (Saliki et al., 2000; Kim and Dubovi, 2003).

Si el rendimiento fuera comparable, el método preferido sería el Ag ELISA ya que es sustancialmente más barato que el aislamiento del virus o la RT-PCR para analizar a un individuo y es menos laborioso que la IHC.

Sin embargo, cuando se intenta diagnosticar PI en terneros jóvenes alimentados con calostro, la eficacia del Ag ELISA es cuestionable: se han comunicado resultados positivos y negativos (Shannon et al., 1991; Shannon et al., 1993; Brinkhof et al., 1996; Bock et al., 1997; Zimmer et al., 2004).

De igual forma se ha comunicado que la presencia de anticuerpos maternos inhibe las pruebas de aislamiento de virus (Zimmer et al., 2004). La interferencia de los anticuerpos maternos tiene un efecto mucho menor en la RT-PCR (Horner et al., 1995; Zimmer et al., 2004). Por consiguiente, la RT-PCR es el método de diagnóstico preferible para este propósito.

En los últimos años cada vez es más frecuente un nuevo enfoque de recogida de muestras, es decir, las muescas en la oreja (Driskell and Ridpath, 2006), combinando el muestreo para la determinación del virus de la BVD con los procedimientos habituales del crotalado de la oreja (Kuhne et al., 2005). Estas pequeñas muestras de biopsia cutánea (muestras de la oreja), pueden analizarse mediante Ag ELISA, IHC, aislamiento de virus o RT-PCR (Cornish et al., 2005; Kuhne et al., 2005; Kennedy, 2006).



Los sobrenadantes de las muestras de oreja pueden combinarse con éxito para el ensayo mediante RT-PCR (Kennedy, 2006). Se cree que los sobrenadantes de las muestras de muestras de oreja pueden analizarse mediante Ag ELISA sin interferencia por parte de los anticuerpos maternos en los terneros PI alimentados con calostro (Kuhne et al., 2005); sin embargo, ya que los datos recientes cuestionan la exactitud de algunas de esas pruebas en los primeros 90–158 días (Fux and Wolf, 2013), deberían realizarse las pruebas en los terneros antes de la ingesta del calostro o después de que hayan desaparecido sus efectos. La realización de muestras en las orejas es un método cómodo de recogida de muestras que pueden llevar a cabo los ganaderos, lo que lo convierte en una opción atractiva para la detección de PI.

Diagnóstico de la enfermedad de las mucosas

Para confirmar un diagnóstico de enfermedad de las mucosas, primero debe confirmarse el estado de PI, como se acaba de describir.

Con el fin de confirmar virológicamente la enfermedad de las mucosas, deben aislarse del animal afectado virus cp y ncp de la BVD. Por lo tanto, es necesario el aislamiento de ambos biotipos del virus en el animal afectado.

Sin embargo, la identificación de PI en combinación con las lesiones patológicas de la enfermedad de las mucosas se considera suficiente para confirmar el diagnóstico en la mayoría de los casos.

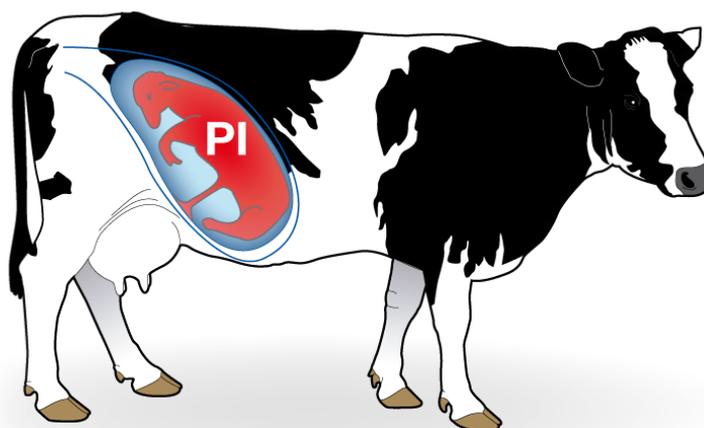
Diagnóstico de las “vacas troyanas”

Una vaca no PI portadora de un feto PI se conoce coloquialmente como una “vaca troyana”.

Más sobre las “vacas troyanas”

En esos casos la madre parece inmune al virus de la BVD y sana, y por tanto de bajo riesgo, mientras que, de hecho, es portadora de una potente fuente de virus infecciosos en el feto nonato. Sin embargo, estos animales representan en realidad un riesgo epidemiológico: una vez nacido el ternero, diseminará grandes cantidades del BVDV y representa una presión infecciosa muy elevada.

Observaciones previas han demostrado que durante las etapas intermedias o tardías de la gestación las vacas troyanas tienen niveles de anticuerpos significativamente superiores que las vacas seropositivas que son portadoras de terneros sanos (Brownlie et al., 1998; Lindberg and Alenius, 1999). Lo más probable es que esta elevada concentración de anticuerpos sea consecuencia de un desafío antigénico continuo de la vaca.



Las pruebas diagnósticas actuales identificarán a una vaca troyana como negativa para el virus y positiva para los anticuerpos, y no podrá diferenciarse de un animal inmune portador de un ternero sano. Aunque se sabe que las vacas troyanas tienen niveles muy elevados de anticuerpos (Brownlie et al., 1998; Lindberg et al., 2002), la utilización de las concentraciones de anticuerpos para distinguir las vacas troyanas de las vacas portadoras de terneros sanos ha dado sólo resultados moderados.

Un método alternativo para detectar vacas troyanas es el análisis del líquido amniótico o alantoideo recogido a través de punción intrauterina para determinación de antígenos víricos (Lindberg et al., 2002; Stokstad et al., 2003). Sin embargo, el método requiere sedación y anestesia local (Lindberg et al., 2002), y es un procedimiento veterinario probablemente caro. Además, hay riesgos asociados con dicho procedimiento de muestreo (Lindberg et al., 2002). Estos factores hacen que la prueba sea poco práctica para una aplicación de campo generalizada y es poco probable que sea aceptada de modo general.

En la actualidad, la determinación del virus en los terneros al poco de nacer sigue siendo la forma más práctica de evaluar el estado neonatal con respecto al virus de la BVD.