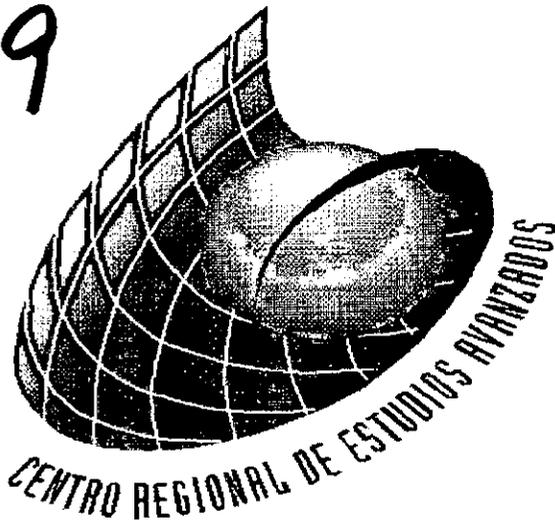


014.12244 LINEA 4 L

42499

F 29

I



GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE SAN LUIS

PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE LA
CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
INFORME FINAL

EXPERTO: M. V PAULA FRIGERIO.

COLABORADORES: T C. QCA. ILLIANA PÉREZ MOYANO.

SEC. EJEC. MARIA MARCELA MUGNAINI.

SUPERVISION: DRA. ROSA I. ANTON.

2000



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



LINEA 1 - LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL.

CAPITULO 1. GENERALIDADES. DESCRIPCIÓN.

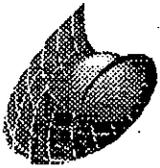
TAREA 1 BRUCELOSIS DIAGNÓSTICO.

Durante los meses de septiembre, octubre, noviembre y diciembre, se analizaron 24 sueros ovinos y 135 caprinos, analizados con las técnicas de BPA y Rosa de Bengala. Las muestras pertenecen a productores de Planes productivos de la Provincia.

En el mes de diciembre, entre los días 11 y 13 se realizaron las pruebas de proficiencia, fiscalizadas por profesionales de SENASA San Luis, con sueros enviados por el laboratorio de Bacteriología de SENASA central; estas pruebas fueron aprobadas por lo que el Laboratorio del CREACyT vuelve a estar habilitado y formar parte de los Laboratorios de Red, bajo el código L - 223, posibilitando la participación del laboratorio en el Plan Nacional de Control y Erradicación de Brucelosis Bovina.

Participé en diversas reuniones de COPROSA San Luis y de la Comisión Técnica de Brucelosis de la Provincia.

A partir del 1/6/2000 los productores provinciales deben iniciar con el cumplimiento de las tareas de saneamiento dispuestas por el Plan Provincial de Brucelosis a probado durante el mes de Marzo por la Comisión técnica de SENASA Central y conforme a esto, se comenzó a recibir un gran número de muestras que son procesadas por la Directorá Técnica del Laboratorio del



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



CREACyT.

Entre el 29 de Mayo y el 9 de junio se recibieron y procesaron 540 muestras de Bovinos y 159 caprinas.

Las muestras de la especie caprina, pertenecen a un productor de la provincia que está iniciando en la producción y presentó problemas de aborto, junto a personal de Microemprendimientos estamos trabajando en el diagnóstico de esta problemática.

En cuanto a la tarea de difusión del Laboratorio se enviaron cartas a los Centros Ganaderos de la provincia y a los Veterinarios Acreditados que trabajarán en el saneamiento de los rodeos. Las cartas corresponden a las que se presentan en el Anexo. Se publicó en el Diario local una nota informativo y de presentación del Laboratorio. Ver Anexo.

También se desarrollaron los Protocolos de Muestreo y de Diagnóstico con los que trabajará el Laboratorio. Ver Anexo.

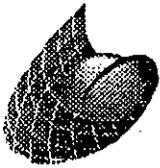
TAREA 2 TRIQUINELOSIS.

Introducción.

Los cerdos adquieren esta parasitosis a través de la ingestión de larvas de *Trichinella spirallis*.

La aparición y mantenimiento de la parasitosis en los criaderos está determinada por:

- ◆ la alimentación de los cerdos con basuras y/o descartes de mataderos,



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



- ◆ la presencia de roedores en el criadero,
- ◆ el fácil acceso de los cerdos a los basurales,

Una vez ingerido el alimento parasitado, por la acción de los jugos gástricos del estómago, la carne y las cápsulas que envuelven a las larvas se digieren, por lo que las larvas continúan con su desarrollo, crecen rápidamente y en 2 a 3 días llegan al estado adulto, con diferenciación sexual.

En el intestino del cerdo se produce la cópula; los machos son eliminados al exterior y las hembras se instalan en la mucosa del intestino del huésped y comienza la larviposición o sea el nacimiento de gran cantidad de larvas. El período de postura de larvas dura aproximadamente 1 mes y una vez finalizado las hembras adultas también son eliminadas al exterior.

Una hembra adulta puede provocar el nacimiento de alrededor de 1400 larvas, muchas de las cuales son expulsadas al exterior (con la materia fecal), la mayoría de las larvas atraviesa la mucosa del intestino y por vía linfática o por sangre son transportadas a todo el organismo e invaden diferentes estructuras, y terminan por localizarse en los músculos esqueléticos estriados.

Una vez que las larvas arribaron al músculo del huésped, se inicia la formación de la cápsula, en la que la larva puede sobrevivir hasta 7 años. La estructura de la fibra muscular estriada difiere de la normal, pierde estriaciones y ahora se denomina **célula nodriza**.

Puede ocurrir que sobre la cápsula y sobre la zona central de la misma se



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



depositen sales de calcio, lo cual suele llevar a la muerte de la larva.

Características del parásito.

Se localiza en el intestino delgado de los hombres, cerdo, rata y otros muchos mamíferos. Las aves se han infectado experimentalmente.

Es cosmopolita en Asia, Africa y América del Sur.

Clasificación zoológica:

Clase: Nematoda

Subclase: Adenophorea (Aphasmodia)

Orden: Enoplida

Superfamilia: *Trichuroidea*

Familia: *Trichinellidae*

Género: *Trichinella*

Especie: *Trichinella spiralis*.

El macho mide 1.4 a 1.6 mm y la hembra 3 a 4 mm.

El cuerpo es delgado, la porción esofágica es más larga que la posterior.

El extremo terminal del macho posee un par de mamelones copulatorios a cada lado del orificio cloacal, con dos pares de papilas detrás de los orificios cloacales. No poseen espícula ni vaina.

La vulva está situada cerca de la región esofágica.

Los huevos miden 40 a 30 μm y contienen embriones completamente desarrollados cuando están en el útero de la hembra.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

**LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO**

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Ciclo biológico.

El ciclo se inicia cuando un hospedador definitivo ingiere las larvas enquistadas en los músculos. Las larvas se liberan en el estómago por los procesos digestivos, y completan las dos primeras mudas mientras que la cuarta muda se realiza en el intestino delgado del hospedador.

El desarrollo al estado adulto es rápido, completándose en cuatro días.

Luego de la cópula, los machos mueren y las hembras penetran en la mucosa del intestino, a través de las glándulas de Lieberkühn. Algunas pueden alcanzar los espacios linfáticos. Allí, producen los huevos que eclosionarán dentro del útero.

La longevidad de la hembra no se conoce con certeza, probablemente se encuentren pocas en el intestino luego de 5 a 6 semanas de haber ingresado.

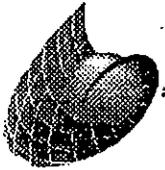
La permanencia de las larvas en el intestino del hospedador no se conoce y depende del huésped dónde se encuentren.

Una vez que un hospedador ingiere alimento parasitado ocurre lo siguiente:

La larva L1 (de 0.1 mm), penetra en los conductos linfáticos y por el conducto torácico, llega a la vena cava, alcanzando la circulación general, distribuyéndose a todo el organismo.

El desarrollo continúa en los músculos estriados voluntarios, principalmente, diafragma, lengua, laringe, ojo y músculos masticadores e intercostales.

También se han encontrado en hígado, páncreas y riñón.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Una vez que la larva penetra en las fibras musculares estriadas, se rodea de una cápsula que se forma a partir de la fibra muscular, hay una diferenciación de la estructura de la fibra muscular. Ahora se denomina **célula nodriza**; colabora con la nutrición de la larva y con el manejo de los productos de desecho.

El núcleo de la célula infestada aumenta de tamaño, hay incremento del material nucleolar; aumenta el número de mitocondrias, que son más pequeñas que las de la fibra normal. Los miofilamentos desaparecen y hay una marcada proliferación del retículo endoplásmico rugoso (RER); alrededor de los 10 días de infestación la membrana plasmática externa está muy aumentada de tamaño y aumenta notablemente el volumen del glicocalix, una membrana doble derivada del hospedador rodea completamente a la larva. En este medio, la larva crece rápidamente. Pasados 30 días, la larva mide entre 800 y 1000 μm de largo y ya ha comenzado a arrollarse dentro de la célula. La cápsula, hacia los dos a tres meses, mide 0.4 a 0.6 x 0.25 mm. La calcificación comienza pasados los 6 a 9 meses, la larva puede vivir en el interior de esta cápsula durante varios años.

En los quistes la larva no puede seguir su desarrollo, sino que debe esperar a que la carne de su primer huésped sea ingerida por otro hospedador. En éste segundo hospedador las larvas se liberan de los quistes por los jugos gástricos y crecen en el intestino hasta el estado adulto, comenzando la puesta



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



de larvas a los 6 a 8 días.

Epidemiología.

Los ciclos pueden ser selváticos o sinantrópico- zoonótico independientes.

En el ciclo selvático intervienen carnívoros de vida libre tales como zorros y jabalíes, que mantienen la infección y transmiten la enfermedad. No hay que descartar la aparición de casos de triquinosis humana a través del consumo de carne de jabalí cruda o mal cocida.

El ciclo sinantrópico- zoonótico se presenta primariamente en cerdos y ratas; pueden participar perros, gatos y el hombre. También se han asociado brotes de triquinosis con caballos, ya que los equinos pueden infestarse a través de la ingestión de alimento contaminado con residuos de ratas contaminadas.

Patogenia y signos clínicos en el hombre.

Esta parasitosis es de gran importancia en la medicina humana.

Las formas intestinales pueden producir cierto grado de irritación y provocar enteritis aguda en infestaciones intensas.

Los efectos patógenos más importantes son los producidos por las larvas musculares, que, en infestaciones intensas pueden provocar la muerte, especialmente por la parálisis de los músculos respiratorios.

Los **signos clínicos** que acompañan a la triquinosis son muy variables, y hay que realizar diagnóstico diferencial con otras enfermedades; los signos incluyen diarrea, fiebre, dolor retroperitoneal, rigidez y dolor muscular, disnea,



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



carraspera, edema faríngeo, de los párpados y sordera.

Suele haber una marcada eosinofilia, característica de las parasitosis.

Los signos clínicos se presentan alrededor de la cuarta semana de infestación, cuando comienza a disminuir la producción de huevos y las larvas empiezan a enquistarse.

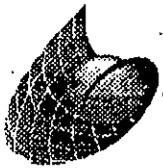
En la población humana los brotes, generalmente se presentan como brotes epidémicos, cuando un grupo de personas ingiere carne triquinelosa, sin cocinar o mal cocida, de cerdo o cualquier otro hospedador.

Prevención y control

La triquinelosis humana se disemina principalmente por el cerdo. Este animal se infesta, generalmente por desperdicios crudos que contienen resto de carne triquinelosa. Los cerdos alimentados a grano presentan baja incidencia de esta parasitosis. La prohibición de alimentar a los cerdos con restos alimenticios o las normas que obligan a cocer los restos destinados a los cerdos, contribuyen a disminuir la incidencia de la triquinelosis.

El hombre adquiere generalmente la infestación mediante el consumo de carne de cerdo, embutidos o chacinados crudos o mal cocidos. El embutido casero es especialmente importante.

La carne debe cocerse a 58°C en su totalidad. Las larvas mueren por congelación a -25°C durante 20 días, pero la salazón y el ahumado no son métodos confiables para eliminar las larvas de la carne porcina.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Gould y col.(1962) demuestran que la radiación gamma es un buen método de esterilización de la carne y ésta mantiene su sabor.

TAREA 3. Parasitología.

Se recibieron 10 muestras de materia fecal caprina para analizarlas según las técnicas de flotación y observación microscópica.

Tarea 4 LEUCOSIS VIRAL BOVINA (LVB), LINFOSARCOMA BOVINO O LEUCOSIS ENZOOTICA BOVINA.

Es una enfermedad neoplásica, maligna, de alta mortalidad; afecta al sistema reticuloendotelial de los bovinos; se caracteriza por la aparición de cúmulos de linfocitos neoplásicos en casi todos los órganos, los signos clínicos varían dependiendo de la ubicación de los cúmulos neoplásicos.

La enfermedad asume varias formas:

- Leucosis viral bovina enzoótica, es la forma más común en animales adultos.
- Forma esporádica, afecta a los animales menores de 3 años y que a su vez incluye las siguientes formas:

(a) Juvenil, afecta a menores de 6 meses de edad, se caracteriza por el aumento de tamaño de múltiples ganglios linfáticos.

(b) Tímica, en animales menores de 2 años, caracterizada por hinchazón del cuello, provocando timpanismo y edema.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



(c) Cutánea, en bovinos entre 1 y 3 años caracterizada por la aparición de nódulos y placas en la piel.

- Linfocitosis persistente, es el proceso linfoproliferativo benigno.

Etiología.

Leucosis viral bovina enzootica y linfocitosis persistente.

Es causada por un retrovirus del género *Oncornavirinae*, identificado como "virus de la leucemia bovina". Morfológicamente es similar a los virus causales de leucemia del resto de las especies domésticas. Crece en cultivos tisulares; produce anticuerpos específicos en terneros y ovinos.

La infección por este virus no implica la presencia de linfosarcoma, ya que la mayoría de los animales infectados no presentan la enfermedad neoplásica. Aquellos que sí la sufren, tienen predisposición genética.

La linfocitosis persistente, que es otra de las formas benignas de la enfermedad, también está influida genéticamente en su manifestación.

Leucosis bovina esporádica.

No se dispone de información certera acerca de esta enfermedad. El virus no puede cultivarse, ni se detectan anticuerpos en los animales afectados por las formas juvenil, tímica o cutánea de la enfermedad. Los datos con los que se dispone, indican que el *Oncornavirinae* no participa en la enfermedad esporádica.

Epidemiología.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

**LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO**

**COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini**

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



La enfermedad no se propaga con gran rapidez y el número de animales de un rodeo positivo a la prueba de AGID (inmunodifusión en agar gel) suele ser pequeño. Sin embargo, en rodeos infectados el número de reactores, es elevado, cercano al 80%. La erradicación de la enfermedad, por medio de AGID u otras pruebas serológicas y el sacrificio de los reactantes positivos, se consigue rápidamente la erradicación de la enfermedad de los rodeos.

- Origen del virus de la leucosis viral bovina.

Los bovinos son los únicos animales que se infectan en forma natural; las ovejas y las cabras se pueden infectar experimentalmente. La infección no se extiende de bovinos a ovinos, aunque compartan el mismo potrero, ni lo hace en forma experimental entre ovinos infectados de los no infectados.

La transmisión horizontal de un linfosarcoma que se presenta en forma natural en los ovinos, se debe a un virus antigénicamente similar al virus de la leucemia bovina. Se considera que no hay transmisión horizontal del virus de la LVB de los bovinos a los ovinos.

En bovinos, la infección es permanente y no se ha demostrado la recuperación espontánea. Se debe a la localización del virus en los linfocitos en un estadio no manifiesto ni productivo, lo que causa incapacidad de formar anticuerpos para detener la infección. En cualquier caso la multiplicación del virus no es necesaria para la supervivencia o transmisión. Además de su localización, el virus es capaz de sufrir cambios antigénicos periódicos, para escapar de los



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON

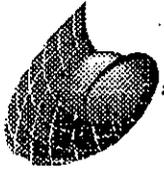


mecanismos de defensa del organismo. Esto significa que el animal infectado es fuente de infección durante largos períodos, quizás toda su vida, independientemente de la presencia de anticuerpos específicos. El sistema virus- hospedador es el mismo que en otros retrovirus, especialmente similar al de la AIE y el virus de Maedi- Visna de los ovinos (no existe esta enfermedad en nuestro país). La infección se produce cuando los animales mayores de 12 meses están en contacto estrecho con el virus.

La infección se logra rápidamente por la inyección subcutáneas o intradérmica del virus, también por infusión traqueal, la vía oral no actúa como vía de infección.

- Predisposición genética.

Existe tendencia familiar a contraer la enfermedad; hay pruebas preliminares que indican que la resistencia a la infección por el virus de la leucosis bovina (VLB) está determinado por factores genéticos. Existen pruebas firmes que una vez que la infección ha ocurrido, la aparición de la respuesta está determinada por la conformación genética del hospedador, la respuesta puede ser: sólo de anticuerpos, de anticuerpos con linfocitosis persistente o de anticuerpos con linfosarcoma con o sin linfocitosis persistente. Es probable que la resistencia genética a cualquiera de estas presentaciones pueda ser vencida por el estrés, períodos de funcionamiento inmunitario inadecuado o una gran dosis infecciosa del virus.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



- Transmisión del virus.

El virus está presente principalmente en linfocitos; también lo podemos encontrar en sangre, leche y masas tumorales. La mayor parte de los investigadores no lo ha descubierto en el semen y no se cree que la IA sea un medio de propagación del virus, salvo que el semen contenga linfocitos infectados, así como la transferencia embrionaria con embriones intactos; los embriones de hembras infectadas no han reproducido la enfermedad en la hembra receptora ni en el feto. Se ha recuperado el virus a partir de semen obtenido por la técnica del masaje. No se ha encontrado virus en saliva, pero sí en orina en forma intermitente. En lavados nasotraqueales se ha encontrado el virus sólo en el interior de las células y no como virus libre.

La transmisión natural ocurre principalmente en bovinos mayores del año y medio de edad, por lo general durante los meses de verano y probablemente participen insectos y murciélagos como vectores, a partir de linfocitos infectados en sangre entera. También ocurre la transmisión yatrogénica por sangre infectada que contamina el instrumental de trabajo como agujas hipodérmicas, hojas de bisturí, descornadores, cuchillos de castrar, pinzas para tatuar, usándolos primero en animales infectados y luego en sanos, sin ningún tipo de desinfección previa. También se puede transmitir el virus a partir de transfusiones y vacunas que utilicen sangre entera, como ser la de babesiosis y anaplasmosis.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



0,1 ml de sangre entera es suficiente para que se pueda transmitir el virus de un animal infectado a uno susceptible. También se puede transmitir el virus durante la prueba intradérmica de tuberculinización, si no se utiliza una aguja por animal.

La transmisión por leche es posible a partir del pasaje de linfocitos infectados a través del epitelio del intestino delgado durante las primeras horas de vida; sin embargo esta vía de transmisión es rara, posiblemente por la existencia de anticuerpos maternos en la leche.

Tal vez el 20% de las infecciones registradas deriven de la invasión y pasaje a través de la placenta. Muy pocos terneros son serológicamente positivos al nacimiento debido al bajo índice de infección en útero, pero adquieren los anticuerpos en forma pasiva a través del calostro.

La forma de propagación entre los animales, probablemente sea a través de los insectos, por lo tanto se requiere de un estrecho contacto entre los animales, ya que el virus no sobrevive por largo tiempo en el vector o sobre su superficie.

- Estadísticas de población.

Se calcula que la infección por el VLB sea del 20% en rodeos lecheros y la frecuencia relativa de la aparición de linfosarcoma es del 1 por mil. Los rodeos lecheros se infectan con mayor frecuencia que los de carne; hay mayor prevalencia en la aparición del linfosarcoma en rodeos de leche. Esto se debe al mayor contacto entre los animales y a la mayor edad promedio de los



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



animales en estos rodeos.

Todas las razas de bovinos son susceptibles a la infección; rara vez ocurre en animales menores de 2 años; la incidencia aumenta con la edad y al parecer la incidencia aumenta en los grandes rodeos.

- Otras especies.

El linfosarcoma ocurre en forma esporádica en todas las especies, pero la infección natural por el virus de la leucosis viral bovina sólo se ha demostrado en ovinos y cabras. No se ha demostrado la infección al hombre

En cerdos se ha descrito una leucosis enzoótica de carácter hereditario, pero no se ha determinado si existe relación con la de los bovinos. La heredabilidad está determinada por una carácter autosómico recesivo.

Patogenia.

- El virus y la lesión.

Luego de la exposición al virus, existen cuatro resultados posibles:

1. Que el animal no sufra infección, probablemente por resistencia genética;
2. Que se establezca una infección permanente y aparezcan niveles de anticuerpos detectables. Estos animales son portadores latentes de la infección.
3. Que se establezca una infección permanente y el animal reaccione como seropositivo, sufre linfocitosis persistente y un proceso linfoproliferativo benigno. No es una fase preclínica de linfosarcoma.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

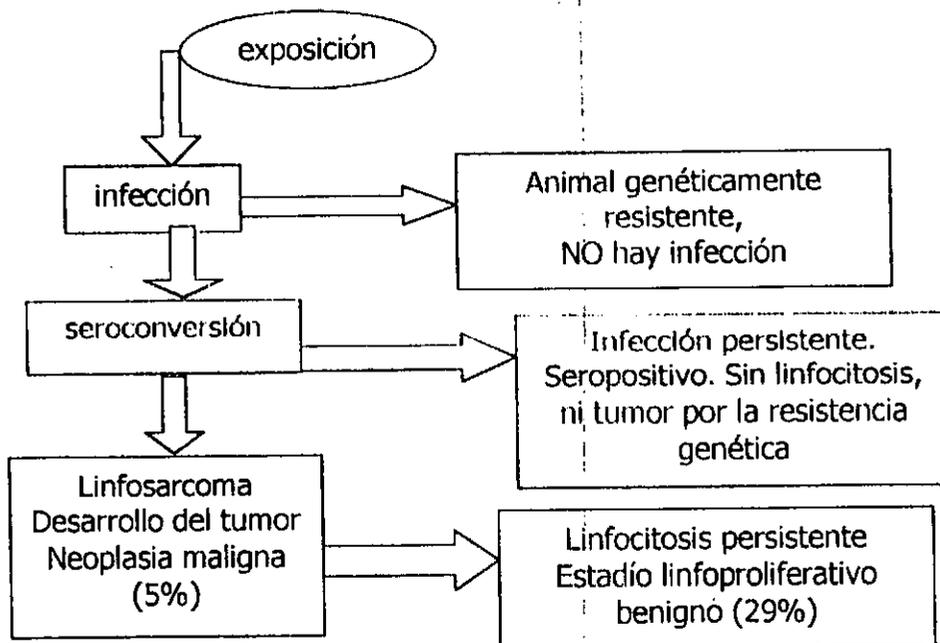
**LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA. ROSA ANTON**



4. Que el animal se infecte, sea seropositivo, presente o no una fase de linfocitosis persistente y que sufra tumores malignos neoplásicos o linfosarcoma.

El hecho que el animal se infecte o no y presente cualquiera de las formas de la enfermedad, está determinado por la constitución genética del receptor. El tipo de manifestación también está influenciado por el estado inmunitario del animal y por la dosis infectante de virus. Aproximadamente el 80% de los animales que sufren la forma adulta de la enfermedad manifiestan una depresión importante de Ig M, debido a la deficiencia en su producción en el bazo y ganglios linfáticos.

La linfomatosis es una neoplasia del sistema reticuloendotelial, nunca es benigna y el ritmo de aparición de las lesiones es individual, por lo que el curso puede ser bastante breve o durar varios años.





**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Probabilidades luego de la infección por el virus de la LVB .

- La lesión y la enfermedad clínica.

En los bovinos adultos, la mayoría de los órganos pueden presentar lesiones, generalmente se localizan en abomaso, corazón y ganglios linfáticos tanto periféricos como viscerales. En terneros las lesiones asientan principalmente ganglios linfáticos viscerales, bazo e hígado. Los síntomas clínicos van a depender del órgano más afectado.

Cuando las lesiones asientan en el abomaso, el síndrome consiste en trastornos gastrointestinales con diarrea persistente.

Si se afecta la pared auricular, se presenta insuficiencia cardíaca congestiva.

La afección de las meninges y nervios raquídeos, trae parálisis gradual del tren posterior. En el tejido nervioso la lesión primaria se origina en las raíces de los nervios periféricos y avanza a lo largo de estos, involucrando meninges y médula espinal.

Otras localizaciones frecuentes son genitales, tejido periorbital y piel. En la forma cutánea aparece engrosamiento intradérmico persistente, sin causar



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliانا Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



discontinuidad del epitelio. Este engrosamiento está formado por cúmulos de linfocitos neoplásicos. La participación de los ganglios mediastínicos puede provocar la obstrucción del esófago en terneros.

Generalmente los tumores constan de cúmulos de linfocitos neoplásicos, aunque en muchos casos puede describirse como un reticulosarcoma, para ser más exactos. Los tumores son de carácter maligno con tendencia a las metástasis. El cuadro sanguíneo es variable, y en general se describe como un aumento de linfocitos circulantes con abundante presencia de linfocitos inmaduros en la mayoría de los casos se comprueba una anemia de grado variable.

- Manifestaciones clínicas

En los bovinos adultos se reconocen dos formas de la enfermedad. Las describiremos como entidades separadas:

Linfosarcoma bovino.

Leucosis bovina.

1) Linfosarcoma bovino.

Se caracteriza por la formación de *linfosarcoma multicéntrico en animales adultos*; los tumores se desarrollan con rapidez, esto acompaña la variedad de los signos y síntomas clínicos.

Frecuencia de aparición de los signos clínicos (sobre 1100 casos analizados):

Signos	%
Pérdida de peso	80



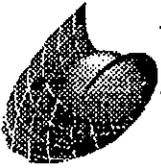
**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Menos leche	75
Linfoadenopatía externa	60
Disminución del apetito	50
Linfoadenopatía interna	45
Paresia posterior	40
Fiebre	25
Afecciones respiratorias	15
Exoftalmos bilateral	13
Diarrea	10
Estreñimiento	8
Exoftalmos unilateral	7
Alteraciones cardiovasculares	5

El período de incubación es de 4 a 5 años, o por lo menos la enfermedad tiende a ocurrir 4 o 5 años después del ingreso del caso original o de transfusiones de sangre de animales menores de 2 años, es más frecuente entre los de 4 y 8 años de edad. Ocurre primero linfocitosis sin signos clínicos, rara vez antes de los 2 años. Muchas veces permanecen en esta etapa preclínica durante muchos años, generalmente durante toda la etapa productiva, disminución en la producción, en cierta proporción de animales aparece la enfermedad clínica. Los síntomas y la duración del padecimiento varían según el número y la importancia de los órganos afectados dependiendo de la velocidad de crecimiento de la masa tumoral.

Entre el 5 al 10% de los animales sufren una forma sobreaguda de la enfermedad que les provoca la muerte sin signos clínicos previos. La participación de las glándulas adrenales y la rotura de úlceras en el abomaso o un vaso sanguíneo importante afectado que provoca grandes hemorragias



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

**LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON**



internas, son algunas de las causas que provocan la muerte; los animales, en general, tienen un buen estado general.

La mayoría de los animales cursan la forma subaguda (1 semana) o crónica (varios meses) y los síntomas se inician con deterioro del estado general, pérdida del apetito, anemia y debilidad muscular. No siempre aumenta la frecuencia cardíaca, aunque el miocardio se vea lesionado; la temperatura es normal, a menos que el tumor tenga un crecimiento rápido y extenso, donde puede elevarse a 39,5 - 40°C. Las diferentes formas se describen por separado, pero en un mismo animal se pueden registrar combinaciones de todas. En muchos casos no se observa enfermedad clínica manifiesta por lo que no interviene el veterinario, hasta que no se produce una invasión extensa en el rodeo, o se presenta alta mortandad en el rodeo. Cuando se descubren los signos clínicos y el desarrollo del tumor, la muerte sobreviene en 2 a 3 semanas.

- Hipertrofia de los ganglios linfáticos superficiales.

Es un síntoma común y temprano que se observa en el 75 a 90 % de los casos. Suele acompañarse de diversas lesiones subcutáneas (hasta 1 cm de diámetro), localizadas a menudo en el flanco y periné. Estas lesiones cutáneas son , probablemente ganglios hemolinfáticos agrandados y no poseen valor diagnóstico de importancia, ya que se presentan frecuentemente sin otros signos aparentes de LVB. En otros casos estos signos pueden estar ausentes y estar



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



afectadas las vísceras. El aumento de volumen de los ganglios viscerales es frecuente, pero a menudo no produce síntomas, a menos que ejerzan presión sobre algún órgano, como intestinos o nervios. El aumento de tamaño de algunos ganglios linfáticos puede descubrirse por tacto rectal, especialmente en los ilíacos e inguinales profundos. En los casos avanzados se facilita el diagnóstico por la diseminación extensa al peritoneo y vísceras pelvianas.

En general, la hipertrofia de los ganglios es una manifestación común, aunque algunas vacas sólo presentan hipertrofia de algunos ganglios del periné o algún subcutáneo, como pueden ser los cefálicos y los submandibulares.

Los ganglios afectados se palpan lisos y elásticos y en las vacas lecheras notablemente visibles. Puede presentarse edema local. En algunos casos toda la superficie corporal está cubierta de masas tumorales de 5 a 11 cm de diámetro en el tejido subcutáneo.

- Lesiones del tubo digestivo.

Son lesiones frecuentes. Cuando está implicada la pared del abomaso, pierden el apetito y tienen diarrea persistente, semejante a la observada en la paratuberculosis; pueden presentar melena por la hemorragia de algunas úlceras. Las tumoraciones de los ganglios mediastínicos pueden producir meteorismo moderado a crónico.

- Lesiones cardíacas.

Generalmente corresponden a lesiones de la pared auricular derecha,



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

**LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON**



presentando insuficiencia cardíaca congestiva derecha, hidropericardio y disminución de los ruidos cardíacos a la auscultación, hidrotórax con disnea, ingurgitación de las venas yugulares y edema del pecho que puede llegar hasta el espacio intermandibular. Es frecuente el soplo sistólico y el pulso yugular asociado. A veces se comprueba hepatomegalia y la estasis portal es capaz de producir diarrea.

- Afección del sistema nervioso.

La linfomatosis neural suele manifestarse por comienzo de parálisis durante varias semanas. Hay debilidad manifiesta en los nudos de los animales durante la marcha., puede verse afectada una extremidad más que la otra. El animal tiene dificultad para levantarse hasta que ya no lo hace. Aún conserva la sensibilidad, pero el movimiento está limitado o ausente. Puede haber una zona de hiperestesia en el punto de la lesión, que generalmente radica en las últimas vértebras lumbares o primera sacra.

- Lesiones menos frecuentes.

Se incluye aumento de tamaño de los ganglios linfáticos retrofaríngeos, lo que puede causar ronquidos y disnea. A veces presentan lesiones clínicamente detectables en el tejido periorbital, provocando protrusión del globo ocular.

También pueden afectarse los músculos de los miembros, uréter, riñón y genitales. En el útero se detecta un agrandamiento nodular múltiple durante el examen rectal. Las lesiones periureterales llevan a la hidronefrosis, con



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



aumento difuso del tamaño de los riñones; los tumores que asientan en el tejido renal causan hipertrofia nodular. En ambos casos se observa uremia terminal que lleva a la muerte.

2) Leucosis bovina esporádica.

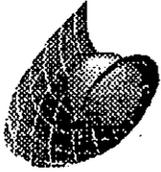
Se describen tres formas de presentación:

a) Forma cutánea.

Es la forma más común de presentación en los animales menores de 3 años. Es muy poco frecuente y se manifiesta por placas cutáneas de 1 a 5 cm de diámetro que aparecen sobre el cuello, dorso, grupa y muslos. Las placas están cubiertas por una costra blanquecino- grisácea gruesa, se cae el pelo de la zona. El centro de la placa se deprime y comienza a retraerse el nódulo. Después de semanas a meses crece el nuevo el pelo y desaparecen los nódulos y la hipertrofia de los ganglios periféricos. Suele haber recaída entre 1 y 2 años después con reaparición de las lesiones cutáneas y con signos de afección de los órganos internos, como en la forma enzoótica de la enfermedad.

b) Linfosarcoma juvenil o del ternero.

Se presenta en terneros de 2 semanas a 6 meses de edad, con pérdida gradual del peso y aumento del tamaño en forma repentina de todos los ganglios linfáticos, acompañado de depresión y debilidad. En menor grado puede presentarse fiebre taquicardia y paresia del tren posterior. La muerte



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



ocurre entre las 2 a 8 semanas de presentados los síntomas. Puede haber signos de compresión sobre órganos internos, incluyendo meteorismo e insuficiencia cardíaca congestiva. En algunos caso la enfermedad se desarrolla plenamente en el útero y el ternero nacido presenta tumores, pero puede que se manifiesten a los 2 años de edad

c) Forma clínica de los bovinos jóvenes.

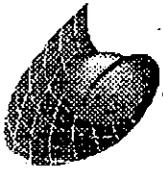
Es común encontrar infiltraciones en el timo de animales de 1 a 2 años de edad y presentan agrandamiento masivo del timo, con lesiones en médula ósea y ganglios linfáticos regionales. Todo esto origina congestión yugular, obstrucción respiratoria y edema local. Esta forma es más frecuente en rodeos de carne que en lecheros.

• Otras especies.

Se han observado brotes en ovinos, con síntomas clínicos, datos epidemiológicos, hematológicos y de necropsia similares a los de la leucosis bovina enzoótica.

No se ha demostrado que ocurra infección en otras especies por el virus de la leucosis viral bovina, pero se ha observado aparición epizoótica de linfosarcoma en cerdos y en casos esporádicos en caballos.

El cuadro clínico en cerdos es muy indefinido, se observa emaciación no específica, debilidad de las extremidades y anorexia. La forma enzoótica se presenta en lechones menores de 6 meses, se manifiesta por detención del



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



crecimiento, desarrollo abultado del vientre, aumento del tamaño de los ganglios linfáticos y linfocitosis e incluso aparición de células inmaduras.

En equinos, se presenta en animales mayores de 6 años de edad, con agrandamientos subcutáneos que pueden ulcerarse, hipertrofia de los ganglios linfáticos superficiales y profundos, ingurgitación de la vena yugular, irregularidad cardíaca, exoftalmos y anasarca. El curso puede ser agudo o crónico, pero la mayoría de los equinos afectados muere en término de 1 mes de aparecidos los síntomas.

Diagnóstico.

El diagnóstico antemorten depende del examen clinicopatológico del animal. Existe una gran variedad de técnicas disponibles, y es muy importante hacer la selección apropiada para la fase en particular de la enfermedad que se considere.

- ◆ El diagnóstico de infección viral se establece por técnicas virológicas o serológicas,
- ◆ La linfocitosis persistente se diagnostica por técnicas hematológicas,
- ◆ Los tumores neoplásicos se identifican por examen histológico de una muestra de biopsia.

Diagnóstico de la existencia de la infección por virus de la LVB.

El diagnóstico definitivo está basado en el cultivo tisular de células esplénicas de cordero, se inoculan con leucocitos del animal sospechoso; una alternativa



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON

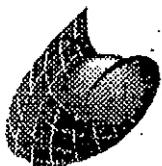


es la transmisión de la infección desde bovinos sospechosos a ovejas seronegativas. Si se demuestra que hay crecimiento, el virus se identifica por microscopía electrónica, o por la técnica de anticuerpos fluorescentes, análisis de inmunoabsorción ligada a enzimas, ELISA, radioinmunoanálisis, RIA, o análisis de infectividad sincitial. Debido a los costos del cultivo celular, lo que se intenta es un diagnóstico presuntivo, usando una prueba serológica. Esta prueba no deberá usarse si es posible que el animal sea positivo por un motivo diferente a la infección, por ejemplo, un ternero de corta edad que es aún seropositivo aún por los anticuerpos maternos adquiridos en el calostro. De todas las pruebas serológicas disponibles, las que se prefieren son las siguientes:

- Inmndifusión en agar gel, útil para ser utilizada a nivel rodeo, pero no es lo suficientemente exacta a nivel individual por el gran número de falsos positivos. Esta es la prueba reconocida internacionalmente como la prueba oficial para la importación de animales.
- Radioinmunoanálisis, es adecuado para la identificación individual de animales positivos por su exactitud.
- ELISA, es el de mayor sensibilidad; puede utilizarse en leche.

Es importante tener en cuenta la cronología de la seroconversión.

Los terneros de vacas infectadas tienen una posibilidad del 20% de sufrir infección intrauterina y ser seropositivos al momento del nacimiento. Si son



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



negativos al nacimiento, experimentan seroconversión durante la lactancia, a través de la inmunidad pasiva transmitida por el calostro. Estos terneros y los de vacas no infectadas, se convierten en positivos a una edad variable, según el momento en que entren en contacto con la infección, generalmente sucede cuando tienen contacto con animales adultos infectados; como regla general las reacciones positivas son poco frecuentes en bovinos menores de 2 años. La seroconversión suele ocurrir 3 o 4 meses después del primer contacto con los animales infectados, el intervalo es mayor en invierno que en verano. Los animales infectados son seropositivos y están infectados durante largos períodos, por lo general toda la vida.

Diagnóstico de linfocitosis persistente.

El principal cambio patológico en que se basa este diagnóstico es el recuento leucocitario; en los animales infectados hay un aumento del recuento de linfocitos y en especial de células inmaduras. El porcentaje de linfocitos en el recuento leucocitario total supera los niveles normales del 50%, y se considera que el 65% indica un diagnóstico positivo. También se considera que es una alteración significativa la presencia de 25% o más de células inmaduras atípicas en el recuento linfocitario total.

Si los animales sufren de linfosarcoma, la linfocitosis generalmente desaparece. Al microscopio electrónico, en los linfocitos circulantes se visualiza la presencia de sacos nucleares, lo que indica la presencia de la enfermedad y



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON.



del virus dentro de los linfocitos.

Diagnóstico de linfosarcoma.

Se establece sólo por histopatología a partir de una muestra de material tumoral, obtenido de una biopsia o necropsia. La muestra se toma de ganglios linfáticos aumentados de tamaño, de ganglios hemolinfáticos; cuando la vía genital está afectada, se puede practicar laparotomía exploratoria. Pueden detectarse cambios cromosómicos en células de ganglios linfáticos o en leucocitos circulantes.

Hallazgos de necropsia.

En los bovinos se pueden descubrir masas tumorales en cualquier órgano, estas masas son blancas y duras. Aunque generalmente la localización característica es la siguiente:

En animales jóvenes y recién nacidos las localizaciones frecuentes son riñones, timo, hígado, bazo y ganglios linfáticos internos y periféricos. Esta distribución puede ser o no característica de la forma esporádica de la enfermedad.

En adultos casi siempre están afectados: el corazón, donde las masas tumorales invaden principalmente la aurícula derecha y puede extenderse hacia el pericardio, hay cambios en el tejido subepicárdico, debe tenerse en cuenta este tejido para los casos dudosos o latentes. La pared del abomaso, cuando se encuentra lesionada, presenta engrosamiento macroscópico,



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliانا Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



irregular, con material neoplásico en la submucosa, sobre todo en la región del píloro. Comúnmente ocurren lesiones similares en el intestino. En las zonas afectadas, puede haber ulceraciones.

Los nervios periféricos se encuentran engrosados, los principalmente afectados son los nervios lumbares y primeros sacros. En las meninges de la zona afectada también se observan estos engrosamientos.

Los ganglios linfáticos afectados pueden estar muy aumentados de tamaño y formados por tejido normal y neoplásico, este último es más blanco y firme que el tejido linfóide y generalmente está circunscripto por una halo de necrosis amarillo brillante.

Histológicamente, las masa tumorales están compuestas de linfocitos con diferentes grados de degeneración neoplásica.

Control.

- Ahora es posible identificar el virus que causa la enfermedad, por lo tanto, se pueden realizar campañas de erradicación, para su eliminación completa de los rodeos. Para esto contamos con:
- La naturaleza exógena del virus;
- La propagación lenta de la enfermedad entre rodeos. La utilización de la IA constituye una forma de renovar la sangre del rodeo, con el mínimo peligro de introducir la enfermedad:
- La falta aparente de reservorios para el virus;



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



- Descartar el ganado genéticamente susceptible reduce las posibilidades de reinfección.

Limitaciones de la propagación.

Cuando la eliminación no es posible en la práctica, es muy apropiado limitar la enfermedad tomando medidas que eviten su propagación. Ni la eliminación de animales clínicamente afectados ni el sacrificio de los bovinos a partir de análisis hematológicos anormales, tiene efecto sobre la prevalencia.

- Control de los insectos vectores,
- Evitar puede reducir el índice de propagación por medio de:
- La transmisión yatrogénica durante las prácticas comunes realizadas en el rodeo como ser, descornar, castrar, extracción de sangre con agujas hipodérmica utilizando una por animal, al igual que durante las vacunaciones. Las transfusiones y vacunas que contienen sangre, como las utilizadas para anaplasmosis y babesiosis, son un medio particularmente potente para extender la enfermedad,
- No mantener a los terneros nacidos de madres infectadas, principalmente las hembras, en el rodeo.
- Utilizar IA, lo que evita la transmisión siempre y cuando se trabaje con semen controlado.

Como las pérdidas por la enfermedad no son grandes, es poco probable que se realicen trabajos de erradicación y por la presencia de insectos que introduzcan



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA. ROSA ANTON



la enfermedad a los rodeos libres, probablemente sea importante aprender a controlar y convivir con la infección.

Diagnóstico viral. Generalidades.

A) ENZIMOINMUNOANÁLISIS.

Test de ELISA.

Antecedentes y clasificación.

El empleo de enzimas como marcadores inmunoquímicos en sustitución de los radioisótopos, para su utilización en los análisis de enlace competitivo, fue descrito por primera vez en 1971 (Avrameas, 1971).

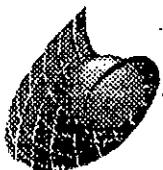
Los nombres más utilizados son:

- ❖ ELISA, análisis de inmunoabsorción enzimática ligado a enzimas;
- ❖ EIA, inmunoanálisis enzimático;
- ❖ EMIT, inmunoanálisis con multiplicación enzimática.

El EIA es capaz de detectar cantidades muy pequeñas de reactivos inmunológicos.

Ventajas

- 1) Pueden desarrollarse análisis sensibles por el efecto de amplificación de las enzimas.
- 2) Los reactivos son relativamente económicos y tienen una larga vida de conservación.
- 3) Pueden desarrollarse múltiples análisis simultáneamente.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



- 4) Se puede realizar una amplia variedad de configuraciones analíticas.
- 5) El equipo necesario es barato y fácilmente accesible.
- 6) No hay riesgos de radiación durante el manejo ni en la eliminación de las muestras.
- 7) Es rápido, simple y adaptable a la automatización.
- 8) Se puede desarrollar un EIA homogéneo para los haptenos y las proteínas.

Inconvenientes

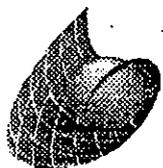
- 1) La actividad enzimática puede modificarse por algunos constituyentes del plasma.
- 2) Es necesario utilizar reactivos inmunoquímicos complejos.

La clasificación depende de:

- a) El reactivo que hay que determinar, es decir, antígeno o anticuerpo,
- b) El reactivo marcado,
- c) La naturaleza competitiva o no del análisis,
- d) El método de separación de los reactivos unidos o libres.

Existen varios criterios para determinar la selección de un marcador enzimático en particular:

- ❖ El número de recambios o de moléculas de sustrato que se convierten en productos por lugar enzimático/ unidad de tiempo.
- ❖ Pureza.
- ❖ Sensibilidad.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



- ❖ Facilidad de velocidad de detección.
- ❖ Ausencia de factores que puedan interferir en el líquido que hay que analizar.
- ❖ Grupos reactivos potenciales.
- ❖ Estabilidad.
- ❖ Idoneidad para un EIA homogéneo

ENZIMAS DE UTILIZACION MAS FRECUENTE EN LOS DISTINTO EIA:

EIA HETEROGENEOS

Peroxidasa de rábano

Fosfatasa alcalina

D- galactosidasa

Glucosa oxidada

Glucoamilasa

Anhidrasa carbónica

Acetilcolinesterasa

Catalasa

EIA HOMOGENEOS

Lisczima

Malato- deshidrogenasa

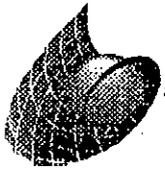
Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa

Fosfolipasa C

D- galactosidasa

Existen dos tipos fundamentales de EIA:

- Heterogéneo: la reacción antígeno - anticuerpo no modifica la actividad del marcador enzimático.
- Homogéneo: la interacción antígeno - anticuerpo modula la actividad de la enzima, lo que hace que desaparezca la necesidad de un paso de separación.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA. ROSA ANTON



EIA HETEROGENEOS.

Todos los EIA heterogéneos tienen, al menos, un paso de separación para diferenciar entre el material que ha reaccionado y el que no lo ha hecho.

En el sistema de EIA heterogéneo, la enzima sobre el antígeno o el anticuerpo marcados conserva su actividad, incluso después de la reacción con el anticuerpo o antígenos recíprocos.

La elección de la fase de separación está determinada por el gran tamaño del marcador enzimático. Entre los métodos más aceptables se encuentran la precipitación doble del anticuerpo, el empleo de antígeno o anticuerpo en fase sólida o la utilización de perlas como las de agarosa o poliacrilamida.

El ELISA es un EIA heterogéneo, donde la actividad enzimática en la fracción unida y en la libre se cuantifica por la conversión, catalizada por la enzima, de un producto relativamente incoloro o no fluorescente.

Los ELISA pueden ser competitivos o no:

ELISA competitivo:

- Empleando antígeno - enzima
- Empleando anticuerpo marcado con enzima.

ELISA no competitivo:

- Análisis inmunoenzimométricos sándwich de dos sitios
- Análisis indirecto para medir el anticuerpo.

ELISA competitivo.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



❖ ELISA competitivo con empleo de antígeno marcado por enzimas.

Este tipo de ELISA se sirve de un antígeno marcado enzimáticamente con el anticuerpo específico inmovilizado a una fase sólida.

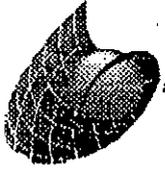
Las concentraciones del producto sustrato son inversamente proporcionales a las del antígeno estándar o de prueba añadidos. Este tipo competitivo de ELISA se ha aplicado para analizar una amplia gama de antígenos, es útil para detectar haptenos o restos de fármacos en los que el anticuerpo específico es univalente.

El análisis consta de los siguientes pasos:

1. El anticuerpo específico se adsorbe físicamente o se une de modo covalente a una matriz de fase sólida.
2. El anticuerpo no unido se elimina por lavado.
3. El antígeno marcado enzimáticamente se incuba en presencia de antígeno estándar o de prueba que se ha de analizar.
4. Lavado con tampón que contenga un agente humectante después que la reacción antígeno - anticuerpo haya llegado a una situación de equilibrio.
5. La fase sólida, con el complejo antígeno - anticuerpo marcado enzimáticamente, se incuba a temperatura constante con la solución de sustrato enzimático.

❖ ELISA competitivo mediante conjugados de enzima - anticuerpo.

En esta técnica, el antígeno está unido a una fase sólida. La unión del



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



anticuerpo marcado enzimáticamente y el antígeno en fase sólida disminuye competitivamente si se añade antígeno estándar o desconocido.

Los pasos en este análisis son similares a los del ELISA con antígeno marcado enzimáticamente. El producto medido de la reacción enzimática es inversamente proporcional a la concentración del antígeno estándar o de prueba. El método puede usarse para analizar una amplia gama de antígenos.

ELISA no competitivo.

Las técnicas de ELISA no competitivo constituyen un ejemplo de los análisis con exceso de anticuerpos se denominan métodos inmunoenzimométricos, en los que el analizado, o antígeno reacciona con un exceso estequiométrico de anticuerpo y el grado de reacción antígeno - anticuerpo se mide en un segundo paso.

Los análisis inmunoenzimométricos con anticuerpo marcado presentan ciertas ventajas:

- No es necesario aislar el analizado puro,
- Con un paso de separación suele eliminarse la interferencia no deseada de la muestra, antes de la reacción con el anticuerpo específico marcado enzimáticamente,
- Requiere menos tiempo de reacción que el ELISA competitivo.
- Comparativamente, es posible, que sea más sensible que el ELISA competitivo.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Los ELISA no competitivos deben controlarse cuidadosamente, para que no haya dificultades en la precisión y reproductibilidad del análisis.

Existen ELISA no competitivos para antígenos y anticuerpos:

- ELISA no competitivos tipo sándwich o análisis inmunoenzimométricos:

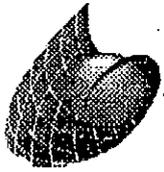
Es aplicable a antígenos bivalentes o polivalentes

El anticuerpo inmovilizado en fase sólida se incuba con los antígenos estándar o de prueba. Después del lavado, el complejo anticuerpo inmovilizado - antígeno, se incuba con un exceso de anticuerpo marcado enzimáticamente, que se fija a uno de los sitios antigénicos restantes. Después de otro paso de lavado, se añade la solución de sustrato enzimático y se incuba. La reacción del producto de reacción enzimática es directamente proporcional a la concentración del antígeno estándar o analizado.

- ELISA indirecto para medir el anticuerpo:

Mide la concentración de anticuerpo en las muestras de líquidos biológicos. En este procedimiento se emplea antígeno inmovilizado, que reacciona con la muestra de anticuerpo. El paso siguiente consiste en el lavado y la reacción posterior con anticuerpo marcado enzimáticamente y específico para la inmunoglobulina de la especie que se trata de analizar. Con este método es posible cuantificar una amplia gama de anticuerpos específicos, particularmente víricos.

Características de la fase sólida.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

**COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini**

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Para los EIA heterogéneos es importante elegir adecuadamente la fase de separación, ya que se afecta por el tamaño molecular de los marcadores enzimáticos.

Los métodos de separación que se emplean más comúnmente en los EIA son los de fase sólida y la precipitación inmunológica con un segundo anticuerpo. La inmovilización en fase sólida del antígeno o del anticuerpo se logra por unión covalente o por adsorción a través de interacciones no covalentes. Se han empleado partículas de agarosa, poliacrilamida y poliestireno. También se han utilizado partículas de óxido de hierro, que pueden separarse en un campo magnético.

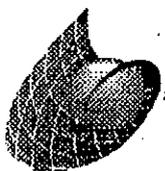
La inmovilización en superficies e plásticos ha llevado a la realización de un gran volumen de trabajo.

Limitación y sensibilidad del EIA heterogéneos.

La sensibilidad, especificidad, precisión y reproductibilidad de cualquier análisis dependen del diseño de configuración, la matriz sólida, el anticuerpo, el conjugado enzima - anticuerpo, la enzima y el método de medición.

Otros factores de importancia son los siguientes:

- 1) Adsorción inespecífica, que influye sobre la medición de cantidades extremadamente pequeñas del analizado.
- 2) La naturaleza y la extensión de la reacción antígeno - anticuerpo son factores limitantes del análisis



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



3) El efecto prozona, o "gancho de dosis altas", que puede conducir a una menor reactividad cuando están presentes niveles altos del analizado.

En el desarrollo de un método determinado de ELISA hay que averiguar cuáles son las condiciones óptimas para cada estadio de la prueba, por ejemplo:

- a) Concentración óptima del antígeno o del anticuerpo para la inmovilización o recubrimiento de la fase sólida;
- b) Tiempos de incubación óptimos para cada paso;
- c) Tipo de sustrato, tiempo y temperatura óptimos para que la reacción enzimática desarrolle el producto.

Es posible desarrollar EIA sensibles y ultrasensibles.

B) HEMAGLUTINACIÓN (H) - INHIBICIÓN DE LA HEMAGLUTINACIÓN (IH).

Algunos virus se unen a los eritrocitos de mamíferos y aves, y los aglutinan. Los anticuerpos contra dichos virus inhiben esta hemaglutinación al bloquear sus lugares de unión. La detección de la hemaglutinación inducida por virus sirve de prueba preliminar cuando se trata de identificar un virus; la inhibición de este fenómeno por un anticuerpo se utiliza tanto como método de identificación de un virus específico, como para medir las concentraciones de anticuerpos en el suero. Entre los microorganismos hemaglutinantes se encuentran, mixovirus (orto y para), alfa, flavi y bunyavirus, algunos adeno, reo, narvo y coronavirus. También se incluyen algunos micoplasmas como *Mycoplasma gallisepticum*.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tcc. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



La IH detecta la presencia de antígenos solubles en saliva, suero u otros líquidos. También se emplea para neutralizar un anticuerpo específico con su correspondiente sustancia soluble. Estos antígenos solubles comparten la misma especificidad antigénica con los hallados sobre los eritrocitos y son capaces de neutralizar los anticuerpos correspondientes en el suero. El suero neutralizado ya no aglutinará los eritrocitos que posean ese antígeno. La ausencia de aglutinación en inhibición de la hemaglutinación indica que la prueba es positiva y señala la presencia de un antígeno específico en el líquido investigado. La potencia del anticuerpo usado en la prueba debe ajustarse de modo que no produzca una reacción mayor de 2+ con los eritrocitos indicadores.

Si la concentración del anticuerpo es demasiado elevada, es posible obtener una reacción falsa negativa, a causa de la insuficiencia de la sustancia soluble y, por lo tanto, de la neutralización parcial del anticuerpo.

Se emplea para confirmar la especificidad de un anticuerpo desconocido, por medio de una neutralización con una sustancia conocida.

Las pruebas de inhibición de la hemaglutinación se realizan de dos maneras generales. En la primera (procedimiento **alfa** a virus - suero diluido constante), se mantiene constante la cantidad de virus que se agrega a cada tubo, mientras el suero problema se disuelve en forma seriada. Primero es necesario titular el virus, para determinar su actividad hemaglutinante. Es frecuente



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



utilizar cuatro u ocho veces la dosis hemaglutinante mínima, es decir cuatro u ocho unidades hemaglutinantes en una prueba. Después, se mezclan virus y anticuerpos, y se dejan permanecer así por un período de previamente asignado, antes de agregar a cada tubo una suspensión de eritrocitos lavados. El título de la inhibición de la hemaglutinación (HI) del suero se obtiene multiplicando la dosis más alta de las diluciones del suero que inhibe la hemaglutinación, por el número de unidades hemaglutinantes de virus que participaron.

Otro método (conocido como **beta**) para estimar los niveles de anticuerpos por inhibición de la hemaglutinación consiste en agregar una cantidad estándar de antisuero en cada tubo, en tanto que se hacen diluciones seriadas de una suspensión de virus cuya actividad hemaglutinante es conocida. Es una técnica útil en los laboratorios en que hay que ensayar cantidades muy grandes de sueros, ya que deben diluirse los virus una sola vez, al principio de cada día de pruebas, y no es necesario hacer diluciones seriadas de cada uno de los sueros problema. Comparando el título hemaglutinante del virus en un suero normal y en un suero problema, puede estimarse el efecto inhibitor de este último.

Si bien las pruebas de inhibición de la hemaglutinación son relativamente simples desde el punto de vista técnico, puede haber problemas por la presencia de inhibidores de la hemaglutinación diferentes a los anticuerpos.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

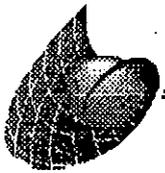
Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Algunos de estos son hidratos de carbono, y pueden destruirse tratando el suero problema con neuraminidasa bacteriana (enzima destructora de los receptores RDE). Otros son lipoproteínas, que se eliminan tanto por absorción del suero con caolín lavado, como destruyéndolas con un tratamiento con tripsina. En general, también es necesario absorber el suero problema con eritrocitos, para eliminar las hemaglutininas naturales. Algunos mixovirus tienen su propio RDE, que les permite eluirse espontáneamente de los eritrocitos después de la incubación, y por eso hace que estas últimas células no sean aglutinables. Por esta razón, se obtendrá un resultado falso positivo si existe un retardo excesivo en la lectura de algunas de las pruebas de inhibición de la hemaglutinación.

En el virus de la influenza y algunos paramixovirus, la hemaglutinina de superficie, es una glucoproteína, se fija a los receptores complementarios del glóbulo rojo. El virus produce elusión sobre el glóbulo rojo a 37°C, por la destrucción del ácido neuramínico en sus receptores por la neuraminidasa del virión, pero esto no ocurre a 4°C por la disminución de la actividad enzimática. El virus eluido puede aglutinar un glóbulo rojo fresco, pero éste, una vez eluido ya no puede ser aglutinado por la misma especie de virus, debido a la pérdida de sus receptores. Sin embargo, el glóbulo rojo eluido puede ser aglutinado por otro virus de estos dos grupos. Sobre esta base, los virus de la influenza y algunos paramixovirus han sido dispuestos o incluidos en una serie llamada



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



"gradiente de receptor".

Las enzimas destructoras de receptor producidas por *Vibrio cholerae* y otras bacterias impiden la aglutinación de glóbulos rojos susceptibles por mixovirus. Otros impiden la aglutinación de glóbulos rojos susceptibles por mixovirus. Otros virus que sabemos causan aglutinación son papovirus, adenivirus, poxvirus, togavirus, reovirus, coronavirus, enterovirus y rabdovirus. La hemaglutinina en estos virus es una parte integral del virión, pero en los poxvirus es separable del virión intacto.

En general, el medio de suspensión, gama de pH (5 a 9) y temperatura no son factores decisivos o críticos, aunque cada virus, en forma característica propicia la fijación a ciertos glóbulos rojos bajo condiciones favorables. Una capa delgada difusa de glóbulos rojos en el fondo del receptáculo (placa de microtítulo) o del tubo, indica hemaglutinación positiva, mientras que una compacta corresponde a hemaglutinación negativa. La dilución más alta de virus que causa hemaglutinación (HA) completa, contiene una unidad HA.

Prueba de hemaglutinación pasiva (indirecta). Se usa este método para virus que de otro modo no causan hemaglutinación. El virus o antígeno viral generalmente adsorbe sobre el eritrocito portador (indicador) tratado con un agente de acoplamiento como ácido tánico o cloruro de cromo. Cuando el producto acoplado se añade a diluciones de antisuero y se incuba durante una hora a temperatura ambiente o toda la noche a 4°C, se observa un patrón típico



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tco. Qca. Lilliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



de hemaglutinación debido a la reacción de antígeno - anticuerpo. Se han usado ampliamente con este objeto hematíes de casrnero, que se pueden tratar con formol antes del tratamiento con ácido tánico para el almacenamiento prolongado.

Tarea 5 ANEMIA INFECCIOSA EQUINA.

Introducción.

Definición.

La anemia infecciosa equina (AIE) es una enfermedad infecciosa de los equinos, asnos y mulares, que cursa en forma aguda, subaguda, crónica o inaparente; caracterizada por la disminución de los valores eritrocíticos, fiebre, adinamia, adelgazamiento y en algunos casos muerte, producida por un retrovirus.

Se cultiva en células dérmicas y en leucocitos equinos y sale de las células por gemación. El antígeno de la cápside que induce anticuerpos precipitantes, es común a todas las cepas de virus de AIE y el antígeno de la cápside induce anticuerpos neutralizantes difiere de acuerdo a la cepa, existen ocho variantes reconocidas. Resiste más de 2 meses en el ambiente mientras esté protegido de la luz solar directa.

El virus se encuentra presente en la sangre circulante de los animales infectados: dentro de los leucocitos, sobre los eritrocitos, libre o formando conjugados virus-anticuerpo en el plasma. Se elimina en forma intermitente por



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



secreciones y excreciones como orina, semen y leche. La infección permanece durante toda la vida una vez establecida.

Las **fuentes de infección** son los animales infectados y las formas de transmisión más importantes se realizan por :

1. Inoculación de sangre de un infectado a un susceptible por la picadura de insectos hematófagos como tábanos, moscas picadoras y mosquitos, que actúan como transportadores animados. El nombre de fiebre de los pantanos se origina por su aparición en zonas pantanosas por la alta densidad de insectos en estos lugares.
2. Inoculación de sangre de un infectado a un susceptible por el uso de jeringas y agujas, primero en el enfermo y luego en el susceptible sin ningún tipo de esterilización. Esta forma tiene importancia en caballos deporte por la alta frecuencia a la que son sometidos a tratamientos medicamentosos.
3. Otras formas de contagio son: digestiva, genital, calostrala, placentaria, por utensilios contaminados, etc.

El **período de incubación** es de 2 semanas a 4 meses. Los síntomas varían según la forma de presentación, en los brotes naturales es de 2 a 4 semanas. Casi siempre los brotes siguen un modelo caracterizado por la propagación lenta de la enfermedad a partir de la introducción de un caballo infectado.

En la forma aguda se presenta fiebre hasta 42°C, abatimiento, debilidad del tren posterior, tambaleos y caídas, taquicardia, hiperemia de las conjuntivas y



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilitiana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



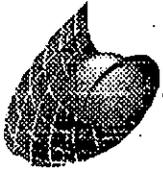
anorexia. Se presentan edemas y caquexia rápidamente. Los fenómenos de hemólisis se presentan luego de cierto tiempo de evolución. Luego de la forma aguda, puede sobrevenir la muerte o pasar al estado subagudo en el cual hay fiebre remitente, debilidad, anemia, edema, caquexia y poca resistencia al esfuerzo. En esta forma el cuadro hemático presenta aumento notable de la eritrosedimentación, disminución del hematocrito, de la hemoglobina y del número de eritrocitos. La forma crónica presenta baja en el rendimiento y rara vez ataques febriles. Las alteraciones en el cuadro hemático no son tan pronunciadas.

Los animales que presenten la forma subaguda, crónica o inaparente, por situaciones estresantes, pueden sufrir ataques agudos con intensa hemólisis.

Los equinos enfermos, a partir de los 15 a 21 días postinfección presentan en el suero anticuerpos contra los antígenos del virus de la AIE (VAIE).

La ataxia es un signo característico y en muchos casos es el único síntoma observable.

Hay fiebre intermitente hasta 41°C, que puede elevarse y caer rápidamente, con fluctuaciones intensas de 1°C por hora. Puede observarse ictericia y edema de la parte caudal del abdomen, prepucio y extremidades; hemorragias petequiales de las mucosas, principalmente sublingual y conjuntiva. En las primeras etapas no se observa palidez de las mucosas, sino que se encuentran congestivas y edematosas.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



No son muy manifiestos los síntomas respiratorios, la disnea se presenta en las etapas terminales; puede haber secreción nasal serosanguinolenta. Es frecuente la esplenomegalia intensa, que a veces puede diagnosticarse por palpación rectal. Las yeguas gestantes pueden abortar.

Muchos animales se recuperan de esta etapa aguda, temporalmente, después de un período de 3 días a 3 semanas. Otros se debilitan progresivamente, caen en decúbito y mueren luego de 10 a 14 días de enfermedad.

Los pacientes que se recuperan temporalmente pueden permanecer normales durante 2 o 3 semanas y entonces recaer con signos semejantes, pero de menor intensidad.

Agente etiológico.

Clasificación según sus características ultraestructurales (teniendo en cuenta la reacción serológica cruzada y organización genómica):

Familia Retroviridae,

Subfamilia Lentivirinae,

Se trata de un virus ARN con envoltura viral y un diámetro promedio de 140 nm.

El coeficiente de sedimentación es de 110 a 120 S.

El ARN del virus es de alto peso molecular con un coeficiente de sedimentación de 60 a 70 S.

El core contiene una transcriptasa inversa dependiente de Mg, un genoma



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

**COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini**

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



compuesto de dos subunidades idénticas de una cadena simple de ARN de $5,5 \times 10^6$ Dalton y cuatro proteínas del core no glicosadas específicas del virus denominadas p15, p26, p11 y p9.

Los antígenos de superficie están formados por dos proteínas glicosadas codificadas por el virus; ellas son la gp90 y la gp45, la más hidrofóbica.

La envoltura viral proviene de la membrana celular de las células del huésped y el virus la adquiere durante la replicación y maduración.

El virus resiste el calentamiento, congelación y desecación.

Se inactiva a 58°C durante 30 minutos, por fenol al 2%, cloruro de mercurio al 0,002% y formol al 4%, hidróxido de sodio, hipoclorito de sodio y clorexidina.

Se ha informado la reacción serológica cruzada entre el virus de la AIE y el de la inmunodeficiencia humana, HIV, pero ella no parece existir entre otros lentivirus como el de la artritis, encefalitis caprina o el de Maedi - Visna de los ovinos.

El huésped infectado monta una respuesta inmune humoral contra los epitopes de las glicoproteínas gp90 y gp45 de la envoltura viral. Los anticuerpos específicos formados pueden o no tener una actividad neutralizante sobre el virus; si la poseen, ella será específica contra la cepa involucrada. La neutralización cruzada se observa con escasa o nula frecuencia entre diferentes aislamientos del virus de la AIE, aún cuando las distintas cepas se obtengan de sucesivos episodios clínicos sufridos por un mismo animal. Los



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

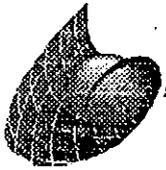
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



anticuerpos específicos contra la proteína p26 del core reconocen a todas las cepas virales, pero no tienen actividad neutralizante. Estos anticuerpos son los que se utilizan como elemento diagnóstico en la mayoría de los test de laboratorio.

Una vez que el virus ha penetrado en las células del huésped comienza a replicarse utilizando su ADN polimerasa dependiente de ARN, o transcriptasa inversa, para producir una copia del ADN de la célula huésped, desde donde dirigirá la replicación y producción de proteínas virales específicas. El genoma del virus codifica tres productos de grupo principales que se denominan *gag* (antígeno asociado de grupo), *pol* (polimerasa) y *env* (envoltura). La porción *gag* codifica a las proteínas p26, p11, p9 y p15, mientras que la *pol* dirige la síntesis de la transcriptasa inversa, una enzima degradante de ARN y una de corte del ADN que ayuda a la integración del provirus con el genoma de la célula huésped. Finalmente, el *env* codifica a las glicoproteínas de la envoltura gp90 y gp45. Haciendo una extrapolación de los hallazgos de las investigaciones sobre HIV es posible inferir que el genoma del virus de la AIE probablemente codifique una gran variedad de complejas proteínas reguladoras. Por ejemplo, el gen *fat*, que ha sido específicamente identificado en el genoma del virus de la AIE, codifica un producto proteico que aumenta la producción de ARN mensajero.

Replicación viral.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano

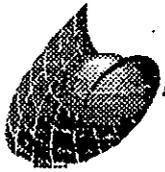
Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Se supone que la replicación del virus de la AIE ocurre inicialmente en las células fagocíticas localizadas en la puerta de entrada de la infección. Las nuevas partículas virales a medida que se liberan, se diseminan a través de la sangre y de los fluidos tisulares hacia el resto del organismo. La fiebre y las hemorragias características de los episodios agudos de AIE se atribuyen a la replicación viral dentro de los macrófagos y a su posterior destrucción. La activación y lisis de estas células produce la liberación de varias citoquinas que producen fiebre y alterar la integridad del endotelio vascular. La participación precisa de la trombocitopenia y de la integridad vascular alterada en la producción de las hemorragias observadas en la AIE aguda todavía es desconocida. Sin embargo, la disminución de la cantidad de plaquetas circulantes en la mayoría de los equinos infectados no es de gran magnitud como para desencadenar cuadros hemorrágicos en equinos normales.

Estudios realizados con anticuerpos fluorescentes en tejidos provenientes de animales con AIE crónica indican que el antígeno viral está presente en el citoplasma de todas las células con actividad fagocítica, especialmente, en las localizadas en el bazo. Ese antígeno se encuentra en otros tejidos corporales, en menores cantidades. Durante la fase aguda y la viremia, el virus se detecta principalmente en el suero, hígado y bazo. Los títulos virales séricos fluctúan ampliamente registrándose los más altos durante los episodios subsiguientes. Los títulos pueden caer hasta valores no detectables en los periodos



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



asintomáticos entre dos fases agudas de la infección.

El cultivo de elección es el de leucocitos equinos, se propicia la multiplicación del virus y muestra efecto citopático. Las cepas adaptadas a cultivos de leucocitos inducen multiplicación persistente no citocida en cultivos de células de dermis o fetales de equino y proporcionan una fuente adecuada de virus.

En las células infectadas aparece ADN proviral, pero su estado de integración todavía no se conoce. El VAIE no es un virus endógeno de los equinos ni de cualquier otra especie.

Este virus tiene cepas o variantes inmunológicamente distintas por sus antígenos glucoprotéicos de superficie, identificables por la prueba de neutralización viral (NV). Las pruebas de fijación de complemento (FC) y de inmunodifusión (ID) descubren al antígeno común específico del grupo.

Transmisión de la AIE

La vía predominante de transmisión es a través de los insectos que se alimentan de animales enfermos que luego vuelven a picar a los sanos, inyectándoles virus a través de su saliva

Los principales vectores son los insectos hematófagos, especialmente los de la familia *Tabanidae*, moscas y mosquitos (*Stomocys calcitrans*, mosca de los establos, y *Chrysops flavidus*, mosca de los venados, actúan como vectores) que parasitan a los equinos; esto también hace a la estacionalidad de la enfermedad. Es probable que la transmisión sea sólo de tipo mecánico, por lo



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON

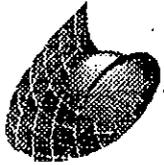


que la propagación por este medio ocurre a cortas distancias y requiere una gran cantidad de insectos.

El contagio puede ocurrir también vía iatrogénica por transfusión de sangre infectada o por utilización de agujas hipodérmicas o instrumental quirúrgico contaminado por la inyección de pequeñas cantidades de sangre infectada en forma intracerebral, intramuscular, subcutánea o endovenosa. El virus es capaz de atravesar la barrera placentaria pudiendo provocar una infección prenatal del feto en gestación.

Experimentalmente la alimentación interrumpida de un sólo tábano puede transmitir al virus de la AIE desde un pon infectado hacia otro susceptible. El insecto puede picar al animal enfermo, ser interrumpido durante su alimentación y retomar esa actividad en un individuo sano que se encuentre en las proximidades. Los tábanos capturados durante los treinta minutos posteriores a su alimentación con sangre infectada son capaces de transmitir el virus mientras que esa capacidad desaparece luego de cuatro horas de ocurrido el contacto con un animal portador del virus. Si la alimentación del parásito se completa sobre un mismo huésped las posibilidades de transmisión de la enfermedad parecen ser muy pequeñas.

Como la picadura de estos insectos es muy dolorosa es poco probable que los equinos parasitados permitan la alimentación completa de los tábanos. Se ha estimado que el aparato bucal relativamente grande de estos parásitos es



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON

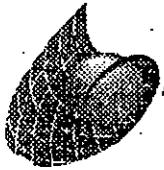


capaz de transferir hasta 5 ml de sangre.

Existe una correlación lineal entre la distancia que separa a los animales susceptibles y el porcentaje de insectos que se realimenta sobre el mismo huésped.

Una vez que el virus ha penetrado en un huésped susceptible, éste permanecerá infectado de por vida. Los animales que sobreviven al episodio febril inicial pueden evolucionar hacia la forma crónica de la enfermedad.

La fase aguda generalmente cede en unos pocos días y, posteriormente, los equinos sufren ciclos recurrentes de enfermedad que se manifiestan inicialmente con frecuencia quincenal; los signos que se aprecian son los tipos de anemia, pérdida de peso y edema. La frecuencia y severidad de los episodios recurrentes disminuyen con el tiempo registrándose el 90% de ellos durante el curso del primer año de haber contraído la infección. Estos animales son, en casi todos los casos, seropositivos. La mayoría de las muertes se produce luego de las cuatro semanas posteriores a la primoinfección; sin embargo, la mayor proporción de los equinos seropositivos no muere, sino que se transforman en portadores asintomáticos. Experimentalmente se ha demostrado que los signos clínicos de la anemia infecciosa equina recrudescen con la administración exógena de corticoides lo que implicaría que el estrés ambiental puede inducir la aparición de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. La mayoría de los equinos seropositivos para el virus de la AIE se



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

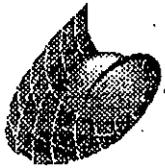
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



comporta como portador asintomático y no desarrolla signos clínicos. Aunque los niveles de viremia en estos animales son bajos con respecto a los observados durante el período agudo de la infección, estos individuos permanecen infectados de por vida, actúan como reservorios del virus y pueden transmitir la enfermedad en condiciones de campo hacia otros huéspedes susceptibles libres de la enfermedad.

Una distancia de aproximadamente 180 metros entre los equinos elimina la posibilidad de diseminación de la enfermedad por insectos, ya que es mucho más probable que el parásito complete su alimentación sobre el mismo huésped. La capacidad de vuelo de los tábanos excede los 6,5 Km., pero no se ha determinado el tiempo que emplean en realizar ese recorrido.

Durante un episodio febril agudo de AIE el título plasmático viral del equino infectado puede ser de 1000 a 10000 veces mayor que el de un animal asintomático. Esta situación implica que el primer individuo tiene muchas más posibilidades de actuar como transmisor de la enfermedad que el segundo y que, probablemente, los animales clínicamente enfermos sean la principal fuente del virus durante la propagación. A pesar de estas observaciones, numerosos trabajos han demostrado que los portadores asintomáticos persisten como fuentes potenciales de virus para la transmisión de la enfermedad a través de insectos. Los equinos con infección inaparente permanecen virémicos indefinidamente, aunque el virus parece estar confinado



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

**LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO**

**COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini**

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



en una pequeña proporción de los leucocitos mononucleares circulantes. Todos los caballos serológicamente positivos deberían ser considerados como reservorios de la infección y potenciales fuentes del virus para otros huéspedes susceptibles.

La infección transplacentaria del feto ocurre con mayor frecuencia cuando las yeguas sufren un período febril agudo durante la preñez. Los fetos pueden ser abortados o nacer vivos siendo portadores del virus y posiblemente seropositivos.

En dos trabajos realizados, uno sobre 20 y otro sobre 45 potrillos nacidos de yeguas infectadas que no desarrollaron signos de la AIE durante la preñez se observó que el 10% de aquellos fueron positivos a los test de identificación viral y de anticuerpos contra el virus.

La transmisión a través de insectos desde una yegua infectada hacia el potrillo por la picadura de mosquito no parece ser un mecanismo de mayor importancia en la transmisión, aparentemente, los insectos prefieren alimentarse de la sangre de los equinos adultos por lo que picarían con más frecuencia a las madres. Esto no está relacionado con el tamaño corporal de los potrillos, porque pican con igual frecuencia a los ponis adultos que a los caballos de mayor talla mantenidos en un mismo potrero.

Es posible que los potrillos estén protegidos por la inmunidad pasiva transferida por calostro. Las crías nacidas de yeguas positivas presentan anticuerpos 24





**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



horas después del parto. Generalmente esta inmunidad pasiva desaparece a los 6 meses de edad.

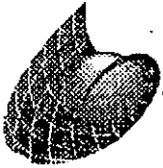
Epidemiología.

Esta enfermedad se ha diagnosticado en todos los continentes. La incidencia aparentemente es baja. Si bien las estadísticas de la enfermedad son poco fiables debido a fallos en el diagnóstico y en la declaración de la enfermedad, es de gran importancia y su incidencia, al parecer, se encuentra en aumento. La morbilidad varía mucho, y puede ser cercana al 100% en zonas donde los caballos portadores y los insectos vectores son especialmente densas. La tasa de mortalidad es del 50%, aproximadamente.

Son susceptibles todas las razas de equinos y a todas las edades. Se dice que los caballos criollos de nuestro país son más resistentes a la infección o que la contraen en forma leve.

Este virus es relativamente resistente a la mayoría de las influencias ambientales, pero es destruido por la acción de la luz solar directa. Persiste durante varios meses en orina, heces, sangre desecada y suero, a temperatura ambiente.

Es incierto si se produce una verdadera inmunidad frente a esta enfermedad, pero los animales que la han padecido en su mayoría, no sufren reinfección. Es probable que existan diferencias notables de virulencia entre las diferentes cepas de virus.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

**LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO**

**COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini**

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Es notorio el aumento de casos clínicos durante el verano y el otoño, manteniendo relación con las zonas de monte bajo y matorral debido a que hay un mayor número de insectos.

Son especialmente susceptibles a contraer la infección los animales mal nutridos, débiles y parasitados.

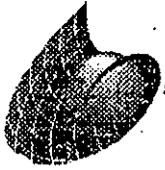
El virus está presente en todos los tejidos, secreciones y excreciones, y puede persistir en el cuerpo hasta 18 años, lo que impide la reinfección pero proporciona una fuente de infección permanente para el resto de los equinos.

La enfermedad es introducida a una zona libre a partir de animales portadores inaparentes o "clínicamente sanos".

El contacto breve no suele ser suficiente para contraer la infección, pero sí la asociación continuada y estrecha con animales susceptibles termina casi siempre en infección. La propagación dentro de un grupo es baja; ésta ocurre con rapidez cuando la infección se presenta en los hipódromos o en depósitos de remonta de los ejércitos.

La infección intrauterina es poco común, sí se han observado la infección de potros a través de la leche, para esto se requiere la ingestión de grandes cantidades de virus, ya que el aparato gastrointestinal no es una puerta de entrada apropiada para el virus.

Los potros de madres infectadas son menos susceptibles que los adultos a la infección natural, probablemente a la persistencia de anticuerpos calostrales.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON

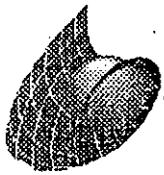


En caso que el potro no reciba anticuerpos calostrales es probable que, de infectarse, desarrolle la forma aguda de la enfermedad. Es discutible la transmisión a través de larvas de estrongilos, ya que se ha aislado el virus de las larvas, pero no de los huevos de este parásito.

El uso de material quirúrgico y de agujas contaminadas, con la inyección de cantidades mínimas de virus, provoca la infección sobre animales susceptibles y produce una rápida propagación de la enfermedad, con la aparición de brotes graves de la enfermedad. El uso creciente de inyecciones por personal no veterinario, especialmente en los hipódromos, aumenta las probabilidades de propagación de la enfermedad por el uso de material sin esterilizar. En zonas enzoóticas se han producido brotes por empleo de preparados biológicos, no esterilizados, de origen equino. Por esta razón todos los preparados biológicos de origen equino deben ser esterilizados con fenol al 0,5% y almacenarse durante tres meses antes de su uso.

El virus puede invadir el organismo por las mucosas nasal o bucal, heridas e incluso el tegumento no lacerado, pero estas puertas de entrada tienen poca importancia en los brotes de campo. La transmisión también puede ocurrir a partir del material utilizado para la toma de muestras de saliva para las pruebas de doping. También puede transmitirse a partir del semen de un semental infectado.

Patogenia.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



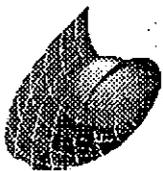
Patogenia.

Durante la infección experimental se observa al virus dentro de 2 a 5 días luego de la inoculación, no se observa fiebre hasta 10 a 20 días posteriores.

El virus se localiza en diferentes órganos, principalmente en bazo, hígado, riñón y ganglios linfáticos; se encuentra en grandes cantidades en animales con ataques agudos de la enfermedad. Durante los períodos entre ataques desaparece de los tejidos. Si bien la viremia es persistente durante toda la vida, los niveles más altos de viremia se presentan durante los períodos de actividad clínica, lo que indica que en estos períodos el animal es más infeccioso.

La invasión del virus provoca el daño de la capa íntima de los pequeños vasos, afectando el sistema reticuloendotelial y provocando la destrucción de eritrocitos en gran escala.

Luego de la lesión del endotelio vascular, prosiguen los cambios inflamatorios de los órganos parenquimatosos, sobre todo el hígado. En el sistema nervioso central también se producen alteraciones inflamatorias con leptomeningitis medular y encefalomiелitis, estos cambios son los que originan la ataxia característica de la enfermedad. Se cree que la forma aguda de la enfermedad se asocia con la duplicación masiva del virus y destrucción de macrófagos, pero la causa real de la muerte se desconoce. Las lesiones vasculares y la fragilidad de los eritrocitos forman parte de una reacción inmune. La hemólisis que se produce tanto intra como extravascular se caracteriza por la breve



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON

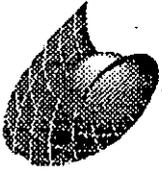


duración de los eritrocitos. El virus puede atravesar la barrera placentaria e infectar al feto.

Gran parte de la patogenia de la AIE no está bien clara. Sin embargo, se supone que la anemia y la glomerulonefritis se deben al depósito de complejos antígeno- anticuerpo. La hepatitis y la linfadenopatía, también se deberían a la misma causa. Además la compleja respuesta inmune permite la persistencia del virus en el organismo, al mismo tiempo que produce hipergamaglobulinemia.

A continuación se detalla un esquema probable de los sucesos patógenos:

- ⇒ Invasión primaria de infección de los macrófagos
- ⇒ Destrucción de los macrófagos y liberación del virus y sus componentes
- ⇒ Producción de anticuerpos contra componentes antigénicos
- ⇒ Formación del complejo Ag-Ac, lo que provoca fiebre, glomerulitis y agotamiento del complemento
- ⇒ Los complejos específicos causan hemólisis o fagocitosis mediante la activación del sistema reticuloendotelial
- ⇒ El retraso en la liberación del hierro a partir de los macrófagos causa temporalmente retraso de la hemopoyesis por hipoferremia
- ⇒ Los anticuerpos neutralizantes limitan la acción viral, lo que produce disminución en la multiplicación del virus en los macrófagos y en la intensidad de los procesos patológicos



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini

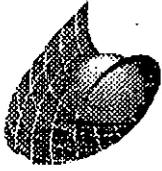
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



- ⇒ Los nuevos episodios clínicos ocurren cuando aparece una nueva variante antigénica del virus, con un nuevo ciclo de multiplicación en los macrófagos. La variación antigénica se debe a cambios en la superficie glicoprotéica del virus,
- La recurrencia de los episodios se hace menos frecuente y el caballo se vuelve asintomático. Se dice que el animal ha alcanzado el nivel apropiado de respuesta inmunitaria suficiente para protegerse contra epítopes antigénicos comunes a todas las cepas del virus de la AIE.

Manifestaciones clínicas.

La infección con el virus de la AIE puede causar tres síndromes clínicos definidos como estado de enfermedad aguda, crónica o de portador inaparente. No todos los equinos afectados desarrollan las tres formas; algunos pueden presentar varios episodios agudos recurrentes y luego transformarse en portadores asintomáticos. Pocos animales muestran los signos típicos de la enfermedad mientras que la mayoría se comporta como portador inaparente del virus de por vida. Dentro de 7 a 30 días de la infección los caballos pueden desarrollar la enfermedad aguda con fiebre, anorexia y presencia de petequias en las membranas mucosas. Durante la necropsia es posible encontrar petequias y equimosis de diferentes órganos. La anemia no es un hallazgo frecuente en la forma aguda pero en los animales severamente afectados es posible que se desarrolle epistaxis, anemia y edema ventral. Durante esta



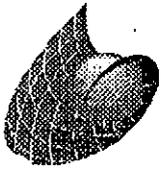
PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Patología clínica.

Cambios patológicos asociados a la AIE.

En los casos de muerte repentina, las lesiones macroscópicas incluyen una linfadenopatía, hepatomegalia, estructura lobular hepática acentuada, hemorragias mucosas y viscerales, edema ventral subcutáneo y trombosis. Microscópicamente, se aprecia una acumulación de linfocitos y macrófagos en las áreas periportales del hígado, que además puede presentar una degeneración por anoxia centrolobulillar de los hepatocitos. Este órgano sufre además una infiltración grasa y necrosis celular observándose a las células de Kupffer frecuentemente hinchadas y, en ocasiones, con contenido ferroso demostrable mediante tinción. Existe una correlación positiva entre la severidad de la infiltración mononuclear hepática y la frecuencia e intensidad de los episodios febriles recurrentes. Los portadores sanos de la enfermedad tienen un hígado histológicamente normal y no desarrollan lesiones manifiestas. Los ganglios linfáticos muestran proliferación linfocítica mientras en los macrófagos se observa una gran cantidad de gránulos de hemosiderina, especialmente en los equinos clínicamente enfermos. A nivel renal puede observarse una glomerulonefritis y en las glándulas adrenales, meninges y pulmón es posible detectar infiltrados mononucleares (linfocitos y macrófagos). Las hemorragias y los edemas se atribuyen a los cambios ocurridos a nivel vascular.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



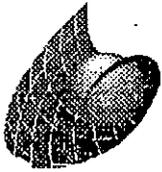
Durante el ataque inicial no suele encontrarse marcada disminución de los eritrocitos, una de las características de la enfermedad. Cuando ocurre durante episodios subsiguientes, su grado varía con la intensidad de los signos.

Forma aguda.

Cursa con temperatura alta, más de 40°C, que puede remitir sola o ser intermitente. La debilidad muscular es notable por la deambulación tambaleante y temblorosa; ictericia y enrojecimiento de las mucosas, a veces hemorragias visibles. Las hemorragias se presentan en la parte ventral de la lengua (petequias, que en los casos graves estos puntos confluyen), en la cámara anterior del ojo y en las conjuntivas, como así también en el recto. Frente a ejercicios leves manifiestan insuficiencia cardíaca y taquicardia; pueden escucharse ruidos durante la el período sistólico. El edema se presenta en las partes profundas del cuerpo. La anemia se presenta luego de un cierto tiempo. En general el apetito es bueno, puede estar levemente disminuido pese a la gravedad del estado clínico.

El valor del hematocrito es bajo (10 a 20%), hay leucopenia (menos de 2000/ microlitro) con neutropenia intensa y linfopenia. Además algunos caballos muestran una disminución notable del recuento plaquetario en sangre durante cada episodio febril. La anemia es normocítica y normocrómica.

Forma subaguda



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Los síntomas son del mismo carácter, pero con menor intensidad que en la forma aguda.

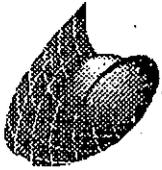
Los caballos presentan buen apetito, aunque disminuyen de peso. La fiebre dura más que en el período agudo, pero la temperatura es inferior. Durante semanas se observa fiebre leve, remitente.

Esta forma se manifiesta con anemia intensa, asociada con una rápida eritrosedimentación, disproteinemia y subictericia.

Las alteraciones son semejantes a la forma aguda, con una anemia progresiva causada por episodios de enfermedad hemolítica. Hay hipoproteinemia y la relación albúmina - globulina es más baja que la normal. Un sólo estudio hematológico no es suficiente para acercarse al diagnóstico, debería contarse con un estudio seriado de hematología y una curva de temperatura, ya que el cuadro hematológico se recupera gradualmente hasta cifras normales entre un ataque y otro.

Forma crónica.

Los caballos presentan cansancio notable, mal rendimiento, adelgazamiento y anemia de diferentes grados. Los potrillos se desarrollan mal. Frecuentemente se observan síntomas cerebrales como apatía y tontera. Se producen síntomas circulatorios con extensas trombosis de las arterias pélvicas y cojeras intermitentes. Luego del trabajo se produce cansancio rápido, signos de insuficiencia cardíaca y disnea que son compatibles con las lesiones



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



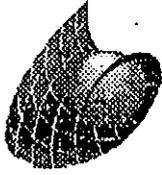
anatomopatológicas que se presentan en los pulmones y miocardio. Muchos de estos animales presentan glomerulonefritis, observable durante la necropsia y estudios anatomopatológicos. Clínicamente la nefritis se manifiesta a través de una proteinuria leve.

El desarrollo de las diferentes formas es variable.

El caballo puede curar, desde el punto de vista clínico, pero siempre hay que recordar que sigue siendo portador del virus. Muchas veces los animales parecen normales en reposo, pero se observa disminución del rendimiento físico. Es típico el adelgazamiento progresivo y el agotamiento rápido en los casos crónicos. Los casos mortales durante la forma aguda son bastante comunes en regiones con cepas virulentas del virus (Wyoming strain).

Las infecciones bacterianas secundarias que se producen en animales con anemia infecciosa equina, suelen tener un curso desfavorable si no se las trata masivamente; la resistencia frente a las infecciones bacterianas secundarias parece estar muy disminuida.

Durante el período de latencia no hay fiebre y el animal parece recuperarse, pero siempre es posible la muerte durante la reagudización; en general lo más común de presentarse es la reducción o desaparición de los accesos. El caballo puede presentarse clínicamente sano o con alguna insuficiencia crónica.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Durante los periodos febriles en la etapa de remisi3n, el trabajo continuo provoca anemia intensa y edemas.

Anemia y trombocitopenia.

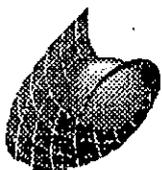
El virus de la AIE no parece estar asociado con el desarrollo de una inmunosupresi3n significativa ni con infecciones secundarias.

Durante la forma cr3nica la anemia es el resultado de la hem3lisis tanto intra como extravascular y de la respuesta compensatoria de la m3dula 3sea. La vida media de los eritrocitos de ponis con AIE aguda es de 28 a 87 d3as, mientras que para equinos sanos es de 137 d3as.

Las concentraciones elevadas en sangre de hemoglobina indican hem3lisis intravascular en esos animales.

El VAIE aglutina gl3bulos rojos in vitro. Los gl3bulos rojos de los animales afectados aparecen cubiertos por componentes del sistema del complemento. Tanto los virus como los complejos Ag-Ac parecen adherirse a los eritrocitos equinos y activar al Sistema Complemento por un mecanismo estimulado por la presencia de los Anticuerpos espec3ficos contra el VAIE. Los gl3bulos rojos cubiertos por esos complejos son fagocitados por los macr3fagos y c3lulas polimorfonucleares.

La anemia hemol3tica es exacerbada por la respuesta comprometida de la m3dula 3sea que se manifiesta por una disminuci3n en la concentraci3n del hierro s3rico, del % de saturaci3n de la transferrina y del recambio plasm3tico



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTÓN



del hierro así como por un incremento de la relación miélo- eritroide en la medula ósea.

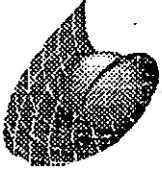
La trombocitopenia asociada con la AIE aguda puede estar originada en el deposito de complejos inmunes sobre la superficie de las plaquetas. La Ig G y la Ig M aumentan su concentración a los 8- 9 días postinfección. Esa unión puede ocurrir por una adhesión inespecifica del virus a las plaquetas con posterior reacción con los Anticuerpos especificos, por una infección de los megacariocitos en la médula ósea o por una adherencia inespecifica de la inmunoglobulinas a las plaquetas activadas.

Glomerulitis inmunológica.

La glomerulitis con proliferación celular y engrosamiento de la membrana basal está presente en el 75% de los caballos con AIE. Los anticuerpos especificos contra el virus de la AIE pueden ser demostrados a lo largo de la membrana basal glomerular. Sin embargo, aunque la deposición de los complejos virus- anticuerpo- complemento en los glomérulos parece ser un fenómeno común en la infección por el virus de la AIE, la proteinuria no suele ser un hallazgo común.

Resultados de laboratorio.

En el laboratorio, la primera anormalidad observable es una trombocitopenia coincidente con la aparición del cuadro febril. Esa alteración puede recurrir con picos de hipertermia o hacerse más severa y contribuir al desarrollo de



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



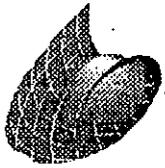
hemorragias. Las disminuciones en el hematocrito y en el recuento de glóbulos rojos pueden observarse tempranamente, entre 5 y 10 días postinfección, aunque ese hallazgo es más severo en los individuos con infecciones persistentes que ya han sufrido varios ataques febriles. Muchos caballos presentan leucopenia con ligera linfocitosis. La mayoría de los caballos tiene elevada cantidad de monocitos circulantes. Durante la infección aguda, puede detectarse la presencia de sideroleucocitos (células fagocíticas que han procesado eritrocitos cubiertos por complejos de anticuerpo y complemento). Durante un tiempo, la detección de ese tipo de células fue utilizada como test. Los sideroleucocitos disminuyen, hasta desaparecer a medida que la enfermedad progresa y el animal se transforma en portador inaparente. El aumento inespecífico de inmunoglobulinas heterogéneas puede conducir al hallazgo de hiperproteinemia.

Posteriormente, se desarrolló y puso en práctica el método de diagnóstico específico y mucho más sensible de inmunodifusión en agar gel.

Diagnóstico de AIE.

Actualmente, existen tres pruebas consideradas confiables para el diagnóstico de AIE:

- la inoculación de huéspedes susceptibles,
- la inmunodifusión en agar- gel,
- la prueba de ELISA de Competición (C- ELISA).



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



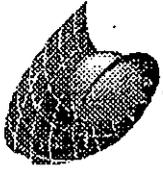
El test de inoculación es la prueba más antigua, pero al mismo tiempo el más confiable para el diagnóstico certero de la enfermedad.

Inyectar, por vía endovenosa 250 ml de sangre del animal sospechoso a otro individuo no expuesto previamente al contacto con el virus. Luego, se observa si ese animal receptor desarrolla los signos de la enfermedad. A pesar de su confiabilidad, este método se utiliza en muy raras ocasiones ya que es muy oneroso, demanda mucho tiempo y requiere el sacrificio de un animal previamente sano.

El test de Coggins y la prueba de C- ELISA detectan la presencia de anticuerpos sintetizados contra la principal proteína del core viral, conocida como "p26".

Los equinos con infecciones agudas producen anticuerpos detectables dentro de los 45 días postinfección. El test de Coggins (inmunodifusión en agar gel) es el método más difundido, tiene una eficacia del 95% para detectar la enfermedad. Existen unos pocos casos en los que el test de inmunodifusión en agar- gel arrojó resultados negativos o dudosos de muestras que demostraron pertenecer a animales infectados confirmado por el test de inoculación.

La prueba de C- ELISA ha sido recientemente aprobado en los EEUU para el diagnóstico de la AIE los resultados de esta prueba son consistentes con casos positivos detectados por el método de Coggins mientras que la prueba de ELISA es más sensible para la detección de la respuesta de anticuerpos en



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

**LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO**

**COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini**

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



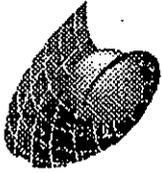
caballos con Coggins negativo (falso negativo) o débilmente positivo. Este aumento en la sensibilidad puede resultar también por la aparición de resultados falso-positivos. Por este motivo todo caballo con un test positivo a AIE, independientemente del método de diagnóstico utilizado, debe ser sometido a un nuevo análisis que confirme los resultados.

Inmunopatogénesis y control de la AIE.

La AIE presenta la particularidad de producir escasas lesiones primarias ya que la mayoría de sus signos clínicos y alteraciones patológicas son secundarias a los esfuerzos improductivos del sistema inmune del huésped que no logra eliminar al virus del individuo infectado.

Variación antigénica en la infección crónica.

Cada episodio febril registrado en un caballo con AIE crónica está asociado a la aparición de una nueva variación antigénica del virus. Se ha creído que esto se da por la presión de selección que ejerce el sistema inmune del huésped de la que escapa la nueva cepa viral durante un tiempo, produciendo un nuevo episodio febril. La mayoría de esos episodios ocurre durante el primer año de la infección y la desaparición de las reagudizaciones obedecería a la respuesta inmune montada por el huésped contra todos los epítopes, comunes a todas las variantes de virus. Los cambios desarrollados por la envoltura viral permiten a la nueva cepa antigénica escapar de los anticuerpos neutralizantes provocando un nuevo episodio de replicación viral y enfermedad clínica. La



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



variación antigénica es una característica importante en la aparición de la persistencia viral y constituye uno de los principales obstáculos para el desarrollo de vacunas efectivas.

Los estudios de mapeo de péptidos demuestran que la glicoproteína de la envoltura gp90 es la más variable de todas. Esa variación obedece a los cambios en el material genético viral que codifica la síntesis de aquella proteína. Contrariamente, las proteínas del core no parecen presentar variaciones. La comparación de mapeos genómicos y peptídicos de aislamientos virales sucesivos revela que cada cepa es estructuralmente única con variaciones que ocurren al azar y en procesos no acumulativos. En los casos clínicos de AIE es posible que ocurran varios ciclos de viremia y fiebre antes de que se detecten anticuerpos neutralizantes.

Los cambios identificados en los epitopes de los virus obtenidos de aislamientos secuenciales de un mismo animal resultarían de las mutaciones genéticas ocurridas durante la replicación viral. Este proceso ocurre por errores en la actividad de la transcriptasa inversa. La primoinfección consiste en el ingreso de una mezcla heterogénea de tipos virales; la selección secuencial y la multiplicación de las variantes antigénicas individuales presentes en el inóculo inicial podrían también dar origen a los cambios observados en el virus de la AIE durante el curso de la enfermedad.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Lilliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



La recombinación entre diferentes cepas virales puede ocurrir *in vivo* generando una variante antigénica nueva y constituyendo así otro posible mecanismo de evasión de la respuesta inmune.

Persistencia viral.

Los equinos seropositivos son considerados como infectados durante toda su vida. La persistencia viral se evidencia por anemia continua, hipergamaglobulinemia, niveles disminuidos de los componentes del Sistema de Complemento, depósitos de gamaglobulinas y de la fracción C₃ del Sistema de Complemento en los glomérulos y la hiperplasia linfoide. Los indicadores más directos de la persistencia incluyen la transmisión de la enfermedad desde portadores inaparentes hacia otros huéspedes susceptibles, la presencia de complejos inmunes circulantes y la aparición de episodios clínicos ante una disminución de la función del sistema inmune del animal infectado.

La variación antigénica contribuye con la persistencia viral pero es poco probable que sea el principal mecanismo involucrado. La habilidad del virus para integrarse al material genético de la célula huésped para permanecer allí en una condición latente, parece ser el mecanismo más importante. La subpoblación de células portadoras del material genético viral y el estímulo responsable de la activación del virus aún no han podido ser identificados. Sin embargo, las células pertenecientes a las líneas de los monocitos y los macrófagos constituyen el sitio principal de la persistencia viral.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



La respuesta inmune humoral.

La reacción del huésped consiste tanto en una respuesta humoral como celular. Los caballos infectados presentan hipergamaglobulinemia heterogénea; en la mayoría se registra aumento de las concentraciones de Ig G e Ig M dentro de los 60 días postinfección. Sin embargo hacia los 45 días postinfección, casi todos los caballos infectados presentan anticuerpos contra las proteínas del core p11 y p9.

La Ig G de los animales infectados fija el complemento en presencia del antígeno viral en la mayoría de los casos pero no en todos ellos. La Ig G T_x (una subclase de la Ig G equina) inhibe la fijación del complemento en caballos infectados por el VAIE. Esto podría explicar el motivo por el que algunos sueros negativos a la prueba de Fijación de Complemento arrojan resultados positivos en test de INHIBICION de la Fijación de Complemento. La infección crónica por el VAIE parece resultar en una disminución selectiva de la Ig G T por lo que la prueba de Fijación de Complemento pasaría a producir resultados positivos en los equinos infectados en forma crónica.

Los animales con infección crónica desarrollan una marcada respuesta a las glicoproteínas gp90 y gp45 de la envoltura viral, ya que la localización externa de esos antígenos los convierte en potenciales blanco para los anticuerpos neutralizantes. La producción de anticuerpos monoclonales en el laboratorio contra estas glicoproteínas, confirma la hipótesis que sostiene que las



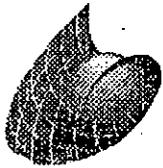
PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LÉCHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Pérez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



proteínas externas constituyen el estímulo para la síntesis de los anticuerpos neutralizantes. Los Anticuerpos neutralizantes reaccionan solamente contra epítopos antigénicos altamente variables, mientras que los anticuerpos monoclonales que se unen a las porciones estables de las gp90 y gp45 son incapaces de neutralizar al virus. Esta característica representa la mayor dificultad para la creación de una vacuna contra el millar de variantes antigénicas que presenta el virus de la AIE.

Respuesta inmune mediada por células.

La respuesta inmune mediada por células contra el VAIE no ha sido bien caracterizada como la respuesta humoral. Se ha demostrado, por pruebas de citotoxicidad directa que las células mononucleares presentes en la sangre periférica de los equinos infectados son capaces de destruir selectivamente a las células infectadas por el virus. La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos no pudo ser demostrada en esos experimentos. Esas observaciones apoyan la hipótesis que postula que la infección por el virus de la AIE sería controlada más eficientemente por los mecanismos de defensa celular que por los de defensa humoral. Se ha propuesto que las lesiones linfoproliferativas observadas en el hígado, nódulos linfáticos y bazo serían el resultado de la amplia dispersión de los linfocitos T reaccionantes contra el virus.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

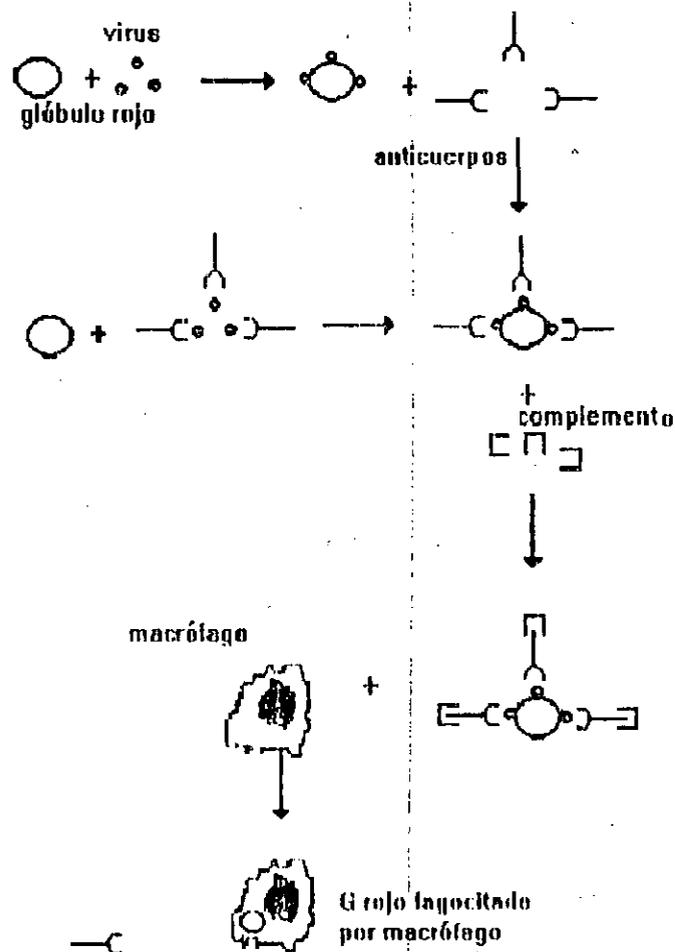
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

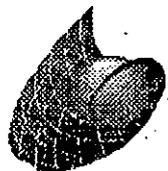
Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Epidemiología y control de la AIE.

A partir del test de Coggins, tomado como el test de diagnóstico oficial, se regulariza el movimiento de los equinos, prohibiéndose el tránsito de los equinos reaccionantes positivos.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

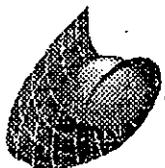
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Las medidas de control para los equinos positivos incluyen la eutanasia, la identificación permanente con aislamiento de por vida en un predio separado por lo menos por 180 metros de cualquier otro miembro de la familia Equidae o el transporte del animal hacia cualquier centro de investigaciones de la AIE.

A pesar de las reglamentaciones vigentes la enfermedad siempre podrá aparecer cada vez que se descuide la aplicación de las medidas de control. Los propietarios y profesionales preocupados por la potencial ocurrencia de un brote pueden poner en práctica sus propias normas de prevención para reducir el riesgo de exposición, entre las que se pueden mencionar:

- Solicitar el test de AIE negativo, previo a la compra de un caballo;
- Para el caso de los haras y ante la incorporación de un nuevo animal, solicitar los test de AIE negativo con no menos de 2 meses de antigüedad;
- Realizar control de los insectos potenciales portadores del virus;
- Exigir certificados negativos de AIE en cualquier espectáculo deportivo que implique una gran concentración de animales con rechazo a la participación de cualquiera positivo;
- Controlar por lo menos una vez al año a todos los equinos para descartar una posible exposición al virus;
- No utilizar una misma aguja y jeringa hipodérmicas para varios caballos.
- Controlar la desinfección en el instrumental quirúrgico y pinzas de tatuar.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL

EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano

Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Mientras una gran población de equinos no sea sometida a control o toda vez que las pruebas de diagnóstico de laboratorio fallen en la detección de animales portadores persistentes se estará frente a la amenaza del avance de la infección por el virus de la AIE.

Diagnóstico de la anemia infecciosa equina.

En los casos sintomáticos, sólo se sospecha de AIE, tanto por los síntomas clínicos como por el cuadro hematológico, debiendo realizar los correspondientes diagnósticos diferenciales de otras etiologías con síntomas semejantes. Se debe confirmar la investigación de anticuerpos precipitantes contra el VAIE, en caso de estar presentes, caracterizan la infección, tanto en animales sintomáticos como en asintomáticos.

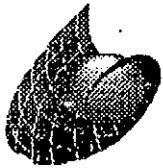
La prueba de inmunodifusión en agar gel (IDAG) o test de Coggins, nos ayudan a la investigación de estos anticuerpos. Esta prueba confirma un diagnóstico presuntivo y se utiliza para el control periódico de la población equina y mantenerla libre de la infección.

La extracción de sangre y la prueba se efectúan bajo certificación.

La técnica diagnóstica se describe en el capítulo correspondiente.

Tarea 6. Diagnóstico de Enfermedades Venéreas de los bovinos.

No se recibieron muestras para analizar.



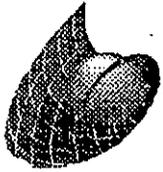
PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qcá. Lilibiana Pérez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



CAPITULO 2. DE LAS PRUEBAS DIAGNOSTICAS.

Tarea 2 Diagnóstico de TRIQUINELOSIS.

- A. **Recepción de muestras:** en el caso de recibir una cantidad considerable de muestras, es recomendable hacer el recuento de las mismas y verificar si no hay errores en la numeración para luego comenzar con el procesamiento; también es importante que las muestras sean las recomendadas: **MUSCULO DIAFRAGMA.**
- B. **Preparación, pesado y picado de las muestras:**
- ❖ Para carne fresca, hay que eliminar la mayor cantidad posible de grasa, tendones, aponeurosis.
 - ❖ Para chacinados, se deben eliminar los condimentos, el continente del chacinado y la grasa; se aconseja rehidratar la muestra con agua destilada, previamente pesada para tenerla en cuenta para la digestión, se deja entre 4 a 6 horas, en una proporción aproximada de 100 ml cada 20 gramos de muestra, al preparar la solución digestora, se debe restar el volumen utilizado para rehidratar.
 - ❖ Pesar la cantidad de muestra requerida por la técnica y conservar ordenado el remanente por si fuera necesario repetir la prueba.
 - ❖ Picar la carne en una máquina eléctrica a razón de 3 golpes por segundo (ese es el grado de picado apropiado); se debe tener en cuenta no picar la



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



muestra demasiado. Si se hace a mano, mediante el uso de una tijera, se corta la carne en pequeños trozos.

- ❖ Pesar la carne y colocar en un vaso de precipitado de la capacidad necesaria usar un recipiente de mayor capacidad que la requerida.

TÉCNICA DE LA TRIQUINOSCOPIA DIRECTA.

Se comprimen 14 submuestras de carne de los músculos recomendados para el diagnóstico, entre dos placas de vidrio y la posterior observación al microscopio o al triquinoscopio, para la búsqueda de las larvas de *Trichinella*.

Peso de músculo por placa: 330 mg	Límite de sensibilidad de la técnica: 3 larvas por gramo.
-----------------------------------	--

Material necesario:

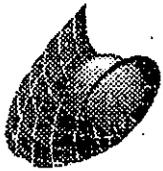
Triquinoscopio, microscopio

Placas de vidrio con tornillos en los extremos para prensar las muestras

Técnica:

Cortar 12 trozos de carne (músculo), sin tendón, aponeurosis u otra fibras conectivas,

Colocarlos sobre uno de los vidrios de la placa del triquinoscopio, colocar el otro vidrio arriba y ajustar los tornillos.

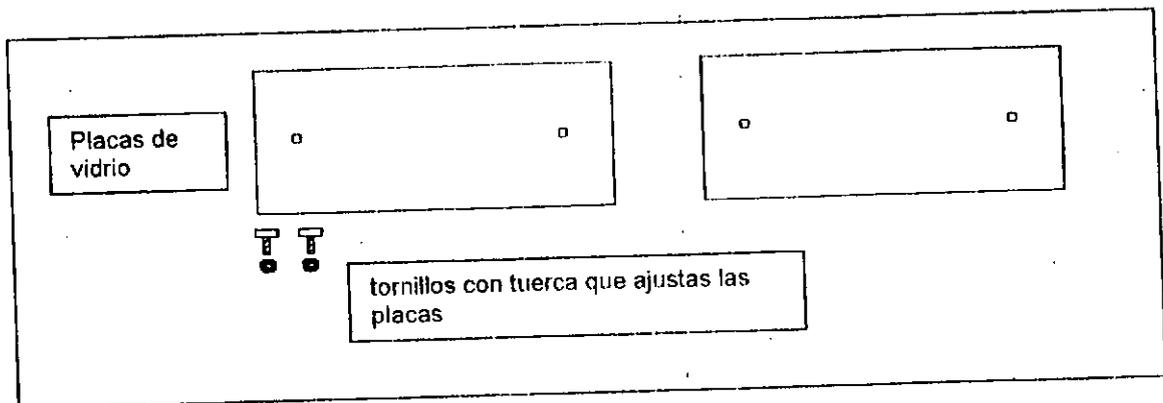


PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Llevar la placa al triquinoscopio y observar la presencia de larvas enquistadas en las fibras musculares. Observar los pequeños trozos de carne que se colocaron en la placa. La presencia de larvas determina la positividad del diagnóstico.

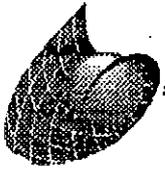
Placas del trichinoscopio



TECNICA DE LA DIGESTION ARTIFICIAL

Las muestra se digieren artificialmente, simulando la digestión gástrica, por la acción de la pepsina, ácido clorhídrico, agua, temperatura y agitación, durante un tiempo variable. Una vez digeridas las muestras se observa el sedimento para la búsqueda de las larvas de *Trichinella*.

Se analizan 20 gramos de muestras individualmente y 5 gramos de muestra por cerdo para grupos de 20 animales.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Esta técnica tiene una sensibilidad de menos de 1 larva por gramo cada 5 gramos de muestra y de 0,05 larvas por gramo para muestras de mayor peso.

La mayor sensibilidad de esta técnica esta dada por la mayor cantidad de músculo que se procesa, con respecto a la técnica de observación directa.

La técnica de trichinoscopia a dejado de utilizarse debido a la baja sensibilidad frente a la digestión, que es la prueba autorizada por el SENASA para el diagnóstico de esta parasitosis.

Soluciones necesarias para la técnica de trichinoscopia:

Utilizar drogas de alta calidad y en muy buen estado de conservación, de ello depende el resultado de los análisis; se recomienda **Pepsina 1:10000**, que tiene mayor capacidad digestora, aunque puede usarse Pepsina 1:3000. Para el caso del **Ácido Clorhídrico**, se debe utilizar la forma Fumante a una concentración del 37% (indicada en la etiqueta del envase).

- Soluciones y reactivos:

Pepsina 1:10000 al 1%.

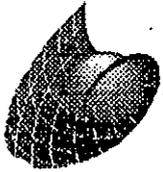
Acido Clorhídrico, forma Fumante al 37% (indicada en la etiqueta del envase)
agua destilada y agua corriente a 46°C.

- Materiales:

Picadora eléctrica

Cuchillo, tijera y bisturí para la toma y picado de muestras

Vaso de precipitado, de 3 l.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Agitador magnético provisto de una placa térmica de temperatura controlada y una barra magnética (recubierta de teflón) de 5 cm aprox.

Ampolla cónica de decantación modelo Squibb

Triquinoscopio o estereomicroscopio

Balanza de precisión de 0,1 g.

Film adherente o papel de aluminio

Tamices de malla fina (lo ideal es de 170 micras), de un diámetro de 11 cm, provistos de una rejilla de acero inoxidable

Embudos de un diámetro interior mínimo de 12 cm, destinados a recibir el tamiz

Embudos de separación cónicos con una capacidad de 2 litros

Probeta graduada de 50 ml o tubo de centrifugación

Pipeta de 25 ml y propipeta

Soporte con anillo y fijadores

Formol puro y al 2%.

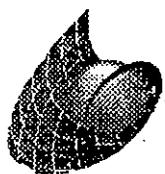
Varios recipientes de 10 litros para utilizar en el momento de decontaminación del material.

Técnica.

Preparación de la solución digestora:

Pesar y medir cuidadosamente los reactivos;

Utilizar agua destilada para la preparación de la solución digestora; para la clarificación usar agua corriente.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Mientras se prepara la solución digestora se puede poner a calentar el agua destilada a 46°C y el agitador hasta que mantenga la temperatura constante.

Preparar las siguientes proporciones:

PEPSINA 1:10000 al 1%

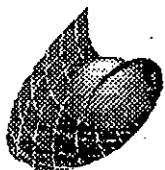
ACIDO CLORHIDRICO 37% al 1%.

100 g de carne	1470 ml de agua 15 g de pepsina 15 ml de HCl
50 g de carne	735 ml de agua 7,3 g de pepsina 7,3 ml de HCl
20 g de carne	294 ml de agua 3 g de pepsina 3 ml de HCl

Inicio de la agitación: colocar la carne picada en el vaso de precipitado; agregar el agua destilada a 46°C, el ácido clorhídrico (con cuidado, por las paredes del vaso de precipitado), la pepsina y el imán recubierto con teflón. Controlar que estén los elementos necesarios en el interior del vaso de precipitado.

Controlar el pH: 1,5 a 2 . Tapar el vaso de precipitado con film adherente o papel de aluminio e inmediatamente iniciar la agitación.

La agitación es la apropiada cuando en el vaso de precipitado se forma un remolino considerable pro que no llega a salpicar. El tiempo de agitación se estima en 30 a 45 minutos, pero puede demorarse un poco más hasta que la digestión del músculo sea total.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON

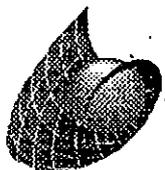


La agitación finaliza cuando se levanta el vaso de precipitado y se observa el fondo del recipiente en el cual no deberá haber restos ni trozos de músculo sin digerir.

Filtrado y reposo de la solución digestora: antes de iniciar el filtrado, hay que verificar que se tengan todos los elementos necesarios: colador, embudo, robinete de la ampolla de decantación en posición cerrado y con vaselina o silicona para robinetes (para que no pierda líquido) y el soporte de la ampolla de decantación. Si se realizan varias agitaciones a la vez, es necesario numerar todos los elementos de trabajo con un marcador al solvente.

Una vez finalizada la digestión se le deberá filtrar a través de un colador de malla fina (el ideal es de 170 micras) y colocarla mediante un embudo en una ampolla cónica de decantación modelo Squibb (esto es importante debido a que tiene paredes suficientemente inclinadas como para impedir el asentamiento de las larvas); luego se lo deja reposar como mínimo 30 minutos para que las larvas sedimenten.

Obtención de la solución de observación: ya sea con un tubo de ensayo o con una probeta de 50 ml, se toman 50 ml de la ampolla. Dejar reposar 20 a 30 minutos y extraer por aspiración 40 ml, a los que se le agregan 40 ml de agua corriente y se deja reposar 15 minutos; volver a aspirar 40 ml y reponer al volumen inicial (50 ml); dejar reposar otros 15 minutos y aspirar 40 ml. Los 10 ml que quedan en la probeta se vuelcan en una cápsula de Petri de 5 cm de



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



dm. La probeta se enjuaga con 10 ml de agua y se colocan en otra cápsula, por si hubieren quedado larvas.

El contenido de la cápsula de Petri es lo que se lleva a observar.

Observación: La observación de formas espiraladas correspondientes a las larvas, determina la positividad del análisis.

Para comprobar la viabilidad de las larvas, agregar con pipeta unas gotas de agua de 44°C y se verá como se desenrollan y arrollan.

Para hacer el recuento de larvas, tomar un portaobjetos grabado con dos filas de 12 cuadrículas iguales cada una y colocar 0,1 ml de solución a observar, homogeneizada, extender y contar las larvas de todas las cuadrículas.

Para el recuento total, tener en cuenta la siguiente fórmula:

En 0,1 ml se contaron 400 larvas

En 1 ml = 4000 larvas

En 10 ml = 40000 larvas.

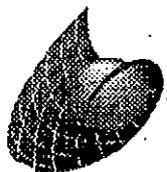
Luego tenemos que la muestra se origina de:

20 g de carne que están representados en 10 ml de solución por lo tanto contiene 40000 larvas.

En 1 g de carne = x larvas

$X = 1 \text{ g de carne} \times 40000 \text{ larvas} / 20 \text{ g.}$

$X = 2000 \text{ larvas} / \text{g de carne analizada.}$



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Informe de los resultados: en diagnósticos positivos se expresa en larvas por gramo; si se trata de análisis por un foco, resulta de mucha utilidad informar además: cantidad de muestra procesada, cantidad de muestras positivas / muestras analizadas, etc., con el fin de dar la mayor información posible sobre el diagnóstico.

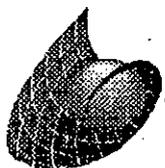
Precauciones con el material de riesgo: una vez finalizados los análisis, se deberá colocar todo el material empleado y que hubiere estado en contacto con las muestras, en formol diluido al 2% para eliminar la viabilidad de las larvas u otros agentes patógenos, luego recién se procederá al lavado.

En el caso de ampollas con solución digestora positiva, se las deja en el soporte, con el robinete cerrado, se agregará el formol puro y se dejará actuar.

El resto de la muestra que diera positivo deberá de ser incinerada o tratada adecuadamente a fin de eliminar con certeza las larvas viables.

Procedimiento luego de un diagnóstico positivo: si el análisis de un grupo de muestras de 100 gramos, es decir un conjunto de muestras de 5 g de 20 porcinos, arrojará un diagnóstico positivo, se deberá proceder de la siguiente manera:

- Agrupar las muestras en 5 grupos de 5 muestras de 20 gramos cada una, tomadas del remanente de las muestras originales (por eso se indica tomar como mínimo tomar 60 gramos limpios por cada cerdo en el momento de la faena); así nos quedarán 5 grupos de muestras de 100 gramos por grupo.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



- Efectuar las 5 digestiones correspondientes.
- En alguno de estos grupos, el resultado volverá a ser positivo, por lo que se deberá individualizar cual de los cerdos es el positivo, para esto se procederá de la siguiente manera:
- De cada uno de los cerdos que integran el grupo positivo, se toman nuevamente 20 gramos y se efectuarán nuevas digestiones artificiales individuales para cada muestra de 20 gramos.

Tarea 4. Operación del equipo Metrolab para ELISA

El CREACyT posee un Lector de Placas "METROLAB" 980, Versión 1.03.

Generalidades.

Metrolab es un fotómetro vertical programable de longitud de onda modificable, destinado a la medición de absorción de luz de muestras de técnicas de MICROELISA y de placas de MICROTITER.

La óptica del Metrolab 980 es una combinación filtros - lentes de alta luminosidad protegidos con recubrimiento de Fluoruro de Magnesio para larga duración aún en ambientes corrosivos.

El zócalo de la lámpara de iluminación se halla alineado en fábrica. El reemplazo de la lámpara se realiza sin necesidad de recalibración.

Especificaciones.

Rango dinámico de medición: -0.300 a 2500 de DO.

Rango absoluto de medición: -0.355 a 3456 de DO.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Rango espectral: 340 - 700 nm. Filtros disponibles a pedido.

Ancho de banda: 10 nm para filtros provistos en fábrica.

Luz espuria: menos de 0.2% a 340 nm.

Linealidad fotométrica: mejor que +/- 0.005 en 0.4A.

Detector: fotodiodo de silicio de alta sensibilidad en UV.

Microprocesador: Intel 8032.

Lectura: conversor híbrido de tensión a frecuencia, 100 KHz.

Soporte de muestras: marco codificado para placas de 8 X 12, 96 pocillos.

Soporte para lectura de pocillos individuales.

Soporte para lectura de pocillos individuales.

Dimensiones: 320 mm de ancho, 360 mm de profundidad, 160 mm de altura.

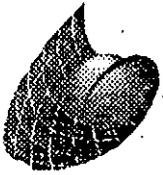
Peso: 7 Kg.

Descripción funcional.

El lector de placas Metrolab 980 utiliza como fuente de iluminación una lámpara halógena preenfocada, ubicada en el cabezal móvil que se inserta en el pocillo de la microplaca.

La ventana protectora y el filtro interferencial se hallan colocados en un único soporte. Este soporte permite el cambio sencillo de filtro desenroscando el soporte e insertando el nuevo filtro.

La luz que llega al sensor genera una tensión eléctrica que es convertida en una señal pulsada mediante un conversor tensión - frecuencia. Estos pulsos



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



son contados por el microprocesador y su frecuencia es proporcional a la intensidad de luz y en consecuencia a la TRANSMITANCIA de la muestra.

El marco soporte de la microplaca tiene en su parte inferior dos tiras reflectoras de cobre. Ellas activan a dos de los 20 sensores reflectivos ubicados bajo la platina, donde se ven dos franjas de color rojo. Esta codificación digital da la posición absoluta del marco en todo momento, siempre, que los bordes del marco sean paralelos a las franjas rojas. Si ello no ocurre, más de un sensor de cada tira queda activado y se genera un mensaje de "re Align".

OPERACIÓN

Al encender el instrumento, se realiza una medición automática del cero de transmitancia. La lámpara se apaga momentáneamente y se registra la frecuencia leída. Este valor es el que se utiliza para corregir toda lectura que se realiza.

Luego de tres minutos se produce la estabilización térmica.

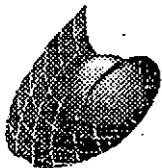
Introducir la fecha.

Colocar la microplaca en el marco de sujeción y verificar que calce firmemente.

El punto blanco de referencia debe estar a la izquierda del operador y hacia la parte de atrás del instrumento.

El pocillo A1 debe estar colocado en el ángulo correspondiente al punto blanco de referencia

Para realizar las mediciones asegurarse que la esfera de posicionado calce



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Exactamente en el pocillo deseado. Par el mejor centrado ubicar la vista del operador de manera tal que se vea la esfera de posicionado.

MEDICIÓN.

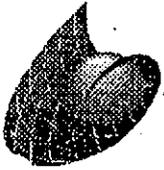
Se debe introducir un número identificador de la placa que se va a leer, este número luego se imprimirá junto a la fecha, programa y factor o concentración del testigo. Se debe indicar cuántos blancos leerá. La lectura de los blancos será el promedio de todos los blancos, debe desplazarse la placa a los blancos sucesivos hasta completar el total de blancos consignados.

Completada la lectura de los blancos, se iniciará inmediatamente la lectura de las muestras. Cada nueva localización de pocillo será interpretada como una nueva muestra. En el visor se leerá la posición y la absorbancia leídas. Para generar una nueva lectura oprimir la tecla SAMPLE.

Al completar el ciclo de blancos se debe decidir si se trabajará con estándar o factor.

Si se trabaja con FACTOR se verá el valor inicial de factor de 1,000. Los resultados se publicarán con el número de decimales usados en el factor, si no se usan decimales el sistema asumirá que se usan 3. Los valores de concentración consignados resultarán de multiplicar el factor por la absorbancia.

Si no se selecciona FACTOR, el sistema asume que se trabaja con estándar y se debe introducir el número de estándares REPLICA que se desea utilizar. El



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



programa realiza el promedio de los estándares pero no traza la curva de calibración con patrones diferentes.

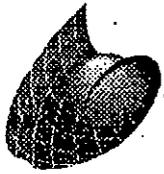
Una vez escrito el número de estándares, el sistema leerá los siguientes pocillo

MANTENIMIENTO Y CUIDADO.

- ❖ Limpiar y secar los líquidos volcados inmediatamente.
- ❖ No dejar cubetas en el instrumento cuando no está en uso. Cerrar la tapa de la caja de celdas.
- ❖ Cubrir con la funda si no está en uso permanente. Desconectarlo de la línea de electricidad.
- ❖ Limpiar las ópticas con una perita de goma soplando aire.
- ❖ Colocar el equipo en lugares ventilados, libres de vapores corrosivos.
- ❖ No colocar el equipo en lugares cercanos a estufas, muflas u hornos. Evitar los cambios bruscos de temperatura.
- ❖ No utilizar mesas que estén sometidas a vibraciones intensas, como ser provenientes de centrifugas que pueden descalibrar el sistema óptico.
- ❖ No ubicar el equipo bajo iluminación directa del sol o de lámparas incandescentes.

HEMAGLUTINACIÓN E INHIBICIÓN DE LA HEMAGLUTINACIÓN.

Preparar diluciones en serie al doble del antisuero en solución salina amortiguada de fosfato (PBS) y a 0.25 ml de cada dilución de suero, se añade



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



0.25 ml de virus, conteniendo de 4 a 8 unidades de HA y se incuba a temperatura ambiente durante 1 hora. Después se agregan 0.5 ml de suspensión al 0.5% de hematíes apropiados a cada mezcla de virus-antisuero, y se lee la prueba después de 45 a 60 minutos de incubación a temperatura ambiente, o de una noche a 4°C. El título de inhibición de la hemaglutinación se expresa como la recíproca de la dilución más alta de antisuero que inhibe completamente la hemaglutinación (HA).

Desarrollo de las técnicas.

La prueba de HA se basa en la propiedad que poseen ciertos virus para aglutinar los GR lavados de diversas especies. Una vez conocida ésta característica del virus, es posible inhibir su capacidad hemaglutinante con un suero que contenga anticuerpos para ese virus. En ello se basa la prueba de IHA, permitiendo la titulación de anticuerpos de sueros de animales infectados por distintos virus hemaglutinantes.

virus hemaglutinantes + GR === HA se visualiza como un entramado de GR.

virus hemaglutinante + suero positivo + GR === HI se visualiza como un botón de GR.

Material necesario:

Placas para micrométodo con 96 pocillos.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



- micropipetas regulables para 50 y 25 ul.
- glóbulos rojos lavados de ave (según el virus) al 1%.
- virus hemaglutinante.
- PBS

HEMAGLUTINACIÓN.

- colocar 50 ul de PBS en cada pocillo.
- Agregar al primer pocillo 50 ul de virus puro y efectuar diluciones al 1/2.
- Aregar 25 ul de GR a cada pocillo.
- Efectuar la lectura a los 30 y 45 minutos.

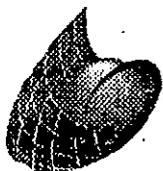
INHIBICIÓN DE LA HEMAGLUTINACIÓN (Se describe el método beta que es el más utilizado).

- Colocar 50 ul de virus en cada pocillo.
- Agregar 50 ul de suero al primer pocillo y efectuar diluciones al 1/2.
- Esperar 30 minutos.
- Agregar 25 ul de gr a cada pocillo.
- Efectuar la lectura a los 30 minutos.

Tarea 5 Diagnóstico de Anemia Infecciosa Equina .

Toma de la Muestra.

La muestra necesaria para realizar el test de Coggins es suero sanguíneo, claro, libre de hemólisis. La muestra de sangre se extrae por punción yugular



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



sin anticoagulante. Se la coloca en un tubo rotulado y se deja coagular, utilizándose el suero. El veterinario actuante remitirá al laboratorio la muestra rotulada con la ficha de extracción, firmada y sellada (las 3 hojas), siendo su responsabilidad hacerlo personalmente, para evitar maniobras dolosas como el cambio de muestras, etc.

En el laboratorio se realizará la prueba de inmunodifusión en agar gel para AIE.

Prueba de inmunodifusión para AIE.

Consiste en la difusión en gel de agar de sueros patrón positivo conocidos y los sueros problema a probar contra el antígeno precipitante. Los sueros control positivo dan una línea de precipitación contra el antígeno, mientras que los sueros problema la dará si son positivos y no la darán en caso de ser negativos.

Preparación de las soluciones necesarias:

- La solución amortiguadora de borato:

Colocar en matraz aforado:

2 g de hidróxido de sodio

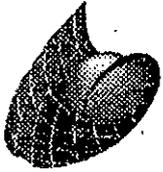
9 g de ácido bórico

agua destilada csp 1000 ml

controlar el pH que debe ser de 8,6

- Agar al 2%:

En 330 ml de la solución tampón agregar 6,6 g de agar purificado.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Dejar hidratar 15 a 20 minutos, calentar a baño María y dejar hervir hasta que clarifique.

Fraccionar en tubos y tapar para evitar la evaporación.

- Agar al 1%:

En 660 ml de la solución de borato, agregar 6,6 g de agar purificado

Dejar hidratar 15 a 20 minutos, calentar a baño María y dejar hervir hasta que clarifique.

Fraccionar en tubos y tapar para evitar la evaporación.

Técnica:

En cajas de Petri de 60 mm de diámetro:

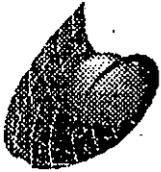
a) Verter 2-3 ml de agar noble purificado al 2% en solución tamponada de borato de pH 8,6 fundido y se deja solidificar,

b) Verter 4-6 ml del agar al 1% en solución tamponada de borato de pH 8,6 fundido sobre la capa de agar al 2% solidificada.

c) Dejar solidificar.

Una vez endurecido el agar de la placa, cortar la capa de agar al 1% sin perforar la capa de agar al 2% con un sacabocados que produce 6 perforaciones periféricas y una central (cada perforación de 6 mm de diámetro separadas entre sí por 2 mm).

Retirar el sacabocados.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

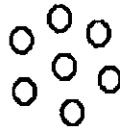
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Quitar cada uno de los círculos de agar que cortó el sacabocados con un capilar de vidrio o una pipeta de Pasteur conectada a una trampa de vacío, quedando así 7 cavidades o pocillos, cuyo fondo es la capa de agar al 2%. Al lado de uno de los pocillos se hace una muesca en el agar con el fin de identificar el punto de partida, la placa se rotula en la base y en la tapa y se dibujan en una tarjeta los pocillos cortados en el agar, para anotar en ella lo que se va a colocar en cada pocillo.

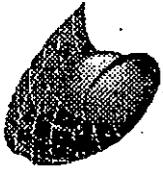


Reactivos:

- Sueros problema: se obtienen de los equinos a probar, 3 por placa.
- Sueros control positivo: son sueros positivos a AIE ajustados para dar una reacción franca positiva contra el antígeno.
- Antígeno: es una suspensión de virus obtenido de bazo de equino infectado con alto título de virus y tratado con éter para exponer el antígeno precipitante u obtenido por multiplicación del virus en cultivos de leucocitos.

Llenado de los pocillos.

Llenar las cavidades alternadas con un capilar de microhematocrito para cada suero (1,3 y 5) con cada uno de los sueros a probar.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Lilibiana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Llenar los sueros control en las cavidades 2,4 y 6 de la misma forma, con otro tubo capilar.

Con otro capilar, llenar la cavidad central con el antígeno.

Todas las operaciones se registran en la tarjeta, previamente confeccionada con el dibujo de la placa.

La placa se tapa y se deja a temperatura ambiente, no inferior a 20- 25°C durante 48 horas; se puede incubar a 37°C para acelerar la reacción en caso de urgencia. Aunque la reacción ya se visualiza a las 24 horas, no se recomienda la lectura hasta las 48 horas.

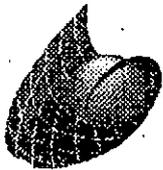
Reacción y lectura.

La capa de agar al 1% se comporta como una estructura microcapilar y el suero colocado en cada pocillo, difunde a su alrededor. Lo mismo hace el antígeno a su alrededor.

Si un suero tiene anticuerpos antiAIE al encontrarse con el antígeno de la prueba, se une específicamente a él formando una banda o línea de precipitación, en caso de no haber anticuerpos no hay reacción y no hay banda.

Los sueros controles por ser positivos, reaccionan con el antígeno, formando la línea de precipitación entre su pocillo y el del antígeno.

Si los tres sueros problema son negativos, solo aparecerá la banda en los sueros controles, formándose un dibujo triangular.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

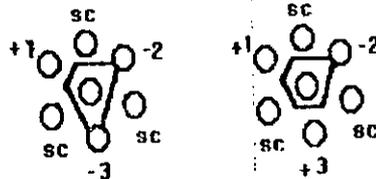
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON

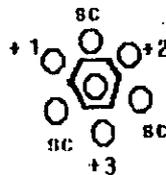


Si el suero problema 1 fuera positivo, difundé y precipita contra el antígeno,

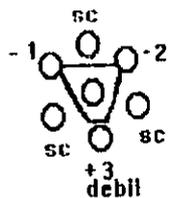


haciendo doblar las líneas de precipitación de los sueros controles, por ser idénticos los productos reaccionantes (línea de identidad).

Cuando los tres sueros problema son positivos, las líneas de precipitación forman un hexágono.



Cuando la línea de precipitación formada es equidistante del pocillo del antígeno y el suero correspondiente y es bien visible, se dice que es positivo **franco**; si la línea está más cerca del pocillo del suero, siendo fina, el suero es positivo **débil**;

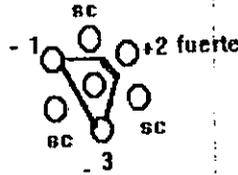




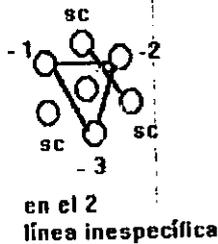
PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
 LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS
 LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
 EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
 COLABORADORES: Tec. Qca. Lilliana Perez Moyano
 Marcela Mugnaini
 SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



Si la línea está más cerca de la línea del antígeno, se dice que el suero es positivo **fuerte**, la línea es más ancha y difusa.



Línea inespecífica: si aparece una banda de precipitación entre el antígeno y un suero problema que corte las líneas de los sueros controles, esta línea es inespecífica y no se debe al sistema antígeno- anticuerpo, no debe interpretarse como positiva.



Certificación por el laboratorio.

En caso de ser negativo el suero probado, se coloca al dorso de las fichas de extracción:

- a) La fecha de vencimiento con sello fechador rojo, actualmente 60 días a partir de la fecha de extracción.



**PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS**
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO
COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini
SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



b) Resultado: negativo, con sello azul o negro. En el renglón correspondiente volverá a consignar que el equino ha reaccionado en forma negativa, en forma manuscrita.

c) Firma y sello del veterinario del laboratorio.

d) Sello del laboratorio.

El original, verde, y la 1° copia blanca, se entregan al veterinario que realizó la extracción, en el laboratorio se retiene la 2° copia blanca, que deberá archivarse. El veterinario que extrajo al muestra, archivará la 1° copia blanca y se le entregará al dueño del caballo el original verde..

La certificación de negativo será solicitada al propietario para transportarlo, venderlo, inscribirlo en concursos hípicas o carreras, etc.

En caso de ser positivo el suero del equino probado:

a) Resultado: con sello rojo. En el renglón correspondiente volverá a consignar que el equino a reaccionado en forma positiva, con letra manuscrita.

b) Firma y sello del veterinario del laboratorio.

c) Sello del laboratorio.

El laboratorio retendrá la 2° copia blanca y remitirá el original y la 1° copia a la oficina local del SENASA, a los efectos de que se apliquen las medidas sanitarias correspondientes vigentes sobre AIE. Se confeccionará un informe escrito para el propietario y el veterinario actuante.



PROGRAMA DE CONTROL Y MONITOREO DE
LA CUENCA LECHERA DE SAN LUIS

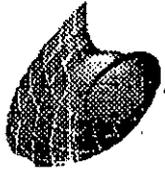
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL
EXPERTO: M.V. PAULA FRIGERIO

COLABORADORES: Tec. Qca. Liliana Perez Moyano
Marcela Mugnaini

SUPERVISION: DRA ROSA ANTON



ANEXO



Centro Regional de Estudios Avanzados Científicos y Tecnológicos

Gobierno de la Provincia de San Luis



EL DIARIO
de la República

Martes 16 de
mayo de 2000

Erradicación de la brucelosis

San Luis. La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, a través del SENASA, ha puesto en marcha el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis y Tuberculosis Bovina por medio de la Resolución 115/99.

En tal sentido, la provincia de San Luis adhirió a la ejecución de ese plan, a través del Plan Provincial de Control y Erradicación de Brucelosis y Tuberculosis Bovina, y a partir del 1º de marzo del presente año se dio comienzo con las tareas y estrategias generales y específicas para la implementación del mencionado Plan Provincial.

Por su parte, el Centro

Regional de Estudios Avanzados, Científicos y Tecnológicos (CREACyT), está informando a productores agropecuarios y veterinarios que, dentro de este ámbito, ofrece el servicio de diagnóstico de brucelosis a través del Laboratorio de Red, bajo el código L223 y con un arancel de \$0,50 por muestra, para la realización de las pruebas screening, BPA y complementarias, Wright y 2-Mercaptoetanol, con un beneficio del 10 % de descuento para los envíos que superen las 100 muestras.

Ante cualquier consulta, los interesados pueden comunicarse a los teléfonos (02652) 431217, ó 431092; como también dirigirse personalmente a las instalaciones del laboratorio del CRE-

ACyT, sito en Avenida del Fundador s/n, Puente Blanco de la ciudad de San Luis.

Cabe recordar que la brucelosis provoca grandes pérdidas en los rodeos a través de abortos en la segunda mitad de la preñez (alrededor del 5º mes), nacimientos de terneros prematuros que mueren o el nacimiento a término de terneros débiles o muertos. También disminuye la producción de leche.

Además, presenta infertilidad temporal en las hembras que lleva a un alargamiento del período entre partos y alteración en el manejo de los rodeos en los que se realice servicio estacional. Si se produce retención placentaria, la consecuencia inmediata es la infección uterina (metritis), con infertilidad pasajera.

Es importante conocer que se trata de una enfermedad zoonótica; es decir, que los animales se la transmiten al hombre. La población más susceptible a contagiarse es la que está en contacto directo con la producción ganadera y el manejo reproductivo del rodeo: trabajadores y veterinarios rurales.

EL SOL DEL TERCER MILENIO
la salud es riqueza

ACUPUNTURA-MEDICINA TRADICIONAL ASIÁTICA:
Armonizaciones. Miedos. Fobias. Obesidad. Estrés. Ventosas.
Reumatismo. Artritis. Dolores. Angustia. Masajes.
Descontracturantes. Masajes orientales. Disfunciones sexuales.
Dígito láser. Dolores musculares.

TERAPIAS ALTERNATIVAS:
Armonizaciones. Reiki. Obesidad. Enfermedades psicosomáticas. Terapias florales. Fangoterapia. Bioenergía. Meditación. Gemoterapia. Astrología. Control mental.

Galera Sonados, Local 23
Dirección electrónica: elsoldeltercermilenio@infovia.com.ar
Tel: 4246907, 15508064, 15660310

Las empresas de transporte que comunican el centro ganadero.
 Con la ciudad de San Luis son las siguientes:

EMPRESA LUJAN	DANTE SAN LUIS
7.10	8.40
9.20	10.50
12.55	14.25
19.30	21.00

EMPRESA LUJAN	DASSO SAN LUIS
5.45	7.15
10.45	12.15
15.35	17.05
18.35	20.05

EMPRESA LUJAN	TAC SAN LUIS
13.20	15.45
18.20	21.00

LUNES A
 SABADOS

San Luis, 15 de febrero de 2000

Sr. Presidente Del Centro Ganadero Ayacucho:

Tengo el agrado de dirigirme a Ud. con motivo de comunicarle que el CREACyT ha logrado la habilitación de su laboratorio de diagnóstico de Brucelosis L - 223 perteneciendo a la Red de Laboratorios, según la resolución 115/99 de la SAGPyA - SENASA. El laboratorio está a cargo de la Méd. Vet. Paula C. Frigerio, M.P. 261.

ARANCEL

- El Laboratorio del CREACyT ha fijado un arancel de \$ 0,50 para cada muestra a analizar, esto incluye la prueba tamiz (BPA) y las pruebas complementarias (SAT y ME).
- Entrega de las planillas de Protocolo de Envío de Muestras a Laboratorio para Diagnóstico de Brucelosis.
- Entrega de los tubos para realizar el sangrado.

Diagrama de diagnóstico serológico para Brucelosis Bovina.

Las pruebas de diagnóstico que son utilizadas hasta la fecha, dentro del marco del Programa Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina son: BPA, SAT y 2- ME.

Acción con los centros.

- El CREACyT enviará a los Centros Ganaderos y Veterinarios Acreditados la caja conservadora conteniendo los tubos de vidrio o plástico, con tapón, en gradillas, junto con los protocolos para la extracción de muestras.
- Una vez tomadas las muestras, el personal responsable de las tareas de saneamiento, será el encargado del envío de las mismas por la vía más conveniente, comunicando al CREACyT empresa de transporte, fecha de envío, número de bultos y número de guía.
- Al Laboratorio del CREACyT arribarán las muestras a través de los Centros Ganaderos y de los Veterinarios Acreditados.
- El laboratorio emitirá los resultados con un plazo máximo de 10 días.
- No se emitirán resultados telefónicamente.



**Centro Regional de Estudios
Avanzados Científicos y
Tecnológicos**



Gobierno de la Provincia de San Luis

LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL	1
CAPITULO 1. GENERALIDADES. DESCRICION	1
TAREA 1 BRUCELOSIS DIAGNOSTICO	1
TAREA 2 TRIQUINELOSIS	2
TAREA 3 PARASITOLOGIA	9
TAREA 4 LEUCOSIS VIRAL BOVINA	9
DIAGNOSTICO VIRAL	31
TAREA 5 ANEMIA INFECCIOSA EQUINA	44
TAREA 6 ENFERMEDADES VENEREAS DE LOS BOVINOS	78
CAPITULO 2 DE LAS PRUEBAS DIAGNOSTICAS	79
TAREA 2 TRIQUINELOSIS	79
TAREA 4 OPERACIÓN DEL EQUIPO METROLAB PARA ELISA	88
HEMAGLUTINACION - INHIBICION DE LA HEMAGLUTINACION	92
TAREA 5 DIAGNOSTICO DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA	94