

DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO

Creemos oportuno reiterar algunos conceptos básicos sobre la importancia de llegar a un diagnóstico virológico correcto con el objeto de poder implementar medidas adecuadas de prevención y/o control.

Muchas veces, los síntomas observados permiten realizar un diagnóstico clínico de enfermedad viral y entonces la confirmación por parte del laboratorio puede ser considerada innecesaria. Pero hay ocasiones en que el veterinario clínico y/ o sanitarista desea confirmar su diagnóstico ya sea por la importancia económica de la enfermedad o porque no está seguro de haberlo hecho correctamente.

Este diagnóstico es imprescindible además para detectar portadores asintomáticos y certificar la ausencia de virus en ciertos materiales por ejemplo semen.

La infección viral puede demostrarse en laboratorio utilizando varias técnicas diagnósticas. El veterinario clínico no necesita tener grandes conocimientos sobre ellas para remitir muestras correctamente, pero si consideramos qué debe saber que resultados puede esperar de cada una de ellas y en qué tiempo el laboratorio puede brindárselos.

El veterinario clínico debe conocer la etiología, sintomatología y patogenia de las enfermedades virales ya que para que el diagnóstico virológico sea exitoso es imprescindible que la muestra seleccionada, sea apropiada (saber qué va a extraer y cuando).

Ningún laboratorio de diagnóstico puede hacer un trabajo brillante si parte de una muestra que no es la adecuada. En el cuadro se especifican los materiales apropiados según los síntomas observados y el momento óptimo para la recolección de los mismos.

ADEMÁS DEBE RECORDARSE QUE:

a) La posibilidad de aislar el virus es mayor durante el período inicial de la enfermedad, cuando el título del virus es más alto y aún no ocurrió la infección bacteriana secundaria.

b) La mejor muestra es la que proviene de un animal vivo o de uno sacrificado recientemente.

c) Los virus dependen para su replicación de células vivas por lo tanto no deben extraerse muestras de zonas necróticas, con exudado purulento, o fuerte olor porque ello es debido a la infección bacteriana.

d) Las muestras deben conservarse a 4°C o por debajo de -40°C (hielo seco o nitrógeno líquido). Se debe evitar la congelación a temperaturas superiores a -40°C, porque destruye al virus.

e) De ser posible las muestras deben remitirse en un medio de transporte adecuado para el diagnóstico virológico. Los medios para bacteriología no sirven y los hisopos de madera resultan tóxicos.

Consulte al laboratorio sobre la provisión de un medio de transporte adecuado para virología.

f) Utilice envases apropiados para recoger y remitir muestras. Si no dispone de ellos envíe el material por sembrado en frascos limpios y secos y/o en bolsas de nylon nuevas, en cajas de telgopor con refrigerante.

g) Para el diagnóstico serológico también hay momentos óptimos para la toma de muestras. La primera extracción se hará al observar los primeros síntomas de la enfermedad y la segunda extracción 20- 30 días después.

h) El diagnóstico virológico por cultivo es un procedimiento de laboratorio lento. Demora tres semanas ya que es necesario realizar 3 pasajes en cultivo celulares para descartar el material.

El diagnóstico virológico por el método de identificación viral por inmunofluorescencia arroja resultados en término de unas pocas horas. El diagnóstico virológico por métodos serológicos demora entre 24 - 48 hs.

Síntomas	Del animal vivo	De necropsia
Respiratorios y oculares	Hisopados nasales y conjuntivales. Sangre para serología.	Tejidos de áreas afectadas del sistema u órganos en cuestión y sus ganglios asociados.
Lesiones de las mucosas digestivas y genitales	Raspados y/o hisopados de la mucosa afectada. Sangre para serología y con anticoagulante para aislamiento.	Tejidos de áreas afectadas del sistema y órganos en cuestión y sus ganglios asociados.
Gastroenteritis.	Materia fecal. Sangre para serología y con anticoagulante para aislamiento.	Tejidos de áreas afectadas del sistema u órganos en cuestión y sus ganglios asociados, más el contenido intestinal.
Enfermedades del Sistema Nervioso Central	Sangre para serología. Líquido cefalorraquídeo (si disponible). Hisopados nasales y urogenitales.	Cabeza entera o cerebro, también para histopatología. Tejidos de varios órganos y ganglios linfáticos.
Enfermedades sistémicas	Sangre con y sin anticoagulante, hisopados nasales, faríngeos y urogenitales, materia fecal.	Feto entero y tejidos de placenta, órganos fetales, sangre del corazón del feto y contenido abomasal.
Abortos	Sangre para serología. Descargas genitales de la hembra abortada.	

DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO: CASUÍSTICA DE LABORATORIO DURANTE EL PERIODO JULIO DE 1998- JULIO DE 2000.

Ricci, L.A. y Conigliaro, A.S.

Muchas veces los síntomas observados permiten realizar un diagnóstico clínico de enfermedad viral y entonces la confirmación por parte del laboratorio puede considerarse innecesaria. Pero hay ocasiones sin embargo en que el veterinario clínico o sanitarista desea confirmar su diagnóstico ya sea por la importancia económica de la enfermedad o porque no está seguro de haberlo hecho correctamente.

El diagnóstico es imprescindible además para detectar portadores asintomáticos y certificar la ausencia de virus en ciertos materiales, como por ejemplo semen.

Llegar a un diagnóstico correcto permitirá además implementar medidas adecuadas de prevención y control.

La infección viral puede demostrarse en el laboratorio utilizando varias técnicas diagnósticas.

Puede realizarse el aislamiento viral o la identificación del agente por métodos indirectos. Hay métodos rápidos como la aglutinación en placa o el test de Elisa y otros más lentos y complejos como el cultivo celular, PCR o microscopía electrónica. Algunos son realizados en colaboración con otros grupos de investigación.

El veterinario clínico no necesita tener conocimientos detallados sobre ellas para remitir muestras al laboratorio, pero debe conocer la etiología, sintomatología y patogenia de las enfermedades virales, ya que para que el diagnóstico sea exitoso es imprescindible partir de una muestra adecuada y enviada de manera apropiada.

Mediante la aplicación de estas técnicas en forma individual o combinada se llegó a detectar agentes virales que son de suma importancia para la casuística de nuestro país y los resultados se presentan en este trabajo.

OBJETIVOS

- Aislar, identificar y caracterizar agentes virales de importancia para la salud animal en bovinos y otras especies domésticas.
- Estudiar la prevalencia de los distintos virus en las patologías más comunes de las diferentes especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se procesaron 771 protocolos que comprendían el estudio de 1892 muestras. Las mismas consistían en trozos de órganos de animales con distintas patologías, hisopados nasales, oculares, rectales, cervicovaginales, fetos enteros u órganos fetales, semen, sangre y líquido de punción de las distintas especies.

RESULTADOS

En este trabajo volcamos los resultados obtenidos en el período julio de 1998 a julio del 2000. Los mismos solo reportan las distintas cepas de virus aisladas y/o identificadas por métodos directos o indirectos. Del total de protocolos analizados se detectó la presencia de un agente viral en 114 de ellos, representando el 14,8%. En ninguno de ellos se determinó la acción de dos o más virus en conjunto pero sí a estos combinados con bacterias u otros agentes, principalmente en cuadros diarreicos y respiratorios.

Para el Virus de la *Diarrea Viral Bovina (BVD)* fueron aisladas 22 cepas; de *Rotavirus (RV)* :79; de *Herpesvirus Bovino tipo 1 (BHV-1)*: 5; de *Herpesvirus Bovino tipo 5 (BHV-5)*:1; de virus de la *Leucosis Enzootica Bovina* (EBL)*:2; de *Adenovirus Bovino (BAV)*:2; de *Herpesvirus Equino tipo 1 (EHV-1)*:1; de *Virus Respiratorio Sincicial Bovino** (VRSB)*:1; de *Herpesvirus Canino** (CHV)*:1; de *Parvovirus Canino** (PCV)*:1; de *Parvovirus Porcino** (PPV)*:1.

La distribución de los virus diagnosticados según la patología producida fue la siguiente: en el 100% de los abortos bovinos a virus se obtuvieron 12 cepas de BVD no citopático; en un aborto equino se aisló EHV-1 y en un canino CHV.

Para los cuadros del tipo respiratorio en bovinos se hallaron 4 cepas de BVD no citopáticas, 2 de BHV-1 y 1 de VRSB. En las diarreas neonatales se aislaron 78 cepas de RV en bovinos y 1 en porcino, 2 cepas de BAV, 1 de PPV y 1 de PCV. En los complejos de la enfermedad de las mucosas se aislaron 4 cepas de BVD no citopáticas y 2 citopáticas. En cuadros de queratoconjuntivitis se aislaron 2 cepas de BHV-1. De los correspondientes a sintomatología nerviosa se aisló 1 cepa de BHV-5. De dos causas de muerte bovina se detectaron 2 cepas de EBL.

CONCLUSIONES

El aislamiento virológico confirma la presencia de Adenovirus bovino en dos de los materiales analizados, convirtiéndose en los primeros aislamientos realizados en nuestro país.

La detección de VRSB en pulmones de animales con sintomatología respiratoria podría indicar a este como agente causal del cuadro clínico observado. Este hallazgo sugiere la necesidad de incluir la búsqueda de este virus en el diagnóstico virológico de rutina mediante técnicas de mayor sensibilidad.

El elevado número de aislamientos de Rotavirus bovino reafirma una importante circulación de este agente en la población afectada por diarrea neonatal.

El bajo porcentaje de aislamientos de muchos de los agentes en las muestras analizadas podría estar asociado con una baja sensibilidad del método de detección utilizado, resultando importante la incorporación de técnicas alternativas más sensibles, como el PCR que permitiría aumentar la eficiencia del diagnóstico a partir de materiales de campo. También es posible considerar que muchas veces las muestras remitidas no llegan en las mejores condiciones para su procesamiento.

Aunque el porcentaje de aislamientos logrados es bueno, cabe destacar que se sospecha que factores críticos en la toma y remisión de muestras dificultan el aislamiento de muchos de estos y otros agentes virales.

Trabajo presentado en la XIII Reunión Anual de la AAVLD. Merlo, San Luis, Noviembre de 2000.

RELACION PATOLOGIA / VIRUS

Patologías	Tipo de virus										
	BDV	RV	BHV-1	BHV-5	EBL	BAV	EHV-1	VRSB	CHV	PCV	BBV
Abortos	12						1		1		
Respiratoria	4		2					1			
Diarreas neonatales		79				2				1	1
Enfermedad de las mucosas	6		2								
Querato conjuntivitis				1							
Sintomatología nerviosa					2						
Causa de muerte											
Total	22	79	4	1	2	2	1	1	1	1	1