

ACTIVIDADES DEL LABORATORIO

PRUEBA DE ANTIGENO VIAA

Centro Diagnóstico Veterinario S.A. procedió a cumplimentar la prueba de proficiencia de antígeno VIAA, por inmunodifusión en gel de agar. Por tal motivo está autorizado para realizar dicho diagnóstico. La palabra VIAA significa Viral Infection Antigen y la prueba VIAA se utiliza para medir anticuerpos circulantes contra dicho antígeno.

Los anticuerpos anti VIAA se producen solo si el virus aftoso replica en el bovino, por eso la prueba sirve para diferenciarlos de los anticuerpos producidos como consecuencia de la vacunación.

SUGERENCIAS TECNICAS

DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA

PRUEBA DE GAMMA INTERFERON

Es una prueba diseñada para detectar gamma interferón biológicamente activo, en el plasma bovino para diagnóstico de Tuberculosis a partir de muestras de sangre.

Es una prueba simple, rápida y segura.

Los animales infectados con *Mycobacterium bovis* tienen linfocitos circulantes sensibilizados a los antígenos micobacterianos. Estos podrían normalmente responder in vitro a la estimulación con tuberculina PPD secretando gamma interferón, la que puede detectarse por esa prueba.

Los linfocitos de animales no infectados no responden a la producción de gamma interferón y de ahí que la detección de la misma se correlaciona con la enfermedad. Otra aplicación de este sistema para demostrar in vitro específicamente inmunidad mediada por células incluye el diagnóstico de otra enfermedad causada por *Mycobacterium* que es la enfermedad de Johne. Se ha demostrado recientemente que el ganado infectado con *Mycobacterium paratuberculosis* puede identificarse detectando gamma interferón en el plasma recogido a partir de sangre cultivada con johnina PPD como antígeno estimulante. De ahí que el uso de antígeno específico junto con este sistema de pruebas para detectar in vitro la reacción de inmunidad mediada por células, puede ser beneficioso para el diagnóstico de otras muchas enfermedades de los rumiantes.

La prueba de gamma interferón, como la prueba del pliegue ano caudal, provoca la estimulación de las células

T previamente sensibilizadas por la infección con *Mycobacterium bovis*. Sin embargo en la prueba de gamma interferón el antígeno de PPD está en las células T en la sangre entera y la producción de gamma interferón por las células T estimuladas se monitorea in vitro. Esto es al revés de lo que ocurre con la prueba dérmica donde la medida es la detección de la inflamación e hinchazón.

Para la prueba de gamma interferón se incuban pequeñas alícuotas de sangre entera heparinizada con antígeno de PPD. Después de 24 horas de incubación se elimina el plasma y se prueba para gamma interferón usando un anticuerpo monoclonal de enzima inmuno ensayo.

Pruebas a campo realizadas en Australia durante 1989 y 1990 sobre 10.000 bovinos demostraron que el ensayo es significativamente más sensible y específico que la prueba de tuberculina sobre la piel.

VENTAJAS

No solo posee mayor sensibilidad, sino que además la prueba de gamma interferón no afecta el estado inmunológico del animal ya que no se inyecta ningún antígeno.

Se puede realizar repetidas veces sobre animales sospechosos sin tener que esperar 60-90 días como en el caso de la tuberculina, y además los animales pueden analizarse todas las veces que sea necesario.

Elimina el uso de la prueba comparativa con la PPD aviar. Evita la interpretación subjetiva de la lectura de la prueba dérmica.

La prueba de gamma interferón tiene una sensibilidad y especificidad mayor que la prueba dérmica.

Es un ensayo de laboratorio y por lo tanto está sujeto a controles y procedimientos estándares.

No es necesario encerrar los animales dos veces como para la lectura de la prueba tuberculínica.

INCONVENIENTES

-Es importante tener en cuenta que para realizar la prueba de gamma interferón los animales no se hayan sometido a la prueba intradérmica en los últimos 60 días.

-Los animales se deben sangrar en tubos heparinizados.

-La sangre debe transportarse a temperatura ambiente y se debe procesar dentro de las 16 horas siguientes a su obtención.

-El costo de la prueba es elevado.

DIAGNOSTICO DE BRUCELOSIS

El Servicio Nacional de Sanidad Animal resolvió establecer un Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina en todo el país (Resolución 1269/93) El programa considera como pruebas oficiales de diagnóstico la PRUEBA DE BPA (Prueba en placa con antígeno bufferado) SEROAGLUTINACION EN TUBO (SAT prueba lenta o de Wright) 2 mercaptoetanol, RIVANOL Y FIJACIÓN DE COMPLEMENTO. La prueba de BPA se utilizará como prueba tamiz.

Es una prueba cualitativa de aglutinación en placa que presenta la ventaja de ser realizada en una sola dilución. El resultado se expresa como POSITIVO o NEGATIVO. Los animales se clasifican como negativos o reaccionantes debiendo estos últimos ser sometidos a pruebas complementarias para su diagnóstico definitivo. Los sueros que resulten positivos al BPA serán procesados por la prueba de seroaglutinación (SAT) en tubos y 2 mercaptoetanol (2-ME). Otra alternativa para los sueros positivos a BPA es la prueba de Rivanol, pero reservada para utilizarse en lugares donde se carezca de laboratorios con suficiente infraestructura o cuando por condiciones de manejo no se pueda esperar los resultados por períodos de 72 horas.

La técnica de Rivanol no debe ser empleada para animales de importación o exportación, exposiciones ganaderas o envíos a la Patagonia.

La prueba de 2 mercaptoetanol se basa en la propiedad

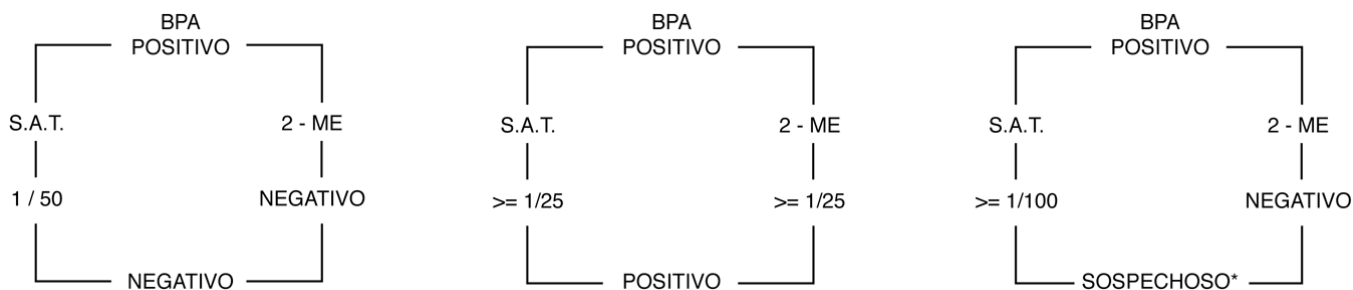
que tiene la droga de inactivar las inmunoglobulinas IgM. Debe hacerse siempre en forma paralela y simultanea con la aglutinación lenta en tubos. La diferencia entre los títulos finales de ambas pruebas se interpreta como la capacidad aglutinante del suero debido a la presencia de anticuerpos anti IgM. La presencia de IgM se asocia generalmente con infección activa por lo que toda reacción en esta prueba debe ser considerada como indicativa de infección.

Los animales vacunados ocho o más meses antes de la realización de la prueba suelen tener solamente anticuerpos sensibles al mercaptoetanol. Los animales reaccionantes a esta prueba se deben considerar infectados aunque tengan antecedentes de vacunación, siempre que ésta haya sido efectuado por lo menos ocho meses antes.

Los resultados negativos a la prueba de 2 mercaptoetanol no son concluyentes porque en el período inicial de la enfermedad la mayoría de los anticuerpos presentes son del grupo IgM.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS

Para rodeos sin saneamiento, de condición sanitaria desconocida, animales de importación o exportación, exposiciones ganaderas o Patagonia.



* UN SOSPECHOSO debe ser chequeado y comprobarse su negatividad, de lo contrario es POTENCIALMENTE animal POSITIVO.

Para animales de exportación o importación, exposiciones ganaderas, Patagonia y para rodeos libres sólo se aceptan animales negativos NO SOSPECHOSOS.

PRESENTACION DE TRABAJOS

ACINETOBACTER EN INFERTILIDAD EQUINA

Dra: Carla Ragazzi y Mónica Tysco

Durante el año 1994 se procesaron en el laboratorio 91 muestras de hisopados vaginales de yeguas con problemas de infertilidad.

Las muestras procedentes en su mayoría de la Provincia de Buenos Aires, fueron remitidas en medios de transporte comerciales convencionales o bien en los medios que habitualmente proporciona el laboratorio para tales fines como el medio de Stuart o de Amies. Una vez en el laboratorio y siguiendo la rutina de coloración y siembra en medios enriquecidos y selectivos e incubados en diferentes atmósferas se recuperó en un 8% de las muestras, un microorganismo Gram negativo, no fermentador, tipificado como *Acinetobacter calcoacéticus*. Este microorganismo en otro tiempo designado como *Moraxella urethralis* (Iwolffi) y *Herella vaginicola* (calcoacéticus), se encuentra normalmente en la naturaleza y se recupera frecuentemente a partir de agua, leche, alimento y suelo.

La mayor prevalencia de *Acinetobacter* durante los últimos años en procesos patológicos se ve favorecida posiblemente por la alteración de la flora normal debido al uso excesivo de antibióticos.

El significado de este microorganismo como causa de enfermedades en los animales, así como también en el hombre, está basado en el aislamiento de bacterias en cultivos puros asociados con procesos infecciosos y/o enfermedad.

Según la bibliografía. *Acinetobacter calcoaceticus* se recuperó de una gran variedad de muestras clínicas provenientes de aves, caninos, equinos, cerdos, ovinos, bovinos, animales de laboratorio, animales de zoológico, aislándose también a partir de fetos equinos y bovinos en cultivos puros.

COMENTARIOS BIBLIOGRAFICOS

LEUCOSIS ENZOOTICA BOVINA (EBL)

PROPUESTA DE UN PLAN DE ERRADICACION

La Leucosis Enzoótica Bovina es una enfermedad infecciosa de origen viral que ocasiona tumores malignos en el sistema linfático preferentemente ganglios y provoca una baja de las defensas naturales. En las últimas décadas se menciona a nivel mundial como causa de importantes pérdidas en la ganadería bovina. Nuestro país no es ajeno a este acontecimiento y en los últimos años se detectó un aumento significativo de casos clínicos y sobre todo de animales serológicamente positivos.

Los signos clínicos más comunes están asociados con la pérdida de peso, disminución de la producción láctea, linfadenopatías y posterior paresia.

La Leucosis afecta naturalmente al bovino y es de lenta difusión. Se presenta asociada a los sistemas de

producción lechera intensiva debido principalmente a las prácticas de manejo, a la alta densidad animal y a una mayor permanencia de los animales en el rodeo, factores que inciden en aumentar las posibilidades de difusión del virus. En los rodeos infectados los animales adultos presentan tasas de infección muy superiores a las de los jóvenes.

La fuente de infección es siempre un animal infectado. La enfermedad se transmite a través de linfocitos con el virus, por tal razón, todo líquido, secreción o excreción de un animal infectado que contenga linfocitos puede ser material infectante por ejemplo sangre, secreción nasal y uterina, semen fresco sin diluir y calostro.

La forma de transmisión es el contacto directo entre un animal infectado y uno sano. Además se deben considerar como medio de contagio los contactos indirectos que se producen a través de jeringas, agujas instrumental quirúrgico, etc. Los insectos hematófagos también se consideran una forma de contagio, pero adquieren mayor importancia en los países tropicales.

También se ha podido comprobar que el virus puede transmitirse de la madre al hijo durante la gestación, sin embargo, solo el 2 % de los hijos de madres infectadas nacen con el virus de la leucemia.

Los animales que se infectan producen anticuerpos contra el virus que pueden detectarse después de 4 a 9 semanas de producida la infección. El período de incubación es de 4 a 5 años. La aparición de tumores puede tardar meses y hasta varios años, incluso puede no llegar a presentarse dentro del período reproductivo. El cuadro tumoral afecta anualmente el 5 % de los animales infectados, cerca del 20 % se infecta antes de los 2 años de vida y el 80 % lo hacen en edad adulta.

La leucosis clínica aparece generalmente entre los 5 y los 8 años de edad. Afecta siempre a los ganglios linfáticos y a menudo grandes masas de tejido tumoral invaden los órganos tales como corazón, estómago, riñón y útero. Con menos frecuencia afecta a bazo, médula ósea, vesícula biliar, médula espinal e hígado. Una vez que se inicia el cuadro tumoral el curso es siempre mortal. Un 30 % de los infectados presenta aumento persistente del número de linfocitos en la sangre, cuadro llamado linfocitos persistente.

Hasta el momento no existen mecanismos que permitan prevenir la infección a través de vacunas, sin embargo el control de la Leucosis en rodeos infectados es técnicamente posible debido a las características epidemiológicas señaladas a continuación:

A.- Existen pruebas diagnósticas de alta sensibilidad para detectar en forma precoz la presencia de animales infectados.

B.- Todos los animales infectados muestran respuesta serológica detectable.

C.- La tasa de contagio en el rodeo es baja, produciendo una lenta difusión de la enfermedad.

D.- Es una enfermedad que afecta solo al bovino. Su transmisión al hombre aún no ha sido demostrada.

E.- Los bovinos jóvenes (reemplazos) están infectados

en muy baja proporción en relación con los adultos.

F.- Los mecanismos de transmisión son fácilmente influenciados por el hombre.

G.- El virus fuera del animal tiene escasa viabilidad (sobrevive menos de 4 horas).

Considerando estos factores, si en el rodeo se realizan exámenes periódicos y se identifican y retiran los animales infectados, se logra una eficaz eliminación de la infección. Solo a partir de 1978 se tuvo a disposición de los laboratorios veterinarios técnicas diagnósticas efectivas y seguras que permiten accionar eficazmente para el control de la enfermedad.

Luego de una detallada revisión bibliográfica relacionada con EBL se concluyó que Alemania es el país que realizó el plan de erradicación más exitoso.

A continuación se dan a conocer los principales aspectos sobre los que se basa el programa de erradicación de EBL alemán y se expone una síntesis de sus resultados y conclusiones.

La prueba oficial para diagnóstico de EBL es la detección de anticuerpos en el suero sanguíneo, mediante la prueba de inmunodifusión en gel de agar. Para la obtención de la muestra de sangre se utiliza una aguja distinta para cada animal.

Los bovinos con resultados sospechosos deben volver a controlarse cuatro o seis semanas después de la primera prueba.

Anteriormente se utilizaba el análisis del cuadro hemático de los animales como índice de infección dado que en el caso de EBL el recuento de leucocitos aumenta significativamente. Pero el cambio en el método de diagnóstico produjo un avance espectacular en el control de la enfermedad ya que este es cinco veces superior en sensibilidad y especificidad que el método hematológico. También se adoptó la prueba de inmunoenzimas o ELISA, aprobada por el Comité Científico de la Comunidad Económica Europea. La estrategia de la erradicación se basa en:

- 1.- Declaración y control obligatorio de la enfermedad
- 2.- Exámenes periódicos de los rodeos a intervalos variables según la situación de EBL.
- 3.- Declaración oficial de rodeos libres si reúnen los requisitos de negatividad en exámenes periódicos.
- 4.- Todos los animales encontrados positivos ya sea por diagnóstico serológico o clínico se eliminan con destino a matadero.
- 5.- Se prohíbe el movimiento de animales procedentes de rodeos no declarados libres, excepto aquellos con destino a matadero.
- 6.- Pago de indemnización por los bovinos eliminados y costos de diagnóstico y operación del programa a través de un sistema donde el Estado aporta el 50 % y el productor el otro 50 %.

Esquema de saneamiento y certificación de rodeos libres de EBL.

1).-RODEOS LIBRES:

A.- Ubicados en áreas de prevalencia mayor de 0,5 % de

rodeos positivos:

Se consideran libres si en el lapso de 12 meses no se encuentran bovinos mayores de 1 año positivos o sospechosos, en dos pruebas sucesivas con intervalo de 4 meses y que además no se hayan detectado evidencias de tumores o infiltraciones que haga sospechar de la enfermedad.

B.- Ubicados en áreas de prevalencia de rodeos menor al 0,5 %. Se consideran libres si en los últimos 12 meses se ha realizado un examen serológico de bovinos mayores de 1 año sin encontrarse positivos o sospechosos y que además en los últimos 4 años no se han detectado evidencias que hagan sospechar de la enfermedad o cuando esta se haya descartado aplicando medidas de saneamiento.

2).-RODEOS INFECTADOS:

Es aquel en el que se ha encontrado al menos un animal positivo en alguna de las pruebas serológicas realizadas a todos los bovinos mayores de 6 meses de edad.

3).-RODEOS SOSPECHOSOS DE EBL:

Son aquellos en los que se da cualquiera de las dos alternativas siguientes:

A.- Cuando en dos pruebas serológicas sucesivas separadas por intervalo de 4 a 6 meses aparece en uno de los exámenes al menos un bovino sospechoso.

B.- Cuando se evidencia al examen clínico o anatomopatológico, al menos en un bovino tumores o infiltraciones leucócicas.

4).-SANEAMIENTO DE EBL EN UN RODEO INFECTADO:

Se considera eliminada la EBL de un rodeo cuando:

A.- Todos los animales del rodeo han sido eliminados o sacrificados y reemplazados por ganado libre de la enfermedad.

B.- Todos los animales con tumores, positivos o sospechosos han sido eliminados o sacrificados.

C.- Todos los animales de 6 meses que han quedado en el rodeo han sido sometidos a tres exámenes sucesivos, con intervalos de por lo menos cuatro meses uno del otro, realizando el primero de los exámenes dos meses después de eliminado, el último animal positivo o sospechoso. Todos los exámenes deben ser negativos y además no debe haberse detectado en ese lapso ninguna evidencia de tumores y/o infiltraciones en animales vivos o muertos. Además debe realizarse una desinfección prolija controlada por un Médico Veterinario Oficial.

D.- La sospecha de enfermedad desaparece cuando todos los animales con tumores leucócicos o sospechosos serológicamente han sido eliminados o sacrificados y cuando además los restantes animales han sido sometidos a dos pruebas con resultados negativos en el lapso de 3 a 6 meses de los cuales el primero se hará no más allá de dos meses post separación y se ha realizado la desinfección ya indicada.

5).-REPOBLACION DE RODEOS:

Los establecimientos que se inicien deben adquirir animales exclusivamente a partir de rodeos declarados libres de EBL desde hace 6 meses por lo menos, de acuerdo al punto 1 o que hayan adquirido la condición de libre de acuerdo al procedimiento detallado en el punto 4 y que hayan mantenido esa condición por un período mínimo de tres años en los cuales se haya hecho por lo menos un examen serológico a todos los bovinos mayores de 2 años de edad con resultados negativos.

Análisis del programa de erradicación

Sin lugar a dudas los resultados obtenidos por el programa de erradicación permiten afirmar que este es altamente exitoso. Es por ello un buen ejemplo y una valiosa guía para la planificación de cualquier programa de erradicación y en especial para el de EBL. Además ayudó que los niveles de infección con que se inició el programa fueron relativamente bajos es decir menos del 20 % de los rodeos y menos del 2 % de los bovinos.

Los factores mas relevantes del éxito del programa alemán se resumen en los siguientes puntos:

- 1.-La característica epidemiológica de la enfermedad ya que es una patología con factibilidad de control y erradicación.
- 2.-El adecuado método de diagnóstico permitió disponer de una técnica de alta sensibilidad y especificidad que mejoró notablemente la detección de infectados.
- 3.-Riguroso plan de saneamiento que permite detectar y eliminar rápida y eficientemente los infectados y lograr la condición de rodeo libre.
- 4.-Control estricto del movimiento de los animales de modo de impedir el tránsito de bovinos infectados. No puede dejar de mencionarse que esto se logró gracias a la idiosincrasia del ganadero alemán muy respetuoso de las ordenanzas sanitarias.
- 5.-La indemnización de los animales eliminados es sin duda alguna un elemento fundamental de la estrategia.
- 6.-Optimo financiamiento.
- 7.-Constancia con las decisiones sanitarias aún ante la evidencia de que el programa no mostraba avances significativos a pesar de todo el esfuerzo realizado en la primera etapa.
- 8.-Masiva colaboración y participación de los productores.

VACUNAS Y VACUNACION

James A.Roth, DVM ,Ph D Ames,Iowa 50011

La vacunación de un animal no es una garantía contra la infección.

La inmunidad esta influenciada por múltiples factores relacionados con la propia vacuna, el esquema de vacunación y el animal a ser vacunado.

Desde hace años los científicos saben que los animales pueden desarrollar inmunidad frente a las enfermedades si son expuestos al agente infeccioso muerto o vivo modificado de manera que no pueda causar la enfermedad. Esto llevó al desarrollo de numerosas

vacunas exitosas a principios de siglo. Sin embargo pronto se hizo evidente que este simple enfoque no era eficaz. Por ejemplo, un animal puede producir anticuerpos en respuesta a la vacunación pero aún desarrollar la enfermedad. Son enfermedades para las que los anticuerpos circulantes no son protectores, o para las que las vacunas no inducen anticuerpos contra los antígenos del microorganismo; el desafío para los inmunólogos es comprender las bases de la inmunidad exitosa y desarrollar vacunas que induzcan este tipo de respuesta. Hay cuatro tipos de respuesta inmune contra los agentes infecciosos.

Con el correr de los años, se hizo evidente que las diferentes enfermedades requieren distintos tipos de inmunidad protectora y que el tipo de vacuna (viva, modificada, muerta), la vía de administración y el tipo de adyuvante marcan una diferencia en el tipo de respuesta. Algunas vacunas pueden prevenir la enfermedad, pero fracasan en prevenir la infección. El animal vacunado puede estar infectado con el microorganismo y no enfermar; sin embargo este animal puede servir como reservorio de la infección para otros animales con los que entre en contacto.

TIPOS BASICOS DE INMUNIDAD

Los mecanismos de defensa naturales incluyen enzimas en la saliva y en las lágrimas, ácidos en el estómago, ácidos grasos en la piel y flora normal en la superficie de las mucosas.

Incluyen también el sistema del complemento y las células blancas fagocíticas de la sangre que son capaces de matar algunas bacterias y virus. Estos mecanismos de defensa naturales funcionan de inmediato cuando un agente infeccioso penetra en el organismo, aún si el animal no esta vacunado. No obstante, el sistema del complemento y las células fagocíticas trabajan de una manera más eficaz en un animal vacunado.

Las bacterias y virus capaces de producir enfermedad han desarrollado formas para evitar ser eliminadas por los mecanismos de defensa. Para que un animal esté protegido de enfermedades infecciosas, debe haber estado previamente expuesto a la enfermedad, o vacunado contra ella de tal manera que la inmunidad humoral, la inmunidad mediada por celulas o la inmunidad de mucosas se puedan desarrollar.

INMUNIDAD HUMORAL

Este tipo de inmunidad se debe a la presencia de IgG o IgM en la sangre. Cuando un animal es vacunado, los linfocitos B responden a la vacuna produciendo anticuerpos de las clases IgM e IgG. Estos anticuerpos son proteínas que circulan en la sangre y atacan al agente infeccioso cuando lo encuentran en la sangre o en los tejidos. Aunque un anticuerpo aislado no es capaz de matar a los agentes infecciosos. las IgG e IgM circulantes ayudan a controlar la enfermedad.

Algunos microorganismos resisten al control por la acción de anticuerpos circulantes. Estos microorganismos deben

ser atacados y controlados por el sistema inmune mediado por células o por el sistema IgA secretorio.

INMUNIDAD MEDIADA POR CELULAS

Esta inmunidad es producida por la interacción de diferentes tipos de células blancas y es dirigida por los linfocitos T que reconocen específicamente al antígeno. Cuando un animal es expuesto a una enfermedad o es vacunado con una vacuna que induce inmunidad mediada por células, el linfocito T que reconoce al antígeno responderá reproduciéndose por mitosis.

Cuando posteriormente ese agente infeccioso entra en el organismo por una exposición natural, un gran número de linfocitos T lo reconocerá. Los linfocitos T intentarán destruir al agente infeccioso ya sea atacándolo directamente o segregando moléculas proteicas llamadas linfoquinas, que dirigen y estimulan a otras células blancas a atacar y destruir el agente.

INMUNIDAD DE MUCOSAS

Para el sistema inmune es específicamente difícil proteger al animal de la infección en superficies mucosas como los tractos intestinal y respiratorio, las glándulas mamarias y el tracto reproductor. Los anticuerpos responsables de la inmunidad humoral y las células blancas responsables de la inmunidad mediada por células se encuentran en la sangre y, en cierta medida en los tejidos, incluyendo la submucosa. Sin embargo, no se encuentran en algunas superficies mucosas (por ejemplo la del tracto gastrointestinal). De esta forma, aunque estos anticuerpos y células blancas puedan ayudar a prevenir la invasión de los agentes infecciosos a través de la superficie de la mucosa, no son muy eficaces para controlar la infección en la superficie de las mucosas. Aun en el pulmón y la glándula mamaria, donde la IgG y los leucocitos son relativamente abundantes, no son capaces de actuar tan eficazmente como lo hacen en la sangre y los tejidos. La protección de las superficies mucosas se debe principalmente a una clase especial de anticuerpo llamada IgA secretoria. Esta IgA es secretada sobre la superficie mucosa donde puede unirse al moco y estar presente en concentraciones notablemente altas.

La IgA secretoria es resistente a la destrucción por las enzimas proteolíticas que se encuentran en las superficies mucosas, enzimas que son capaces de destruir a la IgG y a la IgM.

INDUCCION SELECTIVA DE DIFERENTES TIPOS DE INMUNIDAD

Es relativamente fácil desarrollar una vacuna productora de anticuerpos IgG e IgM en el torrente sanguíneo. Es más difícil desarrollar una vacuna inductora de inmunidad mediada por células o inmunidad mucosa. La naturaleza de la vacuna y la vía de administración son importantes. La inyección subcutánea o intramuscular de una vacuna bacteriana o a virus muerto estimulará el sistema inmune para que produzca IgM e IgG. Sin embargo, estas vacunas

producen muy escasa cantidad de IgA para proteger la superficie mucosa, y las vacunas muertas no son muy eficaces para inducir inmunidad mediada por células.

La inducción de inmunidad mediada por células requiere una vacuna viva modificada capaz de replicarse en el animal, o una vacuna muerta con un adyuvante altamente eficaz. Los adyuvantes que se han utilizado tradicionalmente en vacunas veterinarias (por ejemplo el hidróxido de aluminio) no son muy eficaces para inducir inmunidad mediada por células. Los elaboradores de productos biológicos están desarrollando nuevos adyuvantes para vacunas muertas que se espera induzcan inmunidad mediada por células. Existen algunas vacunas muertas disponibles desde hace muchos años, y que han demostrado ser eficaces para el control de algunas enfermedades sistémicas.

Estas son enfermedades que pueden controlarse por la presencia de IgG e IgM en la sangre. La vía de administración de la vacuna es importante cuando se trata de inducir inmunidad mucosa. Para iniciar la producción de IgA secretoria en la superficie de la mucosa, es mejor que la vacuna entre al organismo a través de una superficie mucosa. Esto puede obtenerse administrando una vacuna por vía intranasal.

Cuando una hembra es expuesta a una vacuna o agente infeccioso en su tracto intestinal, puede responder produciendo IgA secretoria no solo en el tracto intestinal, sino también en la glándula mamaria. La IgA contra este agente infeccioso es entonces transferida a los animales neonatos durante la lactancia. Por lo tanto, la IgA secretoria en la leche puede proteger a los neonatos de agentes infecciosos presentes en el intestino de la madre. Las infecciones entéricas por muchos microorganismos no se controlan por la IgG y la IgM en la sangre o por inmunidad mediada por células.

Si una vacuna viva modificada se administra por inyección pero va a replicarse a una superficie mucosa, podrá inducir una respuesta IgA secretoria.

ALGUNAS CAUSAS DEL FRACASO DE LA VACUNACION

Hay muchas razones por las que un animal puede desarrollar una enfermedad aunque haya sido vacunado. La enfermedad puede producirse porque:

- 1- El animal estaba incubando la enfermedad en el momento de ser vacunado.
- 2- Ocurrió algo que volvió a la vacuna ineficaz.
- 3- El estado fisiológico del huésped hace que un animal no responda o responda menos a la vacuna.
- 4- El huésped es expuesto a una dosis masiva del agente infeccioso.

ENFERMEDAD RESPIRATORIA BOVINA

PROGRAMA DE VACUNACION PARA TERNEROS JOVENES

Stephanie L. Sater D.V.M. Hightmore SA 57345

En todos los países con producción intensiva de ganado vacuno, las afecciones respiratorias constituyen un factor importante de pérdidas económicas. La etiología de estas afecciones no es unitaria y solo a veces puede determinarse con exactitud. Por lo general se hallan síntomas poco característicos como fiebre, secreción nasal y conjuntival, tos, rinitis, traqueítis y enteritis. Las complicadas relaciones mutuas entre microorganismo, huésped y ambiente dificultan el diagnóstico etiológico y con ello la profilaxis.

Según las investigaciones realizadas se hallaron gran número de virus tanto por aislamiento como serológicamente, pero el virus de P13 se encontró frecuentemente en materiales orgánicos o frotis nasales de forma que la participación de este agente puede considerarse segura. El diagnóstico de laboratorio realizado a partir de muestras de tejidos tomadas durante la necropsia de los terneros permitió también el aislamiento de *Pasteurella haemolytica* y *Haemophilus somnus*.

Para esta experiencia se tomaron terneros de destete y se sometieron a un programa de vacunación contra 6 patógenos y se redujo considerablemente la alta incidencia de enfermedades respiratorias.

El programa se evaluó durante 3 años. El productor tenía

un 15-20 % de incidencia de enfermedad respiratoria en terneros de destete. Los signos clínicos (neumonía y enfermedad de vías respiratorias superiores) aparecían casi a la semana del destete. Una activa vigilancia y la rapidez en el tratamiento de los enfermos disminuyó las pérdidas por mortalidad al 1 - 2 %, tasa de mortalidad más baja que la observada en rodeos con deficiencias de manejo.

Casi la mitad de los terneros alimentados con grano se destetaron con alta incidencia de enfermedad respiratoria. El plan de vacunación que muestra la tabla se implementó en 2.500 terneros. Los signos clínicos de enfermedad desaparecieron de la población. El esquema de vacunación se aplicó durante 3 años consecutivos. Esto brindó un total de 10.000 terneros para evaluar la efectividad del programa de control. Para los lotes numerados la incidencia de enfermedad respiratoria fue descartable y la necesidad de realizar el tratamiento a los afectados con síntomas respiratorios se limitó a 1 o 2 terneros esporádicamente.

El régimen descripto se transformó en el programa standard de vacunación para la prevención de enfermedades respiratorias en terneros de vacas no vacunadas.

El programa revirtió la alta tasa de incidencia de enfermedades respiratorias en otros rodeos y disminuyó las pérdidas cuando se implementó en el período activo del brote. Los rodeos que no inmunizan contra estos agentes respiratorios experimentan una alta tasa de enfermedad y los productores deben tratar a los terneros enfermos desde el destete.

CONTROL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS EN TERNEROS

Fecha	Antígenos
45 días después del nacimiento	C. chauvoei C. septicum C. novyi C. sordelli C. perfringens tipo C y D
2° y 3° semana	IBR BVD P13 BRSV Pasteurella haemolytica Clostridial combinada Haemophilus somnus
Después del destete	IBR BVD P13 BRSV Haemophilus somnus

APORTES DE NUESTROS COLEGAS

LOS EFECTOS DE LA REVOLUCION TECNOLOGICA EN LA AGRICULTURA

María Cecilia Fernández

Entre los avances más espectaculares de la ciencia y la tecnología moderna está el de la Biotecnología, donde se integran Microbiología, Bioquímica, Fisiología, Ingeniería Genética, Informática y otras, a fin de utilizar con fines productivos los procesos aplicados a los sistemas biológicos.

En realidad la Biotecnología se conoce y ejercita desde hace muchos años, y se aplica por ejemplo en la producción de vacunas, procesos fermentativos, inseminación artificial. Sin embargo, la posibilidad de manipuleo génico con técnicas precisas y de fácil aplicación brinda nuevas posibilidades.

La aplicación de mayor proyección económica se da en el ámbito agropecuario, de tal forma que para fin de siglo ha de tener una significativa influencia en el mercado mundial. Los más afectados serán naturalmente los países subdesarrollados, de economías más comprometidas y menos flexibles, entre los que está la Argentina, que, a pesar de haber sido la granja del mundo ha de perder sus ventajas comparativas frente a nuevas tecnologías que cambian el marco de producción.

De acuerdo a los estudios de prospectiva elaborados por organismos internacionales, pese a que el déficit alimentario crezca en los próximos años en los países subdesarrollados, la realidad será otra en los países industrializados pues mediante la aplicación de esta Biotecnología, se autoabastecerán y más aún, podrán suplir en parte la demanda internacional de alimentos.

En la práctica, la Biotecnología difiere de otros tipos de biología aplicada en que el material biológico se maneja a nivel de la célula, ya sea en poblaciones de células individuales, o en sus componentes o en pequeños agregados de células básicamente idénticas.

La Biotecnología utiliza técnicas de Ingeniería Genética aplicadas a organismos que han sido modificados mediante las técnicas ADN recombinante. Se origina a partir del conocimiento del manejo del ácido desoxirribonucleico (ADN) y del dominio de las tijeras biológicas, unas tijeras químicas que ni siquiera se pueden ver al microscopio, pero que permiten cortar los cromosomas a voluntad del investigador.

Así, una porción de ADN puede cortarse de un cromosoma e introducirse donde antes no existía, o puede suprimirse uno existente con la esperanza que el animal o el vegetal obtenga o pierda la característica en cuestión. El uso de esta tecnología para crear especies transgénicas fue anticipado en 1982 y si bien se realizó sobre ratones se mencionó que "la posibilidad implícita de esta tecnología es estimular el crecimiento rápido de animales con valor alimenticio y económico"; y está dirigido además al manejo de genes que controlan aspectos relacionados a la performance productiva.

Los mayores avances se realizaron en plantas y cultivos en relación al desarrollo de nuevas variedades.

En 1990 se concretó la primera alteración genética en el maíz. Sin embargo, fue en mayo de 1994, que la US Food and Drug Administration dió por seguro el primer alimento alterado genéticamente para ser vendido a los consumidores. Se trata del tomate llamado Flavr Savr. Los científicos anularon un gen asociado con una enzima RNA que produce una proteína que hace que el tomate su pudra, e introdujeron luego un gen "espejo" de aquel gen, que produce una copia inversa del RNA, esta copia bloquea la sección normal del gen, revirtiendo entonces su efecto, logrando que el tomate permanezca fresco por más tiempo.

Por otra parte se han logrado pollos que crecen a mayor velocidad con menos alimento, arvejas que se mantienen dulces por más tiempo, pimientos con menos semillas y que duran más (DNA Plant Technology), pepinos que crecen con menos agua (Upjohn), maíz que necesita menos pesticidas y herbicidas (Upjohn, Monsanto, Pioneer, DeKalb), aceites vegetales con menos grasas saturadas (Calgene), semillas de café con menor contenido de cafeína, papas que absorben menos aceite al cocinarse (Monsanto. Frito Lay), etc.

A principios de noviembre de 1994, en EEUU, un grupo de científicos anunció la creación de un "superarroz" más resistente que cualquier otro y que estará disponible en los mercados dentro de cinco años.

El superarroz rinde un 25 % más en términos de grano. Es decir, en un terreno que presenta las mejores condiciones, la superplanta rinde 12,5 toneladas por hectárea contra las 10 por hectárea del arroz que está actualmente en el mercado. Si se lo siembra en gran escala, el superarroz podría producir 100 millones de toneladas más que la actual disponibilidad. y se podría alimentar a 450 millones de personas. Nuestro país anunció también la primera semilla artificial de alfalfa, lograda por una becaria de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes.

La nueva semilla permitirá lograr plantas de alfalfa transgénicas resistentes a las plagas. Asimismo, se convertirá en una herramienta poderosa para la clonación de vegetales superiores.

Puede citarse el caso de rodeos enteros de vacas lecheras que, en los EEUU se inyectan con una hormona de crecimiento de ingeniería genética (BST) para que produzcan más leche. La capacidad lechera aumentó, de esta manera, hasta un 40%. En Alemania se ensaya en conejas para que puedan dar leche suplementada con una proteína de importancia médica.

Científicos chinos introdujeron un gen humano de hormona de crecimiento en los peces de colores para que se desarrollen con mayor rapidez. El salmón del atlántico recibe hoy el gen de los peces del ártico que le permitirá sobrevivir a temperaturas por debajo de 0° C. La tecnología de superovulación, fertilización in vitro y transferencia de embriones ha facilitado, sin duda, el manipuleo génico, en particular en mamíferos, y hoy podemos hablar de especies clonadas, con varios individuos idénticos originados de un mismo embrión previo a su diferenciación. Al respecto a principios de 1993

en Francia se anunció el nacimiento de 5 terneros machos clonados, es decir duplicados como una fotocopia, de un mismo embrión. La perspectiva es la de "fabricar" duplicados perfectos en número casi ilimitado, y los estudios realizados sobre los animales podrían tener algún día incidencia en la procreación humana asistida, en los xenotransplantados, es decir los trasplantes al hombre de órganos animales, la producción de fármacos y los estudios de terapia genética.

La selección de reproductores a partir de un mismo embrión podría hacer ganar de 10 a 20 años respecto de los programas de selección clásica y permitiría un mejoramiento de la calidad. Esta misma tecnología puede permitir la obtención de especies resistentes a las enfermedades, particularmente útil en regiones subtropicales donde los agentes infecciosos son el principal limitante para la ganadería.

Se calcula que en EEUU se realizan más de 100.000 transferencias embrionarias por año con las implicancias obvias de acelerar el mejoramiento genético en programas de producción controlada, eliminación de defectos genéticos y de enfermedades de transmisión sexual.

El impacto de la Biotecnología en el terreno vegetal será sin duda de gran magnitud, ya que la obtención de especies vegetales transgénicas es una realidad y es posible incrementar la resistencia a plagas, falta de agua, temperatura, aumentar el contenido proteico, etc.

La obtención y aplicación masiva de vacunas de tercera y cuarta generación, a partir de la tecnología del ADN recombinante, para aplicar en medicina veterinaria será práctica corriente antes de fin de siglo. El principal desarrollo se ve hoy en medicina humana, donde los enormes costos de inversión serán cubiertos en el corto plazo con retornos aceptables.

En el campo sanitario, el mejoramiento de vacunas para el control de enfermedades virales, bacterianas y particularmente parasitarias constituye un avance importante. Hay cuatro factores a tener en cuenta para analizar el tema de la introducción de esta nueva tecnología en la producción de vacuna. Primero, que la prevención de las enfermedades animales a través de la vacunación debe ser considerada en términos económicos.

En general es el medio más eficiente y económico para lograr mantener una población susceptible en condiciones de salud. Un segundo aspecto a considerar es el producto a introducir en el mercado como resultado de la innovación tecnológica. Una vacuna ideal debería asegurar: una amplia cobertura, prolongada protección, ser de fácil aplicación, sin efectos adversos, y ser un producto estable, económico y rentable.

El tercer aspecto está directamente relacionado con la composición o el tipo de vacuna y el riesgo de introducir en la cadena alimentaria factores que podrían influir negativamente en la higiene de la alimentación.

Por último la nueva tecnología permite diseñar vacunas con el propósito de obtener con menor riesgo la mejor respuesta inmune.

Esto no significa que todas las vacunas podrán ser producidas por tecnología recombinante, o que todas ellas

sean mejores de las que se dispone actualmente.

Otra técnica disponible es la micropropagación que en nuestro país se utiliza en Mendoza para reconversión de los montes frutihortícolas, debido a sus cualidades de reproducir ejemplares de sanidad controlada y mayor rendimiento.

Actualmente, se ha logrado avanzar en la micropropagación in vitro de frutales como durazno, ciruelo y cerezo, cuyas principales virtudes en el cultivo son la resistencia a plagas y el aumento de rindes, que van del 30 al 70%. Se la emplea también en vides, papa, olivos y ajos.

Se parte de una yema original que es tratada dentro de una cámara de flujo laminar asegurando la total asepsia, con el fin de extraer el meristema (grupo de células clave para la propagación genética de la planta); de inmediato se coloca en un tubo de ensayo con un medio de cultivo propicio para su desarrollo y en una cámara con condiciones ambientales controladas. Las yemas vuelven a ser utilizadas en la multiplicación. Cuando la planta alcanza 10 a 15 centímetros de altura, se la transfiere a invernáculos para lograr su adaptación a las condiciones naturales de cualquier explotación rural. El proceso concluye con el traslado a un vivero tradicional, donde los ejemplares completan su desarrollo.

Este sistema es la clave para reconvertir la producción frutícola y así afrontar en mejores condiciones las exigencias de mercados cada vez más competitivos en lo interno y externo.

Este año ha sido el primero de producción masiva: se estima que de 500.000 estacas (que se convertirán en frutales) sobrevivirá la mitad de los ejemplares.

Las principales ventajas de esta innovación tecnológica son: 1) la mayor velocidad de propagación de los ejemplares, ya que cada tres o cuatro semanas se puede dividir el material vegetal; 2) mejores condiciones de multiplicación en plantas de difícil enraizamiento (un ejemplo es el híbrido de duraznero por almendro); 3) prevención de enfermedades porque la multiplicación in vitro se hace en condiciones de total asepsia con lo que se elimina la presencia de hongos y bacterias; 4) mayor rentabilidad, porque la producción obtenida a partir de la biotecnología permite mejores precios finales, 5) sanidad controlada que conduce a un más rápido desarrollo, más uniformidad, mayor rendimiento y mejor calidad de frutos, 6) la producción de cultivos homogéneos que facilita las tareas culturales en el campo.

Otro aspecto importante es el de la biodegradación de productos tóxicos o indeseables por medio de microorganismos "arreglados" por ingeniería genética. Algunas experiencias para biodegradar sustancias tales como petróleo derramado, herbicidas, residuos tóxicos y otras, han sido promisorias.

Es interesante destacar que la producción de bio-gas (metano) a partir de estiércol bovino se ha revelado económicamente factible en los países industrializados. En Suiza, una estancia agrícola de medianas dimensiones ve cubiertas sus necesidades energéticas para la calefacción durante todo el invierno con tan solo 14 vacas. La población mundial, que según se prevee se duplicará

al menos una vez, o tal vez dos, antes del 2.050, alcanzando los 10 billones de almas, deberá ser alimentada y todavía no está claro de que manera. El aumento de la producción alimenticia deberá basarse primordialmente en mejoramientos cualitativos mas que en la expansión de las tierras cultivadas.

Probablemente sea presuntuoso afirmar que estamos preparados para alimentar a la población mundial haciendo uso eficiente de la ciencia y la tecnología, pero esta parece ser la única esperanza.

En el mundo actual, la necesidad de aumentar la productividad agropecuaria no ha variado. Es preciso encontrar nuevos métodos para aumentar la producción agrícola en un 50 % en las próximas décadas, pero hay que hacerlo sin agotar los suelos ni los recursos hídricos de la tierra. Entonces, los científicos no solo deben desarrollar variedades de productos más resistentes y productivos sino también métodos para proteger y mejorar los suelos y conservar el agua, que sean eficientes en función tanto de costos como de mano de obra.

Observamos pues que la biotecnología es la herramienta que ya está permitiendo avanzar sobre estos problemas y será fundamental en el futuro para el logro de estos objetivos.

La investigación, por tanto es absolutamente necesaria y los países en desarrollo no deberían descuidarla.

Es por ello que la mayoría de los investigadores y personas interesadas en encontrar una solución a todos estos problemas en los países en desarrollo abogan por el fortalecimiento de las universidades como centros de investigación y desarrollo, y por la indispensable ayuda y financiamiento de los gobiernos. En última instancia, es de ellos de quien depende el futuro del progreso en este sector y, en definitiva, del progreso humano en general.