



LA GUÍA VART: PROPUESTA PARA ESTANDARIZAR LA VALORACIÓN DE LA APTITUD REPRODUCTIVA DE TOROS EN ESPAÑA.

Editada por: José A. García-Paloma¹, Susana Astiz Blanco², Giovanni Gnemmi³, Sonia Pérez Garnelo², Esther Collantes-Fernández⁴

1 Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Grupo NySA, Asturias

2 Departamento de Reproducción Animal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Madrid

3 Bovinevet International Bovine Ultrasound Services & Herd Management S.L.

4 Saluvef, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid
josegp2@telefonica.net

Trabajo financiado por el Principado de Asturias, PCTI 2018-2020 (GRUPIN: IDI2018-000237) y FEDER.

En la elaboración de esta Guía ha colaborado un grupo multidisciplinar formado por investigadores, responsables de laboratorios de reproducción y sanidad animal, técnicos de empresas y de asociaciones de ganaderos, así como veterinarios especialistas en la valoración de la aptitud reproductiva del toro, en adelante, grupo VART. La relación completa de colaboradores se presenta en el apéndice.

Los toros estériles, infértiles o subfértiles pueden ocasionar importantes pérdidas de productividad en las ganaderías que utilizan la monta natural como manejo reproductivo. Mientras los primeros son prontamente descartados debido a su fácil detección, los toros subfértiles, cuya prevalencia media se sitúa entre un 20% y un 30% (Barth & Waldner, 2002; Kennedy *et al.*, 2002), se suelen mantener como sementales al pasar frecuentemente desapercibidos. En este sentido, la valoración de la aptitud reproductiva de los toros antes del inicio de cada temporada de cubrición o previo a su compra, es una estrategia que se debería incluir en los programas de control sanitario y reproductivo de las explotaciones ganaderas.

La metodología utilizada para la valoración de la aptitud reproductiva del toro (VART) conocida también como Bull Breeding Soundness Evaluation (BBSE), no está orientada a establecer diferencias de fertilidad entre toros sino a identificar aquellos que se consideran No Aptos como reproductores, bien por su condición de infértiles, subfértiles o de ser portadores de caracteres no deseables que puedan ser transmitidos a su descendencia. Según esta metodología, para ser considerados Aptos los toros deben superar cuatro valoraciones: 1) Sanitaria, enfocada al diagnóstico de las enfermedades que pueden ocasionar fallo reproductivo en las hembras, o en las que el toro puede ser portador; 2) Física, orientada a la búsqueda de anomalías anatómicas que puedan comprometer la funcionalidad reproductiva y a la valoración de la circunferencia escrotal; 3) Seminal, destinada a comprobar que los parámetros de calidad son compatibles con los umbrales establecidos de fertilidad y 4) de Comportamiento, a través de la evaluación de la Habilidad Copulatoria en la ganadería de destino.

La metodología BBSE fue desarrollada en Estados Unidos por la Society for Theriogenology (SFT; Hopkins and Spitzer 1997), y en base a sus fundamentos, la Western Canadian Association of Bovine Practitioners (WCABP; Barth 2000) y la Australian Cattle Veterinarians (ACV; Entwistle & Fordyce 2003) la adaptaron con algunas diferencias de criterio. Sudáfrica (Irons *et al.*, 2007) así como Reino Unido e Irlanda a través de la British Cattle Veterinary Association (BCVA; Penny 2018) también lograron consensuar un procedimiento propio, involucrando como en los casos anteriores, a todos los actores relacionados con el desarrollo y con la aplicación de esta metodología.

En España aún no disponemos de una metodología BBSE de referencia, por lo que para evitar la disparidad de criterio actualmente existente entre veterinarios y el riesgo de valoraciones contradictorias, presentamos esta Guía con el fin de promover el consenso. Como aportaciones, se destaca una nueva forma de integrar las cuatro valoraciones de la metodología BBSE para asignar la aptitud reproductiva de los toros y la incorporación de la técnica ultrasonográfica para precisar el diagnóstico y la evolución de los procesos patológicos. Dada su extensión, la Guía se presentará en la revista en tres números consecutivos: 1) Valoración sanitaria, 2) Valoración ecográfica y 3) Valoración física, seminal y de comportamiento.

LA GUÍA VART: Propuesta para estandarizar la valoración de la aptitud reproductiva de toros en España.

Parte 1. Valoración sanitaria

Luis Miguel Ortega-Mora, Gema Álvarez-García, Roberto Sánchez-Sánchez, Esther Collantes-Fernández

Saluvet, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España. saluvet@ucm.es

1. Introducción

1.1 La valoración sanitaria

Las valoraciones física y sanitaria orientadas a la valoración de la aptitud reproductiva del toro deben constituir una práctica habitual en las ganaderías que utilizan la monta natural como estrategia reproductiva (Collantes-Fernández *et al.*, 2016). Se aconseja que dichas valoraciones se hagan en los animales de nueva adquisición y en los toros de la explotación, tres o cuatro meses antes del comienzo del período de cubriciones, con el fin de que tener tiempo suficiente para sustituir al semental en el caso de que tengamos que descartarlo. Además, sería recomendable realizar la valoración sanitaria de forma anual a los toros en servicio, debido a la existencia de diversos riesgos sanitarios relacionados con las características del manejo de las explotaciones de vacas nodrizas, como son la práctica de la monta natural, el uso de toros comunales, contacto con animales de otros rebaños, especies y fauna silvestre, exposición a vectores o contaminación de recursos hídricos. En los sistemas de montaña hay que añadir también como un factor de riesgo sanitario, especialmente importante, la utilización de pastos comunales.

La valoración sanitaria incluiría, en primer lugar, **un examen del estado general y de los órganos**

reproductores, con el objetivo de detectar cualquier infección/enfermedad que posteriormente, deberá confirmarse mediante las pruebas de laboratorio correspondientes. Consecutivamente a este primer examen, se debe realizar **el diagnóstico de una serie de enfermedades que son importantes en el toro, desde el punto de vista sanitario y epidemiológico.**

En el examen de los órganos reproductores se pueden detectar numerosas enfermedades transmisibles (Jubb, 1985; Van Camp, 1997) que van causar **disfunciones orgánicas en el aparato reproductor** (ver apéndice, Tabla A1), ocasionando problemas para la cópula (*impotentia coeundi*), normalmente asocia-

dos a problemas en la libido, erección y eyaculación; o alteraciones en la calidad espermática, ocasionando problemas en la concepción (*impotentia generandi*). Las consecuencias pueden ser una disminución de la capacidad reproductiva (subfertilidad), un fallo temporal (infertilidad) o permanente (esterilidad). Por su parte, no todos los agentes que causan disfunciones orgánicas en el aparato reproductor y alteraciones de la calidad espermática se eliminan en el semen. Los aspectos más importantes de estas enfermedades se recogen en el punto 2 de esta guía.

Posteriormente al examen físico, debe realizarse el diagnóstico de una serie de enfermedades importantes (Tabla 1), bien por ser **enferme-**

Tabla 1. Enfermedades a considerar en la valoración sanitaria.

Enfermedades transmisibles sometidas a programas oficiales de control y erradicación: tuberculosis y brucelosis

Enfermedades de transmisión sexual que se asocian con fallo reproductivo en las hembras: tricomonosis, campilobacteriosis genital bovina, la diarrea vírica bovina (BVD) y la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR)

Enfermedades de las que el toro puede ser portador:

- Besnoitiosis bovina: enfermedad reemergente en Europa y endémica en muchas zonas de nuestro país
- Paratuberculosis: con gran impacto en la producción y ampliamente distribuida
- Otras: Leptospirosis, clamidiosis, Fiebre Q, babesiosis, theileriosis, anaplasmosis. Endémicas según la zona geográfica

dades de declaración obligatoria, como la tuberculosis y brucelosis o bien por ser **enfermedades de transmisión sexual (ETS)** con alto riesgo de transmitirse (Eaglesome & Garcia, 1997), como la tricomonosis, campilobacteriosis genital bovina, diarrea vírica bovina (BVD) y la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR). Por último, existen también otras **enfermedades de las que el toro puede ser portador asintomático**, siendo importante realizar su diagnóstico, sobre todo en la compra del semental, para no introducir animales positivos en la explotación. Una de estas enfermedades es la besnoitiosis bovina, enfermedad reemergente en Europa y endémica ya en muchas zonas de nuestro país, cuyos efectos más importantes son la esterilidad, infertilidad o subfertilidad en el toro. Otra enfermedad es la paratuberculosis, de gran importancia en la producción y ampliamente distribuida. Por último, existen otras que están presentes en algunas zonas (leptospirosis, clamidiosis,

fiebre Q, babesiosis, theileriosis, anaplasmosis), por lo que se debe tener en cuenta la zona geográfica de procedencia, ya que algunas regiones son endémicas. El control de estas enfermedades variará según de la situación epidemiológica de la explotación y la zona geográfica.

En la Tabla A2 (mostrada en el apéndice), aparecen los principales agentes transmisibles de las enfermedades que consideramos más importantes hoy en día en nuestro país.

Además, en los puntos 3 y 4 recogemos los aspectos más importantes de estas enfermedades, con especial énfasis en tres enfermedades que han reemergido en España en los últimos diez años: tricomonosis, campilobacteriosis genital bovina y la besnoitiosis bovina. Este hecho es debido a que su transmisión se ha visto favorecida por las prácticas de manejo habituales en las explotaciones de vacuno de cría como

la monta natural, los pastos compartidos, los toros comunales, y las transacciones comerciales de toros sin garantías sanitarias. Asimismo, la balanopostitis pustular infecciosa/IBR y la BVD son dos enfermedades víricas que se transmiten a través del semen y de gran importancia en el control sanitario de los sementales, porque están ampliamente distribuidas en nuestro país, porque presentan prevalencias elevadas y además, porque pueden ocasionar fallo reproductivo en las hembras, así como mortalidad neonatal.

1.2 Factores a considerar en la compra e introducción de un semental

La compra de un toro para una explotación ganadera es una práctica habitual. En muchas ocasiones, la decisión de la compra viene determinada por las características morfológicas y el genotipo del animal que, sin duda, son factores importantes. Sin embargo, **la información acerca de los programas sanitarios**

Tabla 2. Riesgos asociados a las prácticas más comunes de reemplazo de sementales en relación a BVD, IBR, tricomonosis, campilobacteriosis, besnoitiosis y paratuberculosis.

Prácticas más comunes de reemplazo de sementales	BVD	IBR	Tricomonosis. Campilobacteriosis genital bovina	Besnoitiosis bovina	Paratuberculosis
Comprar toros vírgenes de granjas negativas	Insignificante	Insignificante	Insignificante	Insignificante (en zonas no endémicas)	Insignificante
Comprar toros que hayan servido en otros rebaños	Moderado	Moderado	Alto	Alto (en zonas endémicas)	Moderado
Compartir toros con rebaños de estado sanitario desconocido	Moderado	Moderado	Alto	Alto (en zonas endémicas)	Moderado
Comprar toros analizados y no respetar cuarentena	Moderado	Moderado	Insignificante	Moderado	Insignificante
Criar toros de madres de granjas de estado sanitario desconocido	Alto	Moderado	Insignificante	Insignificante (en zonas no endémicas)	Moderado

de la explotación de origen, así como del estado sanitario del toro deberían ser factores a considerar antes de adquirir e introducir el animal en un rebaño (Tabla 2). Se recomienda la compra de animales vírgenes para evitar la introducción de las ETS en el rebaño o adquirirlos de rebaños de estado sanitario conocido y que hayan sido previamente examinados. Asimismo, cuando se adquiere un toro, éste deberá guardar un periodo de cuarentena de, al menos, 4 semanas, dado que puede estar recientemente infectado y encontrarse en el periodo de incubación de la enfermedad. Si no se realizó la valoración sanitaria del toro antes de la compra, la cuarentena es el momento adecuado para llevarla a cabo.

Como ejemplo en nuestro país, sólo el 16,5% de los ganaderos de explotaciones de vacas nodrizas de la raza Asturiana de la Montaña realizaba cuarentena a las nuevas incorporaciones, un 16,7% adquiriría los sementales con garantía sanitaria y tan solo un 7,8% realizaban pruebas a toros de reciente incorporación por cuenta propia (Tapiolas, 2016). Aunque de ámbito local y realizado sobre un único sistema de manejo y una única raza, este trabajo pone de manifiesto la escasa aplicación de medidas de bioseguridad en la compra de un semental.

Otro aspecto sanitario a considerar antes de la introducción de un animal son las enfermedades a las que el toro puede estar expuesto cuando entra en el rebaño. Por lo tanto, el semental debe seguir el programa de desparasitación, vacunación y control de enfermedades que se tenga establecido en la explotación. Por ejemplo, si sabemos que en nuestro rebaño existe una infección activa de IBR, deberemos

vacunarlo antes de juntarlo con el resto de animales. Asimismo, si hemos reemplazado un toro con tricomosis bovina, el toro nuevo sólo deberá cubrir hembras vírgenes o aquéllas que parieron y no fueron cubiertas por el toro infectado que eliminamos.

Por su parte, se debe limitar la asistencia del toro a ferias, concursos y exposiciones de ganado. El animal que asista debe ser manejado como si se tratase de una nueva compra antes de ser incorporado al rebaño.

2. Enfermedades transmisibles que originan disfunciones orgánicas y alteraciones en la calidad seminal

Las disfunciones orgánicas producidas por agentes transmisibles están causadas por efecto directo del patógeno sobre el aparato reproductor, al multiplicarse en el mismo y causar daño tisular, dificultando la habilidad copulatoria o alterando la calidad espermática (Jubb, 1985; Van Camp, 1997). Estas enfermedades pueden ser detectadas en la valoración física de los órganos del aparato reproductor del toro, aunque se considera necesaria la confirmación del diagnóstico mediante las pruebas de laboratorio correspondientes. A continuación, se describen los principales agentes que originan disfunciones orgánicas y alteraciones en la calidad seminal.

2.1 Prepucio y pene

2.1.1 Abscesos

Los abscesos prepuciales ocurren frecuentemente en la porción libre del pene o en la unión del prepucio y pene, pudiendo producir adherencias en pene/prepucio o

estenosis prepucial, ocasionando problemas en la movilidad y exteriorización del pene. Están causados normalmente por *Trueperella pyogenes* (denominado antiguamente *Arcanobacterium pyogenes*), bacilo que se encuentra como habitante normal en la mucosa genital.

2.1.2 Papilomas

El fibropapiloma peneano es un tumor benigno causado por Papilomavirus (Familia Papillomaviridae), siendo más frecuente en toros jóvenes y raro en toros mayores de tres años. El virus penetra a través de abrasiones del epitelio del pene provocadas por la monta, principalmente entre toros. También puede transmitirse por medio de fómites contaminados. El papiloma puede ser simple o múltiple, con forma de coliflor o múltiples masas. Se puede localizar en la porción libre del pene o en el prepucio. Los papilomas pueden afectar a la fertilidad del toro ya que pueden provocar fimosis o parafimosis (según su tamaño), sangrado, fistulas o impedir la copulación por el dolor que producen. Si bien, a veces regresa por sí mismo, otras veces persiste en el tiempo y es necesario su eliminación por cirugía, electrocauterización o criocauterización.

2.1.3 Miasis

Las larvas de moscas (ej. *Wohlfahrtia magnifica*) se localizan en heridas especialmente en partes del cuerpo difícilmente accesibles, como el prepucio, produciendo una inflamación en la zona, que impide la cópula por la molestia que le produce al animal. A veces las lesiones son irreversibles y los tejidos dañados son susceptibles a reinfecciones. Son frecuentes en épocas y zonas calurosas.

2.1.4 Balanopostitis

La inflamación del pene se denomina balanitis y la inflamación del prepucio postitis, por lo que la inflamación de ambas estructuras se denomina balanopostitis. Este proceso impide la cópula por el dolor que ocasiona en el animal. En otras ocasiones, las adherencias impiden la exteriorización del pene. En el ganado bovino, entre las causas bacterianas de la bala-

nopostitis se ha descrito a *Mycobacterium bovis* que produce una lesión granulomatosa en el pene y a la enfermedad venérea granular producida por *Histophilus* spp. La presencia de *T. pyogenes*, considerado como patógeno oportunista, se asocia a casos de balanopostitis supurativa. Sin embargo, **la causa más importante de la balanopostitis pustular infecciosa en el toro es la producida por el herpesvirus 1 bovino (Tabla 3).**

Tabla 3. Balanopostitis pustular infecciosa (revisado en Van Oirschot, 1995 y Muylken *et al.*, 2007)

El agente causal es el herpesvirus 1 bovino (BHV1) en su forma genital y reproductiva. En la hembra ocasiona la vulvovaginitis pustular infecciosa (IPV) y en el macho la balanopostitis (IPB). La infección se transmite durante el coito y también de toros adultos a toros jóvenes cuando están en contacto antes del servicio. Se presenta en rebaños donde se realiza la monta natural.

El virus se multiplica en la mucosa del pene y prepucio desde el día 1 a 3 después de la cópula, produciéndose la forma aguda de la infección. En esta fase se observa hiperemia de la mucosa y hemorragias en los tejidos linfoides del pene y prepucio, que se transforman en pústulas y úlceras de 1 a 3 mm de tamaño. A veces, por unión de pústulas o vesículas cercanas se forman placas membranosas de color blanco-amarillento. Las lesiones se pueden infectar por bacterias y se observa una descarga prepucial purulenta.

En esta fase el animal puede tener fiebre, orina frecuentemente, está deprimido y puede presentar anorexia. También puede observarse una disminución de la motilidad y anomalías de los espermatozoides como consecuencia de la afectación del estado general del animal por la infección. Desde los días 2-7 después de la primoinfección, es cuando el toro elimina una mayor cantidad de virus en el pene y en el prepucio, que puede contaminar el semen. Aunque puede producir infertilidad transitoria, las lesiones suelen desaparecer sin consecuencias en el lapso de 2 semanas. Si las lesiones son muy graves, las cicatrices pueden ocasionar adherencias o desviaciones del pene.

En cuanto al diagnóstico, la infección aguda con el desarrollo de las lesiones típicas ocurre en los días 1-3 después de la cópula, mientras que la respuesta de anticuerpos se empieza a observar a los 7-10 días. Además, se ha descrito que cuando la infección tiene lugar por la vía genital, la respuesta de anticuerpos es variable, siendo de intensidad menor e incluso indetectable. Por ello, se deben tomar muestras de la mucosa del pene y prepucio para el aislamiento o detección del virus por RT-PCR, realizándose un raspado vigoroso de las superficies mucosas con un hisopo, o lavando el prepucio con una solución salina que se recuperará de forma adecuada. Las muestras se deben suspender en un medio de transporte y se enviarán rápidamente al laboratorio a 4 °C.

2.2 Escroto

2.2.1 Dermatitis escrotal

La función del escroto no es sólo de protección del testículo, sino que también forma parte de la termorregulación del mismo, manteniendo su temperatura testicular 2-7 °C por debajo de la temperatura corporal. Por lo tanto, aquellas causas de naturaleza transmisible que originen una inflamación en el escroto van a dar lugar a una alteración en el sistema de termorregulación. En los casos de inflamación grave, se puede alterar la espermatogénesis, ya que se produce una hipertermia y degeneración testicular. El contenido escrotal suele ser doloroso y turgente en los procesos agudos de dermatitis. Cuando la inflamación se prolonga en el tiempo y el grosor de la piel es mayor de 1 cm, el pronóstico es desfavorable, produciéndose una degeneración testicular avanzada. En estos casos el animal puede quedar estéril.

Entre las causas infecciosas responsables de dermatitis escrotal en el bovino, destacan algunas infecciones parasitarias, como las producidas por *Besnoitia besnoiti* (protozoo) que finaliza con una hiperqueratosis, *Chorioptes bovis* (ácaro), *Haematopinus eurysternus* y *Linognathus pedalis* (piojos) e infecciones por hongos como las causadas por *Dermatophilus congolensis*.

2.3 Testículos y epidídimo

2.3.1. Orquitis y epididimitis

En el toro se han descrito numerosos microorganismos, tanto bacterias (*T. pyogenes*, *H. sommus*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Brucella abortus*, *Chlamydiae*, *Mycobacterium* y

Leptospira), como protozoos (*B. besnoiti*). Históricamente la brucelosis y la tuberculosis han sido las principales causas de orquitis en el toro, pero hoy en día tienen muy poca importancia como causa de este proceso, debido a que estas enfermedades se han controlado en España, gracias a las campañas de control y erradicación. Por su parte, *T. pyogenes* suele ser uno de los agentes más comúnmente aislados y, en el momento actual, *B. besnoiti* es una causa frecuente de orquitis en zonas donde la enfermedad está presente (ver apartado 4.1.). También se han descrito casos de orquitis asociadas a infecciones víricas que causan arteritis, como sucede con el virus de la lengua azul y de la fiebre catarral maligna.

El agente puede alcanzar el testículo por vía hematogena, a través de heridas de la piel, por extensión de una infección adyacente o por la vía urinaria. La infección e inflamación aguda del testículo, de sus envolturas serosas y del epidídimo, provoca engrosamiento y adherencias de las serosas parietal y vaginal, obstrucción del epidídimo, degeneración y atrofia del testículo y la consiguiente subfertilidad o esterilidad. Después de algún tiempo (estado crónico), el testículo disminuye de volumen, se torna duro, insensible al dolor y se produce su degeneración y atrofia. En el eyaculado se observa volumen y concentración disminuida, y en ocasiones, aspermia, azoospermia, necrospermia, aglutinaciones aumentadas y motilidad disminuida, aumento de formas anormales especialmente de acrosoma y cabezas sueltas. Los signos clínicos que presenta el toro durante la fase aguda consisten en un aumento de la temperatura corporal, pérdida de apetito, bolsa escrotal aumentada de volumen, caliente al tacto, edematosa y con dolor. En algunos casos, el

testículo se transforma en una enorme bolsa de pus y tejido necrosado. La orquitis puede ser unilateral o bilateral y puede ir acompañada de periorquitis y epididimitis. A la palpación se observa un aumento del tamaño de la cola del epidídimo si éste está afectado.

El pronóstico es muy grave si no se instaure un tratamiento adecuado, ya que es raro que el testículo pueda regenerar en su totalidad su actividad funcional. Sin embargo, en casos que evolucionan bien, el apetito sexual puede reaparecer y la fertilidad restablecerse al cabo de dos o tres meses.

2.4 Glándulas accesorias

2.4.1 Seminovesiculitis

Revisado en: Cavalieri & Van Camp (1997); Hull & Vogel (2008) y Martínez et al. (2009).

La seminovesiculitis es la enfermedad más común de las glándulas accesorias del aparato reproductor del toro. Se define clínicamente como una condición en la cual a la exploración rectal se encuentran cambios palpables en las vesículas seminales debido a un proceso inflamatorio agudo o crónico. Se acompaña de presencia de pus en el semen, una alteración de su calidad y una disminución de la fertilidad. La inflamación de las vesículas seminales se asocia frecuentemente con epididimitis, orquitis, prostatitis o adenitis bulbouretral, por lo que se conoce con el término de síndrome de vesiculitis seminal.

La inflamación de las vesículas seminales en el toro ha sido una preocupación de los veterinarios clínicos desde hace mucho tiempo, siendo una de las enfermedades

Tabla 4. Características de la seminovesiculitis producida por *T. pyogenes*, *Ureaplasma* y *Mycoplasma*

Trueperella pyogenes

T. pyogenes produce una vesiculitis intersticial crónica. En algunos casos suelen encontrarse grandes abscesos que pueden afectar a los tejidos adyacentes, formando adherencias y fístulas en el recto y vejiga. Microscópicamente, la vesiculitis intersticial crónica se caracteriza por fibrosis e infiltración del estroma con células linfoides. *T. pyogenes* es el microorganismo más comúnmente aislado en abscesos hepáticos, por lo que la vesiculitis podría considerarse una infección secundaria.

Ureaplasma diversum y *Mycoplasma* spp.

Estos agentes se han encontrado de forma natural en uretra, prepucio y semen. La principal vía de transmisión es la venérea. La infección por *Mycoplasma* puede originar vesiculitis seminal, epididimitis y orquitis. Dos especies de *Mycoplasma* se han detectado en el aparato genital del toro: *M. bovinegenitalium* y *M. bovis*. La primera se ha asociado con vesiculitis seminal en toros. Sin embargo, aunque *M. bovis* es menos frecuente, ha mostrado ser más patógeno en la hembra tras la infección por vía venérea. La infección por *U. diversum* está relacionada con vesiculitis y prostatitis.

genitales más importantes en el toro. La presencia de vesiculitis se ha observado en el 0,85-10% de los toros sometidos a evaluación de aptitud reproductiva, aunque también se han descrito prevalencias del 49% en algunos estudios realizados en Estados Unidos. La edad parece ser un factor predisponente siendo más frecuente en toros jóvenes y toros mayores de 9 años.

Existen numerosos agentes que causan vesiculitis, principalmente bacterias como *T. pyogenes*, *H. somni*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovis*, *Ureaplasma diversum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Leptospira interrogans* serovariedad Hardjo, *Chlamydiae*, *Proteus mirabilis*, etc. Como se ha mencionado anteriormente, *B. abortus* fue en su día una causa importante de este proceso pero, debido a las campañas de control y erradicación en nuestro país, su significación es irrelevante a día de hoy. El herpesvirus 1 bovino también puede infectar las glándulas accesorias del toro. En la Tabla 4, se describen las características de la seminovesiculitis producida por *T. pyogenes*, *Ureaplasma* y *Mycoplasma*.

La infección de las glándulas vesiculares puede ocurrir por el ascenso del patógeno por el tracto geni-

tourinario, por el descenso desde el tracto urinario o reproductivo superior, por vía hematógena o por la invasión directa desde algún órgano cercano, dando lugar a una inflamación que puede ser bilateral o unilateral. En un estudio *postmortem*, se ha encontrado que el 50% de los toros con adenitis vesicular tuvieron problemas de origen no reproductivo como endocarditis, bronconeumonía, poliartritis y reticuloperitonitis traumática, siendo la vía hematógena la responsable de la infección de las glándulas vesiculares. Los toros, especialmente, de un año y en preparación para la venta o para exposiciones, se mantienen con raciones con un alto contenido en energía, similares a los animales de engorde, y tienen predisposición a padecer procesos de acidosis ruminal. Al existir una barrera ruminal deteriorada debido a la inflamación, las bacterias acceden a la circulación sanguínea, llegando a las vesículas seminales. En este caso, la infección de las glándulas sería el resultado de una bacteriemia secundaria a una ruminitis, que en muchos casos es subclínica.

Los toros afectados pueden tener signos clínicos consistentes en fiebre, anorexia, arqueamiento de la columna, pueden mostrarse reacios a moverse, presentar dolor durante la defecación, eyaculación o palpación rectal, y los nódulos linfáticos inguinales pue-

den estar aumentado de tamaño. En animales con una inflamación crónica, pueden existir fistulas en el recto, uréteres o cavidad peritoneal. No obstante, en muchos casos no hay signos clínicos evidentes y la enfermedad es detectada solamente cuando los toros se someten a una evaluación de su aptitud reproductiva. El eyaculado suele presentar una apariencia purulenta, decolorado, con presencia de sangre, y un pH aumentado (7,2). Microscópicamente, la morfología de los espermatozoides suele ser normal y se observa un elevado número de leucocitos, principalmente neutrófilos.

Para confirmar el diagnóstico puede realizarse palpación rectal, ecografía, examen del eyaculado, y aislamiento bacteriano a partir del semen. En los casos de inflamación crónica se puede notar a la palpación rectal, que las glándulas pierden sus lobulaciones y se encuentran duras al tacto. Si hay abscesos se notan fluctuantes y cuando la inflamación es aguda, puede presentarse dolor al tacto.

El tratamiento de la vesiculitis es difícil. Se han probado diversos protocolos con antibióticos (penicilina, ceftiofur, florfenicol, tilcomisina y tulatromicina), siendo la tilmicosina y tulatromicina los más recomendados. Por su parte, el porcentaje de recuperación de los toros tratados con tulatromicina (88%) fue mayor que con tilcomisina (48%; Rovay *et al.*, 2008). También se puede optar por la aplicación de antibióticos de forma intraglandular (ceftiofur + penicilina; Rovay *et al.*, 2008). En los casos de inflamación aguda, se recomienda el uso de antiinflamatorios y la aplicación de láser frío para acelerar la cicatrización y estimular el drenaje en la zona. Sin embargo,

Figura 1. Signos clínicos a nivel individual y de rebaño de la TB y CGB.

A nivel individual	<ul style="list-style-type: none"> Múltiples cubriciones con retorno a celo regular o irregular Aborto con reabsorción o expulsión del feto Piometra (solo TB) Concepción y gestación normales 	A nivel de rebaño	<ul style="list-style-type: none"> Aumento de vacas repetidoras Disminución en la tasa de partos Aumento del intervalo entre partos Prolongación de la paridera Disminución nº terneros/año
--------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

el tratamiento quirúrgico parece ser la mejor elección aunque hay una serie de efectos adversos que deben tenerse en cuenta. Por lo tanto, el pronóstico de recuperación para esta enfermedad no es bueno y sólo se recomienda el tratamiento en toros jóvenes o de gran valor. Algunos toros, fundamentalmente los jóvenes, se recuperan espontáneamente.

3. Enfermedades de transmisión sexual que se asocian con fallo reproductivo en hembras

3.1. Tricomonosis y campilobacteriosis genital bovina

Revisado en: Bondurant (2005); García-Peña (2005); Michi *et al.* (2016); EFSA (2017a,b); Collantes-Fernández *et al.* (2018); Silveira *et al.* (2018) y Collantes-Fernández & Horcajo (2019).

3.1.1. Definición e importancia

La tricomonosis (TB) y campilobacteriosis genital bovina (CGB) son dos enfermedades venéreas del ganado bovino que son frecuentes en los sistemas extensivos donde se usa la monta natural. En España, los datos de prevalencia de ambas enfermedades obtenidos por el grupo SALUVET indican la presencia de estas enfermedades en los sistemas donde se utiliza la monta natural, con prevalencias individuales que pueden llegar hasta el 30%, dependiendo de la zona y de la presencia de factores de riesgo (Mendoza-Ibarra *et al.*, 2012; 2013; Collantes-Fernández *et al.*, 2014; 2019; Fort *et al.*, 2016). Su diagnóstico en los sementales es de gran importancia porque cursan con fallo reproductivo temprano en la hembra y por su elevado riesgo de transmisión por vía venérea (Eaglesome, 1997).

Tabla 5. Las pérdidas económicas producidas por la TB y CGB

- Baja fertilidad del rebaño.
- Disminución del número de terneros nacidos por fallos o retrasos en la concepción.
- Incremento en el intervalo de partos.
- Retraso y dispersión en la paridera, ocasionando una disminución en la edad y en el peso del ternero al destete, y un aumento en los costes de alimentación.
- Sacrificio de animales infectados y un aumento en la tasa de reposición.
- Gastos veterinarios e incremento de los controles sanitarios y reproductivos del rebaño (muestreo, diagnóstico, implantación de sistemas de sincronización e inseminación artificial, etc.).

Ambas enfermedades están incluidas en la Lista de Enfermedades de la OIE y en la Directiva Europea que regula el comercio de semen bovino (European Union, 1988; 2004). La OIE establece una serie de recomendaciones para estas enfermedades respecto al comercio de animales de cría, sementales y semen (http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_sommaire.htm).

Las pérdidas económicas se asocian principalmente al fallo reproductivo temprano y son debidas a las causas que se detallan en la Tabla 5.

3.1.2. Etiología

El agente etiológico de la TB es el parásito protozoo *Tritrichomonas foetus* (Familia Trichomonadidae) y la bacteria *Campylobacter fetus* subespecie *venerealis* (Clase Epsilonproteobacteria, Orden *Campylobacteriales*) el agente etiológico de la CGB. Ambos patógenos se localizan en el tracto reproductor de la vaca y del toro.

3.1.3. Aspectos epidemiológicos

La transmisión de estos agentes se produce, casi exclusivamente, mediante la cópula. Ocasionalmente,

Tabla 6. Factores de riesgo de la TB y CGB

- Monta natural
- Falta de pruebas de diagnóstico y cuarentena
- Vallado en mal estado
- Pastos comunales
- Toros compartidos
- Toros portadores (mayores de 3 años)

Figura 2. Procedimiento para la toma de una muestra de esmegma prepucial para el diagnóstico de la TB y CGB (Collantes-Fernández & Horcajo, 2019).

Tricotomía, limpieza y masaje del área prepucial



Se procede a cortar la mayor cantidad de pelos de la zona prepucial, retirar toda la suciedad presente (barro, materia fecal, etc.) y se limpia la zona prepucial con una toalla de papel seca la zona. Posteriormente, se realiza un masaje de la zona caudal de la cavidad del prepucio con objeto de que el patógeno presente en las criptas glandulares se desprenda.

Raspado de la mucosa prepucial



Se introduce un raspador por el orificio prepucial hasta el fondo de la cavidad prepucial y se realizan movimientos en sentido antero posterior y a ambos lados de la cavidad. El material es inoculado en PBS y en los correspondientes medios de transporte-cultivo (*C. fetus venerealis*: TTE y Lander; *T. foetus*: InPouch System™ TF o Diamond, entre otros)

si se utiliza material contaminado, pueden transmitirse de forma mecánica durante la inseminación artificial o durante la exploración vaginal.

En la Tabla 6 se describen los principales factores de riesgo que contribuyen a la presentación de la TB y CGB.

3.1.4. Patogenia y signos clínicos

En el toro, el patógeno se localiza preferentemente en la parte posterior de la mucosa prepucial, y en la vaca en los pliegues del cérvix. En el toro la infección es asintomática y la fertilidad no es-

tá afectada ya que la infección no tiene carácter invasivo, no produce lesiones ni alteraciones en la calidad seminal o en la libido. Sin embargo, el toro permanece infectado de por vida. En la vaca la infección es autolimitante en la mayor parte de los casos y se elimina aproximadamente a los 4 meses. El embrión o el feto se pierden casi siempre en el primer tercio de la gestación como consecuencia de la inflamación del útero. La manifestación clínica es el fallo reproductivo temprano. Los signos clínicos a nivel individual y de rebaño se resumen en la Figura 1.

3.1.5. Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de la TB y CGB debe hacerse de forma conjunta en el semental, especialmente en zonas de ganadería extensiva donde se use la monta natural. Para el diagnóstico de la infección en un rebaño, lo recomendable es muestrear a los sementales en vez de a las hembras, debido a la persistencia de la infección en el toro.

La toma de muestras, el transporte y la detección del agente en el laboratorio, son puntos clave que deben llevarse a cabo siguiendo procedimientos normalizados y validados.

Recogida de muestras en el toro

La toma de muestras en el toro es un punto clave (Tabla 7), ya que de ella dependerá la fiabilidad de los resultados. La muestra de elección en el toro es el esmegma prepucial obtenido mediante un raspado prepucial con raspador (Figura 2). Los raspadores son instrumentos metálicos o plásticos de 70 cm de largo que tienen un extremo anterior ranurado de aproximadamente 10 cm de largo y 8 mm de diámetro, por medio del cual se facilita la acción del raspado de los pliegues prepuciales. Muchos autores han avalado su empleo por la rapidez con la que se opera y por la sencillez del método. Además, disminuye la contaminación por orina y no se necesita de un asistente para la toma de la muestra. Siempre se debe esterilizar el raspador antes de muestrear un animal o emplearse raspadores de un solo uso.

Recogida de muestras en la hembra, feto y placenta

Aunque el diagnóstico debe realizarse siempre en el macho, también es posible la detección de los

patógenos en las hembras sospechosas o que han presentado signos clínicos. Se aconseja realizar el muestreo lo antes posible después de la cubrición de un toro positivo o sospechoso, o tras la detección de los primeros signos clínicos como piómetra y repeticiones de celo. Si el muestreo se realiza varios meses de finalizado el servicio, el valor de una muestra negativa es muy limitado debido al carácter autolimitante de la infección en la hembra, por lo que el diagnóstico es menos exitoso que en el macho. La presencia de vacas positivas tiene valor desde el punto de vista de un rebaño infectado y no como diagnóstico individual.

La muestra de elección en la hembra es el moco cérvico-vaginal que se recoge por medio de una pipeta de inseminación artificial o bien mediante la vaina de Casou, muestreando el área cérvico-vaginal (Tabla 8). En el caso de una piómetra se puede aspirar el contenido. El material recogido se inocula directamente en los medios de transporte-cultivo específicos para cada patógeno y en PBS para PCR.

Los fetos abortados no son muestras habituales en el diagnóstico. De ser factible, se podrá enviar un trozo de placenta abarcando 3 ó 4 cotiledones, pulmones, hígado y el fluido de abomaso y proventrículos.

Técnicas de diagnóstico

Las técnicas que se utilizan para el diagnóstico de la TB son:

– Cultivo *in vitro* e identificación microscópica del parásito en los medios de transporte-cultivo (InPouch o Diamond). La sensibilidad del cultivo depende en gran medida de la calidad de la muestra

Tabla 7. Puntos clave en la toma de muestras en el toro para el diagnóstico de la TB y CGB

- Antes de muestrear, los toros tienen que haber tenido un reposo sexual de al menos 2 semanas.
- Se recomienda trabajar siempre en la manga y atar con una soga la pata coincidente con la zona de acceso al animal, para garantizar la seguridad del operario.
- Para realizar el diagnóstico del rebaño se debe muestrear a todos los toros no vírgenes. El rebaño se considera infectado si se detectan toros positivos.
- Utilizar siempre para el muestreo material de un solo uso o desinfectado para cada animal, extremando las condiciones higiénicas para evitar el contagio mecánico entre animales.
- La contaminación de la muestra con heces, tierra, sangre u orina, o si no se ha realizado un raspado prepucial en profundidad puede dar lugar a falsos negativos.
- Envío de las muestras al laboratorio lo antes posible (en 24-48 h). No refrigerar los medios de cultivo. La muestra para PCR sí puede refrigerarse.
- Se recomienda realizar 2 ó 3 muestreos con un intervalo de 14 días, ya que incluso en las mejores condiciones, no se garantiza que todas las muestras tomadas de un toro infectado den un resultado positivo. La probabilidad de detectar un animal positivo si sólo analizamos una muestra es del 85-94%, pero variará dependiendo de las técnicas que se usen y las condiciones de la toma de muestras. Si se analizan dos muestras se alcanzaría una sensibilidad diagnóstica de al menos el 94% y del 99% si se analizan los toros tres veces.

y del medio de cultivo, así como de las condiciones del transporte. Las ventajas de esta técnica son la sencillez de realización en los laboratorios de diagnóstico y su bajo coste. Sin embargo, no permite la discriminación de *T. foetus* de otros protozoos tricomonádidos intestinales y coprofilicos (Sager *et al.*, 2007).

– PCR a partir de la muestra de esmegma prepucial introducida en el tubo de PBS o en el de transporte-cultivo. El uso de la PCR en el diagnóstico de la TB es fundamental ya que detecta un

bajo número de parásitos (incluso muertos), permite su detección en muestras con contaminación bacteriana y la identificación precisa de los animales infectados al diferenciar *T. foetus* de otros protozoos tricomonádidos intestinales y coprofilicos que pueden crecer en los medios de cultivo (Felleisen *et al.*, 1998).

Se recomienda el uso combinado de ambas técnicas para aumentar la sensibilidad y la especificidad en el diagnóstico de la TB si no se hacen remuestreos. En el caso de resultados discordantes

Tabla 8. Recogida de moco cérvico-vaginal en la hembra para el diagnóstico de la TB y CGB

Limpia adecuadamente la zona del periné y la vulva con agua común y una esponja, secando los labios vulvares con papel descartable. No se aconseja el empleo de soluciones desinfectantes cuyos residuos pueden ser arrastrados por la pipeta e interferir luego en el cultivo.

Se introduce la pipeta de IA hasta el cérvix y se recoge la muestra desde la porción posterior del cérvix y fondo de vagina mediante la aspiración con la pipeta de IA e intermediario de goma y jeringa. En algunos casos, la pipeta puede introducirse en la uretra, recolectándose orina la cual es distinguible al extraerla. En ese caso se deberá muestrear nuevamente.

Si la muestra se recoge mediante la pipeta de Cassou con la vaina azul descartable, es importante al introducir la vaina de plástico en el instrumento no manipular el extremo anterior para no agregar contaminantes. Se separan ambos labios vulvares y sin necesidad de fijar el cérvix por vía rectal, se introduce el instrumento armado hacia el área superior del fondo de la vagina, realizando movimiento de aspiración con el extremo posterior del instrumento y al mismo tiempo retirándolo hacia caudal. El vacío originado por el pequeño émbolo de plástico dentro de la vaina será suficiente para extraer volúmenes de mucus variables según estado del ciclo estral.

Si el volumen de mucus extraído es escaso, se puede introducir con el mismo instrumento 3 a 5 ml de solución fisiológica estéril, realizar un lavado del fondo de vagina y luego extraer el líquido en forma inmediata.

Con el material extraído se pueden sembrar en los medios de cultivos adecuados o en PBS para PCR.

A veces la consistencia de la muestra es filante, siendo dificultoso el llenado de los tubos con la muestra, especialmente al querer cerrarlo, recomendándose para ello ayudarse con el mismo tapón del tubo. Se sugiere el empleo de tubos con tapa a rosca para la colocación de estas muestras.

o no concluyentes, se recomienda muestrear de nuevo al animal.

Las técnicas que se utilizan de rutina para el diagnóstico de la CGB son:

- Cultivo de *C. fetus venerealis*, pruebas de crecimiento y bioquímicas. Se realiza sembrando la muestra de esmegma prepucial

en el medio de transporte (Lander o TTE). La confirmación del aislamiento y la distinción entre las subespecies de *C. fetus* debe llevarse a cabo mediante pruebas de crecimiento y bioquímicas (Tabla A3 mostrada en el apéndice).

La correcta identificación de *C. fetus venerealis* es indispensable ya que otras especies de *Campylo-*

bacter, por su localización (*C. sputorum*) o por contaminación con heces (*C. fetus fetus*, *C. jejuni* o *C. hyointestinalis*), pueden estar presentes en la muestra de esmegma prepucial utilizada para el diagnóstico. Aunque esta técnica de diagnóstico ofrece algunas ventajas, como su disponibilidad en los laboratorios, la capacidad de permitir la diferenciación de subespecies de *Campylobacter* spp. y la posibilidad de realizar estudios de resistencia a antibióticos, presenta también numerosos inconvenientes. El cultivo tiene baja sensibilidad debido a la escasa viabilidad del patógeno fuera del hospedador. Esta escasa viabilidad puede estar propiciada por la presencia de algunos antibióticos presentes en el medio de transporte, y por la gran sensibilidad de *C. fetus venerealis* a las oscilaciones de temperatura desde el muestreo hasta su llegada al laboratorio, especialmente, cuando transcurren más de 24 horas. Además, hay que considerar que esta bacteria presenta un crecimiento lento e insidioso, y puede haber crecimiento y competición de otras bacterias presentes en el prepucio. Dentro de la propia subespecie encontramos además una gran variabilidad. Existe además, una cepa intermedia, *C. fetus venerealis* biotipo biovar *intermedius* que ha demostrado tener cierta tolerancia a concentraciones del 1% de glicina y cuya significación clínica aún se desconoce. Estos inconvenientes hacen que el cultivo bacteriológico no sea la técnica de elección para el diagnóstico rutinario de la CGB (Fort *et al.*, 2016).

- PCR: es la técnica que más se utiliza de rutina en los laboratorios de diagnóstico. Existen diferentes técnicas de PCR, siendo las basadas en el gen nanE las que han mostrado una mayor sensibilidad

y especificidad (Abril *et al.* 2007; van der Graaf-van Bloois *et al.*, 2013). **Sin embargo, actualmente no se dispone de ninguna PCR que permita identificar con fiabilidad las cepas de *C. fetus* a nivel de subespecie.** En este sentido, se han señalado inconsistencias en el diagnóstico de la CGB, detectando por PCR *C. fetus venerealis* en toros de explotaciones sin problemas reproductivos aparentes o en toros vírgenes, lo que cuestiona la especificidad de la PCR, la cual se ha visto que, además, podría variar dependiendo de los aislados de la zona geográfica que se estudie (Sanhueza *et al.*, 2014). Estudios previos realizados en el grupo SALUVET han observado también problemas de especificidad al aplicar estas técnicas de PCR en muestras de campo de nuestro país (Fort *et al.*, 2016).

Debido a las inconsistencias encontradas en el diagnóstico de la CGB hay que proceder con precaución al emitir un diagnóstico positivo. Desde el punto de vista práctico se recomienda el uso de técnicas de PCR perfectamente validadas en relación a su especificidad y un resultado positivo debe asociarse con un empeoramiento de los parámetros reproductivos.

3.1.6. Control

Tratamiento

En la actualidad no hay agentes terapéuticos eficaces aprobados frente a la TB.

En *C. fetus venerealis*, se han obtenido buenos resultados con oxitetraciclina L.A. (0,10 ml/kg), a dos dosis con un intervalo entre ambas de 72 horas, combinado con tetraciclina común, vía intraprepucial (50 ml; Campero *et al.*, 1993; Fort

et al., 2016). **Se deben realizar los controles de eficacia a posteriori, a partir de 25-30 días post-tratamiento y siempre volver a analizar estos animales. El tratamiento es de especial interés en casos en los que el toro tiene un elevado valor económico, en toros jóvenes o si existe un gran número de toros infectados en el rebaño.**

Vacunación

Para la TB y CGB, existen vacunas inactivadas comercializadas en Estados Unidos y Sudamérica de forma monovalente (Trich Guard®) o polivalente combinada con *C. fetus venerealis* y *Leptospira* (Trich Guard V5-L®). Además, en Argentina, se encuentra disponible una vacuna oleosa inactivada (Tricovac, Laboratorio Biológico Tandil). Sin embargo, en Europa estas vacunas no están registradas y solo está permitido su uso previa autorización por la Agencia del Medicamento. También existe la posibilidad de la utilización de autovacunas, pero su eficacia no se conoce, ya que dependerá del adyuvante utilizado y la composición antigénica. Actualmente, el grupo SALUVET está trabajando en una vacuna frente a la TB con resultados prometedores. La vacunación frente a la TB es altamente recomendable en rebaños que comparten pastos, que tienen toros mayores de 3 años, no realizan un análisis periódico de los machos o tienen un alto número de toros infectados. La vacunación es eficaz en las hembras pero no en el toro, y aunque no previene la infección, reduce la gravedad y su duración, permitiendo la desaparición de la infección en hembras vacunadas antes de que sea un riesgo para el feto. De este modo, el principal objetivo de las vacunas frente a la TB es evitar la cervicitis, endometriitis y placentitis, las cuales ocasionan infertilidad y pérdida de gestación.

Medidas de manejo del rebaño

La práctica de la inseminación artificial es una medida muy útil para reducir y eliminar la infección. Sin embargo, en los rebaños donde no sea posible, **se recomienda la realización de análisis periódicos en los machos** y las siguientes medidas (Rae & Crews, 2006):

Medidas preventivas

En aquellas explotaciones no infectadas con factores de riesgo se recomienda tomar las siguientes medidas preventivas para impedir la entrada de estas enfermedades:

- Control del movimiento de los animales, tanto machos como hembras. Este control incluye mantener las cercas en buen estado.
- Evitar pastos comunales. Si no es posible y los toros aprovechan estos pastos junto con las vacas, se recomienda que todos los toros que utilicen los pastos sean negativos a estas enfermedades y repetir el diagnóstico al finalizar su aprovechamiento.
- Llevar a los pastos comunales únicamente vacas y novillas preñadas, medida que se puede facilitar mediante una adecuada programación de la paridera.
- Usar sólo toros o novillas vírgenes como reposición o, en su defecto, toros jóvenes tras comprobar su procedencia y estado sanitario.
- Mantener la edad media de los toros de rebaño tan joven como sea posible.
- Diagnóstico y cuarentena de los toros adquiridos. Se recomienda el análisis de dos muestras de es-

magma prepucial con dos semanas de intervalo si el toro procede de una explotación negativa y de, al menos tres, si procede de un rebaño con antecedentes.

- No mezclar las vacas o novillas de estado sanitario desconocido durante la temporada de cubrición.

Medidas de control

Cuando estas infecciones han sido diagnosticadas en un rebaño, además de las medidas preventivas expuestas anteriormente, se aconseja adoptar las siguientes medidas de control para reducir su impacto y para lograr su erradicación:

- Diagnóstico y sacrificio de los toros infectados o tratamiento, si está presente la CGB, siendo importante verificar la eficacia del tratamiento.
- Uso de inseminación artificial hasta que se controle el problema.
- Evitar la rotación de los toros entre lotes.
- Reducir el periodo de cubrición para acortar el periodo de transmisión de la infección. Además, una larga temporada de cubrición puede enmascarar la baja fertilidad atribuible a estas infecciones. Si es necesario alargar la temporada de cubrición es porque hay un problema de fertilidad y acortar el periodo de cubrición es una forma de detectarla.
- Se recomienda la separación del rebaño de dos grupos en función del riesgo de estar infectados. El grupo de bajo riesgo estaría formado por las hembras vírgenes, vacas que no han estado en con-

tacto con toros positivos o sospechosos, vacas con más de cinco meses de gestación o vacas paridas. Éstas deben de ser cubiertas por toros vírgenes o no infectados. El resto de reproductoras (vacas expuestas a toros infectados, vacas preñadas de < 5 meses, vacas no gestantes, con o sin piómetra o vacas abortadas) sería el grupo de riesgo. Estos animales pasan al grupo de animales de bajo riesgo, una vez hayan eliminado la infección, considerándose una buena medida el dejar transcurrir 90-100 días después de la cubrición o, si están preñadas, superar los 5 meses de gestación. Además, se deben eliminar aquellas vacas que no quedan preñadas durante mucho tiempo y las que abortan de manera repetida, ya que podrían ser portadoras de la enfermedad.

- Realizar un diagnóstico temprano de gestación (35 – 60 días) para detectar pérdidas reproductivas tempranas. Aquellas vacas con diagnóstico de gestación negativo formarán parte del grupo de alto riesgo.

3.2. Diarrea Vírica Bovina

Revisado en: Kirkland et al. (1991); Houe (1999; 2006); Brodersen (2014); Lanyon et al. (2014); Evans et al. (2018); Givens (2018).

3.2.1. Definición e importancia

La diarrea vírica bovina (BVD) es una enfermedad de gran importancia en el ganado bovino que cursa con diferentes formas clínicas. En el semental la infección ocasiona alteraciones en la calidad del semen, se transmite a las hembras a través de la cubrición, y puede ocasionar fallo reproductivo y mortalidad neonatal. La BVD está incluida en la Lista de Enfermedades de la OIE y en la Directiva Europea que regula el comercio de semen bovino (European

Union, 1988; 2004). La OIE establece una serie de recomendaciones para esta enfermedad respecto al comercio de animales de cría, sementales y semen (http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_sommaire.htm).

En España, no hay muchos estudios publicados sobre la prevalencia de la BVD en las diferentes comunidades autónomas. Es necesaria la realización de estudios nacionales que permitan conocer la situación real de la enfermedad, haciendo referencia a la presencia de animales con infección persistente como principales causantes de la diseminación de la enfermedad. En nuestro país los diferentes estudios señalan que la BVD es una enfermedad endémica ampliamente distribuida, describiéndose datos que avalan la presencia del virus en el más del 80% de los rebaños y en más del 50% de los animales muestreados (San Miguel *et al.*, 2008). Concretamente en el ganado lechero estos valores pueden superar el 70% de prevalencia de rebaño (Mainar-Jaime *et al.*, 2001; Vega *et al.*, 2004; Eiras, 2010) y llegar al 100% en ganado en extensivo (Gómez-Pacheco *et al.*, 2006; Eiras 2010) en diferentes zonas geográficas de nuestro país. Asimismo, en un estudio reciente donde se muestrearon rebaños con signos clínicos compatibles con la enfermedad, se detectó el virus en más del 30% de los rebaños (Astiz *et al.*, 2016).

Las pérdidas económicas se asocian, en el vacuno de leche, con problemas reproductivos y mastitis, con un coste entre 21 y 135 euros por vaca tras la aparición de un brote (Lindberg *et al.*, 2006). En el vacuno de carne la enfermedad se asocia con problemas sanitarios en terneros y recría, con diarreas y neumonías en cebaderos. En vacas nodrizas se ha estimado unas pérdidas de 58 euros

Tabla 9. Fuentes de infección del virus BVD en un rebaño

- Contacto con un PI propio o de otro rebaño
- Compra de un animal (PI) o de una vaca gestante con un feto (PI)
- Compra de un animal con infección aguda que transmita la infección a una vaca gestante
- Salida de animales a ferias, concursos, exposiciones, etc
- Contacto con otros rumiantes PI o con infección activa
- Uso de semen contaminado con el virus
- Picadura de moscas hematófagas
- Vehiculación del virus por el hombre, fómites, agua, etc

por año y vaca. Si ocurre un brote las pérdidas pueden ascender a 314 euros por vaca durante algunos meses y hasta 96 euros por vaca durante un año (Gunn *et al.*, 2004). Por otra parte, es también una enfermedad importante desde el punto de vista de exportación de animales a terceros países, ya que puede suponer una frontera para la comercialización de animales vivos.

3.2.2. Etiología

El virus de la BVD es un Pestivirus de la familia de las Flaviviridae. Existen dos genotipos antigénicamente distintos, los tipos 1 y 2. Generalmente, el virus tipo 1 es el más común y el tipo 2 se ha asociado con brotes graves. Ambos genotipos pueden darse en las formas citopática (CP) y no citopática (NCP), clasificadas en función de si produce o no cambios visibles en los cultivos celulares. Generalmente, el que circula en las poblaciones de ganado bovino es el biotipo NCP.

3.2.3. Aspectos epidemiológicos

Las fuentes de infección en un rebaño se resumen en la Tabla 9, siendo **el contacto directo con animales persistentemente infectados (PI) el principal modo y el más eficiente de transmisión en condiciones naturales**, ya que estos animales

eliminan altas cantidades de virus y además el contacto del virus con los animales gestantes, hacen que nazcan más animales PI. Los animales con una infección aguda o transitoria pueden ser otra fuente de contagio, pero su papel epidemiológico es menos importante ya que solo pueden transmitir el virus durante las primeras semanas después de la infección (ver apartado de patogenia).

Por su parte, el toro también desempeña un importante papel en la epidemiología de la enfermedad, ya que puede eliminar el virus en el semen en tres situaciones diferentes (Givens, 2018):

Toros PI: la presencia del virus es constante en sus genitales y elimina grandes cantidades del virus en el semen durante toda su vida.

Toros con infecciones testiculares persistentes: pueden eliminar el virus a través del semen durante periodos de tiempo prolongados, aunque la cantidad de virus que eliminan en semen es menor que en los toros PI. Se cree que no es muy frecuente.

Toros con infección transitoria: durante la infección aguda el virus se eliminará en el semen durante 15-20 días de media. La infección agu-

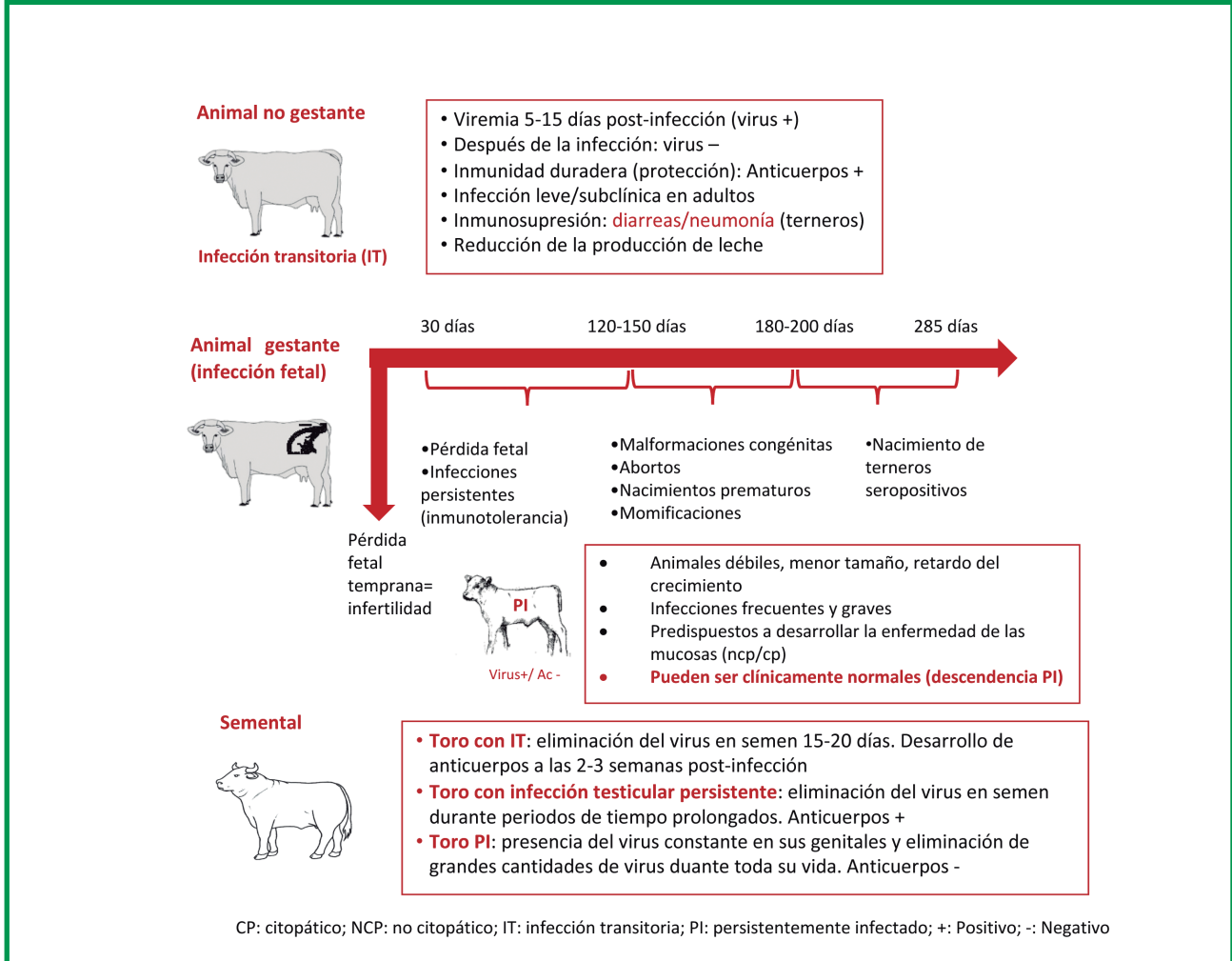
da de un toro por lo general no tiene mayores consecuencias para la tasa de preñez del rebaño ya que el título viral en el semen es bajo y de corta duración (Kirkland *et al.*, 1991).

3.2.4. Patogenia y signos clínicos

Cuando un animal no gestante se infecta, se produce una fase aguda, con una duración media aproximada de 15 días (infección transitoria), en la cual el animal es capaz de diseminar el virus. En esta fase, el virus produce una inmunosupresión transitoria en el animal que predispone a otras enfermedades (Figura 3). Posteriormente, el animal a las dos o tres semanas desarrolla anticuerpos y una respuesta celular, produciéndose la neutralización del virus y la protección del animal.

Si el animal está gestante, las consecuencias de la infección variarán en función del periodo de gestación en que se encuentre (Figura 3), destacando el nacimiento de un animal PI cuando la infección del feto se produce antes de que su sistema inmunitario esté desarrollado (entre los 30-120 días de gestación). Los animales PI, no desarrollan anticuerpos neutralizantes frente al virus, presentan grandes

Figura 3. Patogenia y cuadro clínico de la BVD en animales no gestantes, gestantes y sementales



cantidades de virus en todos sus tejidos y son capaces de eliminarlos de por vida a través de secreciones y fluidos. Además, si estos animales llegan a su vida adulta y se usan como reproductores, en el caso de las hembras, tendrán descendencia PI. Desde el día 120-150 hasta los 180-200 de gestación, pueden aparecer efectos teratogénicos en el feto como atrofia cerebelar, degeneración ocular o braquignataia, entre otros (Lanyon *et al.*, 2014). Tras los 160 días de gestación la infección fetal puede dar lugar a aborto o al nacimiento de terneros normales con anticuerpos.

En el macho (Figura 3), durante la infección transitoria, el virus puede multiplicarse en la próstata, vesículas seminales y epidídimo, pudiendo disminuir la calidad del semen (reducción de la densidad, la motilidad y aumento de anomalías espermáticas) y su fertilidad. En esta fase, el virus se elimina por el semen durante un periodo de 15-20 días hasta que desarrollan anticuerpos (Kirkland *et al.*, 1991). Además, se ha detectado antígeno del virus en células de Sertoli, espermatogonias y células epiteliales de la uretra (Borel *et al.*, 2007; Newcomer *et al.*,

2014). Las alteraciones en el semen desaparecen a los dos meses después de la infección. Sin embargo, los machos que nacen PI eliminarán el virus a través del semen durante toda su vida. También existen sementales con infección testicular persistente, aunque no son casos frecuentes. En estos animales, aunque seropositivos, el virus se replica en órganos inmunológicamente privilegiados como el aparato reproductor masculino y lo eliminan a través del semen durante periodos de tiempo prolongados, aunque en menor cantidad que los animales PI.

La BVD se presenta bajo muchas formas clínicas, que pueden ir, desde un cuadro subclínico en el que no se aprecian signos clínicos, hasta formas clínicas que cursan con diarrea o signos respiratorios que pueden agravarse hasta provocar la muerte del animal (Diéguez *et al.*, 2009). Los signos clínicos que más se asocian a la enfermedad son diarrea, infertilidad y abortos, aunque hay otros como malformaciones, signos respiratorios, muertes embrionarias tempranas y disminución de la producción de leche (Donate, 2014). Los animales PI generalmente presentan una mortalidad muy elevada (cerca al 50% el primer año de vida), dada su alta predisposición a padecer infecciones secundarias y a desarrollar la enfermedad de las mucosas. Esta enfermedad afecta solamente a los animales PI que sufren una infección poco después del nacimiento, por un biotipo CP homólogo antigénicamente al biotipo NCP, que produjo la inmunotolerancia.

3.2.5. Diagnóstico de laboratorio
Las técnicas de diagnóstico van destinadas a la detección del virus, antígenos virales o a la detección de anticuerpos. **El diagnóstico de la infección en el toro debe ir encaminado a la identificación de animales con infecciones testiculares persistentes y PI**, los cuales al diseminar el virus y además, producir semen de baja calidad, serían valorados como no aptos para su uso como reproductores. Para detectar los toros con infecciones testiculares y PI, y diferenciarlos de aquellos con una infección aguda o transitoria, se deben combinar los resultados, tanto de la detección del virus o antígeno, como de anticuerpos frente al virus. Además,

Tabla 10. Detección de virus y anticuerpos en animales con infecciones testiculares y PI.		
Infección testicular persistente	PI	Infección transitoria
Anticuerpos: +	Anticuerpos: -	Anticuerpos: +
Virus en semen: +/+*	Virus en semen: +/+*	Virus en semen: +/-*
Virus en sangre: -/-	Virus en sangre: +/+*	Virus en sangre: +/-*

*Remuestrear a los 21-45 días para descartar una infección transitoria (IT). En los toros con IT, el virus se detectará en sangre o semen de forma transitoria.
PI: Persistentemente infectado
+ : Positivo
- : Negativo

se recomienda remuestrear (a los 21-45 días) a los animales positivos para confirmar la presencia del virus en semen o en sangre (Tabla 10).

Recogida de muestras

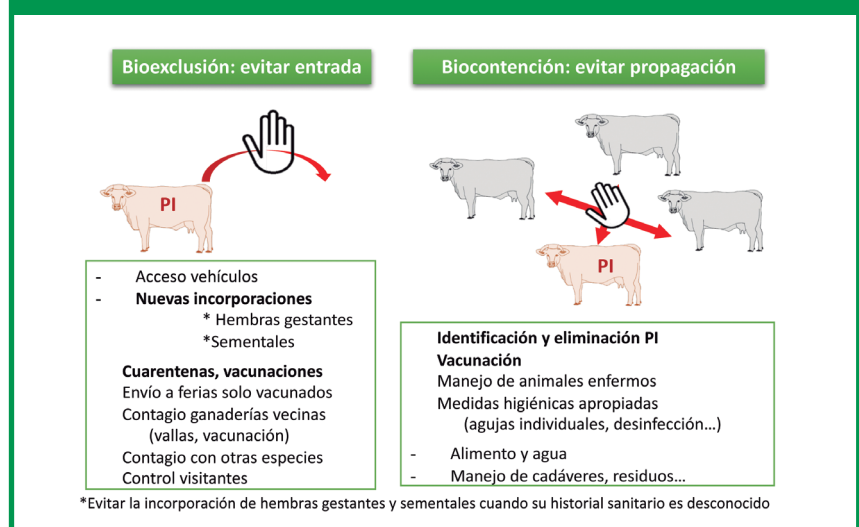
Se recogerá una muestra de sangre en un tubo sin anticoagulante para la determinación de anticuerpos en suero y con anticoagulante (EDTA) para la detección del an-

tígeno o ARN del virus. Para detectar la presencia del virus en el semen se tomará una muestra del eyaculado. Todas estas muestras se enviarán perfectamente identificadas al laboratorio en refrigeración.

Técnicas de laboratorio

Actualmente hay una gran variedad de técnicas de laboratorio disponibles para la detección de

Figura 4. Medidas de bioseguridad para evitar la entrada y propagación de la infección por el virus BVD.



anticuerpos por ELISA (ELISA p80 o ELISA anticuerpos totales), para la detección de antígeno viral por ELISA o del ARN por RT-PCR. Las principales utilidades, ventajas, limitaciones, así como la interpretación de los resultados obtenidos por estas técnicas se resumen en la Tabla A4 del apéndice.

3.2.6. Control

Para el control de la enfermedad en un rebaño, lo más efectivo es la **identificación y eliminación de los animales PI**, la vacunación de las vacas para proteger a las preñadas y el cumplimiento estricto de las **medidas de bioseguridad** (Figura 4). Las vacunas (muertas o vivas) se utilizan como un medio para proteger a los animales susceptibles de infecciones transitorias, para proteger al feto de la infección y para prevenir el desarrollo de animales PI. Sin embargo, hay que tener en cuenta que no todas las vacunas tienen una protección fetal del 100%. Para que la vacunación sea efectiva, los animales PI deben ser eliminados y se deben tomar rigurosas medidas de seguridad para evitar el riesgo de introducción del virus en el rebaño. Algunas comunidades autónomas han incluido el control de esta enfermedad en los programas sanitarios llevados a cabo por las agrupaciones de defensa sanitaria ganaderas de vacuno. Estas medidas varían en función de la situación epidemiológica de la explotación. En relación al semental es importante **descartar siempre a los toros PI y con infecciones testiculares persistentes**. Asimismo, **el semental debe seguir el programa de control que se tenga establecido en la explotación**.

3.3. Rinotraqueitis infecciosa bovina

Revisado en: Kahrs et al. (1977); Jones (2003); Raaperi et al. (2014).

3.3.1. Definición e importancia

La rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) es una enfermedad vírica del ganado vacuno caracterizada por producir distintos cuadros clínicos según la vía de entrada del virus: cuadro clínico de tipo respiratorio, genital y reproductivo, y con menor frecuencia, sistémico en animales jóvenes. Asimismo, se producen infecciones latentes y los animales pueden estar infectados de por vida sin desarrollar signos clínicos.

En el semental es una enfermedad importante en el control sanitario, porque en caso de reactivación, se producirá la excreción del virus, incluida la vía seminal. Los animales infectados pueden transmitirlo durante toda su vida (Van Oirschot, 1995; Muylkens *et al.*, 2007). Además, el virus también puede ocasionar anomalías cromosómicas y disminuir la tasa de fertilización al unirse a la superficie del espermatozoide. Por esta razón no se aconseja la utilización de sementales infectados. Por su parte, la IBR está incluida en la Lista de Enfermedades de la OIE y en la Directiva Europea que regula el comercio de semen bovino (European Union, 1988, 2004), ya que el virus permanece viable después de su conservación en nitrógeno líquido. La OIE establece una serie de recomendaciones para esta enfermedad respecto al comercio de animales de cría, sementales y semen (http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_sommaire.htm).

En España, este virus está distribuido ampliamente. Se han citado

datos de prevalencia de anticuerpos frente al HVB-1 en el 60% de los rebaños y en el 25-40% en individuos (González-García *et al.*, 2009; Yus *et al.*, 2009). Estos datos ponen de manifiesto la importancia de examinar al toro para reducir el riesgo de transmisión de este patógeno.

La IBR es importante, no tanto por las pérdidas económicas directas o indirectas derivadas de la existencia de la enfermedad, sino por las limitaciones comerciales que resultan de la presencia de la infección en diversas explotaciones o regiones del país.

3.3.2. Etiología

La IBR es una enfermedad producida por el Herpesvirus bovino tipo 1 (HVB1) de la familia Herpesviridae. El virus es antigénicamente estable y sólo hay un serotipo, lo que facilita el control de la infección. Se diferencian dos genotipos, HVB-1.1 y HVB-1.2. Las cepas de HVB-1.1 se han asociado principalmente con el cuadro clínico respiratorio, siendo uno de los agentes del síndrome respiratorio bovino, mientras que las cepas de HVB-1.2 lo han sido con infecciones genitales. Sin embargo, las cepas de los dos genotipos pueden producir tanto la forma respiratoria como genital.

Desde el punto de vista inmunológico y de diagnóstico, y por su papel en las estrategias de control de la enfermedad, las proteínas más importantes del virus son:

- gD: proteína estructural, principal responsable de inducir la producción de anticuerpos neutralizantes.
- gB: proteína estructural necesaria para la replicación vírica.

– gE: proteína estructural, que puede ser delecionada como sucede en las vacunas marcadas, sin que el virus vea afectada su capacidad inmunogénica.

– tk: proteína no estructural, que confiere al virus afinidad por el sistema nervioso, estando implicada en el establecimiento de infecciones latentes.

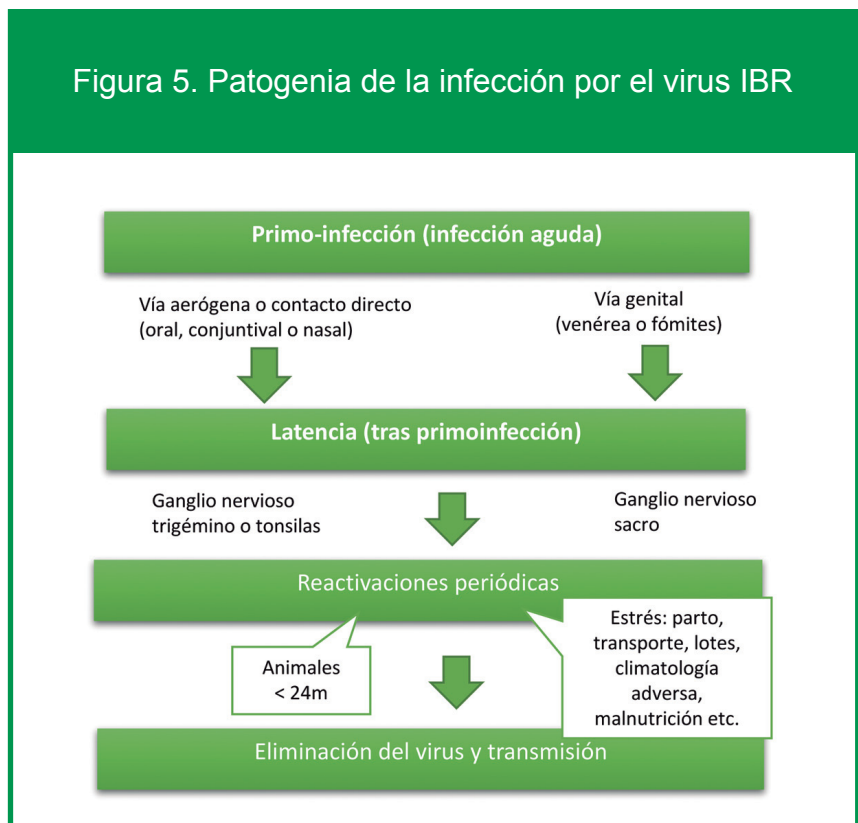
3.3.3. Epidemiología

La característica epidemiológica más importante de la enfermedad es que en **los animales que se infectan, la infección queda de forma latente (animales portadores), pudiendo reactivarse y produciéndose la excreción del virus** a través de las secreciones ocular, nasal y seminal. El virus se difunde con rapidez en las poblaciones receptivas que se ponen en contacto con los animales que han sufrido una reactivación de la infección latente y con los que enferman por primera vez.

Las vías de transmisión del virus serían las siguientes:

– Forma respiratoria: la transmisión es por contacto directo, indirecto (con agua o alimentos) y por vía aerógena a corta distancia. Las fuentes de infección son, principalmente, los animales enfermos que excretan altas cantidades de virus en secreciones respiratorias y a veces genitales y orales.

– Forma genital: el virus se transmite por vía venérea o mecánica por utilización de material contaminado. Se presenta en los rebaños con monta natural. Los toros pueden ser eliminadores crónicos del virus a través de su semen aun estando clínicamente normales. No obstante, se ha des-



crita que los toros seropositivos pueden dejar de eliminar virus durante largos periodos de tiempo si se manejan en condiciones no estresantes.

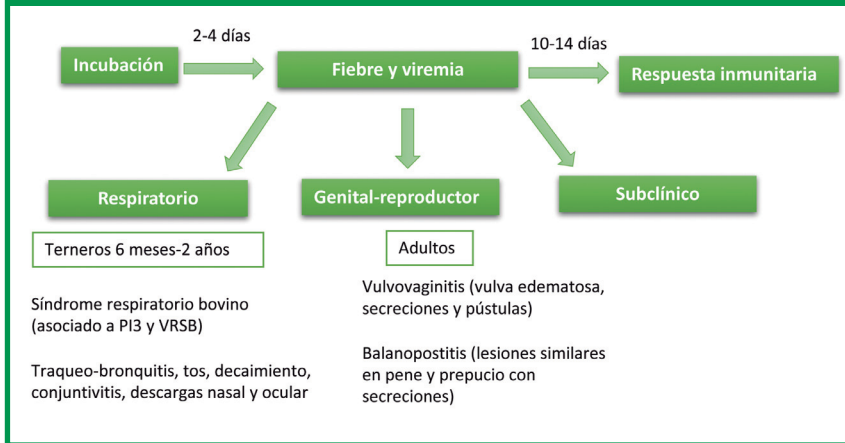
La infección generalmente puede penetrar en un rebaño mediante el ingreso de animales nuevos con infecciones latentes, o a través de aquellos que se han infectado en concursos o ferias y regresan a la explotación. Otro factor de riesgo importante sería el contacto con otros animales como por ejemplo en los pastos comunales.

3.3.4. Patogenia y signos clínicos

Tras la infección se produce la multiplicación del virus en la mucosa de entrada y posteriormente llega a las neuronas sensoriales de los ganglios nerviosos regionales donde puede permanecer en estado latente durante varios años o durante toda la vida del animal.

En caso de entrada respiratoria la latencia suele establecerse en el ganglio trigémino y en caso de entrada genital en el ganglio sacro, aunque ocasionalmente también se sitúa en diferentes localizaciones: tonsilas, linfocitos, nódulos linfáticos y bazo. Por alteraciones del sistema inmunitario debido al estrés, tratamiento con corticoides, el parto, transporte o infecciones bacterianas o víricas, la infección latente puede reactivarse con replicación y excreción del virus en las secreciones respiratorias y/o genitales (Figura 5). En el caso del semental el virus también puede eliminarse a través del semen, infectando a las hembras que monte. La replicación vírica en el curso de la reactivación puede originar una recidiva de la enfermedad, si bien en los bovinos la mayoría de las veces cursa de forma subclínica.

Figura 6. Cuadros clínicos de la IBR



En relación al cuadro clínico (Figura 6), se diferencia el cuadro respiratorio (IBR), el genital-reproductivo denominado vulvovaginitis pustular infecciosa (IPV) en la hembra y la balanopostitis infecciosa bovina (IPB) en el macho. Por último, la forma generalizada o sistémica que se presenta en animales recién nacidos, sin anticuerpos frente al virus e infectados con cepas virulentas, siendo una forma poco frecuente y mortal. Se caracteriza por fiebre, abundante, sialorrea, úlceras en mucosas digestivas, diarrea, tos y flujo nasal. En la necropsia se observa la presencia de exudados fibrinosos purulentos y petequias en diferentes mucosas, principalmente en las del sistema respiratorio.

3.3.5. Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico en el semental se realiza normalmente mediante la detección de anticuerpos por técnicas serológicas. **Es fundamental conocer si el toro ha sido vacunado, porque en el caso de que se hayan usado vacunas sin marcar, es imposible diferenciar los anticuerpos vacunales de los de la infección.**

Recogida de muestras

Se recogerá una muestra de sangre en un tubo sin anticoagulante para la determinación de anticuerpos en suero. Todas estas muestras se enviarán perfectamente identificadas al la-

boratorio en refrigeración.

Técnicas de laboratorio

Las técnicas de ELISA disponibles para el diagnóstico se describen a continuación:

- ELISA-ac totales: es útil para detectar la infección en animales no vacunados.
 - ELISA-gB: detecta anticuerpos frente a la glicoproteína gB del HVB1 que es la de mayor intensidad en la respuesta a la infección. Útil para identificar animales no infectados sin vacunar (Ac gB -). En animales Ac gB +, no es posible distinguir si son vacunados o infectados (Tabla 11).

- ELISA-gE: detecta anticuerpos frente a la glicoproteína gE del HVB1. Es la única prueba que permite diferenciar anticuerpos debidos a vacunas marcadas (vacunas DIVA: Differentiating Infected from Vaccinated Animals) en las cuales se encuentra delecionada la glicoproteína gE del virus, por lo que en los animales vacunados con estas vacunas el resultado debería ser negativo (Tabla 11).

El procedimiento de muestreo y el diagnóstico de la forma genital en el macho (IPB) se ha descrito en el apartado 2.1.4.

3.3.6. Control

Aunque en diversos países de Europa existen programas de erradicación de la IBR, en España solo algunas comunidades autónomas han incluido el control de esta enfermedad en los programas sanitarios llevados a cabo por las agrupaciones de defensa sanitaria ganaderas de vacuno. Estas medidas variarán en función de la situación epidemiológica de la explotación.

Tabla 11. Interpretación de los resultados de las pruebas ELISA disponibles para el diagnóstico de IBR

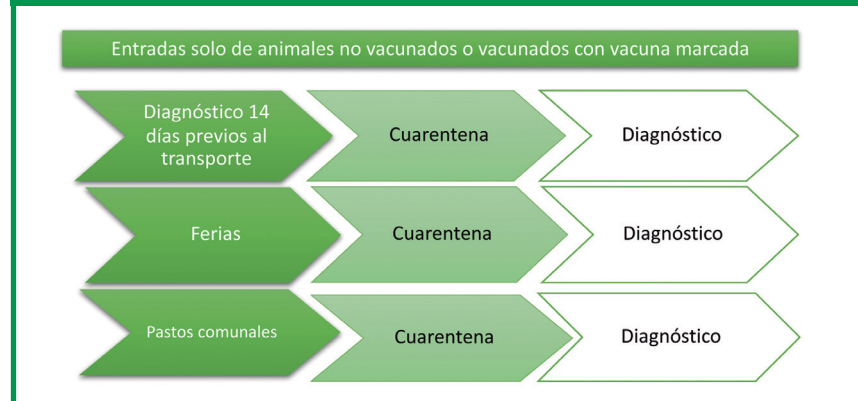
	Estado	ELISA gB	ELISA gE
Vacuna convencional	Infectado	+	+
	No infectado	+	+
Vacuna marcada	Infectado	+	+
	No infectado	+	-
No vacunado	Infectado	+	+
	No infectado	-	-

En líneas generales para el control de la enfermedad en un rebaño, las medidas irán encaminadas a:

- La detección y eliminación progresiva de animales seropositivos de forma voluntaria.
- La vacunación únicamente con vacunas marcadas o la decisión de no vacunar según la prevalencia de la enfermedad en la explotación y los riesgos de transmisión de la misma. Las vacunas marcadas permiten diferenciar animales vacunados de infectados, y son las únicas que se pueden utilizar. El objetivo de las vacunas es propiciar la inmunidad individual y de rebaño, definida ésta como la disminución de la circulación de virus en un rebaño. Además las vacunas disminuyen la eliminación del virus en el caso de producirse reactivaciones.
- Cumplir medidas de bioseguridad semejantes a las que se señalan en la Figura 7.

En relación a las medidas de bioseguridad, la infección generalmente penetra en un rebaño mediante el ingreso de animales con infecciones latentes, por lo que la mejor medida en un rebaño libre de la infección es mantenerlo cerrado. En caso de introducción de animales, como puede ser el caso de un toro, éstos no deben ser seropositivos ni procedentes de explotaciones donde se usen vacunas convencionales sin marcar, ya que será difícil saber si el animal seropositivo es portador de la infección o simplemente se vacunó. Si no puede garantizarse que los animales provengan de un rebaño libre de la IBR, tienen que analizarse por serología en origen antes de la entrada en el rebaño receptor, someterlos a cuarentena en la explotación de recepción y llevar a cabo un

Figura 7. Medidas de bioseguridad para el control de la IBR en relación a las nuevas incorporaciones y movimiento de animales.



nuevo análisis serológico a las tres semanas, por si los animales hubieran seroconvertido durante el viaje. En todo caso, **el semental debe seguir el programa de control y vacunación que se tenga establecido en la explotación.**

4. Enfermedades de las que el toro puede ser portador

4.1. Besnoitiosis bovina

Revisado en: Álvarez-García et al. (2013; 2014); Álvarez-García & Ferre (2019).

4.1.1. Definición, distribución e importancia

La besnoitiosis bovina es una enfermedad parasitaria de curso crónico y debilitante, ocasionada por el parásito apicomplejo formador de quistes tisulares *Besnoitia besnoiti*.

Esta enfermedad tiene distribución cosmopolita y se ha descrito en varios países de Europa (Portugal, España, Francia, Alemania, Suiza, Italia, Croacia, Hungría, Bélgica e Irlanda). Se considera endémica en la región del Alentejo en Portugal,

en la zona de los Apeninos en Italia, Pirineos y Macizo Central en Francia y Pirineos, Sierra de Urbasa-Andía, Maestrazgo, País Vasco, Castilla y León y La Rioja en España. En la zona del Pirineo aragonés se han descrito tasas de seroprevalencia individual del 50% y de rebaño superiores al 80%. Sin embargo, se ha demostrado la diseminación de la besnoitiosis bovina desde el noroeste del país hacia el centro y suroeste, con la aparición de numerosos brotes epidémicos de la enfermedad en Madrid, Castilla-La Mancha, Extremadura y Andalucía. Actualmente, debido al **incremento del número de casos y una amplia expansión geográfica de la enfermedad en España** y otros países europeos, la besnoitiosis bovina se considera una enfermedad reemergente en Europa (EFSA, 2010).

La besnoitiosis produce un deterioro de la condición corporal, reducción de la producción lechera, **se asocia en los machos a subfertilidad, infertilidad e incluso esterilidad** y en las hembras a abortos esporádicos. Aunque apenas existen estudios del impacto productivo y reproductivo de la besnoitiosis bovina, ésta ocasiona importantes pérdidas económicas asociadas a una baja fertilidad

del rebaño, sacrificio de animales infectados, aumento en la tasa de reposición y a gastos veterinarios motivados por el incremento de los controles sanitarios y reproductivos del rebaño, entre otros. A ello debe sumarse la falta de una vacuna o tratamiento eficaces. Por tanto, se recomienda incluir a la besnoitiosis bovina en el programa sanitario de las explotaciones de vaca nodriza, no solo en las zonas donde la enfermedad es endémica, sino también en áreas consideradas libres de la enfermedad.

4.1.2. Etiología y ciclo biológico

El agente etiológico responsable de la besnoitiosis bovina es el parásito apicomplejo *B. besnoiti*. El ciclo biológico completo de *B. besnoiti* no se conoce, aunque se piensa que es heteroxeno y que algunos Bovidae (bovinos y diversas especies de antílopes) y Cervidae (corzo) actúan como hospedadores intermediarios. El hospedador definitivo es desconocido, pero posiblemente sea un carnívoro silvestre. Se han identificado dos estadios parasitarios en los hospedadores intermediarios: el taquizoíto y el bradizoíto localizado en el interior de quistes tisulares. Ambos son estadios asexuales

e intracelulares responsables de las fases aguda (taquizoíto) y crónica (bradizoíto) de la enfermedad. En el hospedador definitivo, todavía por determinar, se produciría la fase sexual del ciclo biológico y este eliminaría ooquistes que adquirirían su capacidad infectante (esporulación) en el ambiente.

Los taquizoítos se multiplican rápidamente en macrófagos y células endoteliales de los vasos sanguíneos durante la fase aguda de la enfermedad. Posteriormente, durante la fase crónica, se transforman en bradizoítos (probablemente como un mecanismo de evasión de la respuesta inmunitaria del hospedador) que se multiplican lentamente en el interior de quistes tisulares, en células de origen mesenquimatoso (fibroblastos y miofibroblastos), localizados principalmente en la mucosa ocular, vaginal, del aparato respiratorio superior y en el tejido conectivo subcutáneo.

Los quistes tisulares de *B. besnoiti* (Figura 8) se localizan con más frecuencia en la piel, conjuntiva esclerótica, aparato respiratorio superior, testículos y epidídimo

en los machos y en el vestíbulo vaginal en las hembras. También se han descrito en la musculatura, tendones, periostio y lengua, entre otros.

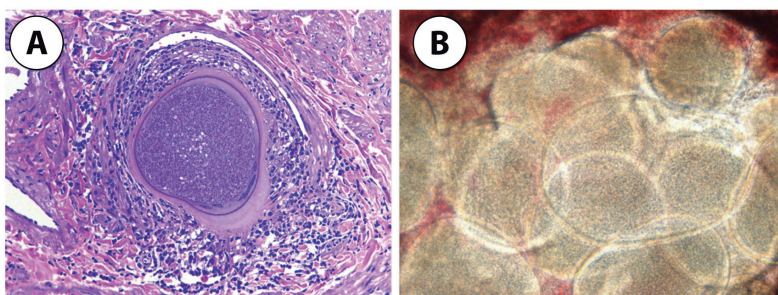
4.1.3. Aspectos epidemiológicos

Los principales modos de transmisión de *B. besnoiti* son el horizontal por contacto directo (p.ej. monta natural) entre animales infectados y no infectados, y la forma mecánica por medio de artrópodos hematófagos (tábanos y *Stomoxys*). La transmisión venérea y transplacentaria parecen poco probables. La transmisión horizontal por vía oral mediante el consumo de ooquistes que eliminaría el hospedador definitivo no se ha descrito todavía.

La besnoitiosis bovina es más frecuente en el ganado de carne que en el de leche, quizás por los factores de riesgo asociados a sus sistemas de producción. Como tales se pueden citar la monta natural, el sistema de pastoreo compartido con otras ganaderías (pastos comunales) o animales silvestres y la mayor exposición a las picaduras de artrópodos hematófagos (tábanos y *Stomoxys*), sobre todo en la época estival. También se pueden citar como favorecedores de su expansión el transporte/comercio de animales sin control sanitario previo entre países y regiones (se destaca el pujante comercio de toros de raza limusina y charolesa procedentes de Francia), y el cambio climático favorable al incremento de poblaciones de artrópodos.

En España, la baja tasa de prevalencia en especies de rumiantes silvestres (corzo, ciervo rojo), así como la ausencia de anticuerpos específicos frente a *B. besnoiti* en pequeños rumiantes domésticos y

Figura 8. Quistes tisulares de *B. besnoiti*. (A) Quistes en plexo pampiniforme. Tinción con hematoxilina-eosina (20x). (B) Quistes en piel. Compresión de una biopsia entre dos placas de cristal (4x).



silvestres (oveja, cabra y cabra montés, entre otros), sugieren que estos no constituyen un factor de riesgo importante para el ganado vacuno (Gutiérrez-Expósito *et al.*, 2016).

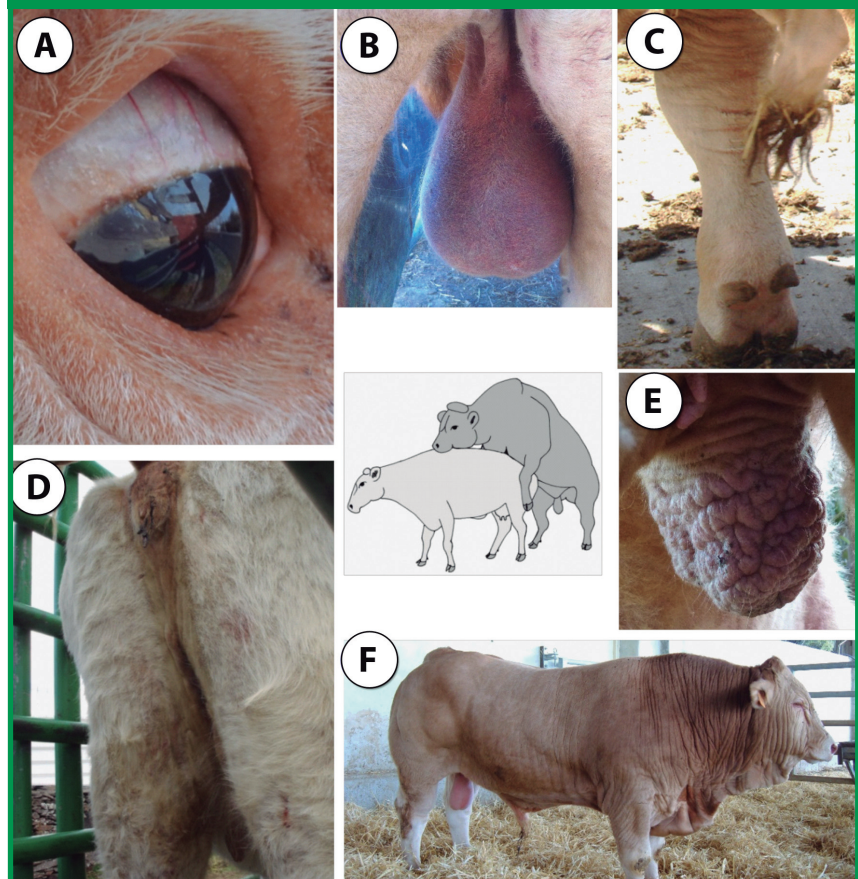
Debido a su transmisión horizontal, se observa un incremento de la prevalencia serológica con la edad así como de los signos clínicos principalmente en animales de 2 a 4 años. Recientemente, se han descrito casos clínicos durante la fase aguda y crónica en animales menores de 6 meses (Diezma-Díaz *et al.*, 2017). Los animales crónicamente infectados de por vida, pueden experimentar una aparente recuperación clínica, son resistentes a las reinfecciones, pero su producción suele quedar mermada.

4.1.4. Patogenia, signos clínicos y lesiones

Después de la infección por *B. besnoiti*, el periodo de incubación previo a la aparición de los primeros signos clínicos de la enfermedad varía generalmente de 1 a 13 días (aunque puede prolongarse hasta los 2 meses). Posteriormente, la besnoitiosis bovina progresa en dos fases secuenciales: la fase aguda (febril o de anasarca) y la fase crónica (o de escleroderma), cuyos signos clínicos y lesiones se resumen en la Tabla 12. La duración de la fase aguda y el comienzo de la fase crónica varía entre animales y depende de la carga parasitaria, entre otros factores. La muerte puede ocurrir tanto en la fase aguda como en la fase crónica de la enfermedad, aunque la tasa de mortalidad es baja (1%).

La fase aguda se asocia a la multiplicación rápida del parásito (estadio de taquizoíto) y al daño del endotelio de los vasos sanguíneos, ocasionando numerosas lesiones vasculares. La replicación rápida del

Figura 9. Principales signos clínicos y lesiones que se observan en sementales. Besnoitiosis aguda: (A) Quistes tisulares macroscópicos (punteado blanquecino) en conjuntiva ocular. (B) Orquitis. (C) Edema en articulaciones. Besnoitiosis crónica: (D) Zonas de alopecia en periné. (E) Atrofia testicular y engrosamiento de la piel del escroto. (F) Piel de elefante en las tablas del cuello.



parásito tiene posiblemente un efecto tóxico que produce un aumento de la permeabilidad vascular. En infecciones intensas, los animales pueden desarrollar edemas (fase de anasarca), principalmente en las partes bajas o declives del cuerpo, que pueden inducir alteraciones respiratorias, orquitis y cojeras (Figura 9).

Durante la fase crónica o de escleroderma, el taquizoíto se transforma en bradizoíto y se multiplica lentamente en el interior de quistes tisulares en células de origen mesenquimatoso del tejido conectivo

(fibroblastos y miofibroblastos), los cuales tienen tropismo por el tejido conectivo de membranas mucosas, capas superficiales de la piel, aparato respiratorio superior y genital, aunque también se han descrito en diferentes órganos internos. Los que se desarrollan en la conjuntiva esclerótica (Figura 9), región vulvar y mucosa nasal pueden visualizarse mediante inspección clínica. Recientemente, se han descrito quistes tisulares en el corion de las pezuñas, los cuales son responsables de un fallo en la irrigación, laminitis y cojeras

Tabla 12. Alteraciones clínicas y lesiones macroscópicas en los sementales infectados por *B. besnoiti*.

Fase aguda (febril o anasarca)	Fase crónica (escleroderma)
<p>Fase febril: Hipertermia (40,8-41,6 °C) Depresión, taquicardia, taquipnea, mucosas congestivas, reducción de la ingestión voluntaria de alimento, pérdida de peso. Hiperemia conjuntival, lagrimeo y fotofobia. Descarga nasal y ocular</p>	<p>Endurecimiento de la piel, hiperqueratosis (escleroderma), alopecia, formación de pliegues y desprendimiento de la piel en zona de periné, escroto y tablas de cuello, principalmente.</p> <p>Mala condición corporal Infecciones bacterianas secundarias en carpos y tarsos.</p>
<p>Fase de anasarca: Edemas en cuello, pecho, bajo vientre y articulaciones Orquitis</p>	<p>Esterilidad o infertilidad causada por orquitis necrotizante, atrofia de testículos y epidídimos.</p>

también durante la fase crónica de la enfermedad.

En la fase crónica se observan lesiones cutáneas como consecuencia de la presencia de quistes tisulares en el tejido subcutáneo (Figura 9). Aquellos animales con una gran carga parasitaria presentan peor condición corporal y lesiones asociadas a infecciones bacterianas secundarias en la zona distal de las extremidades (carpos y tarsos) o en la ubre en el caso de las hembras (Frey *et al.*, 2013; Schares *et al.*, 2016).

En los machos (Esteban-Gil *et al.*, 2014; 2016; González-Barrios *et al.*, 2020), uno de los efectos más importantes es la subfertilidad, infertilidad o, incluso, la esterilidad originada por orquitis necrotizante (Figura 9), que aparece inicialmente, durante la fase aguda. Posteriormente, durante la fase crónica, los quistes tisulares localizados en los túbulos seminíferos y en el plexo pampiniforme producen una disminución del riego sanguíneo, mientras que aquéllos localizados en la piel del escroto reducen considerablemente la termorregulación testicular. Las repercusiones clínicas se traducen en una atrofia y necrosis testicular que terminan ocasionan-

do azoospermia y esterilidad en el semental. En los machos infectados que no presentan signos clínicos ni lesiones macroscópicas se ha descrito un descenso de la motilidad seminal, aunque la espermatogénesis, aparentemente, es normal. **La progresión de la enfermedad en los machos puede ser muy rápida, pudiendo llegar a morir durante la fase aguda o desarrollar esterilidad y signos clínicos de fase crónica en menos de un mes.**

En relación a la presentación de la infección y/o enfermedad a nivel de rebaño, puede presentarse de forma endémica o epidémica (brote), lo cual puede condicionar el diseño y la eficacia de los planes de control. Cuando la enfermedad entra por primera vez en el rebaño se suele presentar en forma de brote y se caracteriza por valores de seroprevalencia variables (10-90%) y de la tasa de incidencia registrada (36-89%). El número de animales con signos clínicos y lesiones puede llegar a alcanzar más del 50%, incluyendo animales con infección aguda y crónica y con animales gravemente afectados que llegan a morir. En los rebaños donde la enfermedad se presenta de forma endémica, las tasas de seroprevalencia son elevadas

(alrededor del 50%) pero con un bajo número de animales con signos clínicos y lesiones, que no suelen ser graves (1-10%). En ambas situaciones puede haber un elevado número de animales seropositivos sin signos clínicos y lesiones que pasan desapercibidos a la inspección clínica. Estos animales permanecen infectados de por vida y, por tanto, son portadores del parásito. También suelen aparecer sementales con signos clínicos que pueden desarrollar esterilidad. Este problema es especialmente relevante en granjas con besnoitiosis endémica, que mantienen hembras infectadas de forma subclínica. Tras la introducción de sementales no infectados, éstos desarrollan la enfermedad en un corto periodo de tiempo tras el inicio de la época de cubrición.

4.1.5. Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico laboratorial permite confirmar el diagnóstico clínico-epidemiológico presuntivo. En la actualidad existe una amplia batería de técnicas disponibles para el diagnóstico de la infección por *B. besnoiti* en el ganado bovino, pero no todas aportan la misma información o tienen la misma fiabilidad. La cinética de anticuerpos y la presencia del parásito condicionan la fase de la infección, el resultado diagnóstico y, por tanto, los programas de control y vigilancia adecuados (Gutiérrez-Expósito *et al.*, 2017).

Diagnóstico directo

En los animales crónicamente infectados, la existencia de quistes puede confirmarse mediante la impronta de un raspado de piel o de la conjuntiva ocular para visualizar microscópicamente los bradizoítos, o mediante el examen de biopsias de piel por compresión en placas de cristal para la detección microscópica de los quistes tisulares (Figu-

ra 8) (al menos 10 fragmentos del tamaño de un grano de avena). La sensibilidad de estas pruebas puede verse comprometida si el número de quistes tisulares es bajo. Por lo tanto, **si no se detectan quistes tisulares en una biopsia, no puede descartarse la infección y deben realizarse otras pruebas complementarias como las pruebas de diagnóstico serológico.**

En animales que presentan signos clínicos compatibles con la fase aguda de la enfermedad, se puede emplear una PCR en biopsia de piel de escroto, tejido testicular o sangre completa para la detección del parásito.

– Toma de muestras

La biopsia de piel se tomará de una zona afectada con lesión, preferentemente de zonas diana donde se ha comprobado que presentan mayor carga parasitaria (carpo, tarso, región de la cara y el codo, así como la zona interior del muslo y periné). La piel del escroto está indicada para animales en fase aguda. La biopsia se tomará con un “punch” de 6-8 mm de diámetro y se enviará al laboratorio en un recipiente debidamente identificado en refrigeración.

Diagnóstico indirecto

Se recogerá una muestra de sangre en un tubo sin anticoagulante. Las técnicas serológicas desarrolladas hasta el momento se basan en la detección de anticuerpos específicos frente a *B. besnoiti*, y son las que se emplean en el diagnóstico rutinario de la besnoitiosis bovina. El análisis serológico permite detectar animales infectados aparentemente sanos, seropositivos y, posiblemente, con un bajo número de quistes tisulares. Sin embargo, las pruebas serológicas actuales

presentan dos limitaciones (García-Lunar *et al.*, 2013; 2015):

Baja sensibilidad en animales con infección aguda que no han desarrollado aún anticuerpos específicos y en animales con infección crónica con bajos niveles de anticuerpos (por debajo de los límites de detección de las pruebas empleadas).

Problemas de especificidad por reacciones cruzadas con otros parásitos apicomplejos en el caso de la IFI y el ELISA.

En base a lo anteriormente expuesto y considerando las ventajas y limitaciones del diagnóstico clínico-laboratorial, las técnicas empleadas con más frecuencia en el diagnóstico rutinario son ELISA y Western blot (Figura 10):

En el caso particular de los sementales **cuando éstos mueren durante la fase febril, sólo se puede confirmar la causa de la orquitis mediante la detección del parásito por PCR en el parénquima testicular y piel del escroto.** En el caso del diagnóstico *in vivo* se recomienda una aproximación serológica mediante la detección de anticuerpos específicos IgG con la prueba de Western blot. Se recomienda repetir la analítica 3-4 semanas después en caso de resultado negativo para detectar seroconversión. Recientemente, se ha desarrollado una prueba ELISA que detecta anticuerpos IgM y que puede adelantar el diagnóstico serológico en animales con una infección aguda en los que no se detectan anticuerpos IgG.

4.1.6. Control

El control de la besnoitiosis bovina no es fácil debido a la inexistencia de fármacos eficaces, a la ausencia de vacuna (salvo en Israel) y a la diseminación de la enfermedad, aso-

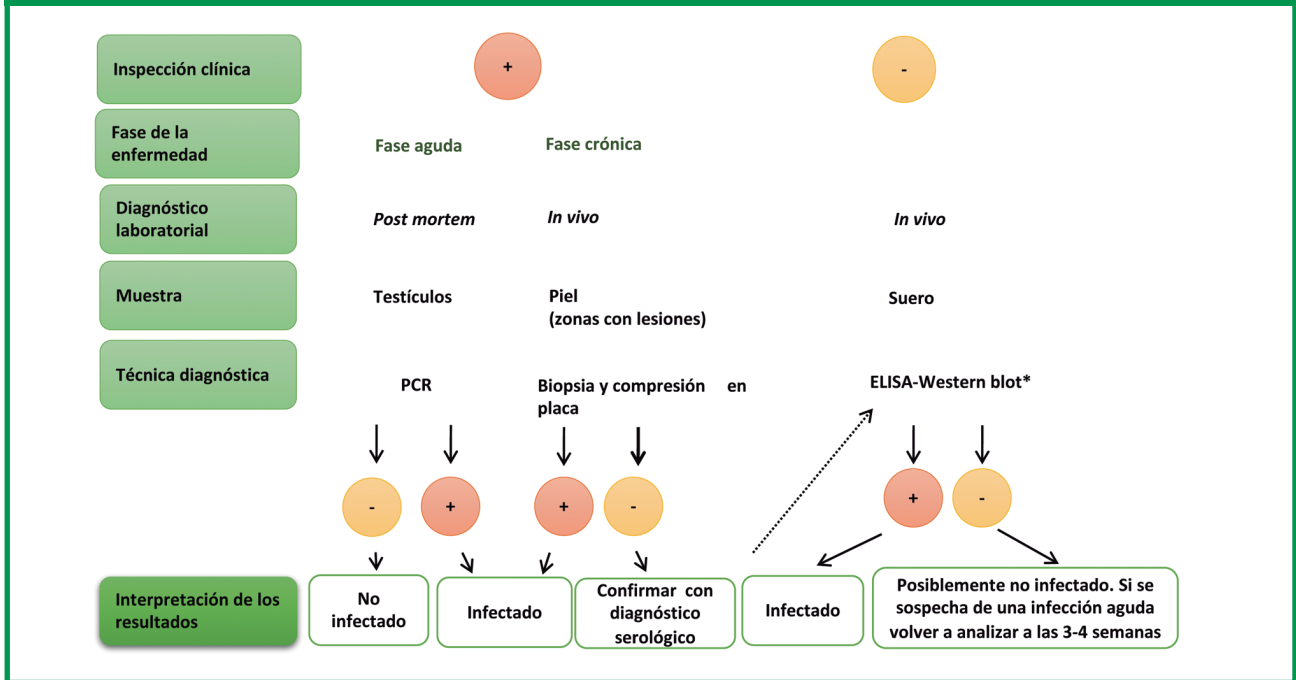
ciada a prácticas de manejo. Se han intentado tratamientos en animales con infección crónica sin éxito, posiblemente debido a la poca accesibilidad de los fármacos al interior de los quistes tisulares. Los fármacos más empleados en casos clínicos han sido las sulfamidas, el toltrazuril, la oxitetraciclina y la parvacuona, con resultados muy variables y poco concluyentes.

La implantación de unas adecuadas medidas de bioseguridad y manejo junto con un diagnóstico precoz juegan un papel crucial en el control de la enfermedad, el cual debería tener dos objetivos principales: **evitar la entrada de la infección al rebaño** (bio-exclusión; Tabla A5 del apéndice) y, por otro, **evitar su diseminación** (bio-contención; Tabla A6 del apéndice). Por otra parte, los programas de control deberán adaptarse a la situación epidemiológica de la enfermedad en cada granja, región o país, ya que sus características influirán en el diseño de los mismos.

Algunas de las medidas recomendadas para evitar la entrada de la enfermedad en rebaños libres situados en zonas de riesgo o endémicas serán difíciles de instaurar cuando coincidan con condiciones extensivas de producción o con el aprovechamiento de pastos comunales.

Evitar la diseminación de la enfermedad en una granja ya infectada es complejo porque debemos reducir la prevalencia de la infección dentro de un rebaño. Una estrategia conservadora y que, a largo plazo, parece ser la mejor opción, consiste en mantener un equilibrio entre el sacrificio selectivo y el mantenimiento de unos niveles mínimos de producción, ya que, ante una seroprevalencia elevada, el sacrificio de todos los animales seropositivos

Figura 10. Abordaje recomendado para el diagnóstico de la besnoitiosis bovina.



* Se recomienda emplear pruebas serológicas validadas que no presenten problemas de especificidad por problemas de reacciones cruzadas y confirmar los casos seropositivos mediante la prueba de Western blot, que es la que presenta valores más elevados de sensibilidad y especificidad.

resulta inviable, desde un punto de vista económico. Por tanto, los rebaños infectados deben realizar las siguientes medidas que se muestran en la Tabla A6 del apéndice.

Bajo condiciones de manejo extensivo, las dificultades para analizar regularmente a los individuos, para separar el rebaño en grupos y para evitar la transmisión por insectos picadores, hacen que la erradicación pueda resultar un objetivo imposible. Sin embargo, **la ausencia de signos clínicos en el rebaño puede ser un objetivo razonable, que se puede lograr con la inspección visual periódica de los animales para identificar nuevos casos clínicos y eliminar los animales infectados. Por todo ello, las herramientas diagnósticas son clave para implementar y monitorizar la eficacia de los programas de control.**

4.2. Paratuberculosis

Revisado en: Olsen *et al.* (2002); Bastida & Juste (2011); García & Shalloo (2015).

4.2.1. Definición e importancia

La paratuberculosis es una enfermedad crónica de distribución mundial que cursa con diarrea y pérdida de peso en animales adultos ocasionando importantes pérdidas económicas. Esta enfermedad está inscrita en la lista de enfermedades de declaración obligatoria de la OIE, por lo que su identificación debe ser notificada.

En España, la enfermedad parece estar ampliamente distribuida en el ganado vacuno. Recientemente, se estimó que cerca del 50% de los rebaños vacunos de la montaña leonesa presentaban, al menos, un animal infectado con paratuberculosis

(Pérez *et al.*, 2009) y en otro estudio, en matadero, se observó una prevalencia de un 44,4% y un 39,6% del total presentaron lesiones de tipo focal (Balseiro *et al.*, 2003).

Las pérdidas que ocasiona la paratuberculosis se deben a una disminución en la producción (principalmente de leche), aumento de la mortalidad, problemas reproductivos y a gastos derivados del diagnóstico, medidas de control y sacrificio prematuro de los animales. Sin embargo, las pérdidas son muy difíciles de cuantificar debido a que cursa principalmente de forma subclínica.

4.2.2. Etiología

La paratuberculosis está producida por la bacteria *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), que se encuadra dentro de las micobacterias de crecimiento lento.

4.2.3. Epidemiología

La bacteria se excreta en las heces y persiste mucho tiempo en el medio ambiente. El periodo de mayor eliminación es entre los 2,5 y los 5 años de edad, aunque puede ser durante el resto de su vida en animales crónicos. La principal vía de transmisión entre los animales es la fecal-oral, a través de leche, calostro, agua, o alimento contaminado por las heces de los animales infectados (Chiodini *et al.*, 1984). Se desconoce la importancia de la transmisión a través del semen.

Generalmente, la infección se produce en los primeros años de vida, y muchos animales infectados se convierten en portadores crónicos. La enfermedad no se presenta habitualmente antes de los 2 años. Los principales factores de riesgo serían la introducción de animales portadores, la presencia en el rebaño de un animal clínicamente enfermo que excreta una gran cantidad de bacterias, y la poca higiene de la explotación que facilita el contacto de los animales con heces contaminadas.

4.2.4. Patogenia, signos clínicos y lesiones

El primer sitio donde se localiza la bacteria cuando ingresa en el organismo son las placas de Peyer ileal y yeyunal, desde donde migra a los nódulos linfáticos asociados. Las primeras lesiones se localizan en la válvula ileocecal, extendiéndose después hacia la lámina propia. Inicialmente, se desarrolla una respuesta inmune de tipo celular para controlar la infección y posteriormente la de tipo humoral. Las lesiones que se producen son principalmente debidas a la respuesta inmune (lesiones granulomatosas) y afectan a las vellosidades del epitelio mucoso a nivel del íleon generando

un síndrome de mala absorción en los animales y diarrea.

La paratuberculosis normalmente se manifiesta de forma subclínica. La fase clínica es la fase terminal de la infección subclínica crónica y sólo se presenta en una proporción pequeña de los individuos infectados, donde se observa principalmente pérdida de condición corporal y diarreas intermitentes o continuas (Tabla 13). Los casos clínicos aparecen a lo largo del año en forma de goteo, pero se agravan con los cambios de alimentación y en situaciones de estrés.

Aparte de los signos clínicos característicos, muchos animales pueden mostrar manifestaciones sutiles y de más larga duración como son la disminución de la producción de leche, problemas reproductivos como subfertilidad, y mamitis. La detección de estas manifestaciones sutiles sólo es posible si se llevan registros productivos rigurosos.

Las lesiones macroscópicas específicas ocurren en el intestino (enteritis crónica) y en los nódulos linfáticos regionales (linfadenopatía mesentérica). La pared intestinal, principalmente la ileal, aparece muy engrosada. Internamente, la mucosa y la submucosa aparecen edematosas y tumefactas, muchas veces con un aspecto blanquecino y con gruesos pliegues que asemejan las circunvoluciones cerebrales. La linfangitis y la linfangiectasia son más comunes en casos avanzados. Los nódulos linfáticos mesentéricos, fundamentalmente los yeyunales y los ileocecales, aparecen aumentados de tamaño, al corte pálidos o de color marrón, tumefactos y edematosos. En los casos más avanzados, las lesiones

pueden extenderse desde el duodeno hasta el recto.

Las lesiones se pueden clasificar en tres tipos, según aparece en la Tabla 14.

En el análisis histopatológico se observa una inflamación granulomatosa con la presencia de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas, que pueden tener una distribución difusa o localizada dependiendo de la gravedad de la infección. En el tejido intestinal se observan bacilos ácido-alcohol resistente a través de la tinción de Ziehl Neelsen.

4.2.5. Diagnóstico de laboratorio

Recogida de muestras

Para la determinación de anticuerpos frente a MAP por ELISA se debe recoger un tubo de sangre sin anticoagulante. Para el test de interferón- γ , se debe recoger un tubo de sangre con heparina y enviar al laboratorio inmediatamente, sin refrigerar, para que pueda analizarse en torno a ocho horas después de su recogida.

Para cultivo y/o PCR se pueden enviar muestras de tejidos: linfonódulos ileocecales o yeyunales caudales, válvula ileocecal e intestino (al menos 5 gramos de cada uno) o heces recogidas del recto. Es importante, que tanto los tejidos como las heces se envíen correctamente identificados y en refrigeración.

Técnicas de laboratorio

La prueba más utilizada es el ELISA en muestras de suero sanguíneo para la detección de anticuerpos. Un resultado positivo se asocia con un estado preclínico o clínico de la enfermedad. Su sensibilidad es li-

Tabla 13. Signos clínicos más característicos de la paratuberculosis bovina.

Diarrea crónica intermitente sin sangre.
Atrofia muscular y serosa.
Ascitis, edema submandibular.
Aspecto deslucido del pelo.
Sin fiebre ni pérdida de apetito, aunque beben mucho para compensar la deshidratación por la diarrea.

mitada cuando son animales infectados con lesiones leves, los cuales frecuentemente son negativos a esta prueba. En casos de infecciones tempranas en animales adultos, se recomienda el test de interferón- γ (prueba para detectar la respuesta inmunitaria celular). La combinación de ambas podría detectar más del 90% de los infectados. El mayor inconveniente de esta técnica es su coste y que no siempre están disponibles los reactivos para llevarla a cabo.

El cultivo bacteriológico de la bacteria en las heces (diagnóstico *in vivo*) y tejidos (diagnóstico *post-mortem*) es el método de diagnóstico de referencia y definitivo de paratuberculosis tanto en el animal vivo como muerto. Los principales inconvenientes del cultivo de MAP son la complejidad de la técnica y el largo periodo de tiempo que se necesita para obtener resultados (mínimo 4 a 8 semanas). Otra técnica disponible es la PCR, rápida y específica, aunque con una sensibilidad algo

Tabla 14. Clasificación de las lesiones producidas por la infección de MAP

Lesiones	Descripción
Focales	-Granulomas microscópicos únicos sin cambios específicos -Difíciles de detectar <i>post-mortem</i> -No detectable <i>in vivo</i>
Multifocales	-Granuloma de mayor amplitud -Pueden ser detectables <i>post-mortem</i> mediante técnicas inmunológicas y microbiológicas -Ocasionalmente detectables <i>in vivo</i>
Difusas	-Fáciles de detectar por técnicas inmunológicas y microbiológicas tanto <i>post-mortem</i> como <i>in vivo</i>

menor que el cultivo. Es importante tener en cuenta que la eliminación de la bacteria en las heces de los animales portadores se puede producir de forma intermitente.

El diagnóstico en el semental se realiza normalmente mediante la serología por ELISA. Sin embargo uno de los principales problemas del ELISA es la detección de los animales subclínicos. El método ideal sería la combinación de varias pruebas (ELISA y cultivo, o ELISA y PCR), pero los costes del diagnóstico serían elevados. En este sentido, **es fundamental conocer los antecedentes de la granja de donde procede el toro, recomendándose que se haya criado con un buen nivel de higiene, bioseguridad y con un plan de control sanitario específico frente a paratuberculosis.**

4.2.6. Control

En el ganado vacuno la vacunación está prohibida debido a las interferencias que produce en el diagnóstico de la tuberculosis en las campañas nacionales de erradicación de la misma y con posteriores pruebas de diagnóstico inmunológico de paratuberculosis que se quieran realizar. Los programas de control están basados en la detección y eliminación de los animales infectados, pero no son eficaces debido a la baja sensibilidad de los métodos de diagnóstico, a la gran difusión de las infecciones subclínicas, y a la dificultad para contener los contagios cuando los sistemas de producción se basan en el pastoreo.

En España no existen programas a nivel nacional, aunque si hay programas de control a nivel de las comunidades autónomas llevados a cabo a través de las asociaciones de defensa

ganaderas. Estos programas se basan en el diagnóstico de la infección mediante pruebas serológicas periódicas y en la aplicación de protocolos de manejo, higiene y bioseguridad. **El objetivo de estos planes es evitar la aparición de casos clínicos, disminuir en lo posible el contagio y restringir la difusión de la infección.**

Por otra parte, un punto importante es evitar la entrada de portadores en la explotación mediante la compra de animales. En el caso de los **sementales, se recomienda que sean negativos a paratuberculosis por serología, que procedan de granjas con un buen nivel de higiene y bioseguridad y que incluyan el control de la paratuberculosis en su programa sanitario.**

4.3. Otras

En este apartado se engloban aquellas enfermedades en las que el toro puede actuar como portador y que dependen de la situación epidemiológica de la zona o el rebaño. En algunas de ellas se ha descrito la eliminación del agente a través del semen, aunque el riesgo de transmisión es bajo (leptospirosis y lengua azul) o se desconoce (clamidiosis, Fiebre Q, babesiosis, theileriosis, anaplasmosis y enfermedad de Schmallenberg) (Eaglesome & García, 1997; Givens & Marley, 2008; Ponsart *et al.*, 2014).

La inclusión de estas enfermedades en la valoración sanitaria del semental dependerá de la situación epidemiológica de la zona geográfica y de la ganadería.

A continuación se recogen aquellas que pueden ser más relevantes.

4.3.1. Leptospirosis

Revisado en: OIE, 2008; Adler & de la Peña Moctezuma (2010) y García-Peña *et al.* (2011).

La leptospirosis es una zoonosis que en bovinos produce infertilidad, aborto temprano y tardío. El ganado bovino es hospedador de mantenimiento para *Leptospira interrogans* serovariedad Hardjo (tipo hardjo prajitno) y para *L. borgpetersenii* serovariedad Hardjo (tipo hardjobovis). También es hospedador accidental de otras serovariedades como Pomona.

Respecto a la situación en nuestro país, en un proyecto para conocer la importancia de esta enfermedad en los sistemas extensivos de dehesa, se observó que en el 100% de las explotaciones se encontraron animales positivos. Las serovariedades que presentaron un mayor número de casos fueron Pomona (44,6% en Cáceres); Copenhageni (43,1% en Salamanca) y Hardjo (41,66% en Badajoz; San Miguel *et al.*, 2008). En otras zonas se han descrito prevalencias del 7,6% en la provincia de León (Alonso-Andicoberry *et al.*, 2001), del 10,4% en Asturias (Espí *et al.*, 2000), del 18,3% en Galicia (Guitián *et al.*, 2001) y del 43,2% en el País Vasco (Atxaerandio *et al.*, 2005).

La infección se transmite principalmente por contacto con orina de animales infectados (la excreción en la orina puede durar hasta 18 meses). La eliminación de las bacterias con la orina en las especies reservorio puede ser intermitente y con una carga variable a lo largo de su vida (Ellis, 1994). La transmisión venérea a través del semen de toros infectados también es posible. La serovariedad Hardjo ha sido aislado de la vesícula seminal, epidídimo y

testículo de animales naturalmente infectados (Adler & de la Peña Moctezuma, 2010). La transmisión indirecta juega un papel de poca importancia para el mantenimiento de la infección por Hardjo en la especie bovina, pero puede producirse si los animales entran en contacto con el agua de bebida, con terrenos o con lodos contaminados con la orina de animales portadores, tanto bovinos como ovinos. La frecuencia para la transmisión de la infección de forma indirecta estará íntimamente relacionada con el mantenimiento de unas condiciones favorables de pluviosidad, temperatura y humedad que favorezcan la supervivencia de las bacterias en el medio, así como con los sistemas de manejo que permitan un contacto estrecho entre bovinos y ovinos (Ellis, 1994). Consecuentemente, los principales factores de riesgo son el uso de pastos comunales, toros compartidos, pastoreo mixto con ovejas, y pastoreo en zonas con cursos de agua comunes.

El diagnóstico de la leptospirosis es complejo y requiere un abordaje diferente, dependiendo de si se trata de la infección por la serovariedad Hardjo o de una infección accidental. El diagnóstico en las muestras fetales, en los terneros y en los bovinos adultos se basa en la detección de la bacteria, normalmente por PCR, en los órganos diana y fluidos. Las muestras de elección variarán dependiendo de la fase de la infección y de la serovariedad implicada. La técnica serológica de referencia para la detección de anticuerpos es el Test de Microaglutinación Lisis (MAT). La sensibilidad de la técnica es baja en animales infectados crónicamente ya que los títulos serológicos suelen ser bajos.

Tabla 15. Medidas de bioseguridad e higiénico-sanitarias para el control de la leptospirosis

Medidas de bioseguridad	Medidas higiénico-sanitarias
Favorecer la reposición interna de los animales	Establecer y mantener un programa de desratización en las explotaciones.
Establecer una cuarentena en los animales de nueva compra y aplicar un tratamiento antibiótico e inmunización previa a su introducción en el rebaño	Diseñar construcciones que minimicen el acceso de los roedores.
Evitar el uso de pastos comunales y el pastoreo compartido con animales de la misma especie o de distinta especie, especialmente con ovino y porcino	Establecer medidas para evitar la existencia de zonas y terrenos encharcados de agua, de excreciones y purines.
Evitar el uso de sementales compartidos	Favorecer la instalación de puntos de agua saneada y de alimentación protegidos frente al acceso de roedores y animales silvestres

El control de la infección por la serovariedad Hardjo se basa en una combinación de las dos herramientas disponibles: el tratamiento antibiótico y la vacunación. Los antibióticos de elección para la eliminación de la infección son la estreptomycin a una única dosis de 25 mg/ kg PV, la amoxicilina de larga duración (LA) a una única dosis de 15 mg/ kg PV o dos dosis separadas 48 horas o también, la oxitetraciclina LA a una única dosis de 20 mg/ kg PV. Otros antibióticos que se presentan como alternativa son la tilmicosina a una dosis 10 mg/ kg PV, y el ceftiofur a una dosis de 20 mg/ kg PV durante tres días (Gerritsen *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 1997; Alt *et al.*, 2001). **Se indica la vacunación en sementales para reducir el riesgo de infección.** Además, es recomendable hacer coincidir la vacunación con las épocas de mayor riesgo de exposición a la infección, es decir, al comienzo de la primavera y del otoño.

Un componente importante para el éxito del control de la

leptospirosis mediante la vacunación y el tratamiento antibiótico, es la **instauración de medidas de bioseguridad y de otras higiénico-sanitarias y de otras higiénico-sanitarias (Tabla 15)** que contribuyan a reducir la exposición de los animales a la bacteria. Las medidas higiénico-sanitarias generales a adoptar son las mismas que para el resto de procesos infecciosos: limpieza y desinfección de las instalaciones, en especial del área de partos y de la enfermería, eliminación eficaz de fetos abortados y de placentas, y proteger el alimento y el agua de bebida frente al acceso de roedores y animales silvestres.

4.3.2. Clamidiosis

La clamidiosis es una enfermedad que se ha asociado con diversos problemas reproductivos en bovino como aborto, descarga vaginal y salpingitis, aunque la forma subclínica es la más frecuente. Las especies que han sido identificadas en el ganado bovino son *C. peco-*

rum, *C. suis*, *C. psittaci*, y *C. abortus*, siendo estas dos últimas capaces de producir infecciones en el hombre. La seroprevalencia de esta enfermedad es alta en el ganado bovino, considerándose una infección endémica, de carácter subclínico (Reinhold *et al.*, 2011). Recientemente, se ha descrito que las infecciones subclínicas por clamidias podrían producir pérdidas importantes en las explotaciones bovinas. En este sentido, se ha señalado un efecto negativo sobre la fertilidad, la producción de leche, y las funciones respiratoria y digestiva. Incluso, podrían formar parte de un complejo multifactorial junto con factores de manejo y de higiene, produciendo un claro efecto negativo sobre la salud de la explotación.

En relación a la transmisión, la eliminación fecal de las clamidias por animales portadores es el modo más frecuente, pudiéndose también diseminar a través de las descargas vaginales, oculares y nasales, abortos y orina. El toro puede actuar como portador de la infección, pudiendo eliminar intermitentemente la bacteria a través del semen. La bacteria se ha encontrado en el 9,2% muestras de semen y en el 10,7% de lavados prepuciales de 120 toros (Kauffold *et al.*, 2007). Sin embargo, los toros que eliminaron el patógeno en el semen, no mostraron ningún signo clínico o alteraciones en el eyaculado y tampoco existió una asociación entre la presencia de la bacteria en semen y de anticuerpos. Las vacas infectadas por toros positivos a través de la cubrición, pueden desarrollar clamidiosis genital (por *C. abortus*), siendo, por tanto, esta práctica, uno de los factores de riesgo.

El diagnóstico se realiza por se-

rología para la detección de anticuerpos en suero. Sin embargo, para evidenciar la existencia de infecciones subclínicas, la combinación de la serología (ELISA) y de la PCR es el abordaje más adecuado.

En relación al control, en el mercado se pueden encontrar vacunas vivas e inactivadas para el control de la clamidiosis ovina. Estas vacunas se han utilizado de forma generalizada para el control de los brotes de aborto en los pequeños rumiantes y con menor frecuencia en el ganado bovino.

4.3.3. Fiebre Q

Revisado en: Angelakis & Raoult (2009); Ortega-Mora (2012); Garcia-Ispuerto *et al.* (2014).

La Fiebre Q es una zoonosis de distribución mundial causada por la bacteria *Coxiella burnetii*. Se considera que el reservorio de la infección son los rumiantes domésticos. La fiebre Q en el ganado bovino se asocia a veces con abortos esporádicos, subfertilidad, metritis y/o mamitis y también, con neumonía. Los terneros recién nacidos pueden tener debilidad, padecer diarrea y problemas respiratorios, aunque lo más frecuente es que la infección sea asintomática. En nuestro país se ha descrito en el ganado de carne del norte de España una prevalencia de rebaño del 43% (Ruiz-Fons *et al.*, 2010). Sin embargo, aunque las prevalencias son altas en el ganado bovino, la enfermedad en su forma clínica es rara y se asocia a veces con abortos esporádicos.

C. burnetii se mantiene en la naturaleza a través de dos ciclos, el ciclo doméstico, en el que forman parte los rumiantes y los

animales de compañía y el ciclo silvestre, en el que están implicados los animales silvestres y las garrapatas. La eliminación de bacterias se produce a través de la leche, las heces y la mucosa vaginal, siendo capaz de sobrevivir durante largos períodos en el medio ambiente. La transmisión se puede producir por la picadura de garrapatas, pero el principal modo de transmisión en el ganado es la inhalación de aerosoles o alimento/agua contaminados. La presencia de *C. burnetii* también se ha descrito en semen de toros seropositivos (Kruszewska & Tylewska-Wierzbanowska, 1997), pero su implicación epidemiológica se desconoce.

La técnica ELISA para la detección de anticuerpos en muestras de suero es el método más utilizado para el diagnóstico, pero su interpretación a nivel individual es difícil, ya que se ha descrito la eliminación de la bacteria en animales seronegativos y animales seropositivos que no la eliminan. También existen técnicas de PCR que pueden aplicarse en muestras biológicas.

Para el control, se recomienda la vacunación y el mantenimiento de unas condiciones higiénicas adecuadas en las explotaciones. Existen vacunas comerciales que pueden ser útiles para disminuir la excreción de bacterias en los animales infectados, aunque los estudios que se han realizado son en vacas de leche.

4.3.4. Neosporosis

Existe posibilidad de eliminación de *Neospora caninum* en semen de toros infectados naturalmente, al detectarse ADN de *N. caninum* en semen fresco y congelado (Ferre *et al.*, 2005). Sin embargo, la carga pa-

rasitaria en semen de toros infectados de forma natural o experimental con *N. caninum* es muy baja (por debajo de 15 parásitos/ml) (Ferre *et al.*, 2005; Serrano-Martínez *et al.*, 2007a).

Los estudios experimentales han demostrado que es posible la infección intrauterina en vacas con semen contaminado con un número elevado de parásitos (50.000; Serrano-Martínez *et al.*, 2007b), muy superior al número de parásitos eliminados en semen en toros con infección natural. Además, no se ha detectado seroconversión en novillas cubiertas mediante monta natural por toros experimentalmente infectados por *N. caninum* (Osoro *et al.*, 2009). En conjunto, estos resultados indican que la transmisión venérea de la neosporosis bovina es un hecho poco probable aunque se recomienda utilizar sementales negativos a *N. caninum* por técnicas serológicas (ELISA y/o western-blot).

4.3.5. Babesiosis, theileriosis, anaplasmosis

Revisado en: González & Astiz (2002).

La babesiosis es una enfermedad producida por el parásito protozoo del género *Babesia* cuyas especies más extendidas en nuestro país son *B. bovis* y *B. bigemina*, si bien en la zona norte existe *B. divergens* responsable de la babesiosis bovina europea. Por su parte, el protozoo *Theileria annulata* es el agente causal de la theileriosis tropical o mediterránea y la *Rickettsia Anaplasma marginale* el agente causal de la anaplasmosis. Estos agentes se localizan principalmente en el interior de los glóbulos rojos (Figura 22), aunque *T. annulata* también se multiplica en linfocitos y células del sistema mononuclear fagocitario. Las tres

enfermedades tienen en común que provocan la aparición de un cuadro de anemia hemolítica con ictericia, fiebre elevada, abortos y mortalidad en los cuadros más graves. En el caso de la babesiosis es frecuente la presencia de hemoglobinuria. En la theileriosis la hemoglobinuria es de menor intensidad y ocasionalmente, se acompaña de hipertrofia ganglionar, sialorrea, diarrea, y en la forma hiperaguda, de edema de pulmón normalmente de curso fatal. Estas enfermedades se transmiten por la picadura de garrapatas. En zonas de clima templado como España, existe una variación estacional de la enfermedad relacionada con la propia variación estacional de los vectores. La distribución de estas enfermedades en el ganado bovino dependerá de la presencia del vector, siendo población de riesgo, los rebaños que ocupan principalmente el sur peninsular.

La importancia de incluir estas enfermedades en la valoración sanitaria del toro, radica en la incorporación de sementales portadores en áreas donde estos patógenos no están presentes, pero donde existen vectores potenciales. La presentación de un brote clínico también podría producirse mediante la transmisión mecánica de forma iatrogénica por material contaminado (ej. agujas) de animales portadores a animales negativos. Por su parte, el riesgo de transmisión de estas enfermedades por vía seminal se desconoce, ya que apenas existe información al respecto.

El diagnóstico de la babesiosis, theileriosis o anaplasmosis se puede llevar a cabo mediante la identificación microscópica del agente en extensiones de sangre entera; sin embargo, esta técnica

es poco sensible para la detección de animales portadores. Para estos casos, se recomiendan técnicas moleculares como PCR o “Reverse line blotting”, que permiten la identificación de piroplasmas, también a partir de sangre entera.

En el caso de la babesiosis, existe la posibilidad de aplicar tratamiento etiológico con imidocarb en animales positivos. En la theileriosis el tratamiento de elección se basa en naftoquinonas, como la buparvacuona, pero su uso no está permitido en Europa, por lo que la opción disponible es el uso de las tetraciclinas, aunque su efecto curativo es limitado. En las anaplasmosis, la administración de oxi-tetraciclina o imidocarb también ha demostrado su utilidad pero no son totalmente efectivos para eliminar la infección persistente por *A. marginale* (Alberton *et al.*, 2015).

4.3.6. Enfermedad de Schmallenberg

La enfermedad de Schmallenberg (VSB) es de muy reciente descripción pero se cree que ya está ampliamente distribuida en nuestro país. Cursa con un cuadro clínico inespecífico en animales adultos, fallo reproductivo asociado a abortos y malformaciones congénitas (ej. torticolis, hidrocefalia, artrogriposis, hipoplosia del cerebelo, etc.; Rojo-Montejo *et al.*, 2013). En relación a la transmisión, ésta ocurre por la picadura de mosquitos *Culicoides*. Asimismo, se han detectado partículas viables del virus en semen (Ponsart *et al.*, 2014), pero su implicación epidemiológica se desconoce.

El diagnóstico de la infección se realiza actualmente mediante técnicas serológicas (ELISA).

5. Conclusiones

El control sanitario orientado a la valoración de la aptitud reproductiva del toro debe constituir una práctica habitual en las ganaderías que utilizan la monta natural como estrategia reproductiva. El conocimiento del estado sanitario del semental es clave, ya que puede tener consecuencias económicas y sanitarias graves en la explotación si el animal es infértil/estéril o padece una enfermedad susceptible de transmitirse por medio de la monta natural.

El examen sanitario se debe realizar en los animales de nueva adquisición y en los toros de la explotación tres o cuatro meses antes del comienzo del período de cubriciones y de forma anual. La valoración sanitaria incluiría, en primer lugar, un examen del estado general y de los órganos reproductores. En el examen de los órganos reproductores se pueden detectar numerosas enfermedades transmisibles que van causar disfunciones orgánicas en el aparato reproductor, ocasionando problemas para la cópula o alteraciones en la calidad espermática.

Consecutivamente a este primer examen, se debe realizar el diagnóstico de una serie de enfermedades que son importantes en el toro, desde el punto de vista sanitario y epidemiológico, tales como: i) las enfermedades de declaración obligatoria (tuberculosis y brucelosis); ii) enfermedades de transmisión sexual (ETS) como la tricomonosis, campilobacteriosis genital bovina, diarrea vírica bovina (BVD) y la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR); y iii) enfermedades de las que el toro puede ser portador asintomático, como la besnoitiosis bovina, paratuberculosis, y otras enferme-

dades (leptospirosis, clamidiosis, fiebre Q, babesiosis, theileriosis, anaplasmosis), en las que se debe tener en cuenta la zona geográfica de procedencia, ya que algunas regiones son endémicas.

Las enfermedades que deben incluirse en el examen sanitario del semental, además de la tuberculosis y brucelosis, son la IBR y BVD, dos enfermedades víricas de gran importancia en el control en los sementales, porque están ampliamente distribuidas en nuestro país, presentan prevalencias elevadas y

además pueden ocasionar fallo reproductivo en las hembras. Por otra parte, existen dos grupos de enfermedades asociadas a la monta natural que han despertado la atención del sector por su re-emergencia en los últimos diez años; estas son las enfermedades de transmisión venérea (tricomonosis y campilobacteriosis genital bovina) que causan fallo reproductivo temprano, y la besnoitiosis bovina, la cual puede producir esterilidad en los machos. Asimismo, la paratuberculosis es otra enfermedad ampliamente ex-

tendida y que debe incluirse en la valoración sanitaria del toro debido al riesgo para el rebaño de incorporar animales portadores.

Bibliografía

La bibliografía puede solicitarse en info@produccionanimal.com

Versión Web

Esta guía es accesible en formato Web desde la siguiente dirección:

<https://produccionanimal.com/online/vart/>

Apéndice

Tabla A1. Principales agentes que originan disfunciones orgánicas y alteraciones en la calidad seminal.

Prepucio y pene	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Trueperella pyogenes</i> (abscesos) • Herpesvirus 1 bovino (Balanopostitis pustular infecciosa) • Papilomavirus (papilomas)
Inflamación escrotal	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Besnoitia besnoiti</i> • <i>Haematopinus eurystemus</i> y <i>Linognathus pedalis</i> • <i>Chorioptes bovis</i> • <i>Dermatophilus congolensis</i>
Orquitis y epididimitis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Leptospira</i> • <i>Salmonella</i> • <i>Chlamydiae</i> • <i>Histophilus somni</i> • <i>Mycobacterium</i> • <i>Brucella abortus</i> • <i>Streptococcus</i> • <i>Trueperella pyogenes</i> • <i>Besnoitia besnoiti</i> • <i>Staphylococcus</i>
Seminovesiculitis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Trueperella pyogenes</i> • <i>Brucella abortus</i> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Histophilus somni</i> • <i>Mycoplasma bovis</i> y <i>M. bovis genitalium</i> • <i>Ureaplasma diversum</i> • <i>Mycobacterium bovis</i> y <i>M. paratuberculosis</i> • <i>Leptospira interrogans</i> serovariedad Hardjo • <i>Chlamydiae</i>

Tabla A2. Principales agentes transmisibles a incluir en la valoración sanitaria del semental destinado a la monta natural.

Agente ¹	Transmisión venérea/ alteración calidad espermática	Muestra, consideraciones y condiciones de envío	Pruebas diagnósticas y recomendaciones ²	Calificación del semental
<i>Tritrichomonas foetus</i>	Sí/No	- Esmegma prepucial obtenido de raspado prepucial mediante un raspador de un solo uso -Reposo sexual 15 días	<i>T. foetus</i> : Cultivo y/o PCR . Se recomienda el uso de ambas técnicas	No apto
<i>Campylobacter fetus</i> subespecie <i>veneralis</i>		-Uso de medios de transporte-cultivo: envío sin refrigerar - Muestras para PCR: se recomienda envío en refrigeración	<i>C. fetus veneralis</i> : PCR . Existen problemas de especificidad. Se recomienda usar PCR validadas y combinar los resultados con datos reproductivos y el aislamiento e identificación de la bacteria	Cuestionable - Tratamiento con antibiótico y confirmación de la eficacia: Apto -Si no se trata: No apto
Virus IBR	Sí/ Probable	- Suero - Envío en refrigeración	ELISA-Ac totales : para animales no vacunados ELISA-gB : animales no vacunados ELISA-gE : animales vacunados con marcada	No apto
Virus BVD	Sí / Probable	- Suero o plasma (detección de Ac, Ag o virus) - Sangre con EDTA (detección de Ag o virus) - Cartílago de oreja (detección de Ag o virus) - Semen (detección del virus) - Envío en refrigeración	ELISA-Ac totales : animales sin vacunar ELISA-p80 : animales sin vacunar o vacunas muertas. ELISA-Ag : animales sin vacunar, vacunas muertas o vivas. Detección de animales persistentemente infectados (PI) RT-PCR : animales sin vacunar, vacunas muertas o vivas. Detección del virus en fluidos: detección de PI y sementales con infecciones testiculares (técnica recomendada para sementales)	No apto Sementales PI y con infecciones testiculares
<i>Besnoitia besnoiti</i>	No/ Probable	- Suero - Biopsia de piel de una zona con lesión - Envío en refrigeración	Western-Blot : técnica recomendada para sementales. Fase aguda remuestrear a las 3-4 semanas ELISA : puede presentar problemas de especificidad Placa de compresión (biopsia): detección de quistes en fase crónica. Baja sensibilidad	Cuestionable - Apto: calidad seminal apta y solo para la cubrición de hembras infectadas - No apto: explotación no infectada -No apto: calidad seminal no apta
<i>Mycobacterium avium</i> subespecie <i>paratuberculosis</i>	No / No	-Suero: envío en refrigeración -Sangre con EDTA. Envío sin refrigerar. Se debe analizar antes de las 8 horas post-recogida	ELISA . Sensibilidad limitada en animales infectados con lesiones leves Test de interferón γ (sangre EDTA): precio elevado	No apto

¹ El diagnóstico de las enfermedades transmisibles sometidas a programas oficiales de control y erradicación (tuberculosis y brucelosis) se realiza a través de los servicios oficiales y son enfermedades de diagnóstico obligatorio.

² Para ver más detalles sobre las técnicas y la interpretación de resultados se recomienda consultar los apartados correspondientes para cada patógeno.

Tabla A3. Características diferenciales de varias especies de *Campylobacter* que pueden aislarse del tracto genital bovino y de los fetos abortados (OIE, 2017).

Especie	25° C	42° C	Oxidasa	Catalasa	NaCl 3,5%	Glicina 1%	H ₂ S cisteína
<i>C. fetus venerealis</i>	V	V ^a	+	V	-	- ^d	-
<i>C. fetus fetus</i>	V	V ^a	+	+	-	+	+
<i>C. jejuni</i>	-	V ^b	+	V ^c	-	V	+
<i>C. hyointestinalis</i>	-	+	+	+	-	V	ND
<i>C. sputorum</i>	-	+	+	V	+	+	ND

+: Reacción o crecimiento positivo.

-: Reacción negativa o ausencia de crecimiento de la cepa en un medio adecuado bajo condiciones específicas.

V: resultados variables.

ND: indeterminado.

a Aunque *C. fetus* no es una especie termófila de *Campylobacter*, se ha descrito su crecimiento a 42°C.

b *C. jejuni* jejuni es positivo; *C. jejuni* doylei es negativo.

c *C. jejuni* jejuni es positivo; *C. jejuni* doylei es variable.

d *C. fetus venerealis* biovar *intermedius* puede tolerar concentraciones más altas de glicina.

Tabla A4. Principales técnicas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de la BVD.

Técnicas y muestras	Utilidad y ventajas	Limitaciones	Observaciones
ELISA para determinación de anticuerpos (Ac) anti p80 (Suero o plasma sanguíneo)	<ul style="list-style-type: none"> - Resultado +: indica que ha existido replicación viral. - Técnica rápida, barata que permite procesar un alto n° de muestras. - Alta sensibilidad y especificidad. 	<ul style="list-style-type: none"> - La presencia de Ac no indica contacto reciente con el virus, puede ser una infección antigua. - No permite diferenciar animales vacunados con vacunas vivas. 	<ul style="list-style-type: none"> - No debería haber interferencias con anticuerpos procedentes de vacunas inactivadas.
ELISA indirecto para la determinación de Ac totales (Suero o plasma sanguíneo)	<ul style="list-style-type: none"> - Resultado +: indica presencia de Ac. - Alta sensibilidad y especificidad. 	<ul style="list-style-type: none"> - La presencia de Ac no indica contacto reciente con el virus, puede ser una infección antigua. - Las vacunas vivas e inactivadas producen resultados positivos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Utilizar cuando no existe vacunación.
ELISA detección de antígenos (Ag) (cartilago de oreja, sangre con EDTA, suero y plasma sanguíneo)	<ul style="list-style-type: none"> - Resultado +: indica la presencia del virus. - Útil para detectar PI. 	<ul style="list-style-type: none"> - Puede existir interferencia con Ac calostrales en animales jóvenes. 	<ul style="list-style-type: none"> - Se recomienda la confirmación de un resultado + 21-45 días después.
Detección del ARN del virus por RT-PCR (sangre con EDTA, suero o plasma sanguíneos, semen)	<ul style="list-style-type: none"> - Resultado +: confirma la presencia del virus. - Sensibilidad y especificidad elevada. - Se puede trabajar con pools. - Útil para detectar PI. 	<ul style="list-style-type: none"> - Coste elevado. - Necesita estandarización previa en los laboratorios de diagnóstico 	<ul style="list-style-type: none"> - Se recomienda la confirmación de un resultado + 21-45 días después. - Útil para diagnóstico de rebaño y descartar la presencia de un PI en un grupo.

Tabla A5. Medidas de bio-exclusión que se deben realizar en todas las explotaciones (infectadas y no infectadas) para evitar la entrada de la infección por *B. besnoiti*.

Objetivo	Actuaciones
Evitar la entrada de animales positivos en el rebaño.	Diagnóstico clínico y serológico de las entradas. Dos análisis serológicos con un intervalo de 3-4 semanas mediante Western blot durante la cuarentena.
Evitar prácticas de manejo que favorezcan la transmisión de la enfermedad.	Limitar el acceso del rebaño a comunales situados en zonas de riesgo.
Identificar animales positivos al finalizar el aprovechamiento de pastos comunales.	Diagnóstico clínico y serológico de todos los animales al final de la temporada de pastoreo y eliminar los animales infectados o manejarlos de forma separada del resto de animales no infectados de la granja (Ver tabla A6).

Tabla A6. Medidas de bio-contención para evitar la diseminación de la enfermedad y reducir la prevalencia de forma progresiva en los rebaños con besnoitiosis.

Animales	Actuaciones
Animales gravemente afectados e improductivos: - Sementales estériles - Animales con lesiones en piel y/o baja condición corporal - Hembras con quistes en vestíbulo vaginal.	Sacrificio.
Vacas y sementales	-Empleo de repelentes y parasiticidas dentro del establo (invierno) y en verano. -Diagnóstico clínico-serológico anual y dividir en dos lotes: animales infectados (seropositivos) y no infectados (seronegativos). -Sementales: análisis de la calidad seminal antes del periodo de cubrición en los toros seropositivos. -Manejo reproductivo: cubrición de las reproductoras seronegativas con toros seronegativos; cubrición de las reproductoras seropositivas con toros seropositivos fértiles o implementación de un programa de IA.
Recría	Seleccionar animales seronegativos.

Colaboradores de esta guía:

Saluvet, Dpto. Sanidad Animal, Universidad Complutense de Madrid	Luis Miguel Ortega-Mora Gema Álvarez-García Roberto Sánchez-Sánchez
MSD Animal Health	Giovanni Montoya Monsalve
Censyra, Colmenar Viejo, Madrid	Agustín Oliet Palá Santiago Moreno Alcalde (IMIDRA, Madrid) * Celia Bartolomé Criado (MSD Animal Health) * Javier Fabián Garro (Junta Castilla y León) * Fernando San Eustaquio Sánchez (Tragsatec) *
Censyra, Badajoz	Andrés Domingo Montes Juan Andrés Bravo Delgado
Centro de Transferencia Agroalimentaria, Movera, Zaragoza	Francisco Quintín Casorran
ITACyL, Valladolid	Juan José García García Mónica Montañés Foz Alberto Benito Díaz
Asociación de ganaderos ASEAVA	Gerardo Noval Cambor Alfonso Villa Terrazas María Fernández Fernández
Asociación de ganaderos ASEAMO	Ángel Rodríguez Castañón
Asociación de ganaderos ARAPARDA	José Manuel Macarulla Pablo Banzo Ferrer
Asociación de ganaderos Bruna Pirineos	Marta Fina Pla
Dpto. Medicina y Cirugía Animal, Universidad Autónoma de Barcelona	Teresa Rigau Mas
Dpto. Medicina y Cirugía, Universidad de Córdoba	Carlos Pérez Marín
Dpto. Patología Animal, Universidad de Zaragoza	Lydia Gil Huerta
Dpto. Estadística y Didáctica Matemática. Facultad de Ciencias, Universidad de Oviedo	Carlos Carleos Artime
Humeco, Consorcio Mercantil de Huesca	Arantxa Echegaray Nicolás Escartín Isabel Muñoz
Laboratorios Zootecnia, Salamanca	Pablo Iglesias Santiago
Bovinet International Bovine Ultrasound Services & Herd Management S.L.	Cristina Vittoria Maraboli
Veterinarios especialistas en valoración de la aptitud reproductiva del toro	Carmen Arrobas Domínguez, Badajoz Antonio Benito, Salamanca Aitor Fernández Novo, Madrid Juan Pineda Bosch, Salamanca Luis Quevedo Neira, Cádiz Rubén Prieto Moreno, Ávila Sergio Santos López, Madrid Carlos M. Acuña, Buenos Aires, Argentina

* (Destino actual)