

Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico I Congreso Nacional XXIV Reunión Científico Técnica

10 al 13 de septiembre de 2024 Mar del Plata, Buenos Aires, República Argentina

DOI: https://doi.org/10.24215/15142590e089

IT-016-24. Muerte perinatal por co-infecciónde *Brucella abortus* con el virus de la diarrea viral bovina: importancia de la complementariedad de las técnicas para un diagnóstico exitoso

Chiapparrone $ML^{1,5,*}$, Cacciato $CS^{1,2,5}$, Cantón $J^{1,5}$, Riccio MB^3 , García J^3 , Nieto Farías $MV^{4,5}$, Pérez $SE^{4,5}$; Estein $SM^{1,5}$

- 1. Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva (SAMP), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA)
- 2. Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CICPBA)
- 3. Servicio de Diagnóstico Veterinario de Tandil (FCV-UNCPBA)
- 4. Laboratorio de Virología (SAMP-FCV-UNCPBA)
- 5. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN) (UNCPBA-CICPBA-CONICET) Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina
- * mlchiapp@vet.unicen.edu.ar

El diagnóstico de las pérdidas reproductivas en bovinos es un desafío para los médicos veterinarios de campo y laboratoristas. En la actualidad y aun disponiendo de herramientas moleculares, el éxito en el diagnóstico final no supera el 50% de los casos. Esto se debe a una multiplicidad de factores relacionados, tales como la pérdida embrionaria, el aborto y la muerte alrededor del parto, la escasa sobrevida de los agentes etiológicos involucrados, el proceso de toma de muestras en tiempo y forma, las técnicas diagnósticas implementadas y el criterio en la interpretación de los resultados, entre otros. Es importante destacar que el diagnóstico de las pérdidas reproductivas en los diferentes momentos de la gestación permite diseñar planes de control y prevención de las enfermedades infecciosas involucradas. El objetivo del presente trabajo es reportarun caso de muerte perinatal por co-infección de *Brucella abortus* con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), haciendo énfasis en la importancia de la complementariedad de técnicas para confirmar el diagnóstico.

El 4/6/2024, el Servicio de Diagnóstico Veterinario recibió un feto bovino de 8 meses de edad proveniente de un rodeo de 100 vacas cruza Aberdeen Angus y Hereford de un establecimiento de 200 ha ubicado en el partido de Tandil. Las vacas se encontraban consumiendo alfalfa y raigrás y en los últimos 10 días habían tenido acceso a un silo de planta entera. El servicio natural se realizó desde septiembre a noviembre de 2023 utilizando 3 toros con raspajes pre-servicio negativos para enfermedades venéreas. En cuanto a la sanidad, se realizaba la vacunación obligatoria contra brucelosis y fiebre aftosa según plan vigente (SENASA). Si bien el establecimiento no presentaba antecedentes de problemas reproductivos, a fines de diciembre habían ingresado al rodeo problema 12 vacas paridas, 2 de las cuales fueron positivas y 3 sospechosas a brucelosis, siendo las 5 eliminadas del rodeo. El 25/5 se realizó otro muestreo y 2 hembras fueron positivas a brucelosis. Aproximadamente, 20 días previos a la fecha de recepción del feto en estudio, se registró el nacimiento de un ternero débil que murió a las pocas horas de vida.

En la necropsia del feto se observó hemorragia en las arterias umbilicales, indicando que el animal nació vivo. Las muestras de pulmón, bazo y líquido de abomaso fueron derivadas al Laboratorio de Microbiología para el diagnóstico microbiológico y un *pool* de hígado, bazo, riñón, pulmón y sistema nervioso central, se envió al Laboratorio de Virología para el diagnóstico de *Varicellovirus bovinealpha* (BoAHV) (*ex-alfaherpesvirus bovino*) y VDVB. Los órganos se colocaron en formol al 10% y fueron procesados para histopatología.

En el Laboratorio de Microbiología, para el diagnóstico bacteriológico, las muestras fueron maceradas y cultivadas en caldo pre enriquecimiento a 37°C por 72 horas en microaerofilia. Posteriormente, una alícuota se cultivó en medio Skirrow y agar sangre en las condiciones mencionadas. En paralelo, para el diagnóstico de *Tritrichomonas foetus*, las muestras fueron sembradas en medio trypticasa- extracto de levadura- maltosa (TYM) y cultivadas en aerobiosis a 37°C con observaciones diarias durante 7 días.

En el cultivo de pulmón se observó desarrollo bacteriano en pureza compatible con B. abortus. La identificación se realizó por morfología de colonia, tinción de Gram y pruebas bioquímicas: oxidasa, catalasa, metabolismo de hidratos de carbono, utilización de urea, reducción de nitratos y producción de grupos sulfhidrilos. El diagnóstico de brucelosis se confirmó por inmunofluorescencia directa (IFD) y por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo fijo (PCR). La IFD se realizó de acuerdo con lo descripto por Estein y cols. (2014). Para la PCR se emplearon los primers publicados por Keid y col. (2007). Por IFD se detectó la presencia de brucelas y por PCR, una única banda de 214 pb específica de Brucella spp., confirmando el diagnóstico de la enfermedad. En el pool de órganos se detectó el genoma de VDVB mediante retrotranscripción seguida de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-qPCR) utilizando los primers HCV90 y HCV368. El diagnóstico morfológico fue neumonía intersticial linfoplasmocítica con congestión pulmonar y hepática leves. En este caso, se confirma que la causa de muerte fue una co-infección entre B. abortus y VDVB. Las lesiones histopatológicas observadas en el pulmón corroboran la infección bacteriana.

La complementariedad de técnicas diagnósticas, la interpretación de los resultados en contexto y en base a los antecedentes del rodeo, fueron fundamentales para la confirmación de la muerte por co-infección entre *B. abortus* y VDVB. Probablemente, el efecto inmunosupresor del virus haya favorecido la infección con *B. abortus*. De acuerdo con lo informado por veterinarios de actividad privada, en los últimos años se han incrementado las pérdidas reproductivas por brucelosis y los porcentajes de animales positivos a la infección. Esto indicaría que, a pesar de las modificaciones realizadas a la reglamentación en la que se sustenta el Plan Nacional de Control y Erradicación de la brucelosis bovina, podrían existir fallas en su implementación. El presente trabajo aporta diferentes estrategias para arribar al diagnóstico de esta enfermedad relevante para la salud animal, pública y ecosistémica.

Keid LB, Soares RM, Vieira NR, Megid J, Salgado VR, Vasconcellos SA, da Costa M, Gregori F, Richtzenhain LJ. 2007. Diagnosis of canine brucellosis: comparison

between serological and microbiological tests and a PCR based on primers to 16S-23S rDNA interspacer. Veterinary Research Communications. 31:951-65. https://doi.org/10.1007/s11259-006-0109-6

Ridpath JF, Bolin SR. 1998. Differentiation of types 1a, 1b and 2 bovine viral diarrhea virus (BVDV) by PCR. Molecular and Cellular Probes. 12:101–106. https://doi.org/10.1006/mcpr.1998.0158