

# B1- HISTOFILOSIS NERVIOSA EN VAQUILLONA: REPORTE DE UN CASO Y APLICACIÓN DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR E INMUNOHISTOQUÍMICA

G. Cantón<sup>1</sup>, M.A. Fiorentino<sup>1</sup>, E. Morrell<sup>1</sup>, E. Fernández<sup>1</sup>, P. Feulaz<sup>2</sup>, E. Odriozola<sup>1</sup>, D. O'Toole<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>INTA, EEA Balcarce. <sup>2</sup>Actividad privada. <sup>3</sup>University of Wyoming. \*canton.german@inta.gob.ar

## Introducción

*Histophilus somni* es una bacteria que afecta a rumiantes provocando diferentes cuadros clínicos que incluyen desde procesos febriles sin mucha más signología evidente, neumonías, cuadros neurológicos y abortos, entre otros. La enfermedad neurológica puede manifestarse patológicamente como una meningoencefalitis trombotica (MET) o una meningitis supurativa. Muy probablemente la histofilososis muchas veces quede subdiagnosticada clínicamente en situaciones de campo. Tradicionalmente el aislamiento bacteriano es la metodología diagnóstica de elección, sin embargo no existen medios selectivos para *H. somni* y eso sumado a su crecimiento lento hace muchas veces difícil su identificación en muestras contaminadas. Hoy en día existen nuevas técnicas que posibilitan la identificación de *H. somni* bajo circunstancias en las que no es posible realizar el cultivo. El objetivo de este trabajo es hacer la descripción de un caso de histofilososis nerviosa diagnosticado por el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del INTA Balcarce, utilizando técnicas de diagnóstico no tradicionales para esta enfermedad.

## Materiales y métodos

El caso ocurrió en un rodeo de 254 vaquillonas Hereford de 2 años de edad ubicado en Río Turbio (51°06'03"S 72°11'10"O), provincia de Santa Cruz. Los animales se encontraban bajo un protocolo de sincronización de celo para inseminación artificial. Posterior al segundo tratamiento hormonal, murieron 4 animales en un periodo de 3 días. Al cuarto día apareció otra vaquillona que caminaba con dificultad, demostrando desplazamiento hacia lateral, posteriormente permaneció en decúbito y se procedió a realizar eutanasia y necropsia. Durante la misma se recolectaron muestras de sistema nervioso central (SNC) en formol tamponado al 10% para realizar estudios histopatológicos de rutina. Además, el tejido cerebral formolado se observó bajo luz ultravioleta (365 nm) para descartar Polioencefalomalacia de origen nutricional. Sobre los tejidos donde se observaron lesiones a la histología se realizó inmunohistoquímica (IHQ) para *H. somni*, empleando un anticuerpo primario policlonal y el método de avidin/biotina/peroxidasa (Vector Labs Inc, USA) de acuerdo a lo descrito por Gogolewski et al. (1987). Se extrajo ADN de muestras de SNC embebidas en parafina utilizando el kit comercial QIAamp® DNA Mini kit (QIAGEN, Hilden, Germany) siguiendo las especificaciones del fabricante. El extracto de ADN fue almacenado a -20°C hasta su uso. Para la detección del gen 16S rRNA de *H. somni* se utilizó la PCR descrita por Saunders et al. (2007) con modificaciones. Además, se remitieron muestras de suero y líquido cefalorraquídeo (LCR) de 2 animales afectados (incluido el animal necropsiado) para cuantificar Ca, Na, Mg por espectrofotometría de absorción atómica (EEA), P y proteínas totales por espectrofotometría UV-Vis.

## Resultados

En la necropsia, se observaron múltiples focos de entre 0,5 y 1,0 cm de diámetro de coloración rojiza, distribuidos aleatoriamente en la corteza y el tallo encefálico. El resto de los tejidos inspeccionados no presentaron lesiones aparentes. En el análisis histopatológico se corroboró una meningoencefalitis y mielitis multifocal necrosupurativa con trombosis severa. En estos tejidos la inmunomarcación fue positiva para *H. somni*, detectando la bacteria principalmente en forma de agregados en capilares y venas. Se amplificó por PCR un producto de 319pb coincidente con el gen 16S rRNA específico de *H. somni*. No se detectó autofluorescencia compatible con PEM. La concentración sérica de Ca, P, Mg y Na y la concentración de Mg y Na en LCR estaban dentro de los

parámetros de referencia, descartando una deficiencia mineral con clínica compatible con la manifestada por los animales. En cambio, la concentración de proteínas totales en LCR en ambos animales presentaba valores de 3,18 y 0,98 g/100ml, respectivamente (rango de referencia: 0,02- 0,03 g/100ml), que suele observarse en alteraciones patológicas que involucren daño meníngeo.

## Discusión y conclusión

Estos hallazgos confirman que la vaquillona necropsiada, de la cual se extrajeron muestras, sufrió un cuadro de histofilososis nerviosa que ocasionó su muerte. Aunque no se pudo determinar la causa de las otras muertes registradas, teniendo en cuenta que la signología descrita en el animal necropsiado fue similar a la observada en los otros casos, podría presumirse que todos los animales sufrieron la misma patología. Además, se descartaron otras posibles patologías que podrían estar afectando al animal aunque, lamentablemente no se remitieron muestras de tejido para intentar aislamiento viral.

La MET es una de las manifestaciones clínico-patológicas de la infección con *H. somni*, caracterizada como una enfermedad aguda y fatal que puede afectar a bovinos y ovinos. *H. somni* es un habitante normal del tracto genital y respiratorio, que bajo determinadas condiciones puede cruzar la barrera hematoencefálica y afectar mayormente a los vasos encefálicos. La trombosis vascular es un hallazgo característico de *H. somni*, ya que la bacteria produce la disrupción de las células endoteliales con la consiguiente activación de los mecanismos de coagulación y formación del trombo. La MET se presenta de manera esporádica y no se comporta como una enfermedad contagiosa. Los animales afectados demuestran depresión severa, estado comatoso, fiebre, ataxia, incoordinación y párpados caídos (síndrome de ensueño). En sistemas de pastoreo, lo más frecuente es encontrar los animales muertos, sin apreciar las manifestaciones clínicas debido al curso agudo de la enfermedad. *H. somni* es sensible a la mayoría de los antibióticos utilizados en la rutina, pero para que el tratamiento sea efectivo es imprescindible que el mismo se realice al inicio del cuadro clínico y que la droga de elección atraviese la barrera hematoencefálica. Está demostrado que la bacterina que se encuentra comercialmente disponible no previene la infección, pero es probable que disminuya la severidad de la presentación nerviosa. Si bien la MET por *H. somni* está descrita en la bibliografía internacional, no existen muchos reportes de esta presentación clínica en rodeos locales. Esto se deba a que posiblemente, como se mencionó previamente, la detección de estos animales afectados y la remisión de muestras sea dificultosa. Además, de rutina suelen enviarse tejidos frescos para intentar aislamiento, y si las condiciones no son las ideales (como en este caso, donde la distancia entre la ubicación del predio afectado y el laboratorio de diagnóstico es de 2500kms) o se haya intentado un tratamiento con antibióticos, nos encontraremos con las limitantes antes descriptas. En este trabajo, se emplearon 2 nuevas técnicas de diagnóstico a partir de tejido fijado, las mismas permitieron arribar al diagnóstico ante una situación en la que no era posible realizar el cultivo. Sin dudas este tipo de técnicas constituyen herramientas útiles en este tipo de cuadros clínicos.

## Bibliografía

- Descarga et al. 2002. Vet Rec 150:817-817.
- Gogolewski et al. 1987. Vet Pathol 24:250-256.
- O'Toole y Sondgeroth 2015. Curr Top Microbiol Immunol 396:15-48.
- Saunders et al. 2007. Aust Vet J 85:72-77.