

bre festuca. Serie tecnica n° 8 INIA. 1991

- Botha C.J., Naudé T.W., Moroe M.L., Rottinghaus G.E. Gangrenous ergotism in cattle grazing fescue (*Festuca elatior* L.) in South Africa. Journal of the South Africa veterinary association. 2004.75 (1): 45-48
- Burke J.M., Rosenkrans C.F., Rorie R.W., Golden C., Apple J.K. Reproductive responses of ram lambs under short-term exposure to endophyte-infected tall fescue seed Small ruminants research. 2006. 66: 121-128.
- Casaro A.O; Odeon A; Poso M.A. Muestreo, coloración y diagnóstico microscópico de *Acremonium coenophialum* en plantas y semillas. 1987. Memorias de la 2da. Reunión Anual de la Asoc. Arg. Vet. Lab. Diag.
- Constable, P.D; Hinchcliff, K.W; Done S.H.; Grümberg W. Fescue toxicosis. In: Veterinary Medicine A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Editorial Elsevier St Louis Missouri. 11th ed. 2017. Chapter 21: Systemic and multi-organ diseases. pp. 2199-2200.
- Guerre P. Ergot alkaloids produced by endophytic fungi of the genus *Epichloë*. Toxins. 2015. 7: 773-790.

- Hemken R.W., Jackson J.A., Boling J.A & Jr. Toxic factor in tall fescue. J. Anim. Sci. 1984. Vol.58 n° 4: 1011-1016.
- Larrambebere F, Duran Martinez H., Elizondo E. Festucosis: Un problema a tener en cuenta. Revista del plan agropecuario n° 52 1984.
- Odriozola E., Pagate I., Lloberas M.M., Co-sentin I., Portey R., Oromi J. Festuca tóxica: su efecto en diferentes razas bovinas. 2002. Rev. Vet. Arg. 19 (181):12-21.
- Poter J.K. y Thompson F.N. Jr. Effect of fescue toxicosis on reproduction in livestock. J. Anim. Sci 1992. 70: 1594-1603.
- Riet-Correa F., Schild A.L., Menendez M.C. Intoxicaciones com festuca. En Intoxicaciones por plantas e micotoxinas em animais domesticos. 1983.
- Riet-Correa F., Rivero R., Odriozola E., Adrien M.L., Medeiros R.M.T., Schild A.L. Mycotoxicosis of ruminant and horses. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2013.
- Simpson B.H. Fescue poisoning in sheep. New Zealand Veterinary. 1975 23:8, 182.

## SUBTIPIFICACIÓN DE CEPAS DE *Campylobacter fetus* AISLADAS DE RODEOS BOVINOS DE ARGENTINA

María Laura, Chiapparrone<sup>1</sup>; Daniela, Napoli<sup>2</sup>; María Rosa, Viñas<sup>2</sup>; Alejandra Vanesa, Velilla<sup>3</sup>; Fernando Alberto, Paolicchi<sup>3</sup>; Pedro, Soto<sup>4,5</sup>; María, Catena<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup>Área de Enfermedades Infecciosas. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. Tandil. \*Autor de correspondencia: mlchiapp@vet.unicen.edu.ar. <sup>2</sup>Servicio de Enterobacterias. Dpto. de Bacteriología. ANLIS-INEI "Dr. Carlos G. Malbrán". <sup>3</sup>Laboratorio de Bacteriología. Área de Producción Animal. EEA INTA Balcarce. <sup>4</sup>Área de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. Tandil. <sup>5</sup>NACT-SAMP. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN) CONICET.

### RESUMEN

La campylobacteriosis genital bovina causada por *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* y *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*, es una de las enfermedades reproductivas de mayor importancia en Argentina. La subtipificación de las cepas presentes en los rodeos bovinos contribuye a estudios epidemiológicos, de monitoreo temporal y geográfico de la enfermedad. El objetivo propuesto en este tra-

bajo fue tipificar y diferenciar 28 cepas de *C. fetus* aisladas del tracto reproductor bovino de rodeos de Argentina mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE - *Sma*I). Se identificaron 19 perfiles diferenciados para cada subespecie: los perfiles de *C. fetus* subsp. *venerealis* fueron diferentes a los de *C. fetus* subsp. *fetus*. La homología intraespecie fue > 70 %. Para las cepas de *C. fetus* subsp. *venerealis* > 80% y de *C. fetus* subsp. *fetus* > 70%. Cuando se analizó la distribución temporal, geográfica y por muestra de los perfiles discriminados por subespecie, no se encontró relación. Los resultados confirman

la estrecha relación genética y epidemiológica de las cepas de *C. fetus*. La PFGE - *SmaI* podría ser considerada una herramienta para la definición de subespecies de *C. fetus* y así contribuir a estudios epidemiológicos de la enfermedad.

## SUMMARY

Bovine genital campylobacteriosis caused by *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* and *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* is one of the main reproductive diseases in Argentina. The subtyping of the strains present in Argentinean herds contributes to epidemiological studies of seasonal and geographic screening of the disease. The goal was to subtype and differentiate 28 *C. fetus* strains isolated from the bovine reproductive tract from cattle in Argentinean herds by pulsed field gel electrophoresis (PFGE - *SmaI*). Nineteen profiles differentiated for each subspecies were identified: profiles for *C. fetus* subsp. *venerealis* were different from those of *C. fetus* subsp. *fetus*. Intra-species homology was >70%. For *C. fetus* subsp. *venerealis* strains it was >80% and for *C. fetus* subsp. *fetus* strains it was >70%. There was no relationship when the distributions were analyzed by season, geography and by the profile of the sample discriminated by subspecies. The results confirm the close genetic and epidemiological relationship of *C. fetus* strains. PFGE - *SmaI* might be a tool to define *C. fetus* subspecies, thus contributing to epidemiological studies of the disease.

## INTRODUCCIÓN

La campylobacteriosis genital bovina causada por *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* y *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*, es una de las enfermedades reproductivas de mayor importancia en Argentina (Clark, 1971; Terzolo y Catena, 2007). En la actualidad, el diagnóstico de rutina de la enfermedad se realiza por inmunofluorescencia directa (Mellick *et al.*, 1965; Soto *et al.*, 1982; Ferreira Figueiredo *et al.*, 2002) sin identificación microbiológica de las cepas, debido a la factibilidad económica y procedimental que ofrece la misma. Sin embargo, la ausencia de la identificación genoespecífica crea un desconocimiento profundo acerca de las características de las cepas presentes en los rodeos.

La identificación y subtipificación de las cepas presentes en los rodeos bovinos contribuye a estudios epidemiológicos, de monitoreo temporal y geográfico de la enfermedad. En las últimas décadas se han desarrollado y puesto a punto métodos genotípicos de caracterización de bacterias que detectan variaciones en la secuencia de ácidos nucleicos del microorganismo (On, 1996; Wasenaar and Newell, 2000). Entre ellos se cita la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) como método "gold standard" para la subtipificación de patógenos bacterianos que permite establecer relaciones clonales entre aislamientos. La técnica es aplicada con fines epidemiológicos por su sensibilidad, reproducibilidad y alto índice discriminatorio. Salama *et al.* (1992), Fujita *et al.* (1995), Hum *et al.* (1997) y On and Harrington (2001) demostraron la aplicabilidad de la PFGE como un método efectivo para diferenciar las subespecies de *C. fetus*. El objetivo del presente trabajo fue subtipificar cepas de *C. fetus* aisladas del tracto reproductor bovino de rodeos de Argentina mediante la técnica de PFGE - *SmaI*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para el estudio, se seleccionaron 28 cepas indígenas de *C. fetus* de los ceparios del Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental (FCV-UNCPBA) y del Laboratorio de Bacteriología (EEA-INTA Balcarce) constituidos a partir de aislamientos de muestras de esmegma prepucial (n=5), semen criopreservado (n=1), mucus cérvico vaginal (n=9), placenta (n=1) y fetos (n=12) de rodeos bovinos con antecedentes de fallas reproductivas entre los años 2000 y 2014. Las cepas fueron sembradas en placas con medio Skirrow (Skirrow, M.B. 1977), cultivadas en condiciones de microaerofilia (5% de O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> y saturación con N<sub>2</sub>) durante 72 horas a 37 °C y caracterizadas en especie y subespecie por IFD, pruebas bioquímicas (Brenner *et al.*, 2005) y PCR (Hum *et al.*, 1997; Schulze *et al.*, 2006).

La técnica de PFGE - *SmaI* se realizó en el Servicio de Enterobacterias del Departamento de Bacteriología del ANLIS-INEI "Dr. Carlos G. Malbrán". Debido a la inexistencia de un protocolo estandarizado para *C. fetus*, se decidió trabajar con el protocolo para la subtipificación molecular de *C. jejuni* elaborado por el Centro para el Control y

la Prevención de las Enfermedades (CDC) en el marco de la Red PulseNet América Latina y el Caribe para la subtipificación de *Campylobacter spp.* con código PNAL – D 03 v: 02 con vigencia Mayo de 2015.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La técnica de PFGE – *SmaI* permitió identificar 19 perfiles diferenciados para cada subespecie: los perfiles de las cepas de *C. fetus* subsp. *venerealis* fueron diferentes a los de *C. fetus* subsp. *fetus*, en concordancia con lo descrito por Salama *et al.* (1992), Fujita *et al.* (1995), Hum *et al.* (1997) y On and Harrington (2001).

La homología intraespecie fue > 70 %. Para las 13 cepas de *C. fetus* subsp. *venerealis* > 80%, sólo tres fueron 100% homólogas. Entre las 15 cepas de *C. fetus* subsp. *fetus* la homología fue > 70%, ocho fueron indistinguibles bajo esta metodología. Los resultados son coincidentes con lo descrito por Hum *et al.* (1997) y On and Harrington (2001) que informaron dos grupos claramente definidos con un nivel de homología del 86%, que se correspondieron con ambas subespecies. Cuando se analizó la distribución temporal y geográfica de los perfiles discriminados por subespecie bacteriana, no se encontró relación alguna. Para *C. fetus* subsp. *venerealis* uno de los perfiles fue identificado en dos partidos distintos y los restantes se correspondieron con un solo partido. Para *C. fetus* subsp. *fetus*, dos perfiles se presentaron en diferentes partidos. Los resultados sugieren la existencia de clones de *C. fetus* en diferentes partidos en concordancia con lo descrito por On and Harrington (2001).

Al relacionar los perfiles de las cepas con el origen de los aislamientos, para *C. fetus* subsp. *venerealis* un perfil fue identificado simultáneamente en cepas de hembra y semen. Uno de los perfiles *C. fetus* subsp. *fetus*, fue común a todos los orígenes menos de semen.

Para *C. fetus* subsp. *venerealis*, sólo dos cepas aisladas de mucus cérvico vaginal fueron indiferenciables bajo esta metodología. La mayor homología para esta subespecie fue del 80% en las cepas aisladas de feto y toro. En cambio para *C. fetus* subsp. *fetus*, tres cepas de feto fueron indistinguibles.

Algunas cepas epidemiológicamente no relacionadas, pueden tener genotipos similares y hasta indistinguibles, considerando la elevada homología y por lo tanto, la limitada diversidad genética de *C. fetus*.

## CONCLUSIONES

Los resultados confirman la estrecha relación genética y epidemiológica de las cepas de *C. fetus*. La PFGE - *SmaI* en las condiciones de trabajo aquí descritas, podría ser considerada una herramienta de definición de subespecie de *C. fetus* y así contribuir a estudios epidemiológicos de la enfermedad.

## BIBLIOGRAFÍA

- Brenner, D.J.; Krieg, N.R.; Staley, J.T. (2005). Familia *Campylobacteraceae*. Género *Campylobacter*. Págs. 1145-1160. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2<sup>nd</sup> Edition. Volumen two. The Proteobacteria. Part C. The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria. Editorial Board.
- Clark, B.L. (1971). Revisión de la Vibriosis Bovina. Australian Veterinary Journal. Vol. 47. 103-107.
- Ferreira Figueiredo, J.; Oliveira Pellegrin, A.; Bastos Fóscolo, C.; Machado, R.P.; Miranda, K.L.; Pereira Lage, A. (2002). Evaluation of direct fluorescent antibody test for the diagnosis of Bovine Genital Campylobacteriosis. Revista Latinoamericana de Microbiología. Vol. 44. N° 3-4. 118-123.
- Fujita, M.; Fujimoto, S.; Morooka, T.; Amako, K. (1995). Analysis of Strains of *Campylobacter fetus* by Pulsed-Field Gel Electrophoresis. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 33. N°6. 1676-1678.
- Hum, S.; Quinn, K.; Brunner, J.; On, S.L. (1997). Evaluation of a PCR assay for identification and differentiation of *C. fetus* subspecies. Australian Veterinary Journal. Vol. 75. N° 11. 827-831.
- Mellick, P.W.; Winter, A.J.; McEntee, K. (1965). Diagnosis of Vibriosis in the bull by use of the fluorescent antibody technic. The Cornell Veterinarian. Vol.55. 280-294.
- On, S.L.W. (1996). Identification Methods for Campylobacters, Helicobacters and Related Organisms. Clinical Microbiology Reviews. Vol. 9. N° 3. 405-422.
- On, S.L.W.; Harrington, C.S. (2001). Evaluation of numerical analysis of PFGE-DNA profiles

for differentiating *C. fetus* subspecies by comparison with phenotypic, PCR and 16S rDNA sequencing methods. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 90. Nº 2. 285–293.

• Salama, S. M.; Garcia, M. M.; Taylor, D. E. (1992). Differentiation of the Subspecies of *C. fetus* by Genomic Sizing. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Vol. 42. Nº 3. 446–450.

• Schulze, F.; Bagon, A.; Müller, W. Hotzel, H. (2006). Identification of *C. fetus* Subspecies by Phenotypic Differentiation and PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 44. Nº 6. 2019–2024.\* Soto, P.; Di Rocco, M.J. (1982). Diag-

nóstico de Campylobacteriosis (Vibriosis) en toros, por la técnica de anticuerpos fluorescentes. *Gaceta Veterinaria (Buenos Aires)*. T. XLIV. Nº 367. 37–43.

• Terzolo, H.R.; Catena, M. (2007). Género *Campylobacter*. Capítulo 38. Págs. 274–280. *En: Microbiología Veterinaria*. Segunda Edición. Editor Jefe: Néstor Oscar Stanchi. Editorial: InterMédica.

• Wassenaar, T.M.; Newell, D.G. (2000). Minireview. Genotyping of *Campylobacter* spp. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 66. Nº 1. 1–9.

## MALFORMAÇÕES EM BOVINOS NA FRONTEIRA OESTE DO RIO GRANDE DO SUL – BRASIL

Amanda Rosado<sup>1</sup>, Bruno Ramos<sup>1</sup>, João Carvalho<sup>1</sup>, Adriana Stigger<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária, Grupo de Estudos Extensão e Pesquisa em Ruminantes da URCAMP, Alegrete.-RS-BR.

<sup>2</sup> Setor de Patologia Veterinária, URCAMP, Alegrete-RS-BR. E-mail: adriana.stigger@urcamp.edu.br

### RESUMO

Descrevem-se casos de malformações observadas em ruminantes entre os anos de 2001 – 2016 na região da fronteira oeste do Rio Grande do Sul. O diagnóstico das malformações foi baseado nos sinais clínicos e alterações macroscópicas. Houve relatos de possíveis consanguinidades, sendo uma das possíveis causas, porém na maioria dos casos não foi possível estabelecer a causa. As malformações, mesmo na atualidade, ainda são pouco estudadas e na maioria das vezes o encaminhamento para os laboratórios de diagnósticos é por curiosidade e não a fim de estabelecer as causas, sendo, portanto uma área a ser estudada e esclarecida.

### SUMMARY

Cases of malformations observed in ruminants between 2001 and 2016 are described in the region of the western border of Rio Grande do Sul. The diagnosis of malformations was based on clinical signs and

macroscopic changes. There were reports of possible consanguinities, one of the possible causes, but in most cases it was not possible to establish the cause. Malformations, even nowadays, are still little studied and most of the time the referral to the diagnostic laboratories is out of curiosity and not in order to establish the causes, being therefore an area to be studied and clarified.

### INTRODUÇÃO

Malformações congênitas são anormalidades estruturais e funcionais de tecidos, órgãos e/ou sistemas que podem ocorrer nas fases de desenvolvimento embrionário ou fetal de todas as espécies de animais, podem ser hereditárias, causadas por agentes infecciosos, plantas tóxicas, substâncias químicas, agressões físicas ou deficiências nutricionais (Radostits et al. 2007, Schild 2007 e Dantas et al. (2010). Teratologias possuem distribuição mundial e podem levar ao aborto ou morte perinatal gerando perdas reprodutivas e econômicas, além disso, muitas malformações ocorrem de forma esporádica,