

- THOMPSON K. BONES AND JOINTS. IN: MAXIE M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Vol.1 . 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia, p. 1 -184, 2007
- RIET-CORREA, F. R.; SCHILD, A. L.; LEMOS. R.

- A. A.; BORGES, J. R. J. (Org.). Doenças de ruminantes e equídeos. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. v. 2 692 p.31 -33
- BARROS, C.; DRIEMEIER, D.; DUTRA, I.S.; et al. "Coleção Vallée - Doenças do Sistema Nervoso de Bovinos no Brasil, 2007.

NEUMONÍA POR EL VIRUS RESPIRATORIO SINCITIAL BOVINO (BRSV) EN BOVINOS LECHEROS DE COLONIA, URUGUAY

Ricardo A. Costa¹, Rubén D. Caffarena¹, Santiago Mirazo², Santiago Diab³, María Laura Casaux¹, Leticia Maya⁴, Juan Arbiza², Franklin Riet-Correa¹, Federico Giannitti^{1,5}.

¹Plataforma de Investigación en Salud Animal, INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay. ²Facultad de Ciencias, UDELAR, Montevideo, Uruguay. ³California Animal Health and Food Safety Laboratory, University of California, Davis, California, Estados Unidos. ⁴Laboratorio de Virología Molecular, UDELAR, Centro Universitario Región Litoral Norte, Salto, Uruguay. ⁵Veterinary Population Medicine Department, University of Minnesota, Saint Paul, Minnesota, Estados Unidos. *Autor para correspondencia: costa.ricardoalmeida@gmail.com.

RESUMEN

Se describe un brote de enfermedad respiratoria y neumonía por el virus respiratorio sincitial bovino en un tambo del departamento de Colonia, Uruguay. Seis de 10 vaquillonas Normando de 5-6 meses de edad manifestaron disnea y tos (morbilidad= 60%) y 2 animales afectados murieron naturalmente (mortalidad= 20%). La necropsia de una vaquillona y el estudio histológico asociado revelaron neumonía broncointersticial bilateral, craneoventral, extensiva, severa, aguda, con bronquiolitis necrotizante, alveolitis neutrofílica e histiocítica y edema alveolar, y células sincitiales alveolares y bronquiolares, afectando aproximadamente 40% de los pulmones. El genoma de BRSV fue detectado por PCR en pulmón, y abundante antígeno de BRSV fue detectado intralesionalmente en el pulmón por inmunohistoquímica. Se descartaron infecciones por el virus de la diarrea viral bovina y virus parainfluenza bovino tipo 3 por PCR, herpesvirus bovino tipo 1 por inmunohistoquímica e infecciones bacterianas por cultivos aerobios y anaerobios. Los resultados permitieron realizar una confirmación etiológica de neumonía por BRSV, sin involucramiento de otros patógenos respiratorios primarios.

SUMMARY

This work describes an outbreak of respiratory disease and pneumonia caused by bovine respiratory syncytial virus in a dairy herd in Colonia County, Uruguay. Six of 10, 5- to 6-month-old, Normande heifers showed dyspnea and coughing (morbidity= 60%) and 2 affected animals died spontaneously (mortality= 20%). Necropsy and histological examination of one of the deceased animals revealed extensive, severe, acute, bilateral, cranioventral bronchointerstitial pneumonia, with necrotizing bronchiolitis, neutrophilic and histiocytic alveolitis, alveolar edema, and bronchiolar and alveolar syncytial cells, affecting approximately 40% of the pulmonary parenchyma. BRSV genome was detected by PCR in the lung, and abundant BRSV antigen was detected intralesionally by immunohistochemistry. Bovine viral diarrhoea virus and bovine parainfluenza virus type 3 PCR, and bovine herpesvirus type 1 immunohistochemistry were negative, and no bacteria were isolated on aerobic and anaerobic cultures. The results allowed for etiologic confirmation of BRSV-induced pneumonia, without involvement of other primary respiratory pathogens.

INTRODUCCIÓN

El virus respiratorio sincitial bovino (BRSV), perteneciente al género *Pneumovirus* de la familia *Paramyxoviridae*, es responsable de brotes de enfermedad respiratoria y pérdidas económicas para la industria ganadera mundialmente (Caswell & Williams, 2016). El complejo respiratorio bovino (CRB), es una enfermedad multifactorial causada por uno o varios agentes infecciosos virales y bacterianos, tales como el BRSV, el virus de la parainfluenza 3 (PI3), el herpesvirus bovino tipo 1 (BHV-1), el virus de la diarrea viral bovina (BVDV), *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* y *Mycoplasma bovis* (Caswell & Williams, 2016; Griffin et al., 2010; Sacco et al., 2013), entre otros. De los agentes virales, el BRSV es el de mayor importancia en el CRB, ya que tiene amplia distribución y elevada patogenicidad (Caswell & Williams, 2016).

Los signos clínicos del CRB incluyen disnea, taquipnea, tos, anorexia e hipertermia, pudiendo culminar en la muerte (Sacco et al., 2013). En Uruguay, la presencia de anticuerpos séricos contra el BRSV fue detectada con alta frecuencia relativa en bovinos de varias regiones geográficas (Costa et al. 2000), sin embargo encontramos sólo dos comunicaciones escritas de enfermedad respiratoria y neumonía asociadas a esta infección viral en el país (Dutra, 2016; Rivero et al., 2013). El objetivo de este trabajo es describir un brote espontáneo de neumonía por BRSV en un rodeo comercial lechero del departamento de Colonia, Uruguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se registró un brote de enfermedad respiratoria aguda en vaquillonas de un rodeo lechero del departamento de Colonia, Uruguay. Se visitó el establecimiento, se recolectó información clínica y epidemiológica, y se realizó la necropsia de una vaquillona que había muerto naturalmente. Se colectaron muestras de tejidos, que fueron fijadas en formol tamponado al 10%, deshidratados, embebidos en parafina, seccionados en cortes de 4 µm y teñidos con hematoxilina-eosina para examen histológico. Secciones de pulmón formoladas y parafinadas fueron procesadas por inmunohistoquímica (IHQ) para detección

de antígenos de BRSV (Bryson et al, 1988) y BHV-1 (Smith et al, 1989). Se realizó PCR para identificación de BRSV (Vilcek et al. 1994) y PI3 (Horwood et al. 2008) a partir de muestras congeladas de pulmón, y PCR para detección de BVDV a partir de un pool de órganos congelados (Maya et al. 2016). Además, se realizaron cultivos bacterianos en condiciones de incubación aeróbicas y anaeróbicas a partir de muestras frescas de pulmón e hígado, y cultivo selectivo para *Salmonella* spp. a partir de contenido cecal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El brote ocurrió en un lote de 10 vaquillonas raza Normando de aproximadamente 5-6 meses de edad. Los signos clínicos comenzaron el 19/11/2016, y al momento de la visita al establecimiento, el 21/11, se encontraron 6 animales con signos de disnea y tos de varios grados de severidad (60% de morbilidad). Dos animales afectados murieron naturalmente (20% de mortalidad y 33% de letalidad); la primera muerte se registró 2 días luego de iniciado el brote. Las vaquillonas se encontraban pastoreando una pradera de raigrás y trébol, y recibían suplementación con alimento balanceado en un comedero de autoconsumo. Los animales no habían sido vacunados contra enfermedad respiratoria y no habían recibido tratamiento con antibióticos recientemente. Las vaquillonas habían nacido en el establecimiento y no había historia reciente de ingreso de bovinos de otros predios.

En la necropsia, las lesiones se restringían a los pulmones. Bilateralmente, los lóbulos pulmonares craneales, accesorio/medio, y la porción craneoventral de los lóbulos caudales (aproximadamente 40% del parénquima pulmonar) se encontraban de color rojo oscuro homogéneo, y de consistencia firme (consolidación pulmonar). La tráquea, en su porción torácica, contenía moderada cantidad de espuma estable de color rosa mezclada con mucus, y extensas petequias y púrpuras en la mucosa.

Microscópicamente los bronquiolos contenían exudado intraluminal neutrofílico con fibrina y detritus celulares necróticos, que frecuentemente ocluían completamente su luz. Las células epiteliales bronquiolares se encontraban necróticas y ocasionalmente atenuadas. En las luces alveolares había

un material eosinofílico homogéneo amorfo (edema) e infiltrado neutrofílico e histiocítico multifocal moderado, con ocasionales e infrecuentes células sincitiales multinucleadas. Algunos septos alveolares estaban tapizados por neumocitos de tipo II. Basado en estos hallazgos, se realizó un diagnóstico morfológico de neumonía broncointersticial bilateral craneoventral, extensiva, severa, aguda, con bronquiolitis necrotizante y células sincitiales, compatible con infección por BRSV. No se identificaron cuerpos de inclusión viral ni bacterias intralesionales en el examen histológico del pulmón.

El genoma de BRSV fue detectado por PCR en pulmón, y abundante antígeno de BRSV fue detectado intralesionalmente por IHQ en el exudado bronquial y alveolar, el citoplasma de las células epiteliales bronquiales, los neumocitos, macrófagos alveolares y las células sincitiales. No se detectaron PI3 ni BVDV por PCR, ni BHV-1 por IHQ. Los cultivos bacterianos fueron todos negativos.

Los signos clínicos, los hallazgos de necrosis e histología en este caso fueron similares a los descritos por otros autores (Caswell & Williams, 2016; Dutra 2016; Rivero et al., 2013; Sacco et al., 2014). Mediante detección del genoma viral y la localización de antígeno de BRSV intralesionalmente mediante IHQ, se estableció el diagnóstico etiológico de neumonía por BRSV. En casos de enfermedad respiratoria, las lesiones histológicas de neumonía broncointersticial con bronquiolitis necrotizante y células sincitiales son altamente sugestivas de la acción de BRSV. Sin embargo, éstas no son suficientes para establecer un diagnóstico etiológico, particularmente si no se observan cuerpos de inclusión eosinofílicos intracitoplasmáticos típicos de BRSV, como en este caso. Hay que considerar, además, que el PI3 también puede inducir la formación de células sincitiales y cuerpos de inclusión similares a los de BRSV, por lo que es necesario descartar este agente en presencia de estas lesiones. Además, en bronconeumonías fibrinosas de causa bacteriana, suelen observarse macrófagos o células gigantes multinucleadas de origen histiocítico, que tienen un aspecto similar al de las células sincitiales epiteliales, a pesar de que su génesis no está asociada al efecto de la infección viral. Para el diagnóstico etiológico de esta condición, es necesario asociar los hallazgos patológicos con la detección viral, mediante técnicas tales como PCR y/o IHQ (Caswell & Williams, 2016), además de des-

cartar otros agentes infecciosos causales de CRB, como fue realizado en este caso.

En Uruguay se desconoce la distribución, frecuencia e importancia económica para la ganadería bovina del CRB en general, y del BRSV en particular. Un estudio serológico realizado sobre 100 bovinos de los departamentos de Canelones, Colonia, Lavalleja, Rivera y Treinta y Tres, indicó que 95% de los animales analizados tenía anticuerpos anti-BRSV detectables por ELISA, y la presencia de una alta frecuencia de animales seropositivos en todas las áreas geográficas estudiadas (Costa et al., 2000). Esto sugiere que la frecuencia de exposición a antígeno de BRSV, ya sea por infección con cepas naturales o exposición a antígenos de BRSV contenidos en vacunas comerciales, es alta. Sin embargo, desconocemos si esta alta frecuencia de anticuerpos se debe principalmente a infección natural o a vacunación. La enfermedad respiratoria y neumonía por BRSV ha sido documentada recientemente en bovinos cruce de razas cárnicas en el departamento de Flores (Rivero et al., 2013) y raza Holstein del departamento de Treinta y Tres (Dutra, 2016). Esos diagnósticos se basaron en estudios patológicos macro y microscópicos, con detección intralesional de antígeno viral en pulmón por IHQ (Rivero et al. 2013) o por inmunocromatografía en un hisopado nasal (Dutra, 2016). En el caso expuesto en este resumen, la detección del genoma viral por PCR representa un resultado distintivo.

CONCLUSIÓN

Las manifestaciones clínicas y las lesiones respiratorias severas y agudas asociadas a BRSV, sin el involucramiento de infecciones pulmonares bacterianas, demuestran que el BRSV es un agente de alta patogenicidad y que este virus puede tener importancia económica en recrias semi-intensivas en sistemas de producción de leche en Uruguay. Estudios más extensos son necesarios para determinar el impacto económico del CRB para la industria ganadera en Uruguay, y la distribución y frecuencia de los distintos agentes infecciosos involucrados en este síndrome en el país.

BIBLIOGRAFÍA

- Bryson DG, Cush PF, McNulty MS, Platten M, Allan GM. 1988. An immunoperoxidase method of detecting respiratory syncytial virus antigens in paraffin sections of pneumonic bovine lungs. *Am J Vet Res* 49(7):1121-1126.
- Caswell JL, Williams KJ. Respiratory System. In: Maxie MG, ed. *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 6th edition, Elsevier, 2016, vol. 2, pp: 539-541.
- Dutra F. Bronconeumonía sincitial en terneros (BRSV). *Archivo Veterinario del Este*. Boletín N° 18, febrero 2016, pp. 6-7.
- Costa M, García L, Yunus AS, Rockermann DD, Saml SK, Cristina J. Bovine respiratory syncytial virus: first serological evidence in Uruguay. *Vet Res* 2000. 31:241-246.
- Griffin D, Chengappa MM, Kuskak J, McVey DS. Bacterial pathogens of the bovine respiratory disease complex. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2010. 26(2):381-394.
- Horwood PF, Gravel JL, Mahony TJ. 2008. Identification of two distinct bovine parainfluenza virus type 3 genotypes. *J Gen Virol* 89:1643-1648.
- Maya L, Puentes R, Reolón E, Acuña P, Riet F, Rivero R, Cristina J, Colina R. 2016. Molecular diversity of bovine viral diarrhea virus in Uruguay. *Arch Virol* 161(3):529-535.
- Rivero R, Sallis ESV, Callero JL, Luzardo S, Giannechini R, Matto C, Adrien ML, Schild AL. Neumonía enzoótica asociado al virus respiratorio sincitial bovino (BRSV) en terneros en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*. 2013, vol. 49, pp: 29-39.
- Sacco RE, McGill JL, Pillatzki AE, Palmer MV, Ackermann MR. Respiratory syncytial virus infection in cattle. *Vet Pathol* 2014. 51(2):427-436.
- Smith GH, Collins JK, Carman J. 1989. Use of an immunoperoxidase test for the detection of bovine herpesvirus-1 in aborted fetal tissues. *J Vet Diagn Invest* 1:39-44.
- Vilcek S, Elvander M, Ballagi-Pordány A, Belák S. 1994. Development of nested PCR assays for detection of bovine respiratory syncytial virus in clinical samples. *J Clin Microbiol* 32(9):2225-2231.

MIOCARDITIS GRANULOMATOSA EOSINOFÍLICA ASOCIADA A *Sarcocystis* spp. EN UNA VAQUILLONA DE COLONIA, URUGUAY

Virginia Aráoz¹, Caroline da Silva Silveira¹, Georget Banchemo¹, Andrés Cabrera², Franklin Riet-Correa¹, Federico Giannitti¹.

¹Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, La Estanzuela, Colonia, Uruguay.

²Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay. *Autor para correspondencia: varaoz@inia.org.uy.

RESUMEN

Se describe un caso de miocarditis eosinofílica asociada a *Sarcocystis* spp. en una vaquillona cruce Holstein-Hereford de 22 meses de edad, que murió en forma súbita, en el departamento de Colonia, Uruguay. La necropsia reveló innumerables focos irregulares, coalescentes, de bordes indistintos, de 1-3 mm, de color verde-amarillento y estrías blanquecinas, distribuidas en forma multifocal diseminada, principalmente en el miocardio de las paredes ventriculares y septo

interventricular. La histopatología reveló una severa miocarditis granulomatosa eosinofílica necrotizante diseminada, con fibrosis y células gigantes multinucleadas. Se observaron numerosos quistes de protozoarios intralesionales en los centros necróticos, y extralesionales intrasarcoplasmáticos de forma ovoide, basófilos, conteniendo numerosos zoitos elongados. Los quistes medían, en promedio, 60 X 38 µm, y tenían paredes <1 µm de espesor. La morfología es altamente compatible con *Sarcocystis* spp. Se sospecha que *S. cruzi* es posiblemente la especie involucrada, aunque la caracterización molecular se encuentra pendiente. Este es el segundo