

Brote de leptospirosis en terneros en recría en la provincia de Corrientes, Argentina

MARÍA G. DRAGHI^{1*}, BIBIANA BRIHUEGA², DANIEL BENÍTEZ¹, JUAN M. SALA¹, GRACIELA M. BIOTTI¹, MATILDE PEREYRA¹, ALBERTO HOMSE¹, LUCIANO GUARINIELLO³

¹Grupo Sanidad Animal, Estación Experimental Agropecuaria Mercedes, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Juan Pujol al Este s/n (3470) Mercedes, Corrientes, Argentina; ²Laboratorio de Referencia en Leptospirosis de la Organización Internacional de Epizootias, Instituto de Patobiología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Las Cabañas y Los Reseros s/n (1712) Castelar, Buenos Aires, Argentina;

³Veterinario de actividad privada.

*Correspondencia. E-mail: mgdraghi@correo.inta.gov.ar

RESUMEN

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa que produce importantes pérdidas económicas en la producción ganadera. Los signos característicos de la enfermedad son aborto, muerte embrionaria, muerte de terneros de pocos días de vida y mastitis. Se describe un brote de leptospirosis en terneros en actividad de recría. Se realizaron estudios histopatológicos, de hemoparásitos, inmunofluorescencia y cultivos bacterianos. Se aisló *Leptospira interrogans* serovar Pomona a partir de muestras de los terneros muertos.

Palabras clave: leptospirosis, terneros, brote, Pomona

ABSTRACT

Leptospirosis outbreak in calves from Corrientes Province, Argentina. Leptospirosis is an infectious disease resulting in significant economic losses in livestock production. This disease causes abortion, embryo death, death of calves within the first few days of life and mastitis. We report a leptospirosis outbreak in calf growing and fattening. Histopathological and hemoparasite studies, immunofluorescence, and bacterial cultures were performed. A strain of *Leptospira interrogans* serovar Pomona was isolated from samples collected from dead calves.

Key words: leptospirosis, calves, outbreak, Pomona

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana zoonótica distribuida mundialmente, que afecta a la mayoría de los mamíferos domésticos. También se ha documentado en reptiles, aves, anfibios y artrópodos (1, 8). En los bovinos la enfermedad causa pérdidas económicas debido a abortos, infertilidad, terneros que nacen débiles y mueren en los primeros días de vida y disminución de la producción láctea (6).

Existen antecedentes de la presencia de la enfermedad en rodeos y majadas de la provincia de Corrientes en los últimos 20 años. En 1986, Draghi de Benítez *et al.* (3) detectaron 8,85% de sueros positivos a *L. interrogans* serovar Wolffii, 2,08% a *L. interrogans* serovar Pomona y 1,73% a *L. interrogans* serovar Tarassovi sobre un total de 2294 sueros provenientes de vacas que sufrieron aborto. Los mismos autores aislaron cepas de *L. interrogans* serovar Pomona en bovinos y ovinos (4). Encontraron, además, que la leptospirosis fue la causa infecciosa de aborto o muerte perinatal más importante en el nordeste argentino (5). Sobre un total de 3557 sueros pertenecientes a terneros y fetos abortados, el 11,4% de los animales resultó serológicamente positivo a *L. interrogans*.

Hasta el año 2008 la presentación más frecuente de leptospirosis en la zona fue la llamada "tormenta de abortos" en el último tercio de gestación o la muerte de terneros de menos de 14 días de vida. El objetivo de nuestro trabajo es describir por primera vez un brote de leptospirosis ocurrido en un lote de terneros en recría, una presentación no informada hasta el presente en la provincia de Corrientes, Argentina.

En el mes de abril de 2009, en un período de intensa sequía en la región, se registró la muerte de 10 terneros en el transcurso de una semana en un campo ubicado en el departamento de Mercedes, provincia de Corrientes. Los signos observados en los animales fueron: emisión de orina con sangre, decaimiento, anorexia y muerte en pocas horas. Estos terneros formaban parte de un lote de 1400 animales raza Bradford que pastoreaban un potrero de campo natural y eran suplementados con trigo, maíz y girasol. Los animales no habían sido vacunados para la prevención de la leptospirosis puesto que no existían en ese establecimiento antecedentes de la enfermedad. Se remitieron para el diagnóstico tres terneros muertos y dos agónicos. A cada uno de los dos terneros agónicos se

les aplicó 40 mg/kg de pentobarbital sódico (Euthanyle, Brouwer S.A., Argentina) por vía endovenosa rápida y luego se realizaron las necropsias. Las muestras de riñón, hígado, bazo y linfonódulos obtenidas en la necropsia se colocaron en formol tamponado al 10% para realizar estudios histopatológicos. A partir de sangre periférica se realizaron extendidos finos y gruesos. Se confeccionaron improntas de cerebro, hígado, bazo, riñón y punta de corazón, las que fueron fijadas en alcohol metílico y teñidas según la técnica de Giemsa para identificar *Babesia* spp. o *Anaplasma marginale*. Se aplicó la técnica de inmunofluorescencia directa para la detección de *Leptospira* spp. en improntas de humor acuoso, bazo, riñón e hígado de los 5 terneros. Estas muestras fueron fijadas 10 minutos en acetona y posteriormente procesadas para inmunofluorescencia directa con un conjugado de conejo multivalente anti-*Leptospira* (USDA, EE.UU.), que contiene anticuerpos contra las serovariedades Icterohaemorrhagiae, Pomona y Canicola. Los cultivos para el aislamiento de *Brucella* spp., *Campylobacter fetus* y *Leptospira* spp. se realizaron por métodos estándares. Brevemente, se sembraron muestras de cerebro, pulmón, líquido de abomaso, humor acuoso, hígado, bazo y riñón en agar Skirrow (Becton, Dickinson and Co, Reino Unido) suplementado con 10% de sangre ovina bajo atmósfera microaerófila (90% de N₂, 5% de CO₂ y 5% de O₂) para *Brucella* spp. y *Campylobacter fetus*; en agar Columbia (Oxoid, Reino Unido) con sangre bovina al 7% para bacterias aerobias, y en medio EMJH (Difco, KS, EE.UU.) con el agregado de albúmina bovina y medio de Fletcher (Difco) con suero de conejo al 10% para el aislamiento de *L. interrogans*. Todos los cultivos se incubaron a 37 °C durante 96 h, salvo en el caso del aislamiento de *Leptospira*, los que fueron incubados a 28 °C y observados semanalmente con un microscopio de campo oscuro; los cultivos negativos no fueron descartados hasta las 24 semanas. Con el objetivo de aumentar la posibilidad de aislamiento de *Leptospira* spp., se inoculó 1 ml de macerado de órganos de cada uno de los terneros en cobayos de 150 g por vía intraperitoneal. Los animales de experimentación fueron anestesiados con acepromazina 0,5 mg/kg y ketamina 20 mg/kg por vía intramuscular y sangrados por vía intracardiaca entre los días 5 y 8 posinoculación; las muestras de sangre se sembraron en los medios EMJH y de Fletcher. Los cobayos fueron luego sacrificados con 40 mg/kg de pentobarbital sódico y sus órganos se sembraron en los mismos medios que la sangre. Los animales utilizados en esta experiencia estaban clínicamente sanos y fueron evaluados previamente mediante la técnica de microaglutinación (MAT), frente a leptospirosis de las serovariedades de referencia Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Wolffii, Hardjo, Ballum, Grippotyphosa, Pyrogenes y Tarassovi, con resultados negativos. Los animales fueron alojados en jaulas individuales con pisos de alambre galvanizado y con acceso al alimento comercial balanceado y al agua

ad libitum. El sacrificio de los terneros y los ensayos en cobayos fueron realizados de acuerdo con las recomendaciones internacionales (2, 7). La determinación del serovar de los aislamientos de *Leptospira* spp. se realizó mediante la técnica de microaglutinación cruzada empleando los 23 antisueros de referencia del Royal Tropical Institute, Holanda. Los aislamientos también se caracterizaron genéticamente empleando la técnica conocida como MLVA (*Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis*), usando los cebadores VNTR4, VNTR7, VNTR9, VNTR10, VNTR19, VNTR23 y VNTR31 (9, 10).

En los terneros sacrificados se pudo observar hepatomegalia, esplenomegalia e ictericia en mucosas y tejido subcutáneo. En todos los animales se presentaron diferentes lesiones histopatológicas. En riñón se detectaron importantes áreas de necrosis cortical con glomerulitis (con afectación y atrofia de glomérulos) y reacción inflamatoria del intersticio con infiltración de mononucleares y polimorfonucleares neutrófilos y depósitos de fibroblastos. En algunos cortes se observaron áreas de infarto. En hígado se vieron focos de necrosis diseminados por todo el órgano en el área centrolobulillar, con ligera infiltración de mononucleares y polimorfonucleares neutrófilos. En bazo se observó hiperplasia de pulpa roja, hemorragias intensas por todo el órgano y escaso desarrollo de núcleos germinativos. Los linfonódulos presentaron hemorragias en toda su estructura. Todos los animales fueron negativos a *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *A. marginale*. Todas las muestras procesadas según la técnica de inmunofluorescencia directa dieron resultado positivo a *Leptospira* spp. en riñón. Se logró aislar leptospirosis en los medios de Fletcher y EMJH a partir del macerado de órganos en 3 de los 5 terneros estudiados, y de riñón e hígado de los cobayos inoculados con los macerados de órganos de dichos terneros. Las cepas fueron caracterizadas como *L. interrogans* serovar Pomona *sensu stricto* por ambos métodos (microaglutinación cruzada y MLVA). Los cultivos para *Brucella* spp., *C. fetus* y gérmenes aerobios fueron negativos.

El brote tuvo un costo total para el propietario de \$ 150 000 considerando la muerte de 100 terneros y el tratamiento de los sobrevivientes. Los costos de vacunación de los 1400 animales del establecimiento para la prevención de leptospirosis hubieran sido de \$ 4480. El esquema de vacunación recomendado consiste en aplicar una primera vacunación a los 4 meses de vida, repetir a los 20 días y luego revacunar anualmente. Surge de este informe que la muerte de terneros de recría se debió a un brote de leptospirosis, una enfermedad poco frecuente en animales de esta edad. Como conclusión se recomienda considerar la presencia de esta enfermedad no solamente cuando se presentan abortos y muertes en terneros de pocos días, y vacunar como forma de prevención para evitar grandes pérdidas económicas en los establecimientos ganaderos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adler B, de la Peña Moctezuma A. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet Microbiol* 2010; 27: 287-96.
2. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Council of Europe Treaty Series, Strasbourg, France 1986; 123: 21-5.
3. Draghi de Benítez MG, Zurbriggen M, Rochinotti D, Vanzini V, Homse A, Soni C. Estudio serológico de leptospirosis bovina en la provincia de Corrientes. *Vet Argent* 1986; 24: 357-63.
4. Draghi de Benítez MG, Biotti de Cáceres G. Aislamiento de *Leptospira interrogans* en un cordero de la provincia de Corrientes (República Argentina). *Rev Med Vet* 1998; 3: 224-5.
5. Draghi MG, Soni C, Beckwith B, Zurbriggen MA, Homse AC, Rochinotti D. Principales causas de mortalidad perinatal en bovinos en el Nordeste Argentino. *Rev Med Vet*. 2006; 4: 140-3.
6. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira* and leptospirosis. Melbourne, Australia, MediSci, 1999, p. 272.
7. Apéndice A. En: Grossblatt N, editor. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. Washington D.C., National Research Council, National Academy Press, 1978, p. 92.
8. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 296-326.
9. Majed Z, Bellenger E, Postic D, Pourcel C, Baranton G, Picardeau M. Identification of variable-number tandem-repeat loci in *Leptospira interrogans* sensu stricto. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 539-45.
10. Pavan ME, Cairó F, Brihuega B, Samartino L. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) of *Leptospira interrogans* serovar Pomona from Argentina reveals four new genotypes. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2008; 31: 37-45.

Recibido: 04/05/10 – Aceptado: 28/10/10