

INFECCIÓN EXPERIMENTAL CON SALMONELLA ENTERICA SUBSP. DIARIZONAE SEROTIPO 61:K:1:5:(7) EN CORDERAS.

Figueras, L.^{1,2}, Lacasta, D.¹, Ferrer, L.M.¹, Ramos, J.J.¹, Bueso, J.P.³, De las Heras, M.¹,
¹Ortega, M.², González, J.M.², Espada, M.^{1,2}, Ruiz de Arcaute, M.^{1,2}

¹Facultad de Veterinaria, ²Gabinete Técnico Veterinario S.L., ³Laboratorio Agroambiental de Zaragoza. luisfiguerasgtv@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La rinitis crónica proliferativa (RCP) es una inflamación del tracto respiratorio superior del ganado ovino con un curso lento y de final fatal. En la bibliografía la rinitis crónica en ovino se relaciona con varios patógenos como virus, parásitos u hongos. De acuerdo con los trabajos publicados por Meehan *et al.* (1992) y Lacasta *et al.*, (2012) se ha encontrado una estrecha asociación entre la rinitis crónica proliferativa en ovino con el aislamiento laboratorial en cultivo puro de *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* serotipo 61:k:1:5:(7). (SED) En esta comunicación se expone la infección experimental en corderos libres del patógeno con el fin de conocer mejor la etiopatogenia de la rinitis crónica proliferativa y confirmar que este patógeno es el causante de la RCP.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante 12 meses se trabajó con un total de 15 corderas, libres del patógeno, las cuales se distribuyeron en dos grupos mantenidos en alojamientos totalmente independientes desde el inicio del proyecto. Once animales fueron inoculados con SED y cuatro animales fueron destinados al grupo control. La edad de todos los animales al inicio del proyecto fue de 3-4 meses. Cada animal del grupo infectado recibió 2 ml de un preparado, cada mililitro del preparado contenía $1-6 \times 10^9$ UFC.

Los animales se infectaron por tres métodos distintos. Un subgrupo, constituido por 5 animales, que recibió el inoculado mediante inyección intranasal directamente en el interior del cornete ventral; otro, formado por 5 animales, que recibieron el inoculado directamente por instilación nasal a través de los ollares mediante jeringuilla estéril, y un tercer subgrupo, formado por un animal, en el que se utilizaron simultáneamente ambas vías. El punto de inoculación fue la incisura nasoincisiva. Un animal del grupo control se inoculó con 2 ml del medio de suspensión del inoculado estéril mediante inyección directa intranasal en el interior del cornete ventral; el punto de inyección fue el mismo que en el grupo anterior. A los otros 3 animales, que completaban el grupo, no se les realizó ninguna acción.

Desde el primer día post-infección se realizaron inspecciones visuales diarias de todos los animales durante todo el tiempo que duró el estudio. A lo largo de la primera semana las exploraciones diarias fueron más metódicas, para ver todas las posibles reacciones de los animales, anotándose las posibles alteraciones tanto de comportamiento como de salud.

Además, se realizaron mensualmente hasta el final del estudio tomas de muestras de todos los animales presentes en la prueba de ambas fosas nasales, vagina y heces. Asimismo se tomaron muestras de suero y sangre entera para realizar una hematología completa, tomándose como referencia los valores descritos por Ramos *et al.* (2007).

A partir del cuarto mes de la inoculación se fueron eutanasiando animales y obteniendo muestras tanto de ambas fosas nasales, cornetes ventrales y nódulos linfáticos submandibulares, parotídeos y retrofaríngeos para su estudio microbiológico, anatomopatológico e inmuno-histoquímico. También se recogieron muestras de todos los órganos importantes e intestino delgado.

Para el estudio de todos los datos obtenidos se ha utilizado el paquete estadístico SPSS. Para el estudio de los síntomas se ha empleado la Chi-cuadrado de Pearson con la corrección de Fisher dado que el número de datos fue inferior a cinco en alguna de las casillas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera toma de muestras realizada cuatro días postinfección se aisló SED en todos los animales infectados al menos en una de las localizaciones muestreadas. Los animales del grupo control dieron todos negativos para cualquiera de las zonas muestreadas. En cuanto al estudio de los nódulos linfáticos regionales (submandibulares y parotídeos) el grupo infectado presentó aumento del tamaño de al menos uno de ellos en 9 de las 11

corderas, mientras que en el grupo testigo ningún animal presentó aumento de tamaño, siendo estadísticamente significativas estas diferencias ($P=0,011$).

Tras la primera exploración clínica, realizada dos semanas después de la inoculación de SED, se pudo comprobar que los parámetros de sintomatología estaban claramente alterados en los animales infectados respecto a los controles.

En la segunda exploración y posteriores la sintomatología clínica remitió ostensiblemente, sin embargo se mantuvo el incremento de tamaño de los nódulos linfáticos. Si se analiza el número de animales que tuvo aumento de tamaño en alguno de sus nódulos linfáticos durante algún momento del estudio se obtuvo que un 90% de los animales infectados tuvieron reacción en alguno de sus nódulos mandibulares y/o parotídeos presente en algún momento. Este análisis resultó altamente significativo ($P=0,005$).

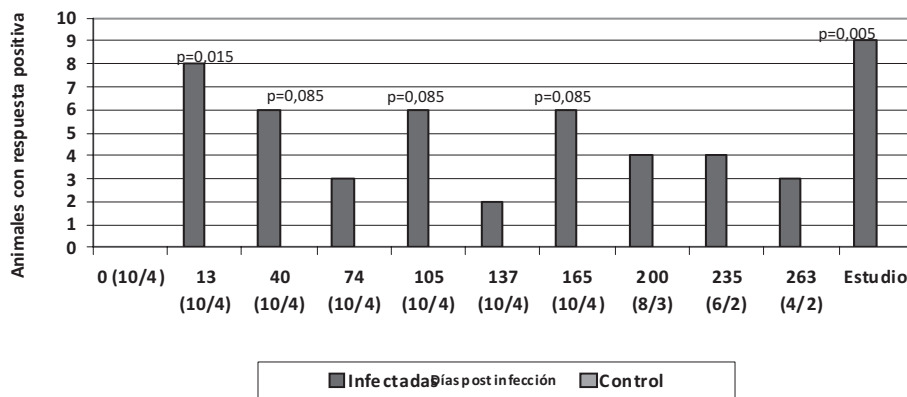


Figura 1: Número de animales con aumento del tamaño de los nódulos linfáticos (submandibular y/o parotídeos) según los días post infección y total de animales que presentaron aumento de tamaño de los nódulos en algún momento del ensayo (Estudio).

Cuando se analizaron los aislamientos microbiológicos de ambas fosas nasales en conjunto, durante el período comprendido entre la 3ª y la 7ª exploración, se consiguieron aislamientos positivos de SED, del 100% de los animales infectados.

Si se hace un análisis comparativo de animales con aumento del tamaño de los nódulos linfáticos submandibulares y parotídeos con el número de animales que presentaron aislamiento positivo de SED en fosas nasales en conjunto se puede apreciar que existe una estrecha relación entre ambas, coincidiendo perfectamente el mayor aumento de tamaño de los nódulos con los momentos de mayores aislamientos. También puede observarse un mayor incremento del tamaño de los nódulos submandibulares inicialmente que con el paso de los días va equiparándose con el aumento de tamaño de los nódulos parotídeos. A partir los 200 días post infección disminuyen el número de animales con nódulos aumentados y con aislamiento positivo, sin embargo éstos siguen siendo el 50% y el 83.3% de los animales presentes en esos momentos.

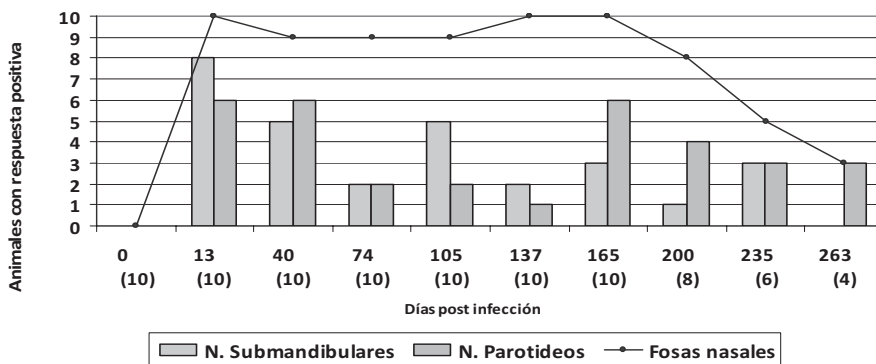


Figura 2: Comparativa de animales con aumento del tamaño de los nódulos linfáticos submandibulares y parotídeos según los días post infección y total de animales que presentaron aumento de tamaño de los nódulos en algún momento del ensayo (Estudio) con el número de animales que presentaron aislamiento positivo de SED en fosas nasales en conjunto.

En el análisis microbiológico de los animales necropsiados y muestreados el 83,3% (5/6) de los animales infectados presentaron al menos un aislamiento positivo.

Sin embargo, el estudio anatomopatológico macroscópico de los órganos y de las zonas muestreadas no ha puesto en evidencia ninguna lesión. Tampoco se consiguió evidenciar lesiones de rinitis crónica proliferativa en el estudio anatomopatológico microscópico en las muestras tomadas de los cornetes ventrales de los animales infectados necropsiados. Del mismo modo, las técnicas de inmunohistoquímica resultaron también negativas.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la adaptación de SED a las zonas altas del tracto respiratorio del ganado ovino, así como la incapacidad de los animales para vencer la infección.

El hecho de no conseguir reproducir los síntomas de rinitis crónica proliferativa, al menos durante el primer año, nos hace pensar que puede que la RCP sea una enfermedad de curso más lento o que para que se reproduzcan los síntomas sean necesarios otros factores (inmunosupresión, asociación con otros patógenos, alteraciones del epitelio de la cavidad nasal).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Meehan, J.T., Brodgen, K.A., Courtney, C., Cutlip, R.C., Lehmkuhl, H.D., (1992). Chronic Proliferative Rhinitis associated with *Salmonella arizonae* in Sheep. *Vet Path* 29:556-559.
- Ramos, J.J. Ferrer, L.M. (200). Exploración clínica del ganado ovino y su entorno. Asis Biomedica. Zaragoza.
- Lacasta, D.; Ferrer, L.M.; Ramos, J.J.; Bueso, J.P.; Borobia, M.; Ruiz de Arcaute, M.; Figueras, L.; González-Sainz, J.M.; De Iñás Heras, M. (2012) Chronic proliferative rhinitis associated with *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* 61:k:1:5:(7) in sheep in Spain. *J Com Path* 2012 Vol. (in press)

EXPERIMENTAL INFECTION OF LAMBS WITH *SALMONELLA ENTERICA* SUBSP. *DIARIZONAE* SEROTYPE 61:K:1:5:(7)

ABSTRACT: Chronic proliferative rhinitis is an inflammation of the upper respiratory tract with slow and lethal clinical course. It has been associated with *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* serotype 61:k:1:5:(7) (SED) in ovine. This pathogen is a host adapted microorganism in sheep. This communication reports the experimental infection of the upper respiratory tract of lambs with SED.

Keywords: Ovine, Chronic proliferative rhinitis, *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* serotype 61:k:1:5:(7), experimental infection