

DETECCIÓN DE *SALMONELLA ENTERICA* SEROVAR ABORTUSEQUI EN FLUIDOS SEMINALES DEL PADRILLO

DETECTION OF *SALMONELLA ENTERICA* SEROVAR ABORTUSEQUI IN EQUINE SEMINAL FLUIDS

Investigadores USAL: Barrandeguy, María Edith (maria.barrandeguy@usal.edu.ar);
Ivanissevich, Ana; Zabal, Osvaldo; Carossino, Mariano.

Investigadores externos: Chacana, Pablo; Bustos, Carla.

Alumnos practicantes USAL: Ribaya, Felipe; Malusardi, Hernán; Conte, Sofía.

Palabras clave: *Salmonella* serovar Abortusequi; Aborto equino; Infecciones venéreas en equinos.

Keywords: *Salmonella* serovar. Abortusequi, equine abortion, venereal infections of equids

Resumen

Las pérdidas económicas por el aborto paratífico causado por *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Abortusequi (*Salmonella* serov. Abortusequi) son de alto impacto negativo en la industria equina debido a los fetos abortados y a los potrillos que nacen septicémicos, con poliartritis, osteomielitis u otros. Esta infección reemergió en el año 2011 en nuestro país y, desde entonces, múltiples brotes de abortos han generado preocupación en productores y veterinarios. Si bien la patología en el feto y potrillo equino está bien documentada en la bibliografía, el rol del padrillo en la epidemiología de esta infección no ha sido aún estudiado. En este estudio proponemos investigar la importancia del macho entero en la diseminación de *Salmonella* serov. Abortusequi.

Para alcanzar el objetivo propuesto se adecuaron las técnicas de diagnóstico bacteriológicas (aislamiento) y moleculares (PCR) a la detección de *Salmonella* serov. Abortusequi en semen fresco equino. Para ello, se realizaron diluciones seriadas de la cepa UBA1174/15 en semen fresco, que se sembraron en caldo Selenito-Cistina (enriquecimiento selectivo) durante 24-48 horas a 37 °C. y posteriormente se cultivaron 24 horas a 37 °C en agar XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato). Paralelamente, se realizó la PCR a partir de los caldos amplificando el gen *invA* (*Salmonella* spp). También, se obtuvieron muestras de semen fresco, mediante monta con vagina artificial, de 23 padrillos. Estas muestras fueron analizadas mediante cultivo bacteriológico y PCR. La sensibilidad de las técnicas diagnósticas utilizadas fue de 87 UFC/muestra en el cultivo bacteriológico y de 175 UFC/muestra en la PCR. No se aisló *Salmonella* serov. Abortusequi de las muestras de semen fresco (n: 23); sin embargo se identificaron los siguientes agentes: *Staphylococcus aureus* en 13 muestras, *Staphylococcus* spp. en 8, *Micrococcus* spp. en 6 y *Streptococcus* spp. en 1, las que podrían ser parte de la microbiota del pene. También se identificó, en un menor número de muestras, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas aureuginosa*, *Corynebacterium* spp., *Escherichia* spp., *Escherichia coli* y *Serratia* spp. Adicionalmente, se analizaron por PCR, un total de

81 muestras de semen equino congelado de archivo (Laboratorio de virus equinos del Instituto de Virología del INTA Castelar), en las que no se detectó la presencia de *Salmonella* serov. Abortusequi.

Los resultados obtenidos indicarían que la infección por *Salmonella* serov. Abortusequi no es un hallazgo frecuente en padrillos, sin embargo debe tenerse en cuenta que no se analizaron muestras de semen en el contexto de un brote epizootico de abortos, ya que durante el período de estudio justamente no se registró la ocurrencia de brotes de abortos debidos a esta infección. No obstante, el trabajo realizado ha permitido estandarizar el diagnóstico molecular de *Salmonella* Abortusequi en semen equino fresco y congelado, lo que constituye una valiosa herramienta para continuar los estudios dirigidos a establecer definitivamente el papel que desempeña el padrillo en la epidemiología de esta infección.

Abstract

Economic losses due to abortions associated with Salmonella enterica subsp. enterica serovar Abortusequi (Salmonella serov. Abortusequi) have a high economic impact on the equine industry. The disease re-emerged in Argentina in 2011, and since then multiple outbreaks of abortions have caused significant concern among veterinarians and farm managers. Although the pathology in the fetus and infected foals has been well described, the role of the stallion in the epidemiology of the disease remains to be elucidated. The objective of this study was to evaluate the relevance of the stallion in the transmission of Salmonella serov. Abortusequi.

Classical bacteriology (isolation in culture) and molecular biology (PCR) techniques were optimized for the detection of Salmonella serov. Abortusequi in fresh equine semen samples. Serial dilutions of the strain UBA1174/15 were performed in fresh semen samples and inoculated in selenite-cystine broth (selective enrichment) for 24-48 h at 37°C followed by culture in XLD (Xylose, Lysine, Deoxycholate) agar at 37°C for 24 h. PCR for the detection of the invA gene (Salmonella spp.) was performed in all of the cultured broths. Additionally, semen samples were collected from 23 stallions using an artificial vagina. These samples were analyzed by isolation and PCR. The sensitivity of the diagnostic tests used in this study was estimated at 87 CFU/sample and 175 CFU/sample for classical isolation and PCR (performed on the cultured broth), respectively. Salmonella serov. Abortusequi was not isolated from any of the samples tested (n:23); however, the following agents were identified: Staphylococcus aureus in 13 samples, Staphylococcus spp. in 8, Micrococcus spp. in 6 and Streptococcus spp. in 1, which could be part of the microbiota of the penis. In a smaller number of samples, Streptococcus equi subsp. zooepidemicus, Bacillus spp., Pseudomonas spp., Pseudomonas aeruginosa, Corynebacterium spp., Escherichia spp., Escherichia coli and Serratia spp. were also detected. In addition, a total of 81 frozen archive equine semen samples (Equine Virus Laboratory of the Institute of Virology of INTA Castelar) were analyzed by PCR, in which the presence of Salmonella serov. Abortusequi was not detected.

The results obtained would indicate that infection with Salmonella serov. Abortusequi is not a frequent finding in stallions. Nevertheless, it should be noted that semen samples were not analyzed in the context of an epizootic outbreak of abortions, because during the study period the occurrence of outbreaks of abortions due to this infection was not noticed. However, the work carried out has allowed to set up the molecular diagnosis of Salmonella Abortusequi in fresh and frozen equine semen, which constitutes a valuable tool to continue studies aimed at definitively establishing the role played by the stallion in the epidemiology of this infection.