



ORIGINAL

Encefalitis asociada a astrovirus bovino neurotrópico, ¿una enfermedad subdiagnosticada en Sudamérica?

Benjamín Doncel Díaz^{a,b}, Matías Castells^c, Leticia Maya^c, Martín Fraga^a,
Francisco A. Uzal^d, Rodney Colina^c y Federico Giannitti^{a,*}

^a Plataforma de Investigación en Salud Animal, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela, Colonia, Uruguay

^b Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Bogotá, Colombia

^c Laboratorio de Virología Molecular, Centro Universitario Regional (CENUR) Litoral Norte, Universidad de la República (UdelaR), Salto, Uruguay

^d California Animal Health and Food Safety (CAHFS) Laboratory, University of California at Davis, San Bernardino, California, Estados Unidos

Recibido el 15 de julio de 2020; aceptado el 24 de enero de 2021

Disponible en Internet el 18 junio 2021

PALABRAS CLAVE

Astrovirus bovino;
Vacas lecheras;
Enfermedad
neurológica;
Uruguay

Resumen Describimos un caso de encefalitis asociada a infección por astrovirus bovino neurotrópico en una vaca lechera, raza Jersey, del departamento de San José, Uruguay. Este representa el segundo caso reportado de esta condición en el hemisferio sur. La vaca, única afectada de un rodeo de 70 bovinos, manifestó signos clínicos neurológicos con curso de 2 días, luego de los que murió espontáneamente. El examen histopatológico reveló meningoencefalitis linfocítica, histiocítica y plasmacítica, con necrosis neuronal, sin cuerpos de inclusión. No se detectaron en el cerebro otros agentes infecciosos, incluyendo el virus de la rabia (*Lyssavirus*), alfa herpesvirus bovino-1 y alfa herpesvirus bovino-5 (*Varicellovirus*), virus de la diarrea viral bovina (*Pestivirus*), virus del Nilo Occidental (*Flavivirus*), *Listeria monocytogenes*, *Histophilus somni* y otras bacterias. Dado que el descubrimiento de astrovirus neurotrópicos en varias especies de mamíferos, incluidos humanos, es reciente, proponemos que los casos de encefalitis por astrovirus pudieron haber pasado inadvertidos en Sudamérica. Discutimos brevemente el diagnóstico patológico diferencial de encefalitis infecciosas en bovinos.

© 2021 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fgiannitti@inia.org.uy (F. Giannitti).

KEYWORDS

Bovine astrovirus;
Dairy cows;
Neurological disease;
Uruguay

Neurotropic bovine astrovirus-associated encephalitis: An underdiagnosed disease in South America?

Abstract We describe a case of neurotropic bovine astrovirus-associated encephalitis in a Jersey dairy cow from the department of San José, Uruguay. This represents the second case of this condition reported in the Southern Hemisphere. The cow was the only one affected in a herd of 70 cows, showing neurological signs with a 2-day clinical course, before dying spontaneously. Histopathological examination revealed lymphocytic, histiocytic, and plasmacytic meningoencephalitis with neuronal necrosis, without detectable inclusion bodies. Other infectious agents, including *Rabies virus* (*Lyssavirus*), *Bovine alphaherpesvirus-1* and *Bovine alphaherpesvirus-5* (*Varicellovirus*), *Bovine viral diarrhoea virus* (*Pestivirus*), *West Nile virus* (*Flavivirus*), *Listeria monocytogenes*, *Histophilus somni* and other bacteria, were not detected in the brain. We propose that given the recent discovery of neurotropic astroviruses in various mammalian species, including humans, cases of astrovirus encephalitis may have gone undetected in South America. We briefly discuss the differential pathologic diagnosis of infectious bovine encephalitis.

© 2021 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Los miembros de la familia *Astroviridae* son virus de ARN de cadena simple de sentido positivo, de 28-30 nm de diámetro, de morfología icosaédrica, con viriones en forma de estrella de cinco o seis puntas, no envueltos, con un genoma de 6,4-7,3 kb⁵. La familia comprende dos géneros, *Mamastrovirus* y *Avastrovirus*, que infectan mamíferos y aves, respectivamente¹. En la actualidad, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (*International Committee on Taxonomy of Viruses* [ICTV], 2019) reconoce 19 especies dentro del género *Mamastrovirus* (nombradas *Mamastrovirus-1* a *Mamastrovirus-19*)⁸. Sin embargo, hay numerosas cepas que aún no han sido clasificadas a nivel de especie, y algunas de ellas son consideradas, tentativamente, nuevas especies^{2,5}.

A pesar de ser virus entéricos^{1,2}, desde 2010 se han descrito varios astrovirus neuroinvasivos asociados con encefalitis en diversas especies de mamíferos, incluyendo humanos, visones, bovinos, ovinos, porcinos, alpaca y buy almizclero¹¹. Luego del reconocimiento inicial del astrovirus bovino (*Bovine astrovirus* [BoAstV]) neurotrópico en casos de encefalitis en Estados Unidos¹⁰, un estudio retrospectivo realizado en Suiza de casos de una condición hasta ese momento identificada como encefalitis bovina esporádica europea (*European bovine sporadic encephalitis* [ESBE]), de etiología indeterminada, reveló que el BoAstV había pasado inadvertido como causal de esta condición por décadas¹⁴. Otro estudio del mismo grupo de investigadores determinó que existía una relación causal entre BoAstV y enfermedad neurológica/encefalitis¹³.

Aunque la epidemiología de los astrovirus neurotrópicos es mayormente desconocida, se ha sugerido la posibilidad de transmisión viral entre especies animales dado el alto porcentaje de homología de las secuencias de aminoácidos y nucleótidos compartida entre los astrovirus neuroinvasivos bovinos y ovinos¹¹. Aunque las cepas neurotrópicas de BoAstV no han sido todavía clasificadas oficialmente a nivel de especie por el ICTV, algunos autores han propuesto su clasificación dentro de la especie *Mamastrovirus-13*^{5,7}.

Hasta el momento se han descrito casos de encefalitis/encefalomielitis bovina asociados a infección por BoAstV

neurotrópicos en Estados Unidos, Canadá, Suiza, Alemania, Japón y, recientemente, Uruguay^{6,7,10,12,13}, único país del hemisferio sur con un caso registrado. En el caso uruguayo se secuenció el genoma completo de la cepa viral involucrada (identificada como BoAstV-Neuro-Uy, dentro del clado CH13/NeuroS1), y un análisis filogeográfico bayesiano, que incluyó, además, cepas detectadas en Norteamérica, Europa y Asia, indicó que, posiblemente, la cepa actuante había sido introducida en Sudamérica desde Europa entre los años 1849 y 1967, para luego diseminarse en Norteamérica y Asia⁶.

Debido, en parte, al reciente descubrimiento de los astrovirus neurotrópicos y a la falta de disponibilidad de pruebas para detectarlos rutinariamente en laboratorios de diagnóstico, es probable que los casos de encefalitis por astrovirus, tanto en bovinos como en otras especies animales y en humanos, estén subdiagnosticados, no solo en Uruguay, sino también en otros países de Sudamérica. En este contexto, el objetivo principal de este trabajo fue documentar un nuevo caso de encefalitis por BoAstV en Uruguay y el segundo en el hemisferio sur, con el fin de alertar a los veterinarios clínicos, a los laboratorios de diagnóstico veterinario y al ámbito científico hispanoparlante acerca de la ocurrencia de casos de esta enfermedad neurológica de los bovinos, que, posiblemente, esté extendida a otros países de Latinoamérica. Discutimos, además, desde el punto de vista anatomopatológico, el diagnóstico diferencial de encefalitis por BoAstV en contraste con otras causas infecciosas (bacterianas y virales) de encefalitis bovina que han sido identificadas en Sudamérica. Nuestro propósito es proveer un marco de referencia que permita a los patólogos veterinarios establecer un diagnóstico presuntivo de encefalitis por BoAstV y los motive a realizar pruebas de detección viral a fin de confirmar o descartar esa etiología.

El caso se registró en una vaca primípara de raza Jersey de 27 meses, 2 meses luego del parto, en un establecimiento lechero del departamento de San José. La población total de bovinos del predio era de 70 animales; la vaca afectada estaba en un lote de 50 vacas en ordeño, que pastoreaban una pradera. No había otras especies de rumiantes en el

predio. La vaca afectada fue la única en manifestar signos clínicos, que comenzaron el 27/11/2019 y tuvieron un curso de 2 días. Los signos incluyeron temblores, mioclonías, marcha tambaleante, incoordinación del tren anterior, ataxia, disminución de la conciencia y respuesta al entorno, depresión y decúbito prolongado. El 29/11/2019 la vaca amaneció en decúbito lateral, con movimientos intensos de pedaleo, y murió espontáneamente.

El veterinario del predio realizó la necropsia, no encontró lesiones macroscópicas que explicaran los signos neurológicos ni la muerte, y envió muestras de encéfalo al laboratorio de diagnóstico veterinario de la Plataforma de Investigación en Salud Animal (PSA) del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) La Estanzuela. Se obtuvieron muestras representativas de telencéfalo (porciones parietal, temporal y occipital de hemisferio cerebral, hipocampo), tronco encefálico (pedúnculos cerebrales, tálamo, cápsula interna y externa), médula oblonga y cerebelo, que tras su arribo al laboratorio fueron fijadas por inmersión en solución de formalina tamponada (pH 7,4) por 48-72 h, para el posterior procesamiento histológico. Además, se colectaron en forma aséptica, en tubos estériles, distintas porciones del encéfalo, de modo que se lograron dos *pools*: uno se procesó inmediatamente para bacteriología y el otro fue congelado en *freezer* a -20°C para virología.

Las secciones fijadas en formalina fueron procesadas por técnicas histológicas estándares, embebidas en bloques de parafina, cortadas con micrótopo a 3-4 μm de espesor, montadas sobre portaobjetos y coloreadas con hematoxilina y eosina (H&E), para ser examinadas bajo microscopio óptico (Carl-Zeiss, Alemania). El examen histológico reveló meningoencefalitis linfocítica, histiocítica y plasmácica (no supurativa), multifocal y aleatoria, moderada a severa, con necrosis neuronal multifocal en las regiones afectadas,

que incluyeron la médula oblonga, el cerebelo, el tronco encefálico y la corteza cerebral. El infiltrado inflamatorio era más denso en localización perivascular e involucraba predominantemente a la sustancia gris sobre la sustancia blanca. El neuroparénquima, en especial el neurópilo, también presentaba un infiltrado inflamatorio similar, gliosis multifocal, tumefacción de axones (esferoides), hipereosinofilia neuronal (necrosis), satelitosis y neuronofagia (fig. 1). Las leptomeninges del cerebelo, el lóbulo occipital del hemisferio cerebral y el tronco encefálico presentaron algunos focos leves de infiltrado inflamatorio similar al descrito. No se apreciaron cuerpos de inclusión virales, bacterias ni protozoarios en las secciones examinadas.

Dadas las lesiones de encefalitis no supurativa, y ante la sospecha de una etiología viral, se procesaron bloques parafinados que contenían secciones de encéfalo lesionado mediante inmunohistoquímica para la detección de antígenos del virus de la rabia (*Rabies virus* [RABV], *Lyssavirus*) y del virus del Nilo Occidental (*West Nile virus* [WNV], *Flavivirus*)⁶, con resultados negativos. Adicionalmente, se realizó inmunohistoquímica para *Listeria monocytogenes*, que también resultó negativa.

A partir de la muestra de encéfalo preservada en congelación para virología se realizaron reacciones de PCR para la detección de BoAstV, de virus de la diarrea viral bovina (*Bovine viral diarrhoea virus* [BVDV], *Pestivirus*) y de alfa herpesvirus bovino-1 y alfa herpesvirus bovino-5 (*Bovine alphaherpesvirus-1* [BoHV-1] y *Bovine alphaherpesvirus-5* [BoHV-5], *Varicellovirus*). Se extrajeron los ácidos nucleicos usando un kit comercial (MagMAX Nucleic Acid Isolation Kit®, Thermo Fisher Scientific), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se realizó la retrotranscripción (RT) con el kit RevertAid® (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, EE.UU.) y cebadores hexámeros aleatorios (Qiagen®) para la

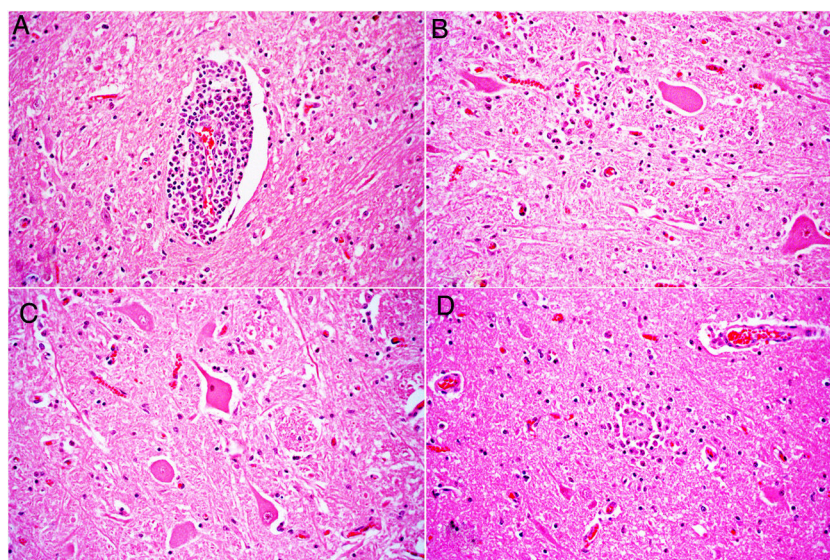


Figura 1 Lesiones histológicas en la vaca con encefalitis por astrovirus bovino neurotrópico; coloración de hematoxilina y eosina, $\times 400$. A) Infiltración de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas en un espacio perivascular en la corteza cerebral. B) Gliosis e infiltración de linfocitos en el neurópilo del tronco encefálico. C) Una neurona (centro de la imagen) en el tronco encefálico presenta hipereosinofilia citoplasmática y núcleo picnótico (necrosis neuronal). D) Una neurona necrótica en la corteza cerebral se encuentra rodeada de células gliales e inflamatorias (satelitosis) e invadida por dichas células (neuronofagia).

obtención del ADN copia (ADNc). Los ácidos nucleicos extraídos y el ADNc se almacenaron a -20°C hasta su posterior procesamiento.

Para la detección de BoAstV se realizó PCR a partir del ADNc usando MangoMix™ (Bioline®, Londres, Reino Unido) y cebadores que amplifican un fragmento de 432 nucleótidos del gen de la polimerasa viral, como hemos reportado con anterioridad⁶. Brevemente, se mezclaron en tubos de PCR 12,5 μl de MangoMix™, 5 μl de ADNc, 4,5 μl de agua libre de nucleasas, 1 μl de dimetilsulfóxido, 1 μl de cebador BoAstV-F 10 μM y 1 μl de cebador BoAstV-R 10 μM . Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 2%, purificados usando un kit comercial (PureLink™ Quick Gel Extraction and PCR Purification Combo Kit, Invitrogen®, Carlsbad, CA, EE.UU.) y secuenciados en Macrogen Inc. (Seúl, Corea del Sur) en ambas direcciones, lo que confirmó la presencia de BoAstV en la muestra. La secuencia fue depositada en GenBank, con el número de acceso MT740274, y utilizada para construir un árbol filogenético junto con otras secuencias de astrovirus neurotrópicos, tal como describimos ya antes⁶. Brevemente, las secuencias fueron alineadas con el programa ClustalW disponible en MEGA7. El modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajustaba a los datos, así como también el árbol filogenético, fueron obtenidos con el software IQ-TREE, disponible en <http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>. Se identificó BoAstV neurotrópico del linaje NeuroS1, dentro del clado CH13/NeuroS1 (fig. 2).

Para la evaluación de la presencia de BVDV, BoHV-1 y BoHV-5 se utilizaron metodologías de PCR a partir de las muestras de ADNc (BVDV) y de ácidos nucleicos extraídos (BoHV-1 y BoHV-5), preservados bajo congelación, como se mencionó. Para detectar BVDV se utilizaron los cebadores BVDV190mod y V326mod que amplifican un fragmento de 207 pb de la 5'UTR del virus, lo que permite identificar BVDV-1, BVDV-2 y HoBi-like Pestivirus, mientras que para detectar BoHV-1 y BoHV-5 se usó un mismo juego

de cebadores que amplifican parcialmente la glicoproteína C [cebadores gC+ (5'-gctggggctcgcggagga-3') y gC2- (5'-gggagcgcacgtcagggc-3')], que permiten la distinción entre BoHV-1 y BoHV-5 por diferencias de tamaño del fragmento amplificado (653 pb para BoHV-1 y 589 pb para BoHV-5). BVDV, BoHV-1 y BoHV-5 no fueron detectados. Para todas las reacciones de PCR se utilizaron controles positivos y negativos apropiados, que permitieron validar los resultados.

Respecto de la muestra recolectada para bacteriología, se realizó cultivo en medio selectivo para *Salmonella* spp. (agua peptonada, caldo tetratiónato, agar xilosa-lisina-desoxicolato, incubación aerobia a 37°C), medio selectivo para *Listeria* spp., agar sangre, agar chocolate y agar MacConkey, que fueron incubados en atmósfera aerobia y microaerobia a 37°C durante 7 días. No se aislaron bacterias patógenas.

La investigación diagnóstica permitió identificar este caso fatal de meningoencefalitis por BoAstV en una vaca lechera con enfermedad neurológica en el departamento de San José, Uruguay, el cual representa el segundo caso de esta condición en el hemisferio sur, luego de un caso identificado en un novillo raza Holstein de 22 meses en el departamento de Colonia, del mismo país⁶. Los hallazgos epidemiológicos y clínicos en el caso aquí descrito fueron similares a los reportados en otros casos de encefalitis por BoAstV neurotrópico, que generalmente son de ocurrencia esporádica, en animales adultos y con signos poco específicos, pero claramente indicativos de enfermedad del sistema nervioso central, con cursos clínicos que varían entre 1 día y 3 semanas de evolución y con desenlace fatal^{4,6,7,14}.

El examen macroscópico de la carcasa y el encéfalo específicamente no revelaron hallazgos significativos, de modo similar a lo descrito en otros reportes^{6,7}. La información acumulada hasta el momento sugiere que las lesiones inducidas por BoAstV no serían evidenciables a la necropsia o serían lo suficientemente sutiles como para pasar inadvertidas, como ocurre en la mayoría de los casos de encefalitis

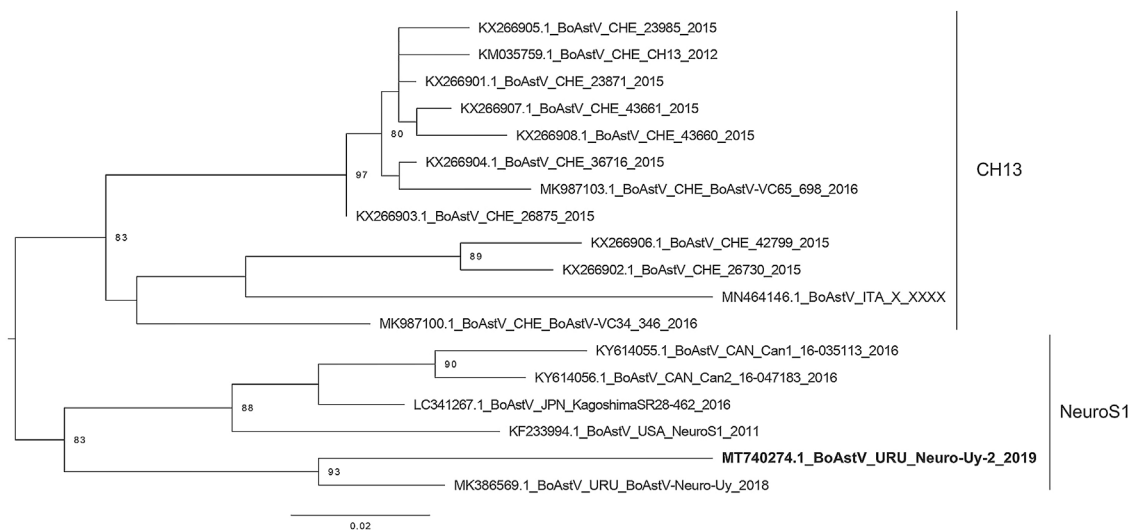


Figura 2 Árbol filogenético construido con el método de máxima verosimilitud con la secuencia del BoAstV detectado en el caso descrito y otras secuencias de astrovirus bovinos neurotrópicos disponibles en GenBank, incluida la secuencia viral del caso previamente detectado en Uruguay (BoAstV-Neuro-Uy, MK386569.1). La cepa del caso actual también pertenece al linaje NeuroS1 dentro del clado CH13/NeuroS1.

viral. Sin embargo, los hallazgos histológicos, que fueron similares a los reportados en la literatura para el citado virus^{10,12-14}, merecen especial atención, ya que tienen elevado valor diagnóstico, como discutiremos a continuación.

Ante el examen patológico, el hallazgo de encefalitis en rumiantes debe motivar las sospechas de etiologías infecciosas, dentro de las que se encuentran agentes bacterianos, como *L. monocytogenes* e *Histophilus somni*, y agentes virales; de los reportados más frecuentemente en Sudamérica se resaltan RABV, BoHV-1 y BoHV-5. Cabe destacar que varios patógenos neurológicos de los bovinos son zoonóticos y algunos de ellos, además, son de declaración obligatoria ante la Organización Mundial de Sanidad Animal¹⁵. Por lo tanto, el diagnóstico de encefalitis debería motivar la realización de pruebas de laboratorio adicionales en un intento de confirmar la etiología. La histopatología tiene gran poder orientativo respecto de las posibles causas. Los infiltrados inflamatorios inducidos por infecciones bacterianas del encéfalo suelen presentar abundantes neutrófilos, por lo que estas lesiones son denominadas encefalitis supurativas³. Algunas características histopatológicas adicionales permiten sospechar la presencia de bacterias específicas. Por ejemplo, en casos de listeriosis, los neutrófilos suelen formar microabscesos en el neuroparénquima del tronco encefálico, y, a pesar de que las bacterias no suelen ser evidentes en cortes coloreados con H&E, suelen ponerse de manifiesto como bacilos positivos con la coloración de Gram o mediante inmunohistoquímica. En casos de histofilosis, se presenta trombosis, exudación de fibrina, vasculitis e invasión vascular o del neuroparénquima, y las bacterias forman colonias visibles con la coloración de H&E y en la tinción de Gram son negativas. La histofilosis, además, se caracteriza por infartos y hemorragias cerebrales multifocales visibles macroscópicamente. Otras bacterias patógenas u oportunistas pueden causar meningoencefalitis supurativas³. Estos hallazgos patológicos, típicos de causas bacterianas, no fueron observados en el caso aquí descrito, y estos agentes fueron descartados por cultivos bacterianos y por inmunohistoquímica para *L. monocytogenes*.

En forma distintiva, en las encefalitis virales el infiltrado inflamatorio suele estar sobrerrepresentado por linfocitos, histiocitos y células plasmáticas, con escasa o despreciable cantidad de neutrófilos, lo que ha llevado a denominarlas encefalitis no supurativas^{3,11}. En ocasiones, algunas características histopatológicas adicionales permiten sospechar de virus específicos. Por ejemplo, en las encefalitis causadas por BoHV suelen evidenciarse cuerpos de inclusión eosinofílicos únicos intranucleares en las neuronas y astrocitos, mientras que el RABV forma cuerpos de inclusión múltiples eosinofílicos intracitoplasmáticos (corpúsculos de Negri) en las neuronas³. A pesar de que la observación de estos cuerpos de inclusión es fuertemente orientativa de estas causas virales de encefalitis, la confirmación etiológica requiere de pruebas específicas para la detección viral, y la ausencia de cuerpos de inclusión no necesariamente las excluye. Otros virus, como BVDV o WNV, no inducen cuerpos de inclusión visibles histológicamente. Por tal motivo, en este caso realizamos pruebas diagnósticas específicas para descartar estas infecciones virales. No se han descrito cuerpos de inclusión en encefalitis por BoAstV, por lo cual la ausencia de cuerpos de inclusión en casos de encefalitis no supurativa en bovinos debería generar la sospecha de este virus, cuya

confirmación podría realizarse mediante pruebas moleculares (como en este caso) o mediante inmunohistoquímica o hibridación *in situ*.

Otra enfermedad viral que puede cursar con encefalitis no supurativa en bovinos es la fiebre catarral maligna (FCM), causada por varios gammaherpesvirus, el más frecuente de los cuales y único descrito en Sudamérica en bovinos con esta enfermedad es el gammaherpesvirus ovino-2 (*Ovine gammaherpesvirus-2* [OvHV-2]). Los bovinos desarrollan FCM luego de entrar en contacto con ovinos portadores asintomáticos, situación que no ocurrió en el caso descrito en este manuscrito. La FCM es una enfermedad linfoproliferativa con lesiones que no se restringen al encéfalo sino que, por el contrario, suelen ser multisistémicas y frecuentemente involucran el tracto digestivo y otros órganos, y pueden ser apreciadas macroscópicamente. En cuanto a los cambios histológicos, cuando hay involucramiento del sistema nervioso central se aprecia encefalitis no supurativa sin cuerpos de inclusión, aunque la lesión histológica más característica de la FCM es la arteriolitis fibrinoide/necrotizante, que puede estar presente en el encéfalo y otros tejidos. Esta lesión no fue apreciada en el caso aquí descrito.

A pesar de que la inmunohistoquímica e hibridación *in situ* son de gran valor diagnóstico, debido a que permiten evaluar la localización intraneuronal e intralesional de antígeno o ARN de BoAstV¹³, respectivamente, su uso rutinario en casos clínicos tiene ciertas limitaciones. La inmunohistoquímica requiere de la utilización de anticuerpos anti-BoAstV que no están disponibles comercialmente y cuya producción está limitada, en parte, por la ausencia de aislados de BoAstV neurotrópicos. El grupo que lidera la investigación de astrovirus neurotrópicos a nivel mundial desarrolló, utilizando proteínas recombinantes, un anticuerpo anti-BoAstV que demostró un buen desempeño para inmunohistoquímica¹³. Este anticuerpo se encuentra disponible para uso con fines de investigación, pero no ha sido transferido a laboratorios de histología veterinaria para su uso en diagnóstico inmunohistoquímico (Seuberlich T, comunicación personal). Por otro lado, la prueba de hibridación *in situ* está disponible comercialmente, pero a un costo que puede ascender a varios cientos de dólares por muestra, lo que la hace de difícil acceso para los laboratorios de diagnóstico veterinario, particularmente si dan servicios en escenarios de economías emergentes. En este contexto, las técnicas de virología molecular (RT-PCR y secuenciación) representan opciones adecuadas para ser aplicadas con fines confirmatorios de diagnóstico etiológico a un costo relativamente accesible, a la vez que presentan alta sensibilidad y especificidad².

Dado que los astrovirus son virus entéricos de transmisión fecal-oral, es tentador pensar que la transmisión de BoAstV neurotrópicos ocurra también por esta vía. Sin embargo, esto no ha sido suficientemente documentado. Un estudio reciente evaluó la infección entérica por BoAstV en 500 terneros lecheros de Uruguay², con muestras de animales de predios de Colonia y San José, departamentos donde se reportaron los dos casos de encefalitis por BoAstV en el país, aunque ese estudio no incluyó animales de los predios afectados. Es interesante notar que la frecuencia de infección entérica por BoAstV fue alta (25,6%, 128/500). Se realizó luego la secuenciación viral y el análisis filogenético para determinar las especies de

Mamastrovirus circulantes en un número limitado de terneros positivos (25/128; 19,5%). Las especies identificadas fueron *Mamastrovirus-28* en 3 animales, *Mamastrovirus-33* en otros 3 y especies de *Mamastrovirus* aún no clasificadas por el ICTV en los restantes 19 animales. En ninguno de los terneros se identificó *Mamastrovirus-13*², especie que incluiría a los BoAstV neurotrópicos, según lo propuesto por algunos autores^{5,7}. Un estudio reciente efectuado en Suiza reveló, en terneros con estado de salud desconocido, la eliminación fecal de una cepa de BoAstV que había sido detectada antes en bovinos con encefalitis⁹, lo que sugiere que la materia fecal representa una vía de eliminación de BoAstV neurotrópicos. Se necesitan estudios más amplios para explorar las vías de eliminación de BoAstV neurotrópicos en casos clínicos de encefalitis, así como el rango de tejidos que estos virus son capaces de infectar y los mecanismos que determinan la neuroinvasividad, tanto del virus como del huésped.

Concluimos que BoAstV es una causa subdiagnosticada de enfermedad neurológica en el ganado y, dada la naturaleza esporádica de los casos, es posible que el virus haya pasado inadvertido como causal de encefalitis bovina en otros países de Sudamérica, tal como ocurrió en Estados Unidos¹⁰ y en Europa¹⁴. El diagnóstico patológico presuntivo de esta enfermedad se basa en la observación de encefalitis, mielitis o encefalomielitis no supurativa, con o sin meningitis, con necrosis neuronal, sin cuerpos de inclusión, que debe ser confirmada desde el punto de vista etiológico mediante pruebas de virología molecular, inmunohistoquímica o hibridación *in situ*, que permitan la detección específica de BoAstV en el encéfalo, en el contexto de exclusión de otras causas infecciosas. Se necesitan investigaciones adicionales para comprender la epidemiología, la distribución geográfica, el impacto económico, la patogénesis y la variabilidad genética de los astrovirus neurotrópicos, así como su posible transmisión entre especies.

Financiación

Este trabajo fue financiado por el proyecto PL.27 N-23398 y la beca de posgrado 1070-2018 del INIA, Uruguay.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Yisell Perdomo, Cecilia Monesiglio y Laura Casaux del INIA La Estanzuela por asistencia técnica con los procedimientos histológicos y bacteriológicos, y al veterinario Miguel Chiarlone por los datos clínicos y epidemiológicos del caso, y el envío de las muestras de encéfalo al laboratorio.

Bibliografía

1. Bosch A, Pintó RM, Guix S. Human astroviruses. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:1048–74.
2. Castells M, Bertoni E, Caffarena RD, Casaux ML, Schild C, Victoria M, Riet-Correa F, Giannitti F, Parreño V, Colina R. Bovine astrovirus surveillance in Uruguay reveals high detection rate of a novel *Mamastrovirus* species. *Viruses.* 2020;12:32.
3. Cantile C, Youssef S. Nervous System. En: Maxie MG, editor. Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. 6th edition. Saint Louis, MO: Elsevier; 2016. p. 205–406.
4. Deiss R, Selimovic-Hamza S, Seuberlich T, Meylan M. Neurologic clinical signs in cattle with astrovirus-associated encephalitis. *J Vet Intern Med.* 2017;31:1209–14.
5. Donato C, Vijaykrishna D. The broad host range and genetic diversity of mammalian and avian astroviruses. *Viruses.* 2017;9:E102.
6. Giannitti F, Caffarena RD, Pesavento P, Uzal FA, Maya L, Fraga M, Colina R, Castells M. The first case of bovine astrovirus-associated encephalitis in the Southern hemisphere (Uruguay), uncovers evidence of viral introduction to the Americas from Europe. *Front Microbiol.* 2019;10:1240.
7. Hirashima Y, Okada D, Shibata S, Yoshida S, Fujisono S, Omatsu T, Mizutani T, Nagai M. Whole genome analysis of a novel neurotropic bovine astrovirus detected in a Japanese black steer with non-suppurative encephalomyelitis in Japan. *Arch Virol.* 2018;163:2805–10.
8. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). ICTV Master Species List 2019.v1 [actualizado 24 Abr 2020]. Disponible en: <https://talk.ictvonline.org/files/master-species-lists/>.
9. Kauer RV, Koch MC, Schönecker L, Becker J, Holwerda M, Glaus AN, Hierweger MM, Werder S, Dijkman R, Meylan M, Seuberlich T. Fecal shedding of bovine astrovirus CH13/NeuroS1 in veal calves. *J Clin Microbiol.* 2020;58:e01964-19.
10. Li L, Diab S, McGraw S, Barr B, Traslavina R, Higgins R, Talbot T, Blanchard P, Rimoldi G, Fahsbender E, Page B, Phan TG, Wang C, Deng X, Pesavento P, Delwart E. Divergent astrovirus associated with neurologic disease in cattle. *Emerg Infect Dis.* 2013;19:1385–92.
11. Reuter G, Pankovics P, Boros A. Nonsuppurative (aseptic) meningoencephalomyelitis associated with neurovirulent astrovirus infections in humans and animals. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31, e00040-18.
12. Schlottau K, Schulze C, Bilk S, Hanke D, Höper D, Beer M, Hoffmann B. Detection of a novel bovine astrovirus in a cow with encephalitis. *Transbound Emerg Dis.* 2016;3:253–9.
13. Selimovic-Hamza S, Boujon CL, Hilbe M, Oevermann A, Seuberlich T. Frequency and pathological phenotype of bovine astrovirus CH13/NeuroS1 infection in neurologically-diseased cattle: Towards assessment of causality. *Viruses.* 2017; 9:E12.
14. Selimovic-Hamza S, Bouzalas IG, Vandeveld M, Oevermann A, Seuberlich T. Detection of astrovirus in historical cases of European sporadic bovine encephalitis Switzerland 1958-1976. *Front Vet Sci.* 2016;3:91.
15. World Organization for Animal Health (OIE). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 8th edition. Paris, France: World Organization for Animal Health; 2019 [consultado 7 Ene 2021]. Disponible en: <https://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>.