

Diarrea neonatal: Una enfermedad multifactorial – resultados preliminares en Rotavirus y Coronavirus

Allassia M^{1,2}, Angeli E¹, Machado S¹, Duarte S¹, Lapalma C², Schlegel S², Trucco A², Giaime B², Ruiz M³, Aguirre F³, Jaime J³, Reibel G⁴, Baravalle A⁴, Vega C⁵, Bok M⁵, Rocha L⁵, Parreño G⁵.

¹Práctica Hospitalaria de Grandes Animales, ²Grupo de Estudio Dirigido: Crianza Artificial de Terneros, ³Laboratorio de Análisis Clínicos, ⁴Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja; ⁵Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT) INTA CONICET. mallassia@fcv.unl.edu.ar

La diarrea neonatal es una enfermedad que afecta a terneros jóvenes, desde las 12 hs a 30 días de nacido, caracterizada por una descarga fecal líquida, acuosa, aromática, que conlleva un malestar general del animal, decaimiento, dolor abdominal, falta de apetito, deshidratación progresiva y muerte. Esta patología se define como multietiológica ya que es causada por distintos agentes infecciosos y/o parasitarios y multifactorial porque intervienen en su presentación diferentes aspectos: ambientales (lluvia, frío, barro); nutricionales y de manejo. Dentro de los agentes infecciosos más comúnmente aislados se encuentran: bacterias como *Escherichia Coli* y *Salmonella* spp., parásitos como *Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp., y virus como Coronavirus y Rotavirus. Los Rotavirus (RV) se clasifican en 7 grupos (A-G) y estos a su vez en serotipos. El Rotavirus bovino tipo A fue identificado, caracterizado y confirmado como agente causal de diarreas en terneros en todo el mundo, actualmente es el agente más frecuentemente encontrado en los rodeos afectados por diarrea neonatal². Coronavirus bovino (BCoV) es reconocido como un agente patógeno asociado a tres síndromes clínicos diferentes: 1) Síndrome diarreico neonatal del ternero caracterizado por diarreas líquidas profusas, en ocasiones hemorrágicas y severas; 2) Disentería de invierno, la cual ocurriría en bovinos adultos y cursa con severas diarreas; 3) Afección respiratoria en vacas, incluida la Fiebre de Embarque. Tanto los cuadros entéricos como respiratorios pertenecerían al mismo serotipo con tres subtipos identificados por seroneutralización empleando anticuerpos monoclonales¹.

El objetivo de este trabajo es la presentación de resultados preliminares de un estudio donde se investigan los agentes causales y factores predisponentes de la diarrea neonatal en una crianza artificial de terneros de un establecimiento lechero de la zona rural de Esperanza, provincia de Santa Fe.

Se utilizaron 12 terneros de la crianza artificial de un establecimiento lechero ubicado en la zona rural de Esperanza. De forma diaria se evaluó el aspecto de la materia fecal con un score de 1 a 4, donde 1 es normal embutido y 2 es normal semisólido, 3 diarrea y 4 diarrea muy líquida. A su vez, se analizó la densidad del calostro suministrado mediante calostrímetro como parámetro de calidad del mismo. Una densidad menor a 1.040 es considerado de mala calidad, una densidad entre 1.040 a 1.050 calidad media y mayor a 1.050 buena calidad. También se cuantificó por refractometría los niveles de proteínas séricas como forma de evaluación del calostrado de los terneros. Para esto, se obtuvieron 4 cc de sangre por venopunción yugular a los 3 días de edad. Los valores considerados para la calificación del calostrado fueron malo: menores a 5 g/dl; medio: 5,1 a 5,5 g/dl y bueno: mayores a 5,6 g/dl. Se extrajo materia fecal (MF) a los 3, 5, 7, 10, 14, 17, 21, 24, 27, 30, 35, 42, 49, 56, 63 y 70 días de vida para remitir al Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas del INTA Castelar para la detección de Antígenos virales. Para Rotavirus (RV) se utilizó un ELISA doble captura o sándwich en materia fecal desarrollado en el INTA Castelar, con modificaciones menores. Se utilizaron placas de 96 pocillos (Maxisorp, Nunc®) que fueron sensibilizadas con 100 ul de una dilución 1/5000 en buffer carbonato-bicarbonato (pH 9.6) de suero hiperinmune anti RV grupo A obtenido en cobayos (captura positiva) o suero normal de cobayo (captura negativa) e incubadas a 4°C durante toda la noche. Luego de 4 lavados con el buffer (PBS-Tween20 0.05%, pH: 7.4), se adicionaron sobre cada captura diluciones en 1/10 de las muestras de MF a analizar. Como controles positivos y negativos se

utilizaron MF bovinas previamente identificadas como tales por ELISA. Se consideraron positivas, aquellas muestras cuya absorbancia en los pocillos de captura positiva, fuera mayor a la media aritmética de la absorbancia de los pocillos blanco (2 réplicas con PBS) más 3 desvíos estándar. La detección del coronavirus (CoVb) en muestras de MF fue realizada mediante una técnica de ELISA indirecto (técnica con captura monoclonal). Se sensibilizaron placas de ELISA de 96 pocillos fondo plano (Maxisorp, NUNC) con 4 anticuerpos monoclonales desarrollados contra la cepa DB2 de CoVB e incubadas a 4 °C durante toda la noche. Se sembraron las muestras más los controles, se dejaron incubar durante 1 hora a 37°C y se lavaron 4 veces con PBS-Tween 0.05%. La absorbancia fue leída a 405 nm (A405 nm) (lector de ELISA, Multiskan Ex, Lab Systems®). Se consideraron positivas aquellas muestras cuya absorbancia en los pocillos de captura positiva fuera mayor a la media aritmética de la absorbancia de los pocillos blanco (2 réplicas con PBS) más 3 desvíos estándar.

Como resultado, en el test de calostrado, todos los terneros obtuvieron valores superiores a 6 g/dl de proteínas plasmáticas al tercer día de vida, por lo que podemos inferir que los 12 animales resultaron bien calostrados. La densidad del calostro suministrado fue variable: 1/12 fue malo (< 1.040), 3/12 medio (entre 1.040 y 1.050) y los 8 restantes buenos. De las muestras de materia fecal analizadas todas resultaron negativas para coronavirus tipo A.

De los 12 animales analizados sólo 2 resultaron en todos sus muestreos negativos a Rotavirus tipo A. De éstos dos uno de ellos recibió calostro de mala calidad (1.035) y el otro de buena calidad (1.080). El resto resultó positivo en al menos uno de los muestreos a Rotavirus. Seis de los animales dieron resultados positivos durante la primer semana de vida, en uno de ellos se detectó al 3° día de vida, en 3 se detectó al 5° día y en los dos restantes al 7°. En los otros cuatro terneros se detectó en los muestreos del día 10 y 14 de vida. Uno de los terneros en el que se detectó Rotavirus en el día 5 continuó siendo positivo hasta el día 24 (último muestreo analizado hasta el momento).

	Score Materia Fecal	
Rotavirus	1 – 2	3 -4
Positivo	17	4
Negativo	18	7

Tabla 1: Relación entre Score de Materia Fecal y presencia de Antígenos virales de Rotavirus tipo A.

De las 46 muestras de materia fecal analizadas 21 resultaron positivas a Rotavirus y de éstas, solo 4 presentaban diarrea (SMF 3 o 4). De las 25 negativas, 7 presentaban materia fecal diarreica. Éstos resultados sugieren que la presencia de algún agente microbiano, en este caso rotavirus, y la consistencia de la materia fecal no siempre están correlacionados.

Si bien el estudio es más amplio y aún restan los resultados de otros análisis de laboratorio, se puede observar que a temprana edad los terneros pueden portar y por ende diseminar agentes como el rotavirus ya que la sola presencia de un agente viral en materia fecal no es suficiente para ser agente causal de la diarrea. Al igual que otras fuentes bibliográficas, el coronavirus parece tener una baja prevalencia. El correcto calostrado parece no influir en el hallazgo de Rotavirus en la materia fecal.

Como la diarrea es multifactorial deben considerarse e identificar aquellos factores que son favorecedores o bloqueadores de la enfermedad. Conocerlos, identificarlos y considerarlos es crucial para un tratamiento efectivo y para realizar una profilaxis eficaz y responsable.

Bibliografía

- 1- Betancourt, M.; Rodríguez, B.; Barrera, M. (2006). Coronavirus bovino: Infecciones neumointestinales. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, Vol. VII, n° 12.
- 2- García, J.; Louge Uriarte, E.; Späth, E.; Parreño, V.; Odeón, A. (2014). Circulación de Rotavirus en Establecimientos de Producción Bovina para Carne y Leche. Vet. Arg. – Vol. XXXI – N° 317.