

DETECCION DE ROTAVIRUS EN TERNEROS Y VACAS DE UNA LECHERIA DE LA REGION METROPOLITANA¹

Detection of rotavirus in calves and cows from a dairy of the Metropolitan Region

Patricio Berríos E.², Carlos Pedraza G.³, Luis Moraga B.², María Celedón V.² y
Marcos Macchiavello C.²

SUMMARY

Faecal samples from 84 adult cows and 38 calves (0–6 months of age) were analysed by the ELISA test.

Faeces from 6 calves and 3 cows were positive. Electronic microscopy observations of the positive samples, showed the presence of icosahedric particles of 65 nm, which resembled rotavirus. In addition, other particles of 35 nm, resembling astrovirus or calicivirus, were observed. Using polyacrylamide gel electrophoresis, only one out of five positive samples to ELISA showed the characteristic banding pattern of rotavirus RNA. Faecal materials, inoculated in MDBK cell cultures, were negative to other viruses.

The presence of rotavirus in calves agree with previous reports published in Chile; the detection of rotavirus in adult cows, indicates that they can act as carriers of the virus and as a probable source of infection to their offsprings or other calves.

INTRODUCCION

Las diarreas neonatales constituyen un problema en la industria ganadera, cuya prevalencia ha aumentado en los últimos años, por lo que se le considera como la causa más importante de morbilidad y mortalidad en el ganado bovino (Stair y otros, 1973 Tennant y otros, 1978).

La enfermedad provoca grandes pérdidas económicas, debido a sus efectos negativos sobre el crecimiento del animal, aumento en la tasa de mortalidad y los altos costos que significa su tratamiento y control. En los Estados Unidos de Norteamérica se perdían, en 1978, alrededor de 250 millones de dólares al año

(Acres, 1976); en Francia, en 1975, más de 500 millones de francos (Soulebot y otros, 1981).

Dentro de la etiología del síndrome diarrea, los rotavirus, junto a los coronavirus, son considerados como una de las principales causas de esta patología, en el ternero recién nacido (Pastoret y otros, 1984).

Los estudios realizados para determinar la presencia de rotavirus en bovinos adultos son escasos, en comparación con los realizados en terneros; sin embargo, recientemente ha aumentado el interés por precisar el papel de los animales adultos, como reservorio del virus y fuente de contagio para los bovinos (Kahrs, 1981).

El objetivo de este trabajo es estudiar la presencia de rotavirus en bovinos de una lechería de la Región Metropolitana.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó en 122 bovinos de una lechería, caracterizada por: ser un recinto sanitariamente aisla-

¹ Recepción de originales: 22 de diciembre de 1986.

Trabajo financiado por Proyecto A 1648–852. DIB. U. de Chile.

² Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. U. de Chile. Casilla 2, Correo 15, Santiago, Chile.

³ Estación Experimental La Platina (INIA), Casilla 439, Correo 3, Santiago, Chile.

do, condición dada por la entrada restringida de personas, autoabastecimiento de animales de reemplazo y existencia de pediluvios; contar con un sistema de producción intensivo, con una alta concentración de animales; destete precoz de los terneros; existencia de registros productivos confiables; asistencia veterinaria permanente; y poseer una dotación de 523 bovinos (52 terneros de 1 a 180 días, 207 hembras bovinas de primer a séptimo parto y 264 hembras de 6 meses a primer parto).

El manejo de los terneros consiste en mantener a las madres y sus crías, en potreros protegidos y separados del resto de la masa, hasta los 4 ó 5 días de edad, en que los terneros son destetados y trasladados a corrales techados, donde permanecen hasta la octava semana de vida bajo crianza artificial, con dieta líquida restringida y suplementación con alimento concentrado; luego, hasta los 6 meses de vida, los terneros son mantenidos en potreros de crianza, con alimentación tipo "soiling".

El muestreo se realizó en mayo y junio de 1985, obteniéndose 122 muestras fecales, provenientes de 38 terneros de 1 a 180 días de edad y de 84 hembras bovinas adultas, desde primer a séptimo parto. Las muestras fueron tratadas según procedimientos estándares (Mathieu, 1984).

La técnica de ELISA para detectar antígenos rotavirales, se realizó utilizando el kit comercial Rotazyme II, de acuerdo al procedimiento indicado por el laboratorio productor (Abbott Laboratories, 1984).

El estudio de microscopía electrónica se realizó con las muestras de positividad 3 y 4⁺, en ELISA. Las muestras tratadas se ultracentrifugaron a 80.000 x G por 1 hr; la tinción se realizó con ácido fosfotúngstico al 2% y pH 6,0 (Mathieu, 1984). Las preparaciones se observaron en un microscopio electrónico Philips 300 (Facultad de Ciencias, U. de Chile).

Con la finalidad de detectar otros virus, se empleó la línea celular de riñón fetal bovino (MDBK). La inoculación de los cultivos se efectuó según lo descrito anteriormente (Mathieu, 1984).

La electroforesis del ARN viral se realizó en el Instituto de Salud Pública de Chile (Sección Virología), utilizándose la técnica descrita por Espejo y otros (1978), con modificaciones introducidas en la técnica de diagnóstico de electroforesis del ARN viral.

RESULTADOS

En total, se detectaron 9 bovinos positivos a rotavirus mediante la prueba de ELISA.

En el grupo de terneros (38), se detectaron 6 positivos; de éstos, 4 presentaban diarrea durante el muestreo, uno había presentado diarrea 10 días antes y el restante, no tenía antecedentes de diarrea. La edad de los terneros positivos a ELISA fluctuaba entre 12 y 39 días.

En el grupo de vacas (84) se detectaron 3 positivas; éstas no presentaban diarrea en el momento del muestreo, tenían una edad aproximada de 3 años y eran de primer parto.

Mediante microscopía electrónica, en cuatro muestras se observó la presencia de partículas, de un diámetro aproximado de 65 nm y morfología icosaédrica, similar a una 'rueda de carreta', típica de rotavirus (Figura 1). En una de las muestras, se observó además la presencia de pequeñas partículas virales, de tamaño aproximado de 35 nm y de una configuración tipo estrellado (Figura 2).

En la prueba de electroforesis del ARN viral, en sólo una muestra se detectó nueve bandas de ARN, las que presentaban una movilidad electroforética característica de rotavirus.

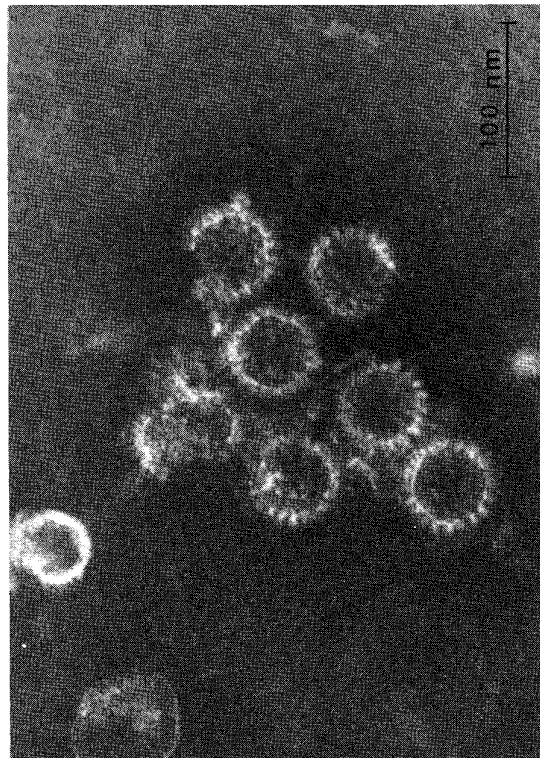


FIGURA 1. Partículas rotavirales en fecas de terneros (210.000 x).

FIGURE 1. Rotavirus-like particles in faeces of calves (210.000 x).

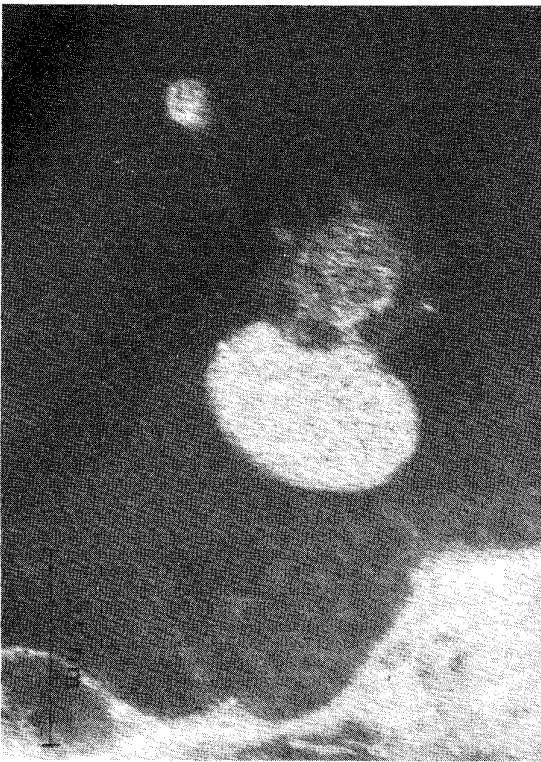


FIGURA 2. Partícula viral semejante a astrovirus o calicivirus (740.000 x).

FIGURE 2. Astrovirus or calicivirus-like particles (740.000x).

Al inocular las muestras en cultivos celulares (MDBK), no se evidenció efecto citopático en los tres pasajes realizados.

DISCUSION

El número de terneros positivos (6/38) fue menor al descrito por Mathieu (1984) en lecherías de la Región Metropolitana (15/63), Reinhardt y otros (1986) en el sur (24/146), Nuñez (1986) en lecherías de la zona central (22/77) y en estudios realizados en el extranjero (Bachman, 1979; Perrin, Solsona y Long Chambon, 1980; Schusser, Hinaidy y Bürki, 1982; Danner, 1983; Hasso y otros, 1983; Oldenburg y otros, 1984).

Esta baja positividad se podría explicar porque los terneros del plantel en estudio ingieren cantidades adecuadas de calostro, desde las primeras horas post-nacimiento hasta, por lo menos, el tercer día de vida, seguido de consumo de leche hasta los 2 meses de edad. Según Mebus y otros (1973) y Mc Nulty (1978), cuando existen hembras adultas positivas a rotavirus, probablemente la población de madres poseerá tasas de anticuerpos específicos antirotavirus, los que se

transmitirán a los terneros a través del calostro y la leche, protegiéndolos de la infección rotaviral.

Otros factores que contribuirían a mantener un bajo número de terneros positivos a rotavirus, los constituyen las medidas sanitarias y de manejo existentes en el plantel, tales como el aislamiento de las hembras gestantes en áreas de parición, la mantención de condiciones adecuadas de limpieza y desinfección de corrales y utensilios, además de una adecuada ventilación y la separación inmediata de los animales con síntomas de diarrea.

Con respecto a la edad de los terneros positivos, se observa que todos ellos tenían menos de 2 meses, lo que concuerda con los antecedentes aportados por Mebus y otros (1973) y Woode y Crouch (1984) y que se explicaría por el sistema de crianza del plantel estudiado.

Considerando que de los 38 terneros muestreados solamente 8 presentaban diarrea, el número de muestras positivas (4) en la prueba de ELISA asociadas a diarrea, es alto en relación al único caso positivo en terneros sin síntomas de diarrea. Este es un resultado esperado, de acuerdo a lo informado por Fédida y otros (1983) y Barrandeguy y otros (1985), quienes señalan la presencia de rotavirus en el 48,2% y 32% de terneros diarreicos, respectivamente.

Ciertas características de las fecas (consistencia mucóide, poco líquidas, color amarillo brillante y sin olor característico), así como la ausencia de alteraciones generales manifiestas en los terneros con diarrea, coinciden con lo descrito en la literatura, para las diarreas causadas por rotavirus en terneros (Woode y Crouch, 1984; Vallet, 1983).

La presencia de tres casos positivos a rotavirus en hembras bovinas adultas, es un hallazgo importante, ya que diversos autores han descrito la excreción asintomática de rotavirus por bovinos adultos, los que actuarían como reservorio del virus y origen de la infección para los terneros (Woode y Bridger, 1975; Woode y Crouch, 1984; Ellens, De Leew y Straver, 1979); sin embargo, Scherrer (1979) y Silerme (1981) no lograron detectar rotavirus en muestras fecales de bovinos adultos.

La observación de una partícula viral semejante a astrovirus o calicivirus, no es un hecho excepcional, ya que su asociación con rotavirus en fecas de terneros con diarrea ha sido descrita anteriormente (Woode y otros, 1984).

La detección de rotavirus en terneros y vacas adultas pertenecientes a una lechería caracterizada por buenas condiciones sanitarias y de manejo, confirma la diseminación de estos virus, y la necesidad de realizar estudios de su patogenicidad en el medio nacional.

RESUMEN

Muestras fecales de 84 hembras bovinas adultas y 38 terneros menores de 6 meses de edad, fueron analizadas mediante la prueba de ELISA.

Seis terneros y tres animales adultos resultaron positivos. La observación mediante microscopio electrónico de las muestras positivas, reveló en cuatro de ellas, la presencia de partículas de tamaño aproximado de 65 nm y morfología icosaédrica típica de rotavirus. En una de las muestras se detectó, además, la presencia de una partícula de 35 nm y morfología semejante a la descrita para los astrovirus y calicivirus. Al estudiar

estas cinco muestras en geles de poliacrilamida para la detección de ARN rotaviral, se evidenció en una de ellas la presencia de un electroferotipo característico de rotavirus.

Inoculaciones de muestras fecales en cultivos celulares MDBK, no revelaron presencia de otros agentes virales.

La determinación de hembras bovinas adultas positivas a rotavirus, indicaría que estos animales pueden comportarse como portadores sanos del virus, actuando como fuente de contagio para los terneros.

LITERATURA CITADA

- ABBOTT LABORATORIES, DIAGNOSTIC DIVISION. 1984. Rotazyme II. Rotavirus diagnostic kit. Chicago, Il. 69 p.
- ACRES, S.D. 1976. The epidemiology of the calf scours complex in Western Canada. Vet. Infect. Dis. Org., Saskatchewan University Printing Services: 2-12.
- BACHMANN, P.A. 1979. Rotavirus nachweis in faeces: Erfahrungen mit dem enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Zentralbl. Veterinärmed. B.: 835-842.
- BARRANDEGUY E., M.; CORNAGLIA M., E.; GOTTSCHALK, M.; PASINI I., M.; FIJTMAN, N.; GOMEZ YAFAL, A. y SCHUDEL A., A. 1985. Diarreas neonatales del ternero. Presencia de virus, bacterias y parásitos: Resultados preliminares. En: X Congreso Panamericano de Veterinaria y Zootecnia. Conf. y Com. Libres. Buenos Aires. Argentina. 23-27 Sept., 1985. Abs. 25.
- DANNER, K. 1983. Virus bedingte Enteritiden beim Rind. Tierärztl. prax. 11: 149-161.
- ELLENS, D.J.; DE LEEW, P.V.; and STRAVER, P.J. 1979. Recurrent rotavirus and coronavirus infections in cattle. INSERM 90: 355-359.
- ESPEJO, R.; ROMERO, P.; CALDERON, E. y GONZALEZ, N. 1978. Diagnóstico de rotavirus por electroforesis del ARN viral. Bol. Med. Hosp. Infant. Méx. 35 (2): 323-331.
- FEDIDA, M.; MARTEL, J.; PERRIN, B.; MOUSSA, A.; et COURDET, M. 1983. Enquetes épidémiologiques réalisées en France sur les diarrhées néonatales. Recl. Méd. Vét. 159: 191-201.
- HASSO, S.A.; PANDEY, R.; THAPHYAL, D.C.; and AL-SAMARRAE, S.A.G. 1983. Rotavirus infection of young calves in Iraq. Acta Virol. 27: 93.
- KAHRS, R.F. 1981. Viral diseases of cattle. Iowa State University Press. 299 p.
- MATHIEU M., C. 1984. Estudio preliminar de rotavirus bovino. Santiago. Fac. Cs. Agr. Vet. y For., U. de Chile. 66 p. (Tesis Medicina Veterinaria).
- Mc NULTY, M.S. 1978. Rotavirus. J. Gen. Virol. 40: 1-18.
- MEBUS, C.; WHITE, R.; BASS, E.; and TWIEHAUS, M. 1973. Immunity to neonatal calf diarrhea virus. J. Am. Vet. Med. Assoc. 163: 880-883.
- NUÑEZ, C. 1986. Determinación de *Escherichia coli* K99 + y rotavirus en terneros neonatos afectados de diarrea. Santiago. Fac. Cs. Vet. y Pecuarias. U. de Chile. 94 p. (Tesis Medicina Veterinaria).
- OLDENBURG, U.; BEHRENS, F.; ZIEGELMAIER, R.; and DANNER, K. 1984. Diagnose Rotavirus. Bedingter Enteritiden bei Tieren mit dem Enzygnost Rotavirus ELISA. Dtsch. Tierärztl. Wschr 91: 12-15.
- PASTORET, P.; SCHWERS, A.; VANDEN BROECKE, C.; and WERENNE, J. 1984. Epizootiology of rotavirus diarrhoea in the bovine species. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 3: 843-853.
- PERRIN, B.; SOLSONA, M. et LONG CHAMBON, D. 1980. Incidence en France du rotavirus dans les diarrhées néonatales des veaux. Bull. Acad. Vét. Fr. 53: 421-427.
- REINHARDT, G.; RIEDMANN, S.; POLETTE, M.; AGUILAR, M. y NIEDDA, M. 1986. Diarrea neonatal: infección por rotavirus en bovinos y porcinos. Arch. Med. Vet. 18: 23-27.
- SCHERRER, R. 1979. Méthodes de diagnostic des infections á rotavirus et données épidémiologiques dans: gastroentéritis néonatales du veau: Journées d'Informations de Vichy. Soc. Fr. de Buiatyrie: 107-117.
- SCHUSSER, G.; HINAIDY, B.; and BURKI, F. 1982. A follow-up study on bovine Rotavirus dissemination among calves of a large dairy herd. Microbiológica 5: 321-332.

- SILERME, J.M. 1981. Application de la technique ELISA a la detection des rotavirus dans les diarrhées néonatales du veau. Alfort. 57 p. (These Doctorat Vétérinaire).
- SOULEBOT, J.; DAUVERGNE, M.; BRNN, A.; and ESPINASSE, J. 1981. Current immunology information regarding intestinal rotavirus in calves. Journées Vétérinaires Franco-Egyptienne du Caire. 18 p.
- STAIR, E.L.; MEBUS, C.; TWIEHAUS, M.; and UNDERAHL, N. 1973. Neonatal calf diarrhea. Electron microscopy of intestines infected with a reovirus-like agent. Vet. Path. 10: 155-170.
- TENNANT, B.; WARD, D.; BRAUN, R.; HUNT, E.; and BALDWIN, B. 1978. Clinical management and control of neonatal enteric infections of calves. J. Am. Vet. Med. Assoc. 173: 654-661.
- VALLET, A. 1983. Aspects cliniques des entérites diarrhéiques néonatales des veaux. Recl. Méd. Vét. 159: 261-267.
- WOODE, G.N. and BRIDGER, J.C. 1975. Viral enteritis of calves. Vet. Rec. 96: 85-88.
- WOODE, G.N. and CROUCH, C.F. 1984. Naturally occurring and experimentally induced rotaviral infections of domestic and laboratory animals. J. Am. Vet. Med. Assoc. 173: 522-526.
- WOODE, G.; POHLENZ, J.; GOURLEY, N.; and FAGERLAND, J. 1984. Astrovirus and Breda virus infections of dome cell epithelium of bovine ileum. J. Clin. Microbiol. 19: 623-630.