

01/09/14 - Circulación de Rotavirus en Establecimientos de Producción Bovina para Carne y Leche.

Vet. Arg. ? Vol. XXXI ? N° 317? Septiembre 2014.

García, J.A.2, Louge Uriarte, E. L.1, Späth, E.J.A.1, Parreño, V.3, Odeón, A.C.1

Resumen

Rotavirus bovino grupo A (RVA) es considerado como una de las principales causas de la diarrea neonatal de los terneros (DNT) en todo el mundo. En el presente estudio se evaluó la circulación de RVA en terneros diarreicos y sin diarrea, pertenecientes a establecimientos de cría para carne y tambos. El muestreo fue no probabilístico, por solicitud de veterinarios. Durante el mismo se recolectaron un total de 128 muestras de materia fecal (n tambo= 60; n cría= 68) de terneros con diarrea (n tambo= 46; n cría= 40) y sin diarrea (n tambo= 14; n cría=28) de 1 a 30 días de vida. Los establecimientos (n tambos= 6; n cría= 5) estaban ubicados en las provincias de Buenos Aires, Santa Fe y Córdoba. La detección de antígeno de RVA fue realizada por ELISA indirecto de captura policlonal. La asociación y su significación entre la condición clínica y la detección de RVA en ambos sistemas productivos fueron analizadas por OR y la prueba de chi-cuadrado (X^2) respectivamente. La tasa de infección por RVA fue de 24,2% en el total de los terneros evaluados y de 31,4% en los terneros con diarrea. La infección por RVA estuvo asociada significativamente a la presencia de diarrea ($p = 0,006$). En los establecimientos de cría, la infección por RVA fue un factor de riesgo relevante para la presencia de diarrea en los terneros. No obstante, en terneros de tambo no se pudo establecer esta misma asociación, posiblemente debido al menor número de animales sin diarrea que fueron evaluados. La tasa de infección por RVA en terneros de cría fue mayor a la de terneros de tambo, aunque la diferencia no fue significativa. Este relevamiento demostró que RVA estuvo asociado a la DNT, tanto en establecimientos de cría como en tambos de diferentes provincias, confirmando su circulación activa en nuestros rodeos.

Palabras clave: rotavirus, diarrea, ternero.

Summary

Bovine Rotavirus Group A (RVA) is considered one of the main causes of neonatal calf diarrhea (DNT) worldwide. In the present study the circulation of RVA in calves with and without diarrhea, from breeding herds and dairy farms, were evaluated. The sampling was non probabilistic, at request of veterinarians. A total of 128 stool samples (n dairy= 60 n breeding = 68) were collected, from calves with diarrhea (n dairy=46, n breeding=40) and without diarrhea (n dairy=14, n breeding=28) of 1 to

30 days of life. Farms (n dairy= 6; n breeding = 5) were located in the provinces of Buenos Aires, Santa Fe and Cordoba. The RVA antigen detection was performed by indirect capture polyclonal ELISA. The association and its significance between the clinical condition and the detection of RVA in both production systems were analyzed by OR and chi-square (X^2) respectively. The infection rate of RVA was 24.2 % in total assessed calves and 31.4 % in calves with diarrhea. RVA infection was significantly associated with the presence of diarrhea ($p = 0.006$). In breeding, RVA infection was a significant risk factor for the presence of diarrhea in calves. However, in dairy calves this association could not be established, possibly due to the smaller number of animals without diarrhea evaluated. The rate of infection with RVA in breeding was higher than in dairy calves, although the difference was not significant. This survey showed that RVA was associated with neonatal calf diarrhea, in both breeding and dairy farms of different provinces, confirming its active circulation in our herds.

Key words: rotavirus, diarrhea, calf.

1Grupo Sanidad Animal y 2Residencia Interna Salud Animal, EEA INTA Balcarce, Argentina. 3CICVyA INTA Castelar, Argentina.

Vet. Garcia, JA. jeferesidencia@balcarce.inta.gov.ar . EEA INTA Balcarce, Buenos Aires. Ruta nacional 226, km 73,5 (7620).

Introducción

Rotavirus (RV) es un género que pertenece a la familia *Reoviridae* y es una causa importante de diarrea en animales jóvenes de diferentes especies y en humanos (Estes y Kapikian, 2007; Dhama *et al.*, 2009). En el año 1969, Mebus describe por primera vez a este virus como una causa de diarrea en terneros. Los RV, se clasifican según sus propiedades antigénicas en grupos (A ? G), subgrupos y serotipos (G y P tipos) (Estes y Kapikian, 2007; Matthijssens *et al.*, 2008). Los RV del grupo A (RVA) son los responsables, con mayor frecuencia, de infecciones en animales domésticos y humanos, como así también en animales silvestres y de laboratorio (Estes y Kapikian, 2007).

La diarrea neonatal de los terneros (DNT) es un síndrome de etiología multifactorial que involucra factores predisponentes (manejo, nutrición, inmunidad y medio ambiente) y diversos agentes infecciosos (virus y bacterias) y parasitarios (protozoos). Actualmente, RVA es considerado como una de las principales causas de DNT en todo el mundo, afectando principalmente a animales menores a 3 semanas de vida. Generalmente, el virus tiene una presentación endémica en los

rodeos bovinos y produce importantes pérdidas económicas para la producción.

Estudios previos realizados en Argentina demostraron que RVA tiene una amplia distribución en los rodeos bovinos (Bellinzoni *et al.*, 1989; Costantini *et al.*, 2002), demostrándose su presencia en más del 70% de los brotes de DNT en establecimientos de cría para carne y en más del 50% de los brotes ocurridos en tambos (Bellinzoni *et al.*, 1990; Garaicoechea *et al.*, 2006).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la circulación actual de RVA bovino en terneros con y sin diarrea, perteneciente a establecimientos de cría para carne y tambos.

Materiales y métodos

Durante el presente estudio se recolectaron muestras de materia fecal de terneros siguiendo un muestreo no probabilístico (solicitud de diagnósticos de veterinarios rurales). Un total de 128 muestras (n tambo? 60; n cría? 68) de terneros diarreicos (n tambo? 46; n cría? 40) y sin diarrea (n tambo? 14; n cría? 28) fueron analizadas. Los animales procedían de establecimientos (n tambo? 6 y n cría? 5) ubicados en las provincias de Buenos Aires (n ? 9), Santa Fe (n ? 1) y Córdoba (n ? 1). Los tambos se encontraban ubicados en las cuencas lecheras Abasto Norte (n ? 1; Buenos Aires), Oeste (n ? 3; Buenos Aires), Noreste (n ? 1; Córdoba) y Sur (n ? 1; Santa Fe). Los campos de cría estaban localizados en la cuenca del Salado (n ?4) y la Depresión de Laprida (n ?1). Las razas de los terneros de tambo incluyeron Holando Argentino y Jersey; en terneros de cría las razas fueron Aberdeen Angus y sus cruza. La edad de los animales estuvo comprendida en un rango de 1 a 30 días. Las muestras se analizaron durante el período comprendido entre los años 2007 y 2012.

La detección de antígeno de RVA bovino se realizó por ELISA indirecto de captura policlonal, siguiendo la metodología previamente descrita (Cornaglia *et al.*, 1989). Con la información obtenida se realizó un estudio de tipo transversal, analizando las asociaciones entre la detección de RVA, la presencia de diarrea y el sistema de producción. Para ello se utilizaron tablas de contingencia de 2 x 2 y la significación de la asociación se evaluó por la prueba de ji-cuadrado (X^2) para muestras independientes (Epidat 3.1; Xunta de Galicia ? OPS/OMS, 2004). El grado de asociación se estimó mediante la determinación de la razón de oportunidades (*Odds Ratio*, OR) y de su intervalo de confianza (IC) al 95%.

Resultados

Las proporciones de terneros infectados por RVA se detallan en la Tabla 1. En ambos sistemas de producción se presentaron infecciones por este virus, tanto en

terneros diarreicos como en aquellos sin diarrea. Considerando la totalidad de los terneros evaluados, la proporción de infecciones por RVA fue de 24,2%. La presencia de diarrea estuvo asociada significativamente a la infección (OR: 4,34; IC 95%, 1,4 ? 13,4; $p=0,006$; Tabla 2).

Tabla 1. Distribución de muestras positivas a RVA en terneros según condición clínica y sistema de producción.				
Sistema productivo				
Cría	40	14 (35)	28	3 (11)
Tambo	46	13 (28)	14	1 (7)
Total	86	27 (31)	42	4 (9,5)

Tabla 2. Relación entre la infección por RVA y la presencia de diarrea en terneros.			
	Nº diarreicos	Nº sin diarrea	Total
(+) RVA	27	4	31
(-) RVA	59	38	97
Total	86	42	128

Analizando cada sistema de producción por separado, en los establecimientos de cría para carne se pudo demostrar una asociación significativa entre las infecciones por RVA y la manifestación de la diarrea (OR: 4,48; IC 95%, 1,14 ? 17,52; $p= 0,022$; Tabla 3). En cambio, en terneros de tambo no se pudo demostrar tal asociación (OR: 5,12; IC 95%, 0,6 ? 43,21; $p>0.05$; Tabla 4).

Tabla 3. Distribución de las infecciones por RVA como factor de riesgo para la presencia de diarrea en terneros de cría.

	No. diarreicos	No. sin diarrea	Total
+ RVA	14	3	17
(-) RVA	26	25	51
Total	40	28	68

Tabla 4. Distribución de las infecciones por RVA como factor de riesgo para la manifestación de diarrea en terneros de tambo.

	No. diarreicos	No. sin diarrea	Total
+ RVA	13	1	14
(-) RVA	33	13	46
Total	46	14	60

Evaluando los sistemas de producción como factor de riesgo para la presencia de infecciones por RVA, la tasa de infección en cría (25%) fue mayor a la registrada en tambo (23,3%), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa (OR: 1,09; IC 95%, 0,4 ? 2,4; $p > 0.05$; Tabla 5).

Tabla 5. Frecuencia de infecciones por RVA en terneros según el sistema de producción.

	No. (+) RVA	No. (-) RVA	Total
Cría	17	51	68
Tambo	14	46	60
Total	31	97	128

Discusión

En el presente estudio se pudo determinar que RVA tiene amplia distribución y continúa siendo una causa importante de DNT establecimientos de cría bovina y tambo. Un tercio de los terneros diarreicos excretaron RVA (Tabla 1) y se pudo establecer que la infección por este virus es un factor de riesgo para la presencia de diarrea (Tabla 2). A nivel mundial, RVA es considerado como una de las principales causas de DNT (Estes y Kapikian, 2007; Dhama *et al.*, 2009) y su importancia epidemiológica responde a diferentes causas. Entre ellas se destacan su resistencia a la inactivación físico-química, la eliminación de gran cantidad de partículas virales durante la infección y la existencia de infecciones subclínicas en terneros y bovinos adultos, los cuales diseminan el virus en el medio ambiente (McNulty, 1983; Scott *et al.*, 2004).

La proporción de terneros diarreicos que excretaron RVA (Tabla 1) fue diferente (mayor, o menor) a la registrada en los trabajos realizados en otros países. En estos últimos, las proporciones de terneros con diarrea y positivos a RVA fueron de 26% (Australia, técnica de ELISA; Swiatek *et al.*, 2010), 21,1% (Austria, RT-PCR; Herrera-Luna *et al.*, 2009), 19,4% (Brasil, PAGE; Alfieri *et al.*, 2006), 42,7% (España, PAGE y ELISA; García *et al.*, 2000), 37,1% (Italia, ELISA; Falcone *et al.*, 1999), 10% (México, inmunocromatografía; Rodríguez-Limas *et al.*, 2009) y 22,6% (Suecia, ELISA; de Verdier Klingenberg *et al.*, 1999). Es importante destacar que algunos de los relevamientos mencionados utilizaron técnicas de mayor (RT-PCR) (Buesa *et al.*, 1996) o menor (PAGE) (Hammami *et al.*, 1990) sensibilidad que el ELISA, el cual fue empleado en el presente estudio.

En general, la mayoría de los relevamientos epidemiológicos no suele incluir terneros sin diarrea. Sin embargo, en nuestro estudio hubo terneros sin diarrea que excretaron RVA al momento del muestreo (Tabla 1). Estos animales representan una fuente potencial de infección para el resto del rodeo. La proporción de terneros con infección subclínica puede ser de 1,4% (Austria, RT-PCR; Herrera-Luna *et al.*,

2009), 2,2% (Brasil, PAGE; Alfieri *et al.*, 2006) y 14,3% (Swiatek *et al.*, 2010), según el país y la técnica de diagnóstico utilizada. Estos valores son menores o mayores a lo hallado en este trabajo.

Teniendo en cuenta los sistemas productivos, la infección por RVA fue un factor de riesgo relevante para la presencia de diarrea en terneros de cría para carne (Tabla 3), en los cuales se observó que hay 4,5 veces más posibilidades de que un animal positivo a RVA manifieste diarrea. Esto concuerda con un estudio previo realizado en nuestro país (Louge Uriarte *et al.*, 2011). Asimismo, también se demostró que la tasa de infección por RVA en terneros de cría con diarrea (Tabla 1) fue similar a la hallada (31,3%; 42%; 44,6%) previamente en Argentina (Bellinzoni *et al.*, 1990; Garaicoechea *et al.*, 2006; Louge Uriarte *et al.*, 2011).

En tambo no se pudo establecer la misma asociación que en cría. Si bien las infecciones por RVA fueron más frecuentes en terneros con diarrea (Tabla 4), las diferencias no tuvieron significación estadística. Esto posiblemente se debió al menor número de muestras de animales sin diarrea que fueron recolectadas en este sistema productivo. Por otra parte, un estudio previo realizado con un mayor número de terneros demostró que RVA es un factor de riesgo para la presencia de diarrea en terneros de tambo durante su crianza artificial (Louge Uriarte *et al.*, 2011).

Finalmente, la proporción de terneros infectados por RVA en terneros de cría fue mayor a la registrada en tambo (Tabla 5), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. Sin embargo, los relevamientos realizados en Argentina (Bellinzoni *et al.*, 1990; Louge Uriarte *et al.*, 2011) demostraron que la proporción de terneros de carne con diarrea positivos RVA es significativamente mayor a la hallada en terneros de tambo. Esta diferencia en el comportamiento epidemiológico del virus en rodeos de cría puede explicarse, en parte, por la mayor tasa de contacto entre los terneros recién nacidos, la estacionalidad de la parición y la menor oferta nutricional durante último tercio de gestación (Scott *et al.*, 2004).

Bibliografía

Alfieri AA, Parazzi ME, Takiuchi E, Médici KC, Alfieri AF (2006). Frequency of Group A Rotavirus in Diarrhoeic Calves in Brazilian Cattle Herds, 1998-2002. *Trop. Anim. Health. Prod.* 38, 521-526.

Badaracco A, Garaicoechea L, Rodriguez D, Uriarte E L, Odeon A, Bilbao G, Galarza R, Abdala A, Fernandez F, Parreño V (2010). Bovine rotavirus strains circulating in beef and dairy herds in Argentina from 2004 to 2010. *Vet. Microbiol.*

158, 394-399.

Bellinzoni RC, Blackhall J, Mattion NM, Estes MK, Snodgrass DR, Latorre JR, Scodeller EA (1989). Serological characterization of bovine rotaviruses isolated from dairy and beef herds in Argentina. *J. Clin. Microbiol.* 27, 2619-2623.

Bellinzoni RC, Blackhall J, Terzolo HR, Moreira AR, Auza N, Mattion N, Micheo GL, La Torre JL, Scodeller EA (1990). Microbiology of diarrhoea in young beef and dairy calves in Argentina. *Rev. Arg. Microbiol.* 22, 130-136.

Cornaglia EM, Barrandeguy ME, Fitjman N, Schudel AA (1989). Enzyme linked immunosorbent assay, immunofluorescent test and electrophoresis analysis of rotaviral RNA in the diagnosis and characterization of the bovine rotavirus. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 31, 59-62.

Costantini V, Parreño V, Barrandeguy M, Combessies G, Bardón, J., Odeón A, Leunda M, Saif L, Fernández F (2002). Rotavirus bovino grupo A: diagnóstico y caracterización antigénica de cepas circulantes en la República Argentina, 1994-1999. *Rev. Arg. Microbiol.* 34, 110-115.

De Verdier Klingenberg K, Nilsson M, Svensson L (1999). Rotavirus G-Type Restriction, Persistence, and Herd Type Specificity in Swedish Cattle Herds. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 6, 181-185.

Dhama K, Chauhan RS, Mahendran M, Malik SV (2009). Rotavirus diarrhea in bovines and other domestic animals. *Vet. Res. Commun.* 33, 1-23.

Estes MK, Kapikian AZ (2007). Rotaviruses. pp. 1917-1974. In: *Fields Virology*. Knipe, D.M., Howley, P.M., Griffin, D.E., Lamb, R.A., Martin, M.A., Roizman, B., Straus, S.E. (Eds.), 5th Ed., Vol. 2. Lippincott Williams & Wilkins/Wolters Kluwer, Philadelphia.

Falcone E, Tarantino M, Di Trani L, Cordioli P, Lavazza A, Tollis M (1999). Determination of Bovine Rotavirus G and P Serotypes in Italy by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 37, 3879-3882.

Garaicoechea L, Bok K, Jones LR, Combessies G, Odeón AC, Fernández F, Parreño V (2006). Molecular characterization of bovine rotavirus circulating in beef and dairy herds in Argentina during a 10-year period (1994-2003). *Vet. Microbiol.* 118, 1-11.

García A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Orden JA, Cid D, Sanz R, Gómez-Bautista M, de la Fuente R (2000). Rotavirus and Concurrent Infections with Other Enteropathogens in Neonatal Diarrheic Dairy Calves in Spain. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 23, 175-183.

Hammami S, Castro AE, Osburn BI (1990). Comparison of Polyacrylamide Gel Electrophoresis, an Enzyme Linked-Immunosorbent Assay, and an Agglutination Test for the Direct Identification of Bovine Rotavirus from Feces and Coelectrophoresis of Viral RNAs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2, 184-190.

Herrera-Luna C, Klein D, Lapan G, Revilla-Fernandez S, Haschek B, Sommerfeld-Stur I, Moestl K, Baumgartner W (2009). Characterization of Virulence

Factors in Escherichia Coli Isolated from Diarrheic and Healthy Calves in Austria Shedding Various Enteropathogenic Agents. Veterinárni Medicína. 1, 1?11.

Louge Uriarte EL, Parreño V, Badaracco A, Garaicoechea L, Späth E, Verna AE, Leunda MR, Fernández F, Saif LJ, Odeón AC (2011). Detection of rotavirus genotypes and coronavirus among diarrheic and healthy beef and dairy calves from Buenos Aires, Conference of Research Workers in Animal Diseases (CRWAD) 2011.

Matthijnssens J, Ciarlet M, Heiman E, Arijs I, Delbeke T, McDonald SM, Palombo EA, Iturriza-Gomara M, Maes P, Patton JT, Rahman M, Van Ranst M (2008). Full genome-based classification of rotaviruses reveals a common origin between human Wa-like and porcine rotavirus strains and human DS-1-like and bovine rotavirus strains. J. Virol. 82, 3204?3219.

McNulty (1983). The etiology, pathology and epidemiology of viral gastroenteritis: Rotavirus infection in calves. Ann. Rech. Vet., 14 (4), 427-432.

Mebus CA, Underdahl NR, Rhodes MB, Twiehaus MJ (1969). Calf diarrhea (scours) reproduced with a virus from a field outbreak. University of Nebraska Agriculture Research Bulletin, 233, 1?16.

Rodríguez-Limas WA, Flores-Samaniego B, de la Mora G, Ramírez OT, Palomares LA (2009). Genotypification of Bovine Group A Rotavirus in México. Vaccine 27, 6411?4.

Scott PR, Hallg GA, Jones PW, Morgan JH (2004). Chapter 14: Calf diarrhea. pp 185-215. In: Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG. Bovine medicine diseases and husbandry of cattle. 2nd Ed. Blackwell Science.

Swiatek DL, Palombo EA, Lee A, Coventry MJ, Britz ML, Kirkwood CD (2010). Detection and Analysis of Bovine Rotavirus Strains Circulating in Australian Calves during 2004 and 2005. Vet. Microbiol. 140, 56?62.
