

bería ser tenida en cuenta cuando se establezcan estrategias de manejo y prevención de la DNT como de otras enfermedades infectocontagiosas. Además, se evidenció que existen ST circulantes con potencialidad de causar enfermedad en humanos. Desde un punto de vista epidemiológico, este escenario de resistencias podría jugar un rol importante en enfermedades zoonóticas causadas por estos microorganismos, favoreciendo la transmisión a humanos de cepas multirresistentes.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña P, Umpiérrez A, Bengoechea V, Berois M, Reolón E, Zunino P (2013) Identificación de *Escherichia coli*, Rotavirus y Coronavirus bovino asociados a la diarrea neonatal de los terneros en Uruguay. XLI Jornadas Uruguayas de Buiatría. 13 y 14 de Junio, Paysandú, Uruguay.
- Andrade GI, Coura FM, Santos EL, Ferreira MG, Galinari GC, Facury Filho EJ, de Carvalho AU, Lage AP, Heinemann MB (2012) Identification of virulence factors by multiplex PCR in *Escherichia coli* isolated from calves in Minas Gerais, Brazil. Trop Anim Health Pro 44:1783-1790.
- Clinical Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100-S16E. Constable PD (2004) Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. J Vet Inter Med 18:8-17.
- Lorenz I, Fagan J, More SJ (2011) Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. I Vet JI 64:1-9.
- Margueritte JM, N, Blackhall J, Fernández F, Parreño V, Vangonzzi A, Odeón A, Combes G (2007) Diarrea neonatal en terneros de rodeos de cría: su prevención y tratamiento. El sitio Argentino de producción animal.
- Mateu E, Martin M (2001) Why is anti-microbial resistance a veterinary problem as well? J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 48:569-581.
- Ok M, Guler L, Turgut K, Ok U, Sen I, Gunduz IK, Birdane MF, Guzelbektes H (2009) The studies on the aetiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. Zoonoses Public Health 56, 94-101.
- Umpiérrez A, Acquistapace S, Fernández S, Acuña P, Reolón E, Zunino P (2014) Characterization of *Escherichia coli* associated to NCD cases in Uruguay. XVIII World Buiatrics Congress. 27 de julio - 1 de Agosto, Cairns, Australia.
- Umpiérrez A, Acquistapace S, Oliver M, Fernández S, Acuña P, Reolón E, Zunino P (2015a) Caracterización de *Escherichia coli* asociada a la diarrea neonatal de terneros en Uruguay. XLIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. 12 y 13 de Junio, Paysandú, Uruguay.
- Umpiérrez A, Acquistapace S, Fernández S, Oliver M, Acuña P, Reolón E, Zunino P (2015b) Prevalence of *Escherichia coli* adherence-related genes in Neonatal Calf Diarrhoea in Uruguay. J Infect Dev Ctries. Aceptado, en prensa.

DETECCIÓN DE AGENTES CAUSALES DE DIARREA NEONATAL BOVINA EN 2 TAMBOS DE COLONIA, URUGUAY

Caffarena, RD.^{1,*}, Fraga, M.¹, Castells, M.², Colina, R.², Schild, CO.¹, Riet-Correa, F.¹, Giannitti, F.^{1,3}

¹Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela, Ruta 50 km 11, Colonia (70000), Uruguay.

*Correspondencia: dccaffarena@inia.org.uy

²Laboratorio de Virología Molecular, Universidad de la República, Salto, Uruguay.

³University of Minnesota Veterinary Diagnostic Laboratory, Saint Paul, Minnesota, USA.

RESUMEN

El síndrome de diarrea neonatal (SDN) es una de las principales enfermedades en terneros de <30 días de vida. En este trabajo re-

portamos las causas detectadas en 2 brotes de SDN en terneros Holstein de 3-15 días de vida en 2 tambos de Colonia, Uruguay. Veinte muestras de materia fecal, 13 diarreicas y 7 no diarreicas, fueron procesadas para detección de Rotavirus, Coronavirus bovino, *Cryptosporo-*

ridium spp., *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* En los terneros diarreicos se detectó Rotavirus en 10/13 (76,9%), *Cryptosporidium spp.* en 8/13 (61,5%), *E. coli* en 4/13 (30,7%) y *Salmonella Typhimurium* en 1/13 (7,7%). En los terneros no diarreicos solo se detectó Rotavirus en 4/7 (57,1%) y *E. coli* en 4/7 (57,1%). Además, se detectó Rotavirus en agua de bebida en ambas guacheras estudiadas. Los resultados indican que hay varios agentes involucrados en brotes del SDN en tambos de Colonia y que el agua de bebida podría tener un rol en la transmisión de Rotavirus. Estudios más extensos son necesarios para conocer el impacto de estos agentes y del SDN en bovinos de Uruguay.

ABSTRACT

Neonatal diarrhea (ND) is a major cause of morbidity in calves up to 30 days of age. In this work we aimed to detect infectious agents in 2 outbreaks of ND in 3- to 15-day-old Holstein calves from 2 dairy farms in Colonia, Uruguay. Twenty fecal samples, 13 from diarrheic and 7 from non-diarrheic calves, were analyzed for the detection of Rotavirus, Bovine coronavirus, *Cryptosporidium spp.*, *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* In the diarrheic group we detected Rotavirus in 10/13 (76,9%), *Cryptosporidium spp.* in 8/13 (61,5%), *E. coli* in 4/13 (30,7%) and *Salmonella Typhimurium* in 1/13 (7,7%) of the calves. In the non-diarrheic group we detected Rotavirus in 4/7 (57,1%) and *E. coli* in 4/7 (57,1%) of the calves. Rotavirus was also detected in drinking water in the calves' pens in both farms. The results indicate that there are multiple agents involved in the etiology of ND in dairy calves in Colonia, and also that drinking water may act as fomite for Rotavirus. However, more investigation is needed in order to better assess the role of these agents and the impact of ND in cattle in Uruguay.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de diarrea neonatal (SDN) es una de las principales enfermedades en los primeros 30 días de vida de los terneros, representando más del 50% de las causas de muerte (USDA Dairy, 2007). El SDN es complejo y multifactorial, y puede ser causado por virus (Rotavirus, Coronavirus), bacterias (*Escherichia coli*, *Salmonella spp.*) y protozoos (*Cryptosporidium spp.*, *Eimeria spp.*) (de

la Fuente et al., 1998). Por otra parte, factores inmunitarios, de manejo, ambientales y nutricionales influyen en la ocurrencia del SDN, determinando que en algunas situaciones se manifiesta en forma de brote (Izzo et al., 2011). Aunque diversos grupos de trabajo han realizado avances en el tema en los últimos años, la información disponible en Uruguay es escasa. El objetivo de este trabajo es comunicar los agentes causales del SDN detectados en 2 brotes en rodeos lecheros del departamento de Colonia, Uruguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Antecedentes del caso, examen clínico y muestreo

Los brotes de diarrea se registraron durante septiembre del 2015 en 2 establecimientos lecheros de Colonia, Uruguay. Se realizó la revisión clínica, muestreo de materia fecal (MF) de 20 terneras Holstein de 3-15 días de vida y se recolectaron muestras del agua de bebida de las guacheras.

*ELISA de captura y observación de ooquistes de *Cryptosporidium spp.**

Todas las muestras de MF fueron sometidas a un kit comercial de ELISA de captura cualitativo (Pathasure® Enteritis 4, Biovet Inc., Canadá) para detección de Rotavirus, Coronavirus bovino, *E. coli* Kgg⁺ y *Cryptosporidium spp.* Para la observación de ooquistes de *Cryptosporidium spp.* se realizaron frotis de cada muestra de MF, que fueron teñidos con la coloración de Ziehl-Neelsen modificado (12) y auramina-fenol (8) para ser observadas bajo microscopio óptico y de epifluorescencia, respectivamente.

Bacteriología y virología

Las muestras de MF fueron sembradas en Agar MacConkey y *Salmonella-Shigella*, y se realizaron pruebas bioquímicas para identificar *E. coli* y *Salmonella spp.* Las muestras de agua, y una alícuota de todas las muestras de MF, se derivaron al Laboratorio de Virología Molecular (UDELAR Salto) para el análisis de Rotavirus (MF y agua) mediante RT-PCR cuantitativa.

Las crías estaban compuestas por 26 y 50 terneras hembras <60 días de vida, alojadas en sistema colectivo. Se les suministraba sustituto lácteo comercial mediante una amamantadora automática y ración de iniciación. Se muestrearon (n=20) terneros de 3-15 días de vida, de los cuales 13 presentaban diarrea.

Los agentes detectados con una mayor frecuencia en MF fueron *Cryptosporidium* spp. (30%, 6/20) y Rotavirus (25%, 5/20), presentándose co-infecciones con ambos agentes en 2 de los casos (10%, 2/20) (Tabla 1).

Tabla 1. Detección de enteropatógenos en las 20 muestras de heces analizadas mediante ELISA.

Agente	Cantidad	Porcentaje (%)
Sin detección	7	35%
<i>Cryptosporidium</i> spp.	6	30%
Rotavirus	5	25%
<i>Cryptosporidium</i> spp.+ Rotavirus	2	10%
Coronavirus bovino	0	0%
<i>E. coli</i> K99+	0	0%
Total	20	100%

En las MF de consistencia normal (animales sin diarrea) no se detectaron agentes causales del SDN, excepto en dos de ellas, en las que se detectó Rotavirus. A medida que au-

mentó el grado de severidad de la diarrea aumentó la probabilidad de detectar un agente causal (Tabla 2).

Tabla 2. Detección de enteropatógenos en las muestras de heces analizadas mediante ELISA según la severidad de la diarrea.

Agente	Consistencia de las heces					
	Normal		Diarrea Moderada		Diarrea Severa	
	Cant	%	Cant	%	Cant	%
Sin detección	5	71.4	1	33.3	1	10
<i>Cryptosporidium</i> spp.	0	0	0	0	6	60
Rotavirus	2	28.6	1	33.3	2	20
<i>Cryptosporidium</i> spp.+ Rotavirus	0	0	1	33.3	1	10
Coronavirus	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i> K99+	0	0	0	0	0	0
Total	7	100%	3	100%	10	100%

En 9 de los 20 frotis de MF, se observaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp.

siendo el Rotavirus el patógeno hallado con mayor frecuencia, seguido por co-infecciones entre 2 y 3 agentes.

Bacteriología y virología

En la Tabla 3 se observan los resultados obtenidos mediante las técnicas de referencia (RT-PCR para Rotavirus bovino, y cultivos bacterianos para *E. coli* y *Salmonella* spp.),

Tabla 3. Detección de enteropatógenos en las muestras analizadas mediante RT-PCR (Rotavirus – Coronavirus), cultivo bacteriano (*E. coli* – *Salmonella* spp.) y microscopia (óptica y de epifluorescencia) (*Cryptosporidium* spp.).

Agente	Cantidad	Porcentaje (%)
Rotavirus	5	25%
Rotavirus + <i>E. coli</i>	3	15%
<i>Cryptosporidium</i> spp.+ Rotavirus + <i>E. coli</i>	3	15%
<i>Cryptosporidium</i> spp.	2	10%
<i>E. coli</i>	2	10%
<i>Cryptosporidium</i> spp.+ Rotavirus	2	10%
Sin detección	2	10%
<i>Cryptosporidium</i> spp.+ Rotavirus + <i>Salmonella</i> Typhimurium	1	5%
Total	20	100%

Las 2 muestras de agua de bebida resultaron positivas al RT-PCR para detección de Rotavirus, con cargas de 1.77E+07 y 5.05E+08 copias genómicas/L. De los cultivos de materia fecal, en 8 de los casos se identificaron colonias de *E. coli* y en uno se identificó *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (serotipificación, datos no mostrados).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los agentes hallados son los comúnmente involucrados en el SDN. Los resultados del ELISA fueron similares a los reportados por de la Fuente et al. en 1998, siendo de remarcar la multicausalidad del síndrome. En dos (ELISA) y cuatro (RT-PCR) de las muestras no diarreas se detectó Rotavirus; esto concuerda con lo observado por de la Fuente et al., 1998, y coincide con la presencia de eliminadores asintomáticos. Un dato interesante es la positividad de las muestras de agua, lo que sugiere una vía de contagio indirecto.

La determinación de los patotipos de las cepas aisladas de *E. coli* (genotipificación) se encuentra aún pendiente, por lo que su significancia clínica es incierta.

Este reporte indica que hay varios agentes involucrados en brotes de diarrea neonatal en tambos de Colonia. Sin embargo, son necesarios estudios más extensos que incluyan un mayor número de brotes y representen regiones geográficas más amplias para conocer el impacto de estos agentes y del SDN en bovinos de Uruguay.

BIBLIOGRAFÍA

- de la Fuente, R., García, A., Ruiz-Santa-Quiteria, J.A., Luzón, M., Cid, D., García, S., Orden, J.A., Gómez-Bautista, M., 1998. Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. *Prev. Vet. Med.* 36, 145–152.
- Izzo, M.M., Kirkland, P.D., Mohler, V.L., Perkins, N.R., Gunn, A.A., House, J.K., 2011. Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Aust. Vet. J.* 89, 167–173.
- USDA. Dairy 2007 Part II: Changes in the U.S. Dairy Cattle industry, 1991-2007. Fort Collins: USDA-APHIS-VS, CEAH; 2008. pp. 57–61.