

DIARREA NEONATAL DE LOS TERNEROS EN EL SUDESTE  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES (ARGENTINA),  
ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS, ETIOLOGICOS,  
INMUNOLOGICOS Y PATOLOGICOS

por

ANSELMO CARLOS ODEON

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Agosto 1980

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

AUTORIDADES:

RECTOR:

Profesor Dr. GUILLERMO G. GALLO

SECRETARIO GENERAL:

Odont. TOMAS FUCINI (int.)

SECRETARIO ASUNTOS ACADEMICOS:

Dr. JORGE A. BOLZAN

SECRETARIO SUPERVISION ADMINISTRATIVA:

Cdr. JUAN A. AREVALO

SRIO. DE EXTENSION CULTURAL Y DIFUSION:

Arq. JOSE MARIA MARQUINEZ

GUARDASELLOS:

Dr. PEDRO G. PATERNOSTO

PRESIDENTE DE LA COMISION CIENTIFICA:

Dr. RODOLFO BRENNER

DIRECTOR DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FISICO-QUIMICAS, TEORICAS  
APLICADAS:

Dr. ALEJANDRO J. ARVIA

DIRECTOR GENERAL DE LA ASESORIA LETRADA:

Dr. JUAN C. CURONE

DIRECTOR GENERAL DE ADMINISTRACION:

Cdar. MIGUEL A. ROSSINI

DIRECTOR GENERAL DE SEGURIDAD SOCIAL:

Dr. MIGUEL A. GONZALEZ

DIRECTOR DE SUMARIOS:

Escrib. JORGE P. GIL

DIRECTOR GENERAL DE PERSONAL:

Sr. HECTOR FERNANDEZ CORTES

DIRECTOR DE DESPACHO GENERAL:

Sr. OSCAR MARTINEZ

DIRECTORA DE TITULOS Y PLANES:

Sra. NELVA E. ROSSI de COMOGLIO

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

DECANO:

Profesor Dr. JOSE HUGO FERNANDEZ de LIGER

DECANO SUSTITUTO:

Dr. NESTOR ANGEL MENENDEZ

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS:

Dr. JORGE EUGENIO LED

SECRETARIO ADMINISTRATIVO:

Sr. OMAR HUGO RAMIREZ

DIRECTORA DE ENSEÑANZA:

Sra. HAYDEE C. REBBECCHI de PERETTO

DIRECTORA DE BIBLIOTECA:

Srta. HEBE D. PEDERNEIRA

\*\*\*\*'

NOMINA DEL PERSONAL DOCENTE

- PROFESOR TITULAR "DEDICACION EXCLUSIVA" -

<u>APELLIDO y NOMBRE</u>	<u>CATEDRA</u>	<u>CATEGORIA</u>
ANGULO Eusebia	Investigadora	Titular
CARROZA Jesús S.W.	Int.a la Biofísica	Titular-1/s/s.
DEMARCHI Raúl S.	Inmun.Gral.y Aplic.	Reemplazante
ERRECALDE Jorge E.	Microbiología	Interino
ETCHEVERRIGARAY María E.	Virología	Reemplazante
GALLO Guillermo G.	Clín.Grand.Animales	Titular-1/s/s.
MENENDEZ Néstor A.	Anat.y Fisiol.Pat.	Interino
QUINTEROS Indalecio R.	Genét. y Biometría	Titular
ZACCARDI Eduardo M.	Fisiología	Titular

- PROFESOR ASOCIADO "DEDICACION EXCLUSIVA" -

MARTIN Alcides A.	Anat.y Fisiol.Pat.	Interino
-------------------	--------------------	----------

- PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION EXCLUSIVA" -

BOCCIA Francisco O.	Clín.Pequeños Anim.	Reemplazante
IDIART Julio R.	Anat.y Fisiol.Pat.	Interino
LAGRECA Liliana	Zootec.Gral.y Agrost.	Interino
LASTA Jorge A.	Higiene Epid.y S.Púb.	Interino
MONINA Marta Inés	Clín.Grand.Animales	Interino

- PROFESOR TITULAR "DEDICACION TIEMPO PARCIAL" -

AGUIRRE Walter G.	Microb.Especial	Titular
ALBERDI Cecilio	Tec.y Sanid.Aliment.	Interino
ANDREATTA Jorge N.	Semiología y Proped.	Interino
ARGERI Nelson J.	Análisis Clín.I y II	Reemplazante
BERTOLINI José M.	Anatomía Comparada	Interino
DELPRATO Ismael O.	Anat.Descript.y Top.	EMERITO
GODOY Juan C.	Zootec.Espec. I Pte.	Interino
JENSEN Alicia D.	Bioestadística	Interino
GIMENO Emilio J.	Higiene Epid.y S.Púb.	Titular
LED Jorge E.	Parasit.y Enf.Paras.	Interino
OCHOA Mario E.	Director Inst.Sta.Cat.	Interino
OTTINO Julio F.	Histología Normal	Interino

///

PRACCA Lydia C.	Clín.Peq.Animales	Titular
RODRIGUEZ Benjamín R.	Zootec.Espec.II Pte.	Interino
TESORIERO Catalina	Física y Quím.Aplic.	Reemp.(1/s/s.)
TORRES Jorge F.	Int.a la Bioquímica	Interino

- PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION TIEMPO PARCIAL" -

BRANDETTI Eugenio	Anat.y Fisiol.Pat.	Interino
CHAMPREDONDE Hugo N.	Patología General	Interino
DURANTE Eduardo J.	Patolog.Quirúrg.y Pod.	Inter-1/s/s.
ERRECALDE Jorge O.(h.)	Farmacol.Farm.y Terap.	Interino
FERNANDEZ Enrique J.	Microbiología	Interino
GOMEZ Carlos M.	Inmunología II	Interino
MAGGI Nilda B.	Serv.Central de Cirug.--Reemplaz.	
MAROTTA Eduardo G.	Zootec.Especial I Pte.	Interino
MARTINO Juan J.	Microbiología	Titular
MERLINI José C.	Patol.Reprod.y Obst.	Interino
NOIA Miguel A.	Introd.a la Biofísica	Interino
ORTEGA César F.	Semiología y Proped.	Interino
PENNIMPEDE María T.del A.	Tecnolog.y Sanid.Alim.--Interino	
PIOVANO Nicolas M.	Introd.a la Bioquímica	Interino
REINOSO Enso M.	Micol.Médica e Indust.--Reemplaz.	
RUAGER Jorge	Anat.y Fisiol.Patológ.	Interino

- PROFESOR TITULAR "DEDICACION SIMPLE" -

AGUIRRE Walter G.	Microbiol.Aplicada	Titular
ALBERDI Cecilio	Tecnol.y Sanid.Alim.	Interino
CARROZA Jesús S.W.	Introd.a la Biofísica	Titular
ERRECALDE Jorge E,	Enfermedades Infec.	Interino
HARISPE Carlos M.	Enfermedades Infec,	EMERITO
ISEAS Fortunato B.	Patología Médica	Interino
MALIANDI Florestán S.	Parasitología Comp.	Interino
MANZULLO Alfredo	Inmunología I	EMERITO
MANZULLO Alfredo	Inmunología II	EMERITO
MARTINO Olindo A.L.	Salud Pública	Interino
OSTROWSKI Jorge E.B.	Patol.Reprod.y Obst.	Interino

///

///

PANZONI Erico E.	Economía Agraria	Titular
PEROTTI Rodolfo	Zotec.Espec. III Pte.-	Titular
RUAGER Jorge	Patología General	Interino
SARACHU Alberto N.	Genética Microbiana	Interino
SCIAMMARELLA Alfredo M.	Medicina Operatoria	Interino
TORRES Jorge F.	Físic.y Químic.Aplic.-	Reemplaz.
TOUCEDO Guillermo A.	Patolog.Quirúrg.y Pod.-	Titular

- PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION SIMPLE" -

BACIGALUPO Néstor R.	Tecnol.y Sanid.Alim.-	Interino
BAIGUN Roberto	Patolog.Reprod.y Obst.	Interino
BRANDETTI Eugenio	Parasit.y Enferm.Par.	Interino
DIBBERN Alberto R.	Zotec.Especial II Pte.	Interino
FERNANDEZ de LIGER José H.	Clín.Grandes Animales	Titular
FINOCHIETTO Héctor D.	Patología Médica	Interino
GAMBOA Rogelio A.	Clínica Grand.Animal.	Interino
GRILLO Virginia E.	Zotecn.Especial III Pte.-	Interino
LASTA Jorge A.	Microbiol.Aplicada	Interino
MALIANDI Florestán S.(h.)	Higiene Epid.y S.Púb.	Interino
MIRANDA Manuel F.	Tecnolog.y Sanid.Alim.	Interino
MOISO Alejandro C.	Microbiología	Titular
MORELLI Héctor A.	Zotec.Espec. III Pte.	Titular
NOVARINI Miguel A.	Farmac.Farmac.y Terap.	Interino
OLIVA Graciela A.	Virología	Interino
PENNIMPEDE Enrique F.F.	Inmunología I Pte.	Interino
PENNIMPEDE Enrique F.F.	Inmunolog.Gral.y Aplic.	Interino
ROJAS Edmundo R.	Fisiología	Interino
RUTTER Bruno	Patolog.Reprod.y Obst.	Interino
TARSIA Elba E.	Introd.a la Biofísica	Int.-l/s/s%
VENTURINI Lucila M.	Parasit.y Enferm.Paras.	Interino
VILLAR Marta E.	Análisis Clínicos I Pte.	Int.
VILLAR Marta E.	Análisis Clínicos II Pte.	Inter.

- JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDIC.EXCLUSIVA" -

BASCHAR Héctor O.	Clín.Grand.Animales	Interino
FONROUGE Reinaldo D.	Hig.Epidem.y S.Púb.	Interino

///

///

RONSINO Roberto O.	Sección Radioisótopos - Interino
TEJEDOR Eugenio D.	Genét.y Biometría Interino

- JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDICACION TIEMPO PARCIAL" -

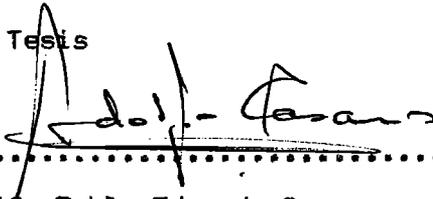
ALIVERTI Héctor M.	Zootec.Especial II Pte.-Interino
AMASINO Carlos F.	Enfermedades Infec. Interino
AULICINO Oscar O.	Tecnolog.y San.Alim. Interino
BABUSCI Máximo	Fisiología Interino
BAMBILL Emilia C.	Zootec.Espec, I Pte. Interino
BARDON Juan C.	Patología Médica Interino
BERNAGOZZI Jorge A.	Inmunolog.Gral.y Aplic. Interino
BISCHOFF Jorge R.	Genét.y Biometría Interino
BLANCO Juan C.	Patol.Rep.y Obstet. Interino
BUGALLO Antonio	Patología General Interino
BUGALLO Antonio	Farmac.Farmac.y Terap. Interino
BUSTOS Enrique F.	Inmunología Gral.y Aplic. Interino
CARBONE Cecilia	Animales de Laboratorio Interino
CASTUMA María E.	Introd.a la Bioquímica. Interino
COLL CARDENAS Ernesto	Introd.a la Biofísica Interino
DE ANTONI Graciela L.	Genética Microbiana L/s/s.
del CASTILLO Federico C.	Histología Normal Interino
DRAGONETTI Ana María	Clínc.Peq.Animales Interino
FELDMAN Raquel E.	Parasitología Comp. Interino
FERNANDEZ de LIGER José H. (h.)	Patología Médica Interino
FORNER Jesús J.A.	Tecnol.y Sanid.Aliment. Interino
FREGOSI Mario O.	Anatomía Descript.y Top. Interino
FRIGOLI Alicia E.	Introd.a la Biofísica Interino
FUENTES Leticia S.	Introd.a la Biofísica Interino
GARCIA VALENTI Horacio N.	Zootec.Espec. II Pte. Interino
GIANOTTI Ricardo S.	Tecnolog.y Sanid.Aliment. Interino
GIMENO Eduardo J.	Anatomía y Fisiolog.Patol. Interino
GIMENO Eduardo J.	Patología General Reemplaz.
GOITIA Oscar F.	Patolog.Reprod.y Obstet. Reemplaz.
GRIGERA Fernando	Fisiología Interino
GUAJARDO Margarita H.	Introd.a la Bioquímica Interino

///

DIARREA NEONATAL DE LOS TERNEROS EN EL SURESTE  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES (ARGENTINA)  
ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS, ETIOLOGICOS,  
INMUNOLOGICOS Y PATOLOGICOS

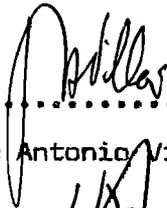
Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar el grado académico de Doctor en Ciencias Veterinarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, llevado a cabo en la Unidad de Investigaciones en Patología Animal de la EERA-INTA-Balcarce.

Director de la Tesis



.....  
Dr. Adolfo Pablo Eduardo Casero

Asesores



.....  
Dr. Jorge Antonio Villar



.....  
Dr. Horacio Raúl Terzolo

Agosto, 1980

### III

#### AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi sincero agradecimiento a:

- . Dr. A.P.E. Casero
- . Dr. J.A. Villar
- . Dr. H.R. Terzolo
- . Dr. N.G. Marchevsky
- . Ing. Agr. S.A. Vulich
- . Bioq. E.C. de Bobbi
- . "Tres Cardos" S.A.
- . y de manera muy especial a todas las personas que de una u otra manera han colaborado con la ejecución de este trabajo.

I. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

1. Epidemiología:

1.1. Incidencia e importancia económica.

1.2. Importancia del medio ambiente.

1.2.1. Manejo del rodeo.

1.2.2. Factores nutricionales.

2. Factores inmunológicos: Calostro e Inmunoglobulinas.

2.1. Transmisión de la inmunidad pasiva de la vaca al ternero.

2.2. Absorción de las inmunoglobulinas.

a) Duración de la absorción intestinal.

b) Lugar de la absorción.

c) Mecanismo de absorción.

2.3. Agamaglobulinemia.

2.4. Acción del calostro.

3. Agentes etiológicos

3.1. Escherichia coli

3.1.1. Suceptibilidad del huésped.

3.1.2. Tipos de cepas.

3.1.3. Patogenia.

a) Forma septicémica.

b) Forma enteropatógena.

3.1.4. Toxinas.

3.1.5. Métodos de diagnóstico.

3.2. Virus y Diarrea Neonatal.

3.2.1. Rotavirus.

3.2.1.1. Susceptibilidad del huésped.

3.2.1.2. Patogenia.

3.2.1.3. Infecciones mixtas.

3.2.1.4. Métodos de diagnóstico.

3.2.2. Coronavirus:

3.2.2.1. Susceptibilidad del huésped.

3.2.2.2. Patogenia.

3.2.2.3. Diagnóstico.

3.3. Otros agentes etiológicos.

3.3.1. Virus.

3.3.2. Bacterias y hongos.

3.3.3. Protozoarios.

4. Sintomatología.

5. Alteraciones patológicas.

5.1. Lesiones anatomopatológicas.

5.2. Lesiones histopatológicas.

5.2.1. Lesiones debidas a E. coli.

5.2.2. Lesiones causadas por rotavirus.

5.2.3. Lesiones causadas por rotavirus y E. coli asociados.

5.2.4. Lesiones debidas a coronavirus.

6. Cambios fisiopatológicos.

6.1. Trastornos entéricos.

6.1.1. Hipermotilidad.

6.1.2. Permeabilidad aumentada.

6.1.3. Hipersecreción.

6.1.4. Alteraciones de la digestión y absorción.

6.2. Alteraciones de medio interno.

6.2.1. Cambios en el volumen de líquidos corporales

6.2.2. Acidosis y cambios en la concentración de electrolitos.

6.2.3. Cambios metabólicos y hormonales.

7. Medidas terapéuticas.

8. Profilaxis.

II. OBJETIVOS

III. MATERIALES Y METODOS

1. Establecimiento y grupos experimentales
2. Colección de muestras
3. Determinación de Agentes Etiológicos
  - 3.1. Identificación de partículas víricas
  - 3.2. Determinación de anticuerpos contra virus parainfluenza 3 (PI<sub>3</sub>) y diarrea vírica bovina (BVD)
  - 3.3. Aislamientos bacterianos
4. Determinación de Proteínas e Inmunoglobulinas séricas.
5. Necropsias y toma de muestras para estudios histopatológicos.

IV. RÉSULTADOS

1. Datos Epidemiológicos
2. Determinación de agentes etiológicos
  - 2.1. Identificación de partículas víricas al microscopio electrónico.
  - 2.2. Serología de virus parainfluenza 3 (PI<sub>3</sub>) y diarrea vírica bovina.
  - 2.3. Aislamientos bacterianos
  - 2.4. Pruebas de enteropatogenicidad
3. Hallazgos anatómicos e histopatológicos
  - 3.1. Necropsias
  - 3.2. Histopatología
4. Determinación de Inmunoglobulinas séricas

V. DISCUSION

VI. CONCLUSIONES

VII. GRAFICOS, CUADROS Y FIGURAS

VIII. BIBLIOGRAFIA

RESUMEN

Con el objeto de describir la epidemiología y patología, determinar la etiología y comparar niveles de Ig entre terneros sanos y enfermos de Diarrea Neonatal, fue realizado el estudio de los brotes producidos en un establecimiento de cría del sur de la Provincia de Buenos Aires durante los años 1977, 1978 y 1979. Se registró el número de casos diarios producidos en cada potrero durante toda la época de parición, se determinó el número de vientres y carga animal instantánea; se tomaron muestras de sangre, materia fecal y se realizaron necropsias.

La iniciación de la onda epizootica coincidió aproximadamente en fecha en los tres años estudiados. Los brotes comenzaron luego de haber nacido alrededor de un 30 % de los terneros, a unos 20 días de iniciada la parición. Los terneros enfermaron entre los 6 y 16 días de vida. La onda presentó un pico máximo de prevalencia aproximadamente al vigésimo día, para luego declinar en forma suave y finalizar a los 35-40 días de iniciado. La incidencia de los brotes fue del 36.7% en 1977, 45.7% en 1978 y 27.9% en 1979.

La incidencia en los distintos potreros varió de un 12.3 % hasta un 72.2 %, no encontrándose relación entre ésta y la carga animal.

Por microscopía electrónica se determinó la presencia de partículas víricas similares a Rotavirus en el 64 % de los terneros enfermos. Se hallaron infecciones simples y mixtas de Rotavirus y cepas enterotoxigénicas de Escherichia coli en terneros enfermos.

No se encontraron diferencias significativas en los niveles de inmunoglobulinas séricas de terneros sanos y enfermos.

Las lesiones anatómicas e histopatológicas halladas fueron manifiestas; histopatológicamente fue evidente una marcada disminución en la longitud de las vellosidades intestinales, adherencia de vellosidades adyacentes y reemplazo de las células epiteliales cilíndricas por cúbicas.

## VIII

### SUMMARY

Neonatal Calf Diarrhoea outbreaks were studied in a ranch situated in the south of the Buenos Aires province, during 1977, 1978 and 1979. The objective was to describe the epidemiology and pathology of the disease, to determine etiology and to compare immunoglobulins levels between diseased and healthy calves.

Daily cases were registered in each of paddocks during calving time; number of cows and stocking rate was determined; fecal material was collected and necropsies were performed to collect specimens for etiologic purposes.

Epizootic outbreak began at approximately the same date in all three years and when around 30 percent of the calves were born. This happened approximately after 20 days following the first calf born. Calves got the disease between day 6 and day 16 of life. Maximum prevalence peak was attained at day 15, decline smoothly afterward and ended at day 35-40. Calves affected accounted for 36.7 % in 1977; 45.7 % in 1978, and 27.9 % in 1979.

Calf scour incidence in the different paddocks varied between 12,3 up to 72,2 per cent and was not correlated with stocking rate.

By means of electronic microscope viral particles were found in 64 per cent of diseased calves. Particles were similar to Rotavirus. Single and compound infections of Rotavirus and enterotoxigenic strains of Escherichia coli were found in sick calves.

Gross and histopathologic lesions were evident. Shortening of villi was prominent; sticking between neighbour villi were found accompanied by replacement of epithelial cylindrical cell by cubic cells.

## I) INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

La prevalencia de diarrea neonatal es la causa más importante de morbilidad y mortandad de terneros. La información disponible en la Unidad de Investigaciones en Patología Animal de la EERA-INTA-Balcarce, la revela como la enfermedad que causa mayores pérdidas en terneros menores de un mes de vida. Su incidencia parece ir en aumento en los últimos años, especialmente en nuestros rodeos de cría. Las razones de este aumento no se pueden comprender totalmente aunque la intensificación en los métodos de producción, en algunos establecimientos, evidentemente ha sido un factor contribuyente.

El síntoma de diarrea por sí mismo no es indicativo de la presencia de determinado agente etiológico, ya que varios enteropatógenos son capaces de actuar aisladamente o en forma conjunta dando la misma sintomatología. La etiología de la diarrea neonatal de los terneros (DNT) es compleja; es importante considerar además de los agentes infecciosos, factores nutricionales, inmunológicos del medio ambiente que están muy relacionados con su aparición (Acres y cols. 1977). Los primeros investigadores consideraron a Escherichia coli como causa primaria de la enfermedad basándose en el hallazgo de cantidades aumentadas de esta bacteria en el intestino. Sin embargo, hace unos años se ha demostrado que un limitado número de cepas de E. coli pueden actuar como enteropatógenos primarios (Smith y Halls, 1967).

A partir de los descubrimientos de Mebus a fines de la década del 60, quien demuestra la presencia y acción de distintos tipos de virus (Rotavirus y Coronavirus) en la diarrea neonatal, se ha abierto un nuevo camino en el estudio de la etiología.

Terneros enfermos de un mismo rodeo probablemente alberguen diferentes agentes infecciosos. Por lo tanto, el diagnóstico de la enfermedad debe basarse en el examen de muchos terneros, debiendo incluirse la determinación de múltiples agentes en cada caso. Sin embargo, aunque varios agentes enteropatógenos han sido aislados de terneros diarreicos, la relativa importancia de cada uno de ellos aún no ha sido bien establecida (Acres y cols. 1977; Moon y cols. 1978).

Los sistemas de manejo intensivos aumentan la tasa de contacto entre los animales y, por lo tanto, la difusión de cualquier tipo de enfermedad infecciosa es rápida. Por otra parte, el "stress" provocado por una alta carga animal, se menciona como favorecedor de enfermedades, debido principalmente a cambios en el comportamiento del rodeo, (Bradley, J. 1976).

Un manejo inadecuado, especialmente en los últimos estadios de preñez, puede hacer variar marcadamente el contenido de inmunoglobulinas que tendrá el calostro. Esto es de suma importancia, ya que el calostro es la única forma por la cual los terneros reciben anticuerpos protectores, y porque está demostrado que la mayoría de los terneros que mueren con diarrea son hipó o agammaglobulinémicos. Bajos niveles de inmunoglobulinas también pueden deberse a que el ternero no ha tomado calostro inmediatamente luego del parto, o si lo ha hecho, no fue en cantidad suficiente.

El calostro cumple su función protectora de dos formas, a nivel de la mucosa intestinal mediada principalmente por la inmunoglobulina (Ig) A, y a nivel de la circulación general por medio de las Ig G e Ig M principalmente.

Los trastornos en la alimentación y sus consecuentes trastornos gastroentéricos, están bien documentados en crianza artificial de terneros de tamba, sin embargo no se conocen sus causas y consecuencias en rodeos de cría.

La evolución clínica y fisiopatológica de la diarrea neonatal ha sido estudiada por numerosos autores, Tennant y cols. (1978); Moon (1974); Fisher y Martínez (1975); Lewis y Phillips (1978). Grandes pérdidas de agua, sodio, cloruros, bicarbonato y potasio ocurren durante la misma. La pérdida de agua es principalmente del espacio intercelular, en casos graves puede ocurrir shock hipovolémico. La acidosis es el resultado de las pérdidas de bicarbonato y disfunción renal. Por la aumentada concentración plasmática de potasio se observa sintomatología de debilidad y letargo observados en los terneros moribundos.

La histopatología de la diarrea neonatal de los terneros está poco documentada, quizás por el no muy valioso aporte que ésta brinda al carecer de lesiones significativas (Pearson 1977). Por ello es indudablemente de mucho más valor la aplicación de técnicas como microscopía electrónica en su estudio; por medio de ella se han podido establecer lesiones celulares, presencia de virus en las células de las vellosidades del intestino delgado, en materia fecal de animales enfermos y cepas de Escherichia coli adheridas a las microvellosidades celulares.

Ante esta amenazante enfermedad, el manejo del rodeo, en cuanto a nutrición, aislamiento, sanidad, y tratamientos son los únicos caminos a tomar. Desafortunadamente, aún el rodeo mejor manejado tiene un límite efectivo en la prevención de la diarrea. Por otra parte, los tratamientos son caros y nunca garantizan que los terneros afectados sobrevivan ya que no eliminan los efectos del agente etiológico (Loosmore y cols. 1966).

## 1. Epidemiología.

1.1. Incidencia e importancia económica: La estadística revela que en E.U.A. la diarrea neonatal (DN) causa mayor cantidad de muertes que el resto de las enfermedades que pueden afectar a los terneros, considerándose la principal amenaza para los sistemas de producción de cría y tambo. De 40 millones de terneros nacidos al año, aproximadamente un 10 % puede perderse a causa de una infección entérica, siendo económicamente más importantes aquellas que se producen entre los 7 y 10 días de vida (Tennant y Cols, 1978). Según datos de House (1978), en E.U.A. durante el período 1970-76, la pérdida de terneros fue estimada en U\$S 95.500.000/año, estando divididos según su incidencia para los agentes etiológicos más importantes en: 55 millones de dólares anuales debidos a Escherichia coli, 25 millones de dólares debidos a coronavirus y 10 millones de dólares de pérdidas anuales debidas a rotavirus.

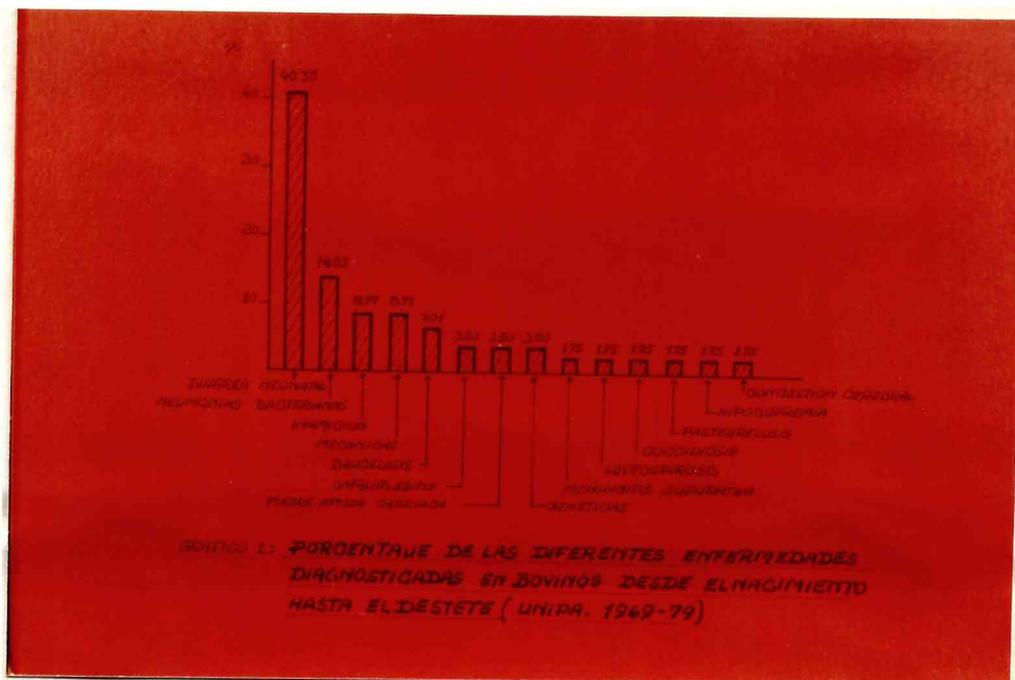
Estudios realizados en Canadá por Acres y Cols (1977) dan una prevalencia de cepas enteropatógenas de E.coli y rotavirus en establecimientos con problemas de diarrea neonatal del 62 % y 10 % respectivamente en terneros enfermos menores de 5 días. En terneros enfermos entre 5-10 días la prevalencia de E. coli enteropatógenos fue del 8 % y rotavirus del 40 %.

Un estudio serológico realizado sobre 654 vacas y sus terneros en tres rodeos, reveló que entre el 2 y 37 % de los individuos del grupo tenían bajos títulos en rotavirus siendo probablemente susceptibles a padecer una infección (Woode, 1978).

Estos hallazgos confirman que infecciones simples y mixtas son comunes en terneros con diarrea, aunque también la presencia de terneros con diarrea "no infectados" probablemente indique que parte de esos casos pueden estar causados por procesos no infecciosos o procesos infecciosos aún no diagnosticables (Acres y Cols, 1977).

Si bien en la República Argentina no se lleva una estadística al respecto, la información obtenida en la Unidad de Investigaciones en Patología Animal del INTA de Balcarce, en un período de 10 años (1969-1979) revela que la diarrea neonatal debe considerarse como la enfermedad de mayor importancia de los bovinos entre el nacimiento y un mes de vida.\*

Según las estadísticas de esta Unidad la diarrea neonatal es responsable del 40.35 % de casos tomados de terneros menores de un mes, estando por sobre el resto de las otras enfermedades diagnosticadas. (Gráfico 1).



\* Datos no publicados

Se ha determinado la presencia de rotavirus y coronavirus en brotes naturales de DN en establecimientos de cría del sudeste de la provincia de Buenos Aires, lográndose reproducir experimentalmente la enfermedad en terneros, con filtrados de materia fecal libres de bacterias, tomados de animales enfermos (Zoratti y cols. 1977; Zoratti, 1979).

## 1.2. Importancia del medio ambiente

1.2.1. Manejo del rodeo. La bibliografía al respecto es pobre, especialmente referida a establecimientos de cría. Existe el concepto que en sistemas de manejo con alta carga animal instantánea, en los cuales hay un pico de parición concentrado, se consigue que en determinados momentos la cantidad de terneros susceptibles es grande y la aparición de un brote de una afección entérica toma características explosivas.

Con la incorporación de hembras gestantes al rodeo, se pueden introducir cepas de E. coli y virus no presentes hasta ese momento en el medio. Lo más probable que ocurra es que los terneros nacidos de esas madres recién incorporadas reciban inmunidad por calostro para las nuevas cepas, y a su vez, sean transmisores de estos microorganismos a los terneros nativos; los cuales lógicamente no han recibido inmunidad pasiva contra las nuevas cepas. Por el contrario, al ternero de una vaca recién introducida es susceptible a las infecciones nativas al carecer de inmunidad específica contra ellas. En este caso los terneros de las nuevas vacas serán los primeros en enfermar (Loosmorey y cols. 1966; Roy 1972).

1.2.2. Factores nutricionales: Las alteraciones gastroentéricas causadas por trastornos en la alimentación son bien conocidas en sistemas de crianza artificial de terneros de tambo, pero no así en producciones de cría en forma extensiva. Se cree que el medio ambiente y los factores nutricionales juegan un importante rol en la aparición

de diarrea neonatal. Sin embargo, según Wray y Thomlinson (1975), se han realizado pocos estudios para determinar la ecología de los agentes infecciosos en relación con los factores de manejo y aparición de la enfermedad.

Hay información de casos de enteritis de terneros de cría que ocurren generalmente de vacas que paren en una época del año en que hay crecimiento de las pasturas (Loosmore y Cols, 1966). Esto puede estar relacionado con la excesiva riqueza de la leche en elementos nitrogenados (Roy, 1972).

Se ha considerado a la sobrealimentación como un factor iniciador de diarreas por predisponer a la formación, en el abomaso, de un coágulo de leche demasiado grande como para ser digerido pasando parcialmente digerido al yeyuno e íleon. Este pasaje provee un sustrato favorable para el desarrollo bacteriano en las porciones anteriores del intestino delgado, que tendría como consecuencia una irritación intestinal, cambios químicos, aumento de la presión osmótica y diarrea (Loosmore, y Cols, 1966).

Recientes trabajos indican que después del período calostrual pueden administrarse grandes cantidades de leche entera de buena calidad sin que se produzca necesariamente diarrea y sin que pase al duodeno una excesiva cantidad de proteína no digerida.

Está en discusión el hecho de que el déficit de vitamina A desempeñe un papel específico como causa de diarrea. Trabajos citados por Fey (1972) señalan la relación existente en carotenos en los pastos y presencia de diarrea. Esta última tiene mayor incidencia con bajos niveles de caroteno en los pastos y suero de las madres. Bajos niveles séricos en las madres condicionarían bajos niveles de vitamina A en el feto y calostro durante los meses de invierno. Como también

la vitamina A es importante en el crecimiento y desarrollo del feto, de su carencia pueden depender en parte, el nacimiento de terneros chicos o débiles. Muchos terneros enfermos tienen bajas concentraciones de vitamina A (comparables a la fetal), sin haber correlación significativa entre su baja concentración y las infecciones específicas. Estos bajos valores sólo tienden a correlacionarse con niveles, igualmente bajos, de inmunoglobulinas séricas, pudiendo ser el resultado de una pobre absorción intestinal (Moon y Cols, 1978). La suplementación de vitamina A a las madres en el período preparto o la administración a terneros no ha demostrado brindar protección alguna contra procesos infecciosos (Roy, 1972).

## 2. Factores Inmunológicos:

### Calostro e Inmunoglobulinas

Desde hace años se sabe que para evitar la ocurrencia de muchas enfermedades infecciosas es necesaria la toma de calostro prontamente y en suficiente cantidad luego del nacimiento (Logan y cols. 1974, b).

#### 2.1. Transmisión de la inmunidad pasiva de la vaca al ternero.

Durante los últimos estadios de la gestación la glándula mamaria concentra las inmunoglobulinas (Ig) plasmáticas para luego transferirlas pasivamente a su cría por el calostro (Tennant y Cols, 1978). El mismo posee anticuerpos contra todos los antígenos para los cuales la madre ha desarrollado previamente inmunidad. La concentración de inmunoglobulinas en el calostro es unas 15 a 20 veces superior a las de la sangre materna y 75 a 100 veces superior a las que luego posee la leche.

Logan (1977) determina diversos factores que pueden hacer variar los niveles de anticuerpos que posee el calostro. Un manejo pobre tiene marcado efecto depresor en la producción de calostro en vacas de

cria, recibiendo consecuentemente sus terneros insuficiente cantidad de calostro. También pueden influir factores genéticos (Tennant y cols. 1969; Moon y cols. 1978), conformación materna, lesiones en mamas, tiempo de descanso de la ubre previo al parto (Logan, 1977), medio ambiente, época del año (Smith y cols. 1967; Moon y cols. 1978), raza (Tennant y cols. 1969) y peso al nacimiento (Logan y cols. 1977). Mc Ewan y cols., 1970 b, encuentran en general, niveles de inmunoglobulinas más altos en los terneros nacidos en verano pudiendo haber también variaciones regionales.

Aunque muchos serotipos de E. coli, algunos de ellos patógenos, son aislados comunmente de las madres, probablemente no se desarrollen suficiente anticuerpos como para que alcancen altos niveles en calostro. Esto puede deberse a poca capacidad inmunológica de algunas de esas cepas (Ward y cols. 1977).

Los dos factores más importantes que influyen en el nivel de Ig séricas adquiridas por el ternero son: una adecuada cantidad y calidad de calostro en la vaca y un rápido acceso del ternero a éste, ya que sólo es capaz de absorber eficientemente sus Ig por muy corto tiempo luego del parto (Logan 1977). De esos factores dependen las marcadas diferencias individuales en los niveles de Ig de los terneros (Logan y cols. 1974; Tennant y cols. 1978).

La importancia de la primera toma de calostro radica en que en los ruminantes la inmunidad humoral está ausente al nacimiento y recientes evidencias sugieren que los componentes mediados por células en la respuesta inmune también están deprimidos marcadamente (Logan y cols. 1974 a). Es interesante mencionar que el componente humoral de la respuesta inmune desempeña un rol más importante en el ternero neonato que en ternero adulto (Tennant, 1978).

## 2.2. Absorción de las Inmunoglobulinas.

a) Duración de la absorción intestinal: El nivel de absorción de Ig es máximo a pocas horas del nacimiento para luego ir disminuyendo hasta desaparecer, entre las 24-36 hs. post-parto (Logan y Cols, 1974 b). El período de tiempo máximo para realizar la primera toma varía, según distintos autores, de 1 a 6 hs. hasta tan solo 15 minutos (Seren, 1975). Johnston y Cols, (1977) han demostrado que algunos terneros pierden su capacidad de absorción ya a las 6-8 hs. post-parto. Por este hecho, las concentraciones de Ig séricas varían marcadamente entre terneros luego de la primer toma de calostro, dependiendo del tiempo inicial de ésta (Selman y Cols, 1971; Moon y Cols, 1978) y de la cantidad o calidad del calostro ingerido (Mc Ewan, 1970 b; Logan 1977; Moon y cols. 1978).

Si un ternero toma 1 a 3 litros de calostro lo antes posible luego del nacimiento, el valor de Ig séricas a las 12-24 hs. alcanza valores de 250-500 veces mayores que los que poseía al nacimiento, siendo estos valores comparables a los niveles de animales adultos. Con una segunda toma los niveles de Ig aumentan poco a las 36 hs., siendo nulo el aumento de Ig séricas luego de 48 hs. (Mc Ewan y Cols, 1970 a).

Otros factores que también pueden influir en la capacidad de absorción son el peso y estado del ternero al nacer (Mc Ewan y Cols, 1970 a y b).

Penhale (1973) también ha determinado que la eficiente absorción de Ig por el intestino está directamente relacionada con la edad, y además el cierre de absorción es diferente para cada tipo de Ig. Así por ejemplo, la IgG puede absorberse hasta 27 hs. post-parto, la IgA hasta 22 hs. y la IgM sólo hasta 16 hs., (Logan 1974). De este modo un ternero que mama por primera vez luego de 17 hs. post-parto, probablemente adquiera altos niveles de IgA e IgG, pero bajos de IgM, por lo tanto será susceptible a infecciones.

Luego de un pico sérico máximo a las 24 hs. los niveles de Ig decrecen de acuerdo a la vida media de cada Ig en particular. El nivel de IgM llega a un mínimo a las 3-4 semanas para luego comenzar a aumentar debido a que es sintetizada por el ternero. Las IgA y G a las 5 semanas aún están decreciendo (Logan y Cols, 1974 a y c). De acuerdo a estos datos habría un "período crítico" en el cual termina la actividad de la inmunidad pasiva adquirida y comienzan a formarse anticuerpos propios.

b) Lugar de la absorción: La absorción de Ig se realiza activamente en las células del yeyuno e íleon; en éstas se pueden demostrar glóbulos con propiedades tintoriales semejantes a las proteínas séricas. Luego de su absorción se detectan primero en la linfa y finalmente en circulación periférica.

Marcando las Ig con Isocianato de Fluoresceína se pueden determinar los pasos de su absorción (Fey, 1972). Esta comienza con un pequeño puntillado, luego como gotitas esféricas dentro de las células que van coalesciendo hasta formar vacuolas. El máximo contenido se observa 6-7 hs. después del contacto inicial. Las porciones anteriores del intestino absorben rápidamente Ig aún antes que las porciones posteriores tomen contacto con éstas y en consecuencia estas últimas continúan con el proceso de absorción habiendo finalizado ya en las porciones anteriores.

En el ternero no hay absorción selectiva de proteínas como otras especies (roedores); pudiendo absorber gelatina, dextrano, insulina. También se han demostrado dos vías de absorción ya que la albúmina pasa directamente a la circulación general.

Luego de la ingestión de calostro hay una marcada proteinuria que desaparece al tercer día de vida. En primer término principalmente en las primeras 24 hs. se pierden las proteínas de bajo peso molecular, alfa y beta-lactoalbúmina. Solo pequeñas cantidades de Ig aparecen en orina coincidiendo con elevados títulos de anticuerpos en calostro.

c) Mecanismo de absorción: El calostro tarda en su tránsito por el estómago sólo 5 minutos, por que no se deberían considerar de importancia los cambios en su composición química que puedan ocasionarle el pH gástrico o la acción de enzimas proteolíticas, ya que no se sabe con certeza si estas ya están activas en el momento del parto.

Una vez en el intestino delgado, la absorción de las proteínas estaría a cargo de las células columnares de las vellosidades por un proceso de micropinocitosis. Este mecanismo explica solamente la no selectividad de absorción, pero en especies en las que hay cierta selectividad como la rata y el conejo habría un mecanismo adicional que permitiría el reconocimiento estructural de varias proteínas.

Las proteínas son rápidamente absorbidas con formación de vesículas entre dos microvellosidades; sólo algunas son transportadas intactas a la circulación. Una parte es degradada por las células en los fagosomas, que junto con lisosomas forman los fagolisosomas. Las proteínas que pasan intactas son presumiblemente protegidas de la proteólisis por una correcta absorción a receptores específicos, probablemente localizados en las paredes de las vesículas pinocitóticas. Los adrenocorticoides disminuyen la capacidad del intestino para absorber Ig; concentraciones altas de corticosteroides adrenales pueden deprimir marcadamente la respuesta inmune mediada por células (Tennant y Cols, 1978). Las Ig maternas presentes en el calostro son absorbidas sin alteraciones por las células intestinales (Johston y Cols, 1977).

El motivo por el cual termina la absorción de anticuerpos aún no es comprendido, aunque se postulan varias teorías. Se propone que el cese de la absorción puede deberse a cambios en la permeabilidad de las células intestinales, ya que un aumento de la actividad enzimática puede alterar y destruir las moléculas proteicas. Fey cita que trabajando con Ig marcadas se pudo determinar que a las 53 hs. la fluorescencia, y por lo tanto la absorción, está limitada a las terminaciones apicales de las vellosidades. Esto estaría condicionado por el rápido reemplazo de las células de la vellosidad por otras provenientes de las criptas, que serían incapaces de esta absorción debido a que no se demuestra fluorescencia en ellas. Se estima que la renovación del epitelio de la vellosidad en ratas y conejos tiene lugar en 2 ó 3 días coincidiendo con el límite de absorción, esto podría indicar, como fue mencionado, cambios enzimáticos o de superficie por falta de receptores específicos.

### 2.3. Agamaglobulinemia

Está establecido que el calostro protege de la colisepticemia y dificulta la aparición de formas entéricas (Mc Guire y cols, 1976; Johnston y cols, 1977; Logan y cols, 1977). La falta del mismo predispone, con una alta tendencia, al desarrollo de procesos diarreicos y a una fácil reproducción experimental con cepas patógenas de E. coli (Logan y cols, 1974; Tennant y cols, 1978).

Los terneros que toman calostro en las primeras horas de vida son mucho más resistentes de padecer colisepticemia que aquellos que no la toman o lo hacen en forma insuficiente (Penhale y Logan, 1971; Johnston y cols, 1977).

El principal factor que condiciona una hipo o agamaglobulinemia persistente es la no inmediata toma de calostro (a menos de 6 hs. post-parto) y su progresiva absorción. Bajos niveles séricos de Ig pueden no estar relacionados con sus niveles en el calostro ni en el suero de la

madre, habiendo amplias variaciones entre ellas (Logan 1977, Tennant y Cols, 1978).

Según Moon y Cols (1978), los terneros que reciben menos de 80 grs. de calostro (menos de 20 U en la prueba del sulfato de zinc) generalmente mueren y aquellos que reciben menos de 100 grs. probablemente serán hipogamaglobulinémicos con niveles menores de 1 gr/100 ml. de Ig séricas hay una alta predisposición a padecer varios procesos infecciosos (Fey 1972; Mc Guire y cols, 1976; Logan 1977). Recientemente Tennant y cols (1979) determinan niveles de inmunoglobulinas por un método rápido de coagulación de glutaraldeido, obteniendo buenos resultados prácticos.

Es posible que un proceso patológico entérico pueda interferir con la absorción de anticuerpos calostrales (Fey 1972, Logan y cols, 1977); se describe una marcada hipo o agamaglobulinemia en el 95 % de los terneros muertos de colibacilosis (Mc Ewan, 1970 a) y niveles marcadamente menores en los enfermos Naylor y cols, 1977; Moon y cols, 1978). Casi el 92 % de los terneros que padecen colisepticemia tienen bajos o nulos niveles de anticuerpos, aún habiendo ingerido calostro el primer día post-parto (Logan y cols, 1977; Tennant y cols, 1978).

Bajo condiciones de campo se ha demostrado mal absorción de Ig en un 10-16 % de los terneros (Fey 1972, Logan y cols, 1977); esta puede ser la explicación de la repetitividad y persistencia con que se producen los bortes en algunos rodeos (Moon y cols, 1978).

Barber y Mc Lennan (1975) informan que puede no haber una correlación entre supervivencia y niveles séricos de Ig en un brote de diarrea (Logan y cols. 1977).

Las diferencias halladas entre terneros sanos y enfermos podrían deberse a diferencias en la absorción o ser el resultado de pérdidas de

Ig por el intestino durante la diarrea (Penhale y Cols, 1970; Woode y Bridger, 1976; Moon y Cols, 1978). Logan y Cols (1977) reportan casos en que los terneros severamente afectados de diarrea poseían valores normales de globulinas séricas avalando la hipótesis que éstas no tienen participación en la prevención de una enfermedad entérica.

#### 2.4. Acción del calostro

Jensen en 1905 fue el primero en demostrar que terneros alimentados con leche hervida morían de enteritis y que los alimentados con calostro sobrevivían (Logan y Cols, 1974 a). Estudios cuali y cuantitativos sobre la naturaleza de la inmunidad conferida por el calostro demuestran que las Ig circulantes y las intestinales son necesarias para proteger al ternero neonatal de procesos infecciosos (Logan y Penhale, 1971). Logan y Cols (1974 a) han demostrado que con una fracción de suero rico en IgM administrado en forma intravenosa se protegían terneros contra a aparición de formas septicémicas de colibacilosis. Posteriormente se postula que las tres clases de Ig parecen ser responsables de proveer inmunidad en el síndrome entérico, sugiriéndose que la IgA es la menos efectiva siendo más importantes IgM e IgG (Fey 1972).

Smith y Halls (1968) demuestran la actividad inmunitaria de terneros inoculando cepas patógenas de E.coli por vía intravenosa en terneros que tomaron calostro; estas cepas son halladas en corto tiempo en aquellos órganos con sistemas reticulo-endotelial (S.R.E) desarrollado, como hígado, bazo y pulmones. Según estos autores esta es una buena evidencia del rol del S.R.E. en la protección, ya que los anticuerpos sensibilizarían a E. coli a las células encargadas de su fagocitosis.

En la prevención de infecciones entéricas parecen tener mucha importancia los anticuerpos presentes en la luz intestinal. Las Ig del calostro probablemente provean tal protección durante las primeras horas

de vida. Tales anticuerpos adheridos a la superficie de la mucosa intestinal brindarían protección por varios días. Alternativamente, una resecretión de anticuerpos séricos, originalmente absorbidos del calostro, podrían ser un importante mecanismo protector en terneros normales luego del período calostrado donde una activa inmunidad va desarrollándose (Moon y cols. 1978).

La resistencia de las membranas mucosas a la infección está mediada en parte por la producción y secreción de IgA. A pesar del temporario efecto supresor de los anticuerpos calostrales, hay una activa producción y secreción de anticuerpos en el tracto intestinal en respuesta a un estímulo antigénico. Mientras que la IgA es primariamente producida y secretada localmente, se ha postulado que las IgM, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, también son producidas localmente en pequeñas cantidades permaneciendo en el tejido intestinal o siendo secretadas. La función exacta de las fracciones IgG<sub>1</sub> y G<sub>2</sub> en las etapas iniciales del desarrollo de la inmunidad en un ternero joven no está determinada. Las primeras células con actividad inmunitaria, presentes en la mucosa intestinal, son predominantemente secretoras de IgM, probablemente como respuesta inmune a lipopolisacáridos bacterianos. Un mecanismo común puede operar para la secreción de IgM e IgA en ruminantes neonatos. Olson y Waxler (1977) sugieren que hay predominancia de IgM en la lámina propia e IgA en las secreciones durante el desarrollo temprano del sistema inmune secretorio intestinal.

Logan y cols. (1974 b) estudian las diferentes fracciones glogulínicas del calostro comprobando su acción protectora. Según los resultados obtenidos, utilizando varios métodos de análisis, como hemaglutinación indirecta, antiglobulinas, anticuerpos contra el antígeno O:101 de E.coli; la mayor actividad correspondería a la IgM. Poca actividad se asocia con las IgG y A. La actividad hemoaglutinante contra los antígenos O9 y O78 de E. coli están dados por la IgM. Esta actividad no pudo demostrarse en las fracciones de IgA preparadas de diferentes muestras de calostro.

Generalmente se acepta que la presencia de anticuerpos maternos en el suero de un ternero recién nacido inhibe el tiempo de producción de Ig propias. Los terneros usados como control, que no recibieron Ig calostrales produjeron prontamente los tres tipos de Ig, pudiendo detectarse en materia fecal a las 48 hs. de vida. En terneros hipogamaglobulinémicos se pueden determinar síntesis de Ig séricas, particularmente IgM antes de la primer semana de vida (Mc Ewan, 1970<sup>a</sup>; Logan y cols. 1974 b; Osburn y cols. 1974). En cambio no se observó ninguna evidencia de síntesis en los terneros que tomaron calostro durante el período experimental de 8 días.

La supresión de la síntesis de anticuerpos por administración oral de las distintas fracciones de Ig, es más evidente en el caso de la IgM e IgA. Sin embargo, no puede explicarse por qué la respuesta a la IgM está inhibida por la presencia de IgA, ni por qué la respuesta de la IgA está inhibida por la presencia de IgG e IgM. Es posible que la IgA calostrale enmascare los receptores antigénicos sobre las bacterias y así inhiba la producción de IgM. Tal enmascaramiento ha sido reportado en muchas especies animales, donde la exposición a ciertos microorganismos y a una fracción de IgA bloquea los efectos bactericidas de la IgM e IgG (Osburn y Stabenfelt 1973; Logan y cols. 1974 b).

La IgA por sí misma, tiene un efecto protector local en la mucosa intestinal (Welliver y Ogra 1978); las fracciones G y M previenen de la muerte pero no de la forma entérica. Al parecer, las distintas fracciones por separado no proveen el espectro total de protección que se obtiene con el calostro, ya que las tres Ig pueden tener cualidades profilácticas que actúan en sinergismo en el calostro (Logan y cols. 1974).

Un aumento de los niveles de anticuerpos en la segunda semana

La vida puede deberse a estímulos antigénicos presentes inmediatamente luego del parto (Mc Ewan y cols, 1970 b).

Entre las diversas formas de acción, el calostro puede prevenir la adhesión a la mucosa intestinal de cepas enteropatógenas de E.coli (Johnston y cols, 1977), siempre que se presente en el intestino antes de la llegada de las bacterias. Una vez que las cepas están adheridas a la mucosa intestinal, la acción protectora está muy limitada (Logan 1977 b). Adicionalmente el calostro puede inducir una protección mecánica causando el cierre temprano de la absorción y por lo tanto, minimizando el pasaje de bacterias a través de la pared intestinal. Johnston y cols. (1977) han comprobado que la saturación del sistema de transporte macromolecular con sustancias tales como la polivinilpirrolidona que cierra el pasaje intestinal y actuaría protegiendo al ternero al impedir el pasaje de bacterias al torrente sanguíneo.

Sin embargo, se debe tener en cuenta que en los casos de colisepticemia el intestino parece ser una puerta de entrada secundaria, ya que se han demostrado que la rinofaringe y ombligo son más importantes (Fey, 1972).

### 3. Agentes etiológicos

#### 3.1. Escherichia coli

La asociación de Escherichia coli con la diarrea neonatal de los terneros es conocida ya desde fines del siglo pasado. Jensen en 1893, y posteriormente Christiansen en 1917, consideraban a los microorganismos causantes de diarrea en terneros como variantes patógenas de las cepas que habitaban normalmente el intestino. Estas observaciones fueron confirmadas por Lowel en 1937, quien encuentra que la mayoría de las cepas de E.coli aisladas de terneros enfermos

de diarrea podían clasificarse como variantes serológicas de la flora normal (Fey, 1972).

Smith y Orcutt, en 1925, determinan la existencia de un delicado equilibrio entre las cepas de E. coli y la mucosa intestinal, ya que, cuando por determinadas circunstancias variaba ese equilibrio, creándose condiciones óptimas para el desarrollo de dichas cepas, se desencadenaba diarrea. Según estos autores, las condiciones necesarias para que ello ocurriese se debían en parte a factores hereditarios que originaban algún "defecto" en el tubo digestivo y a tipos patógenos de E. coli presentes en las vacas y en el medio ambiente. Postulaban que un animal normal probablemente tuviese E. coli distribuida en distintas cantidades en el intestino grueso y en algunas porciones del intestino delgado; mientras que en los casos en que se presentaba algún disturbio, E. coli se encontraba en gran cantidad en el intestino delgado y especialmente en el duodeno aumentando su número a medida que la enfermedad progresaba.

Dalton y Tessler sugirieron que tal invasión primaria tenía un rol importante como causante de severas diarreas en terneros. Estos cambios estarían favorecidos por la llegada de alimentos mal digeridos al intestino grueso, debido principalmente a alteraciones sufridas en el intestino delgado, aunque se desconocía la causa inicial del disturbio y el porque de la aparición de esos tipos patógenos en el medio.

Posteriores investigaciones de Sojka en 1966, demuestran que las cepas de E. coli aisladas de terneros que morían de "Colibacilosis" estaban generalmente representadas por un pequeño número de serotipos, distintos de aquellos aislados de terneros sanos en los cuales se podían en cambio, demostrar gran variedad de sero-

tipos. Reafirman esa teoría los hallazgos de Smith y Halls, en 1967, quienes también demuestran que sólo un limitado número de cepas de E. coli puede actuar como enteropatógeno primario causando diarrea en terneros y corderos recién nacidos con la característica de proliferar en alto número en las porciones anteriores del intestino delgado produciendo potentes enteroxinas (Acres y cols. 1977).

### 3.1.1. Susceptibilidad del huésped

Según Acres y cols. (1975 y 1977) la acción enteropatógena primaria de las cepas que afectan a los terneros ocurre comúnmente durante la primer semana de vida.

La susceptibilidad de los terneros es mayor en las primeras 24 hs. de vida para luego ir decreciendo (Gouet y cols. 1978). Se ha demostrado que los terneros enferman a una edad promedio de 3,9 días, si bien se pueden aislar cepas enteropatógenas de terneros de 1 a 11 días de vida (Acres y cols. 1975).

En ciertos casos pueden desarrollarse infecciones mixtas; la asociación más frecuente es la de rotavirus y E. coli. En casos en que se determina la presencia de ambos, E. coli, generalmente es aislada después que se ha identificado rotavirus. Este último, según información de Acres (1977), se aísla en un 85 % de los casos en terneros mayores de 5 días y menores de 1 mes.

Estos resultados indicarían que rotavirus sería un iniciador de la "Colibacilosis entérica", en terneros mayores de 5 días y que cepas enteropatógenas de E. coli proliferarían y actuarían secundariamente a la acción vírica. Otra posibilidad para explicar la acción secundaria de E. coli es que también tipos no enteropatógenos pueden proliferar en elevado número luego de una infectación vírica inicial y contribuyen de este modo a la patogénesis de la

diarrea (Acres y cols. 1977).

### 3.1.2. Tipos de cepas

La clasificación de las cepas de E. coli actualmente se realiza por serotipificación. Kauffmann en 1943 descubre que el antígeno O, termoestable, estaba enmarcado por un antígeno L termolabil. Posteriores trabajos encuentran los antígenos de superficie adicionales A y B, los cuales junto con el L son agrupados bajo la designación de antígeno K, siendo diferenciables entre sí por su estabilidad al calor y capacidad de aglutinación. Usando la técnica de aglutinación en placa para el análisis de estos antígenos, Kauffmann y colaboradores establecen las bases para la identificación de los distintos serotipos (Fey 1972).

Investigadores canadienses encuentran que la mayoría de las cepas enteropatógenas bovinas pertenecen a los serogrupos O: 8, 9 y 101, excepto el serogrupo O8:K85. Estos hallazgos sugieren que tales serotipos pueden tener alguna capacidad especial para sobrevivir en el tracto intestinal de terneros o para adquirir un plásmido, que codifica la producción de enterotoxinas (Acres y cols. 1977).

Los mayores atributos de virulencia de E. coli están determinados por la presencia del antígeno K, y la producción de toxinas, siendo de mayor importancia para terneros el K99. La mayoría de las cepas aisladas de terneros enfermos de casos de campo producen toxina termoestable y poseen el antígeno K99+; estas características se presentan ocasionalmente en las cepas aisladas de terneros sanos, (Moon y cols. 1976, Isaacson y cols. 1978). La colonización del intestino delgado por cepas enteropatógenas K99+ se realiza preponderantemente en el íleon (Logan y cols. 1977; Isaacson 1978), el cual parece ser el lugar óptimo para la expresión de dicho antígeno (Moon y cols. 1978).

### 3.1.3. Patogenia

La importancia de E. coli como microorganismo patógeno para terneros neonatos se debe a dos mecanismos de acción principales. Una forma grave es la septicemia que se desarrolla principalmente en terneros hipogamaaglobulinémicos, estando muy pocas veces asociado con procesos diarreicos. Esta forma de acción se caracteriza por su curso corto ocurriendo la muerte luego de un estado de shock, probablemente causado por endotoxinas.

Como ya fue mencionado, cepas enteropatógenas son responsables de infecciones intestinales primarias caracterizadas por diarreas. Los signos clínicos de deshidratación y colapso vascular periférico son el resultado directo de la pérdida de agua y electrolitos por la materia fecal (Tennant 1978).

Han sido demostrados dos mecanismos principales de enteropatógenidad, uno enteroinvasivo similar a la shigelosis y otro enterotóxico con iguales características que el cólera asiático del hombre (Logan y cols. 1974 a).

a) Forma septicémica: Como se ha citado, esta forma es de aparición frecuente en terneros con bajos niveles de anticuerpos, ya sea debido a problemas en la toma y/o absorción de calostro. También puede ocurrir que una alta concentración de glucocorticoides en el momento del nacimiento inhiba los mecanismos para una respuesta inmune (Osburn y Stanberfeldt 1973; Johnston y cols. 1977). Tiene un curso sobreagudo pudiéndose presentar los síntomas a las 2-3 hs. del nacimiento; la muerte sobreviene entre las 12 a 24 hs. de vida.

La principal característica es una bacteriemia con localización extraintestinal de la cepa responsable. En casos de formas sobreagudas no se observan signos de lesiones del aparato digestivo. Las complicaciones más comunes son poliserositis fibrino purulenta, poliartritis,

coriomeningoependimitis y pielonefritis, (Seren 1975).

Es usualmente reconocido que la septicemia no es una afección entérica; sin embargo el tracto digestivo es una de las puertas de entrada. Por un mecanismo de absorción inespecífico las bacterias, junto con otras macromoléculas, pueden llegar al torrente sanguíneo, y causar septicemia.

Las células del sistema retículo endotelial son la principal línea de defensa contra la bacterinemia a E. coli, sin embargo esta protección es efectiva cuando los terneros reciben buena cantidad de inmunoglobulinas con el calostro (Johnston y cols. 1977).

Otras puertas de entrada al torrente sanguíneo, quizás de mayor importancia en la patogénesis de la colibacilosis septicémica, son la rinofaringe, las tonsilas y el ombligo.

No se conocen atributos especiales que relacionen la enterotoxigenicidad con la capacidad de invasión tisular de las cepas aisladas en casos de septicemia. La patogenicidad solamente está caracterizada por la capacidad de proliferar y sobrevivir en sangre y tejidos y por la liberación de una endotoxina identificada como lipopolisacárido de la pared celular (Ansari y cols. 1978; Tennant y cols. 1978).

b) Forma enteropatógena: Se consideraba que la capacidad de E. coli para colonizar el intestino dependía de la competencia con otros organismos, ya que un estado libre de bacterias al nacimiento predisponía para que el intestino delgado fuera colonizado fácilmente por E. coli. Otras posibles causas que contribuirían a ello se atribuían a una lenta motilidad intestinal, sumado a un elevado potencial de óxido-reducción, a falta de competición por nutrientes y sustancias inhibitoras como colicinas o ácidos grasos volátiles (Fey 1972).

Actualmente se sabe que las cepas enteropatógenas de E.coli tienen dos cualidades principales. La primera es la producción de un pili que promueve la colonización bacteriana facilitando la adhesión a la mucosa del intestino delgado. Este es un plásmido mediado en algunas cepas por el antígeno K 99 (Logan y cols. 1977; Gouet y cols. 1978; Moon y cols. 1978). La segunda es la producción y liberación de suficiente cantidad de enterotoxinas, termolábil y termoestable, que causan un aumento en la secreción intestinal (Logan y cols. 1977; Gouet y cols. 1978; Isaacson 1978; Moon y cols. 1978).

Logan (1972) sugiere que estas cepas podrían estar adheridas a la mucosa intestinal y producir toxinas antes que se establezca la barrera inmunológica, o sea que la infección ocurriría en el momento del parto. Posteriormente el ternero toma calostro y por lo tanto posee un buen nivel de anticuerpos circunates, aunque subsecuentemente desarrollará diarrea (Logan y cols. 1978).

Se ha demostrado que las cepas enteropatógenas forman rápidamente una capa en las porciones apicales de las vellosidades intestinales, mientras que las no enteropatógenas permanecen en la luz del intestino y raramente toman contacto con este. Aunque no se han demostrado organoides de adherencia, la microscopía electrónica permite identificar una zona electrónica reluciente entre el cuerpo de la bacteria y las microvellosidades de las células de la mucosa. Estas zonas serían el componente antigénico K, compuesto por filamentos proteicos diferentes de las fimbrias, transmitidos genéticamente por un episoma (Moon, 1974).

Moon (1974) reporta que el antígeno K es necesario para la adherencia al epitelio intestinal, aunque no está bien establecido si esa capacidad se debe a mucopolisacáridos de superficie, adhesividad momentánea por cambios entéricos, fuerzas electroquímicas o materiales esenciales en la superficie de las células del huésped, necesarios para la proliferación. La adhesión intestinal es sólo requerida para la proliferación de E. coli y no para manifestar su enteropatoxigenicidad, ya que aún libre en el intestino puede tener cierta acción (Moon, 1974).

El intestino del ternero no parece adquirir resistencia a los efectos de la enterotoxina durante el período neonatal, como lo evidencia el hecho que cepas enteropatógenas dan resultados positivos a la prueba de segmentos ligados del intestino en terneros de 7-8 días. También la toxina termoestable se demostró activa en pruebas con thiry vella loops en terneros de 5-6 semanas de vida. Sin embargo, la resistencia a la colonización parece desarrollarse pronto luego del nacimiento, habiendo marcada resistencia a las 96 hs. de vida. El mecanismo por el cual se desarrolla esta resistencia a la colonización no es conocido, sin embargo, la maduración fisiológica del epitelio intestinal puede ser un factor importante. Acres y cols. (1977) también encuentran que el epitelio intestinal de terneros de 24-36 hs. de vida permite la adhesión de cepas enteropatógenas, mientras que en terneros de mayor edad ésta no ocurre. Los anticuerpos locales que actúan en la luz intestinal pueden prevenir la colonización bacteriana, como lo demostró Myers, en 1978, inmunizando una vaca con una cepa enteropatógena. Su ternero fue resistente a la inoculación oral con esa cepa, mientras que los controles enfermaron.

En principio se postuló que la adherencia a las vellosidades parecía estar aumentada por la presencia de rotavirus (Mebus y cols. 1971) aunque recientes estudios de Pearson y cols. (1978 a) demuestran que no existe sinergismo alguno.

#### 3.1.4. Toxinas:

Como se ha mencionado, la capacidad de cepas de E. coli para producir toxinas se puede determinar mediante la prueba de segmentos ligados de intestino de cerdos, conejos, terneros y corderos. Esta prueba, básicamente consiste en demarcar (en animales laparatomizados, bajo anestesia general) segmentos de intestino delgado de 7.5 - 10 cm ligados e inocular aproximadamente  $30 \times 10^7$  microorganismos viables por segmento, realizándolo en segmentos alternados para que de este modo los no inoculados sirvan como control. A las veinticuatro horas post-inoculación los animales son sacrificados y se registra el volumen y característica del contenido líquido (Smith y Halls, 1967; Fey 1972; Myers y cols. 1975)

Las enterotoxinas de E. coli están asociadas a la presencia del antígeno K y a su vez ésta está regido genéticamente por plásmidos, pudiendo transferirse determinadas características de una cepa a otra por el proceso de la conjugación (Moon 1974).

Las dos enterotoxinas de E. coli poseen diferentes propiedades, una es termolábil y la otra termoestable. La toxina termoestable está formada por moléculas pequeñas, no tiene capacidad antigénica, es estable a 65°C y a 100°C por 30 minutos y en gran proporción extracelular, mientras que la toxina termolábil, está compuesta por moléculas grandes (es retenida por membranas de 100 nm), posee capacidad antigénica, se inactiva a 65°C en 10 minutos y es en gran parte intracelular.

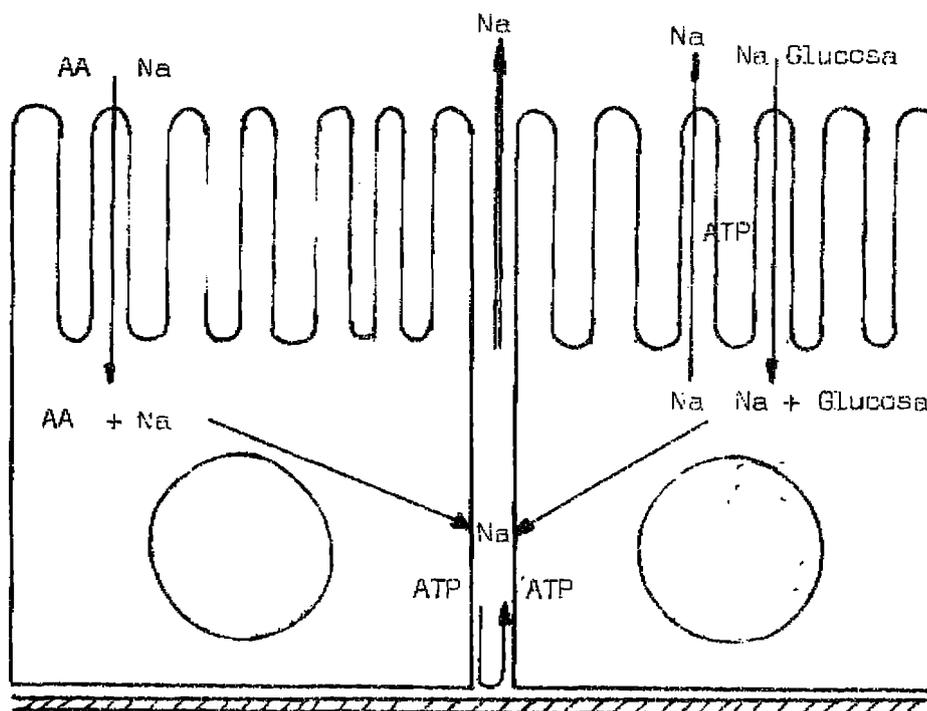
Se ha comprobado la acción de las enterotoxinas de Vibrio cólera y E. coli, observándose que ambas producían una respuesta similar de la mucosa intestinal. Sin embargo, algunos autores consideran que tienen una acción semejante pero no igual, ya que las células blanco de las toxinas no serían las mismas (Moon, 1974).

La toxina termolábil de E. coli actúa de manera similar a otras enterotoxinas bacterianas, como pueden serlo las de Shigella dysenteriae, Salmonella typhimurium, Bacillus cereus y Vibrio cholerae, estimulando la actividad de la Adenil-ciclase de las células de las criptas del intestino lo que ocasiona un aumento del 3-5 AMP cíclico el que controla la actividad de los mecanismos secretorios celulares (Whipp 1978).

La toxina termoestable de E. coli se cree que no actúa por este mecanismo, ya que se ha demostrado que no activa la Adenil-ciclase sino de la GMPc (guanosina monofosfato cíclica) (Whipp, 1978).

Por estos mecanismos de acción sobre las células intestinales, en cierto modo de tipo hormonal, se produce un marcado aumento de los procesos secretorios normales. Moon (1974) reporta que se han aislado péptidos (que bien podrían llegar a ser hormonas) que regulan la secreción intestinal normal; por lo tanto las enterotoxinas podrían actuar estimulando o del mismo modo que dichas hormonas.

La acción básica está relacionada con un aumento de los procesos secretorios de las células de las criptas de la mucosa del intestino delgado. Un aumento en la concentración del AMPc ocasiona una secreción activa de aniones y cambios en la diferencia del potencial eléctrico del contenido intestinal.



Como se observa en la figura, el Na iónico puede ser absorbido con gasto de energía y junto a transportadores como glucosa y aminoácidos. Una vez dentro de la célula, por su medio electronegativo, tiende a quedar en ella.

Por la aumentada actividad de la Adenil ciclasa el catión sodio junto con iones bicarbonato son eliminados directamente a la luz intestinal y al espacio intercelular, pasando luego a la luz del intestino ya que la membrana basal actúa como una barrera que impide su paso a la submucosa.

Como resultado de estos procesos secretorios el contenido intestinal es alcalino con respecto al suero sanguíneo, isotónico, con menor cantidad de proteínas, calcio y magnesio y con mayores niveles de iones sodio y bicarbonato (Mikal, 1972).

### 3.1.5. Métodos de diagnóstico:

Por ser un habitante normal del tracto intestinal, el simple aislamiento de cepas enteropatógenas a partir de materia fecal no es suficiente evidencia para atribuir a esas cepas la causa de la diarrea sin demostrar que por lo menos se encuentran en gran cantidad en las porciones anteriores del intestino delgado (Acress y cols. 1976; Tennant y cols. 1978).

Si bien la concentración bacteriana suele ser muy variable, el número total de E. coli en el intestino delgado de un ternero enfermo podría estar relacionado a su estado clínico, sobre todo si esa cepa es potencialmente patógena (Wray y Thomlinson, 1975).

También el conteo de E. coli en materia fecal fluctúa marcadamente en casos individuales, no guardando relación con el grado de diarrea. Un incremento de los serotipos patógenos en materia fecal quizás sea de mayor importancia que el número total de coliformes en materia fecal, porque ese hallazgo significa que también hay un aumento de esas formas patógenas en las porciones anteriores del intestino delgado (Wray, Thomlinson 1975; Isaacson y cols. 1978).

La caracterización bioquímica de cepas patógenas solo brinda resultados estimativos del serogrupo al cual pertenecen ya que difieren poco de las cepas no patógenas (Braaten y Myers, 1977, Isaacson 1978).

La enteropatogenicidad se puede demostrar por: el aislamiento de una misma cepa de varios animales enfermos en un brote, con resultados positivos de esas cepas a las pruebas de segmentos ligados de intestino (LIST) o Thiry Vella Loops; que pertenezcan al mismo serogrupo y exista una alta correlación entre la presencia de esas cepas LIST + y diarrea (Moon y cols. 1976; Ansari y cols. 1978; Tennant y cols. 1978)

En conclusión, la identificación de factores de virulencia en las cepas aisladas de terneros enfermos, indican que esas cepas son potencialmente patógenas aunque no se puede determinar su participación como causa inicial de diarrea (Isaacson 1978).

### 3.2. Virus y Diarrea Neonatal:

Como ya ha sido referido el término de "diarrea neonatal" define solamente un estado clínico, pero de ningún modo designa agentes etiológicos de la misma. Durante muchos años E. coli ha sido aceptada como causa inicial de diarreas. En el año 1966 el Dr. Mebus y sus colegas de la Universidad de Nebraska hacen intentos para reproducir la enfermedad por inoculación oral a terneros de filtrados de materia fecal libres de bacterias. Sus investigaciones tienen como resultado la reproducción experimental de diarrea en terneros gnotobióticos, con los filtrados obtenidos a partir de la materia fecal de terneros enfermos, mientras que con los filtrados provenientes de terneros sanos la respuesta fue negativa (Woode y Bridger, 1975).

Posteriormente, en el año 1969, Mebus logra identificar rotavirus bovino, el virus no fue aislado fuera de U.S.A. hasta 1973, en Australia por Turner, en 1974 en el Reino Unido por Woode (Bridger y Woode 1975) e identificado en Argentina en 1977 (Zoratti y cols. 1977). Estos hallazgos estarían indicando la amplia distribución del virus en el ganado bovino en todo el mundo.

#### 3.2.1. Rotavirus

Inicialmente fue denominado "reo-like". Por su similitud con los reovirus, los tipos 1, 2 y 3 de bluetongue (orbivirus) y la evidencia de una doble cadena de ARN se los clasificó dentro del grupo de los Diplornavirus. Sin embargo se encontraron diferencias antigénicas y de resistencia que lo apartan de ese grupo (los reovirus

y rotavirus son resistentes a pH 3 y los orbivirus no lo son) clasificándose como un sub grupo de los Diplornavirus (Woode y Bridger, 1976).

El Comité Internacional de nomenclatura de virus lo ubican en la familia Reoviridae con el nombre de Rotavirus por su apariencia radiada al microscopio electrónico.

En general son partículas de simetría hexagonal al microscopio electrónico, icosadeltahédricas, (aunque se observan algunas formas esféricas). El cápside está formado por 32 capsómeros elongados hexagonales. Algunas partículas poseen una membrana protéica que sería responsable de su poder patógeno y variabilidad antigénica (Woode y Bridger, 1976). Tiene una densidad relativa de 1.36 (Norden 1973) y son resistentes en el medio ambiente.

Hay evidencias que existen relaciones antigénicas entre los virus aislados de terneros, niños, cerdos, cabras y ratones, aunque no se conocen el tipo de antígenos compartidos (Woode 1978). Las diferencias halladas en los distintos tipos antigénicos se deberían principalmente a variaciones en sus segmentos A y B que harían variar la composición glicoproteica de su cápside.

La adaptación del virus a cultivos celulares es bastante difícil, y en general se pierde luego del tercer pasaje (Welch y Twiehaus 1973; Woode y Bridger, 1976). Se lo ha adaptado a crecer en células bovinas con largos períodos de incubación en los primeros pasajes. Se puede determinar la presencia del virus en los cultivos por inmunofluorescencia. Las líneas celulares en las que se adapta más fácilmente son las de riñón de feto bovino, BHK21, Vero. Los efectos citopáticos son leves; se puede observar vacuolización, formación de inclusiones eosinófilas intracitoplasmáticas, y algunos núcleos que se tornan pignóticos (Welch y Twiehaus, 1973).

### 3.2.1.1. Susceptibilidad del huésped

En general los terneros son naturalmente susceptibles a rotavirus luego de los 5 días de vida, más comúnmente entre los 5-10 días, aunque Acres y cols. (1977) describen ya la aparición de síntomas a las 96 hs. del nacimiento, pudiendo deberse estas diferencias a distintas cepas o condiciones del medio ambiente.

Luego de la inoculación experimental hay un período de incubación de 1 a 3 días en terneros que han tomado calostro, (Bridger y Wood, 1975; Mc Nulty y cols. 1976 b; Middleton 1978), aunque se lo puede detectar en materia fecal a las 24 hs de inoculado y de 2 a 7 días posteriores a la iniciación de la diarrea (Logan y cols. 1979), habiendo una excelente correlación entre el comienzo de la enfermedad y la aparición de gran cantidad de virus en materia fecal (Gouet y cols. 1978). Frecuentemente los brotes naturales tienen una alta incidencia que llega fácilmente al 100 % de los terneros. La enfermedad causada por Rotavirus bovino ocasiona baja mortalidad; cuando la infección es simple no supera el 5 % (House, 1978). Esta misma tasa se determinó en niños y cerdos (Gouet y cols. 1978).

Los terneros afectados se recuperan a los pocos días sin ningún tratamiento lo cual indicaría que la enteritis estaría asociada a un leve disturbio intestinal y de la bioquímica sanguínea (Logan y cols. 1979).

Hay poca información sobre la relación que existen entre la resistencia la edad de la infección, Bridger y Woode (1975) reportan que la infección en edad temprana deja inmunidad, comprobando que terneros de un año y vacas sin inmunidad, son susceptibles. La alta incidencia de terneros serológicamente positivos puede explicarse por infecciones subclínicas en terneros alimentados con calostro conteniendo anticuerpos contra rotavirus.

### 3.2.1.2. Patogenia

Según Woode (1978) la ausencia o el bajo nivel de anticuerpos específicos contra rotavirus en la luz intestinal es uno de los principales factores que determina la aparición de la enfermedad. La cantidad de anticuerpos en el calostro y la leche declinan rápidamente luego del parto, por este motivo muchos terneros son probablemente susceptibles a rotavirus pocos días después del nacimiento, cuando los niveles de anticuerpos aportados por el calostro presentes en la luz intestinal son mínimos. Los terneros que nacen de vaquillonas, las cuales poseen poca cantidad de calostro, con bajos títulos de anticuerpos, generalmente son susceptibles a menor edad que los nacidos de vacas adultas (Acres y cols. 1977).

Mebus y cols. (1971) comprueban que después de la inoculación experimental de partículas víricas por vía oral, las primeras células que se detectan infectadas (por inmunofluorescencia) son las del tercio superior de las vellosidades de la porción anterior del intestino delgado y solamente se detecta inmunofluorescencia en los extremos de las vellosidades de terneros muertos al comienzo de los síntomas. Durante la fase aguda de la diarrea se evidencia fluorescencia a lo largo de todo el tubo digestivo. Las células afectadas por la replicación vírica son eliminadas hacia la luz intestinal.

Mientras que la microscopía óptica no evidencia mayores cambios en la estructura de la mucosa intestinal, salvo el reemplazo de enterocitos por células cuboidales y la presencia de algunas células con vacuolización citoplasmática, la microscopía electrónica permite observar la presencia de viriones en las cisternas distendidas del sistema retículo endoplasmático (Middleton, 1978).

A medida que la infección progresa, las células de la vellosidad infectadas se desplazan hacia los extremos de la misma para ser eliminadas finalmente en la luz intestinal, y ser reemplazadas por células

cuboidales. Por lo tanto la replicación viral acelera la migración de las células secretorias de las criptas a las vellosidades. Estas células son inmaduras para cumplir funciones de absorción y digestión, ya que tienen un perfil enzimático similar a las células de las criptas; son ricas en timidina-quinasa y pobres en sacarosa. Son incapaces de cumplir funciones de absorción como lo demuestran sus bajos niveles de sodio y potasio y menor actividad ATPasa, (Middleton 1978).

La acción vírica desencadena un proceso diarreico que se establece por una acumulación de nutrientes y aumento de la presión osmótica en la luz intestinal, ya que faltan enzimas y no hay células maduras con capacidad de absorción. En este caso, la actividad de la adenil-ciclasa y AMPc no están aumentadas (Middleton, 1978).

En caso que los terneros no sean portadores de cepas bacterianas patógenas, las vellosidades se regeneran, recobrándose las funciones normales alteradas. Las nuevas células aparentemente son resistentes a infecciones pues, de acuerdo con Mebus y cols. (1971) no se ven afectadas si se inoculan 24 hrs. luego de haber padecido la enfermedad. Esta resistencia tendría como consecuencia dos aspectos profilácticos importantes: en las células del intestino de la vaca el virus no replicaría lo suficiente como para estimular la producción de anticuerpos séricos y calostrales, y por esta rápida resistencia de las células afectadas, sería posible proteger terneros con vacuna con virus atenuado (Mebus y cols. 1971).

#### 8.2.1.3. Infecciones mixtas

Observaciones efectuadas en terneros con diarrea, infectados con virus y que también poseen un elevado número de E. coli en las porciones altas del intestino delgado, han llevado a postular la teoría que los agentes víricos inducen a una enteritis primaria

que permite a E. coli proliferar en elevada cantidad, particularmente en las porciones anteriores del intestino delgado y de este modo contribuir a la patogénesis (Acres y cols. 1975).

Se cree que la proliferación bacteriana secundaria en el intestino delgado es el resultado de la cantidad de nutrientes no absorbidos y motilidad intestinal disminuida que crean un medio adecuado para su desarrollo. Según Mebus (1978) esta población bacteriana en la que pueden encontrarse cepas enteropatógenas de E. coli actuando sobre un epitelio alterado, pueda resultar en bacteriemia o enterotoxemia y además impedir la normal restauración y crecimiento del epitelio afectado.

Estudios realizados a campo, señalan para rotavirus una mortalidad de un 5 %, demostrándose un sinergismo en la asociación de rotavirus y E. coli pudiendo llegar la mortandad hasta un 55 % (Goust y cols. 1978; House, 1978).

Se encontraron infecciones mixtas en un 14 % de los rodeos estudiados por Acres y cols. (1977), mientras que rotavirus fue único agente en el 40 % de los casos.

Por técnicas de inmunofluorescencia, Pearson y cols. (1978 b), determinaron que las lesiones debidas a rotavirus están predominantemente en la porción anterior del intestino, mientras que aquellas asociadas a E. coli se hallan en distal del intestino delgado. Esta diferente distribución haría suponer una asociación y un aumento del área intestinal afectada. Se ha descrito una exacerbación de la virulencia de los agentes etiológicos (Mebus y cols. 1973) aunque, sin embargo no se observa adhesión a la mucosa intestinal de E. coli en porciones anteriores en terneros infectados inicialmente con este enteropatógeno o secundariamente a infecciones víricas.

Por otra parte, si bien rotavirus se detecta ocasionalmente en distal del intestino, no sería un factor determinante en la adherencia de E. coli ya que se adhiere normalmente a la muoosa en ausencia de éste (Pearson y cols. 1978).

#### 3.2.1.4. Diagnóstico

Mebus, en el año 1969 realiza sus hallazgos con técnicas de microscopía electrónica e inmunofluorescencia (ultracentrifugado y tinción negativa). (Bridger y Woode, 1975; Flewett, 1978 Logan y cols. 1979). Virólogos médicos descubren en el año 1972, similares partículas en materia fecal de niños, empleando también microscopía electrónica (Flewett, 1978), adaptando luego estas mismas técnicas la mayoría de los investigadores.

Para proceder al diagnóstico, la muestra que ha de recolectarse, tanto si se van a emplear los métodos de microscopía electrónica como de inmunofluorescencia, es materia fecal diarreica. Es importante que las muestras sean tomadas en las primeras horas de iniciada la diarrea cuando las células epiteliales infectadas con virus están presentes en gran cantidad en la materia fecal (Acres cols., 1975; Mc Nulty y cols. 1976 a). Trabajos experimentales demuestran la presencia de rotavirus por microscopía electrónica e inmunofluorescencia desde 6 días antes hasta 7 días después de iniciada la diarrea.

La microscopía electrónica e inmunofluorescencia son de gran valor en el diagnóstico de diarrea en terneros, más si son usadas como técnicas complementarias, ya que los resultados obtenidos por un método se ven avalados por similares resultados con otro o porque uno de ellos se emplea donde no puede aplicarse el otro. Con la utilización de ambos métodos se puede determinar un 80 % de infecciones simples o mixtas a coronavirus y rotavirus (Mebus y Newman, 1977, Marsolaris y cols. 1978).

Es importante recordar que la inmunofluorescencia es una técnica serológica específica, mientras la microscopía electrónica es una evaluación morfológica y por lo tanto indicativa (Nordenlab, 1973; Mebus y cols. 1975).

Si un líquido contiene  $10^6$  part./ml. y si todas las partículas víricas se encuentran en una capa de 1/10 mm de grosor adherida a la grilla, en cada cuadro de  $70 \text{ } \mu\text{m}^2$  de grilla habría una partícula vírica; por lo tanto éste es un valor mínimo detectable para un investigador cuidadoso y con  $10^8$  part./ml. se puede hacer un rápido diagnóstico (Flewett, 1978).

Ambos métodos, a su vez, es importante complementarlos con la historia del rodeo en cada caso en particular. De ser posible, el diagnóstico definitivo se realizará en base a la evaluación de muchas muestras obtenidas de terneros del mismo rodeo.

Para el diagnóstico de rotavirus se han desarrollado métodos de mayor exactitud que la microscopía electrónica e inmunofluorescencia como fijación del complemento (Flewett, 1978), radioinmunoensayo (ELISA) e inmunoelectromicroscopía (IEM) (Bridger y Woode, 1975; Mc Nulty y cols. 1976 a). Entre estos dos últimos métodos la IEM supera al radioinmunoensayo ya que con él se pueden utilizar anticuerpos multiespecíficos, siendo muy sensible adecuándose -en casos de diarrea neonatal- para determinar varios agentes etiológicos. La sensibilidad de ambos métodos se aproxima al 100 % (Payment y cols. 1979).

La hemoaglutinación también ha sido desarrollada y permite, por un método simple, cuantificar partículas infecciosas de una población de rotavirus (Burtonoboy y cols. 1978).

En general, la microscopía electrónica, está ampliamente superada por los métodos anteriormente mencionados, aunque, según Flewett (1978) ante resultados dudosos de estos métodos el microscopio electrónico tiene ventajas, ya que una clara imagen de una partícula de rotavirus es inconfundible.

### 3.2.2. Coronavirus

Se ha demostrado que coronavirus es causante de diarreas en los animales jóvenes y el hombre, aunque no es tan altamente infeccioso o quizás tan resistente como rotavirus (Flewett; 1978).

Mebus y cols. en 1972, identificaron al virus por primera vez y lo inocularon experimentalmente en terneros (Mebus y cols., 1973). En Argentina ha sido determinada su presencia en casos naturales de diarrea de terneros, identificándose por microscopía electrónica (Zoratti y cols., 1979).

El tamaño de las partículas varía entre 80 y 126 nm con una media de 120 nm; estas diferencias de tamaño pueden explicarse por el colapso y "achataamiento" del método de tinción negativa (Mebus y cols. 1973) empleado en la técnica de ultramicroscopía.

Su morfología varía de redondo a oblongado, con una zona central uniformemente teñida de negro en tinciones negativas. Rodeando el nucleocapside se observan proyecciones características de 20 nm distribuidas a su alrededor (Norden Labs., 1973).

El virus posee una cadena simple de ARN, hemaglutina glóbulos rojos de rata y ratón, no es resistente al calor pues se inactiva a 50°C en 60 minutos, posee una densidad relativa de 1.24. Al igual que otros virus causantes de diarrea, no desarrolla bien en monocapas de cultivos de tejidos (Flewett, 1978). Es posible adaptarlo en cultivos de células de riñón de feto bovino. El principal

efecto citopático se manifiesta por la formación de sincicios celulares con 8 a 12 núcleos.

#### 3.2.2.1. Susceptibilidad del huésped

Coronavirus bovino generalmente afecta terneros entre los 7 a 21 días de edad (Stair y cols., 1972), siendo más patógeno que rotavirus. La mortalidad puede llegar aproximadamente a un 30 %. Se estima que las pérdidas anuales ocasionadas por este virus llegan a 20 millones de dólares en E.U.A. (Hulse, 1978).

El período de incubación es de 24 a 36 hs. Terneros inoculados experimentalmente a las 48 hs. de vida, desarrollan una severa diarrea muriendo en un estado de deshidratación extrema; los terneros inoculados a los 10 días de vida, sobreviven tras una diarrea mucoides de 6 días de duración (Gouet y cols. 1976).

#### 3.2.2.2. Patogenia

Una vez en el intestino, afecta inicialmente a las células de las vellosidades de las porciones anteriores progresando rápidamente hacia caudal infectando luego la superficie mucosa y criptas del colon y linfonódulos y mesentéricos en donde la lesión reviste mayor gravedad, (Mebus, 1972; Mebus y cols. 1973; Wood y Bridger, 1975 y 1978).

La ausencia de infección en las primeras porciones del intestino delgado en terneros alimentados con calostro, indica la acción protectora de anticuerpos locales (IgA e IgM), (Mebus, 1978).

Existe una buena correlación entre inmunofluorescencia y presencia de viriones detectados por ME en las células. En el momento de la replicación vírica no hay lesiones visibles al microscopio óptico, aunque las células contienen gran cantidad de antígeno viral. Como pasos finales de la replicación vírica se produce lisis celular, evidenciable por vacuolización, pérdida de microvellosidades y desaparición

del sistema tubular apical (Mebus y cols. 1973). Antes de que esto ocurra, el comportamiento de los organoides intracelulares durante el curso de la multiplicación indican la pérdida de la función celular, que podría contribuir inicialmente a la patogénesis. Son ejemplos de ello la rápida degeneración y pérdida de mitocondrias que llevan a un déficit en energía necesaria para las funciones de transporte activo, y el excesivo daño en el borde de las microvellosidades que interfiere con la función normal de absorción y secreción (Storz y cols. 1979).

Las células infectadas se pierden y son reemplazadas por células cuboidales inmaduras (Mebus 1972; Mebus y cols. 1973).

Se cree que la diarrea persistente es debida a la leche que se sigue ingiriendo y a la numerosa y prolongada presencia de células inmaduras en las vellosidades, consecuencia de la rápida y severa multiplicación vírica. Estas células son deficientes en enzimas necesarias para completar la digestión de la leche y poseen una reducida capacidad de absorción (Storz y cols. 1978). La retención de agua en la luz intestinal durante el período agudo y posterior a la diarrea es aumentada por la creciente presión osmótica resultante de la imposibilidad del intestino de digerir y absorber la leche parcialmente hidrolizada por las secreciones del cuajo (Mebus, 1972; Mebus y cols. 1973). El volumen de materia fecal y su contenido de leche cuajada indican el grado de severidad en la alteración intestinal. Al igual que sucede con otros enteropatógenos, las infecciones mixtas con rotavirus y E. coli son más severas que infecciones simples.

### 3.2.2.3. Diagnóstico

El método de diagnóstico más utilizado es la identificación de las partículas víricas al microscopio electrónico por tinción negativa con ácido fosfotúngstico (Stair y cols. 1972).

Gouet y cols. (1978) hallan partículas en materia fecal desde el comienzo de la diarrea hasta pocas horas antes de la muerte.

El examen por inmunofluorescencia brinda óptimos resultados si la muestra obtenida es una sección del intestino delgado y especialmente colon espiral. No es recomendable el uso de un frotis de materia fecal ya que el virus produce la rápida lisis de las células afectadas y por lo tanto los resultados obtenidos no indican su presencia, (Flewett, 1976).

Los segmentos de intestino deben ser obtenidos por necropsia de terneros sacrificados dentro de las primeras 4 hs. de iniciada la diarrea y conservados congelados hasta su procesamiento en el laboratorio, (Norden Lab., 1973).

### 3.3. Otros Agentes Etiológicos

Acres y cols. (1977) han demostrado la presencia de múltiples enteropatógenos. En terneros de rodeos de cría lograron aislar E. coli, Citobacter sp., rotavirus, coronavirus y virus de la diarrea vírica bovina (BVD). Estos autores concluyen en que los síndromes y síntomas asociados con la presencia de uno o varios agentes infecciosos aislados no pueden ser diferenciados clínicamente y que los procedimientos de rutina para el diagnóstico de varios de esos enteropatógenos no están aún disponibles.

El diagnóstico de una enfermedad enzoótica de este tipo debe estar basado en la observación de muchos terneros y también debiera incluirse el estudio de infecciones múltiples en cada caso (Moon y cols. 1978). Además se han determinados procesos diarreicos debido a causas no infecciosas.

### 3.3.1. Virus

Diferentes virus han sido aislados de materia fecal de terneros con diarrea, pero su rol en la patogénesis no se ha establecido (Acres y cols. 1977). La participación de enterovirus en las enteritis clínicas, no está aclarado. Se han aislado siete grupos diferentes pero no hay evidencia que tengan conexión con los síntomas clínicos (Loosmore y cols. 1966).

Si bien parvovirus como agente etiológico de diarrea en terneros no ha podido establecerse, por su implicancia en otras especies debería considerarse como un posible enteropatógeno bovino (Flewett, 1978).

Este autor relaciona también Astrovirus y Calicivirus con procesos diarreicos. Los primeros son virus esféricos de 29 nm de forma estrellada. Los que se pueden detectar por inmunofluorescencia al infectar las células. Los calicivirus se conocen como patógenos en gatos y cerdos. Experimentalmente pueden causar diarrea en terneros gnotobióticos (Flewett, 1978).

En general, se atribuyen pérdidas leves en terneros, debidas al virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) y diarrea vírica bovina (BVD), (House, 1978). Se ha demostrado la presencia de anticuerpos contra el virus parainfluenza 3 (PI<sub>3</sub>) en terneros que han tomado calostro teniendo suficientes anticuerpos protectores por un lapso de 7-8 semanas (Loosmore y cols. 1966).

Recientemente fue estudiado por Mebus y colaboradores (1978) un virus distinto a rotavirus y coronavirus, que causa diarrea. Su tamaño es de 100 nm. Tiene un período de incubación de 8 hs. en terneros gnotobióticos y causa una severa diarrea de 24 hs. de duración. Las lesiones han sido observadas solamente en el epitelio de las vellosidades del intestino delgado, formando sincicios celulares con presencia

de numerosos viriones. Ha sido posible propagar el virus en células fetales bovinas de riñón, pulmón y tiroides.

### 3.2.2. Bacterias y Hongos

No se observa comunmente la presencia de otras bacterias asociadas a E. coli ya que cuando ésta actúa es predominante.

Salmonella no suele aislarse de casos de diarrea en terneros neonatos, ya que generalmente se ven afectados terneros de mayores de un mes (Moon y cols. 1978).

Leves pérdidas han sido atribuidas a hongos y levaduras que ocasionalmente causan gastroenteritis de curso largo (House 1978).

### 3.3.3. Protozoarios

La infección de terneros con coccidios del género Cryptosporidium ha sido reportada en E.U.A. en 1971, Australia en 1974, Canadá en 1976, y en Gran Bretaña en 1978 (Pearson y Logan 1978 a), siendo causante de diarreas aunque su real incidencia no está determinada (Moon y cols. 1978, Pohlez y cols. 1978, a y b).

Cantidad de estos protozoarios se han observado en el borde en cepillo de las células del tercio distal del intestino delgado y al igual que cepas patógenas de E. coli, solo se encuentran en las vellosidades pero no en las criptas, también se hallan esquizontes en la luz intestinal (Pearson y Logan, 1978 a).

Por cortes histológicos de segmentos de intestino de terneros enfermos de 8 a 17 días de vida se pudo determinar atrofia de las vellosidades intestinales (Moon y cols. 1978).

Por microscopía electrónica se han observado trofozoitos y esquizontes en la zona supranuclear del citoplasma de las células intestinales. Hay pérdida de vellosidades y aumento del largo de las no infectadas (Pearson y Logan, 1978). Se han determinado infecciones mixtas detectándose la presencia de rotavirus, coronavirus y cryptosporidium.

#### 4. Sintomatología

Comunmente se define como diarrea a una descarga anormalmente frecuente, más o menos líquida de materia fecal por el intestino; sin embargo tal definición es solamente subjetiva y no pueden hacerse comparaciones entre distintos individuos. Blaxter y Wood en 1953, definieron de forma más precisa las pérdidas fecales de los terneros considerando como evacuaciones normales de heces entre 0-200 gr/día, diarrea leve 200-500 gr/día y diarrea más de 500 gr/día. Posteriores estudios determinan que el porcentaje de materia seca (M.S.) en heces normales es del 20% en caso de diarrea leve 15 % y en diarreas francas menor del 10%. (Pearson y cols. 1978 b; Logan y cols. 1979).

Por otra parte el síntoma de diarrea como ya ha sido expresado, no es característico para ninguno de los posibles agentes etiológicos causantes de enteritis. En términos generales la sintomatología está caracterizada por una diarrea profusa acuosa amarillenta (Mebus y cols. 1971; Mebus 1978) con presencia de coágulos de mucus (Mebus 1978). El esfínter anal se presenta distendido, hiperémico y en algunos casos prolapsado. La zona perineal, cola y garrones se hallan impregnados con materia fecal.

Según el curso de la diarrea se manifiestan distintos grados de deshidratación, caracterizándose por decaimiento, depresión y pérdida de peso. Los ojos están hundidos, el pelo opaco e nirsuto, la piel seca con poca elasticidad (Fey 1972, Logan y cols. 1974 b; Wood y Bridger 1975).

El curso generalmente es de 2 a 4 días, variando de acuerdo al modo de acción de cada enteropatógeno en particular y posibles complicaciones que puedan surgir (Mebus 1973; Wood y Bridger, 1975; Logan, Pearson, Mc Nulty, 1977). Como ya se ha mencionado la curación o muerte de los terneros afectados varía según la infección

sea bacteriana, vírica o intervengan varios agentes, (Mebus y cols, 1973; House 1978). Las complicaciones secundarias más frecuentemente reportadas son onfalitis, poliserositis, poli-artritis y septicemia (Fay, 1972; Logan y cols. 1974 b).

## 5. Alteraciones Patológicas

### 5.1. Lesiones Anatomopatológicas

Los hallazgos obtenidos en la necropsia de terneros muertos de diarrea neonatal generalmente no revelan lesiones anatomopatológicas muy evidentes, ni tampoco hay lesiones específicas que sugieran la presencia de determinado agente etiológico.

El cuatros anatomopatológico se caracteriza por deshidratación, más o menos grave. La zona perianal y la cola se hallan manchadas con materia fecal amarillenta, de intenso olor. El abomaso se encuentra dilatado con abundante contenido acuoso, de color gris y olor fétido, ocasionalmente se observan hemorragias en los pliegues (Mebus y cols. 1971).

En el intestino delgado, probablemente debido a su atonía, se observa una gran distensión de las paredes y una abundante colecta líquida de aspecto mucoso. Algunas veces predomina un contenido gaseoso principalmente en el intestino grueso. Cuando hay enteritis mucopurulenta el contenido del intestino delgado y grueso es abundante y cremoso.

Generalmente hay congestión intestinal que por éstasis causa edema. Si se presenta una enteritis hemorrágica se puede observar generalmente en una zona delimitada de 50-60 cm en el intestino delgado o colon.

Los ganglios linfáticos mesentéricos están edematosos e hiperémicos, a veces hemorrágicos.

Se pueden observar hemorragias subepicárdicas, en leptomeninges en corteza adrenal.

En casos de curso largo se pueden encontrar riñones moteados de blanco a causa de una nefritis intersticial. Como complicaciones secundarias, debidas al debilitamiento general o a complicaciones bacteriémicas por E. coli, pueden encontrarse miocarditis acompañada generalmente de pericarditis fibrinosa, endocarditis valvular, sinovitis, artritis fibrinosas, esplenomegalia y coriomeningoependimitis.

### 5.2. Lesiones Histopatológicas

Se sabe que la mucosa del tracto intestinal sufre rápidamente procesos autolíticos, las células de las vellosidades del duodeno y yeyuno se descaman ya a los 20 minutos de la muerte. Pearson y Logan (1978 b) demuestran que este tipo de alteraciones no son observadas si las muestras intestinales son tomadas del ternero bajo anestesia general y son inmediatamente fijadas para evitar todo cambio autolítico post-mortem.

Los artefactos más comunmente observados por estos autores son: formación de espacios subepiteliales y denudación celular de los extremos de las vellosidades intestinales. Si bien esta lesión se describe frecuentemente como parte de un proceso patológico se ha demostrado, sin embargo, que pueden ser artefactos de fijación (Pearson y Logan, 1978 b).

Cuando la diarrea ha perdurado por más de 72 hs. las lesiones son severas, principalmente en la porción posterior del intestino delgado. También en estos casos son frecuentes los artefactos post-mortem ya que es probable que el epitelio dañado por la infección y los disturbios bioquímicos asociados pueden acelerar la autólisis de los tejidos (Pearson y Logan, 1978 b; Pearson y cols. 1978 c y d).

### 5.2.1. Lesiones debidas a E. coli

En las infecciones causadas por E. coli no presentan mayores alteraciones del epitelio. Las vellosidades están más erosionadas en las puntas por descamación celular, hay hinchazón de microvellosidades, que pueden ser el resultado de un aumento de secreción por acción de las toxinas o por procesos degenerativos celulares (Duborgier y cols. 1978; Pearson y cols. 1978 d).

En ocasiones se observan capas de bacterias adheridas a las vellosidades del íleon. Estos hallazgos se pueden realizar por coloraciones de hematoxilina-eosina, Siemsa o por inmunofluorescencia (Moon y cols. 1978; Pearson y cols. 1978 b). Un resultado positivo probablemente indique que las cepas enteropatógenas estén en número suficientemente elevado como para causar diarrea, teniendo consecuentemente un valor diagnóstico presuntivo de la infección por E. coli enteropatógena, (Moon y cols, 1978).

Pearson y cols. (1978 a), encuentran que las vellosidades más afectadas presentan falta de crecimiento, hasta un 60% más cortas en íleon. La aparición de vellosidades acortadas está en relación con la presencia de bacterias adheridas a la mucosa especialmente en la porción posterior de íleon, habiendo una buena correlación entre este hallazgo y el aislamiento de cepas enteropatógenas (Logan y cols. 1977). Un cambio frecuentemente hallado es la adhesión de vellosidades adyacentes por sus extremos o bordes laterales. En los casos más graves la mucosa se observa plana casi sin vellosidades (Pearson y cols. 1978 a y d).

En general, las células epiteliales de las vellosidades afectadas tienden a ser cuboidales, aunque a veces se observan las normales células cilíndricas en vellosidades atróficas (Logan y cols. 1977).

De acuerdo a los estudios de Pearson y cols. (1978 b), no se encuentran sitios de denudación celular en la mucosa y la pérdida de unas pocas células intestinales está asociada a la presencia de reacción celular inflamatoria. La necrosis coagulativa de células epiteliales es un hallazgo poco frecuente que está asociado con la exposición de una pequeña área de lámina propia al lumen, observándose polimorfonucleares, en esas lesiones (Pearson y cols. 1978 a y b) y exudado fibrinoso en la luz (Logan y cols. 1977).

Las células caliciformes se encuentran en menor número y tamaño. En el íleon principalmente, hay un aumento de células reticulares en la lámina propia, la submucosa se ve más gruesa y edematosa, con presencia de polimorfonucleares, linfocitos y células plasmáticas, en ocasiones se observan numerosos neutrófilos en las placas de Peyer migrando al epitelio subyacente, (Pearson y cols. 1978 d).

Mebus y cols. (1971) encuentran que los linfonódulos adyacentes suelen tener numerosos neutrófilos en sus sinusoides medulares dilatados.

#### 5.2.2. Lesiones causadas por Rotavirus

Los Rotavirus causan lesiones en las porciones anteriores del intestino delgado de terneros hipogamaglobulinémicos, siendo estas similares a las lesiones descritas en infecciones causadas por E. coli en las porciones posteriores (Pearson y cols. 1978 b). También induce al acortamiento de las vellosidades y aparición de células cuboidales en reemplazo de las células cilíndricas lesionadas por la replicación viral (Dubourgier y cols., Logan y cols, 1979). Se observan además células descamadas en la luz (Mebus y cols. 1971). Pearson y cols. (1978 c), describen ocasionalmente la exposición de la lámina propia a la luz intestinal, estando este fenómeno acompañado por presencia de leucocitos.

A los cuatro días de finalizada la diarrea las células de las vellosidades se encuentran en plena fase de regeneración (Dubourgier y cols. 1978).

Se puede detectar la presencia de partículas víricas por inmunofluorescencia en todas las vellosidades de las porciones proximal y media del intestino delgado, mientras que en las últimas porciones sólo suele detectarse inmunofluorescencia en los extremos apicales de las vellosidades (Pearson y cols. 1978 b).

Por medio de microscopía electrónica se pueden determinar las lesiones causadas por la replicación vírica, como son la presencia de partículas víricas en las cisternas distendidas del retículo endoplasmático de las células vacuoladas. El ribete en cepillo en las células se torna desordenado y los organelos aparecen degenerados (Dubourgier y cols. 1978; Middleton 1978).

#### 5.2.3. Lesiones causadas por rotavirus y E. coli asociados.

Según Pearson y cols. (1978), las lesiones causadas por la asociación de ambos agentes son similares a las anteriores vellosidades intestinales sin desarrollo, engrosadas y a veces fusionadas; y aumento del número de células en la lámina propia. Ambas lesiones probablemente se relacionen en el íleon distal con E. coli y en las porciones anteriores del intestino delgado con rotavirus (Pearson y cols. 1978 c).

Si bien las lesiones descritas son hallazgo frecuente no se puede precisar inequívocamente si son debidas a la acción de ambos agentes etiológicos, o bien si son la evidencia de un mecanismo de respuesta general a varios tipos de injurias (Pearson y cols. 1978 a y b).

#### 5.2.4. Lesiones causadas por Coronavirus

A pesar que en la mayoría de los casos no es posible

observar lesiones macroscópicas (Mebus 1978), microscópicamente son evidentes las lesiones del intestino delgado y colon (Dubourgier y cols. 1978).

Por técnicas de inmunofluorescencia se determina la presencia de viriones solamente en las células de las vellosidades, al parecer no afecta las glándulas de Lieberkühn, ya que no es posible determinar fluorescencia en sus células. Pero sí se observa inmunofluorescencia en vellosidades y criptas del colon (Mebus 1978).

Terneros que mueren a causa de la diarrea presentan las vellosidades acortadas, con células cuboidales, y descamación celular aún en el colon. Los pliegues del colon espiral se observan atróficos y la morfología de sus células varía de cuboidal a cilíndrico bajo (Mebus 1978).

La propagación de la infección a los linfonódulos adyacentes se puede determinar por una severa depresión de linfocitos, cariorrexis de las células del retículo endotelial e inmunofluorescencia positiva. Los macrófagos presentes en las sinusoides subcapsulares pueden provenir de las vellosidades, ya que en las etapas iniciales de la enfermedad estas células pueden observarse en sus vasos linfáticos.

Por medio de la microscopía electrónica (Storz y cols. 1978) se ha podido determinar que las células más comúnmente afectadas son las de absorción, aunque también puede replicar en células caliciformes, células inmaduras de la vellosidad como así también en fibroblastos y células endoteliales de la lámina propia de la mucosa.

El ME revela tempranamente alteraciones celulares. Los viriones de coronavirus se adsorben a las microvellosidades celulares, aunque también llegan virus a espacios intercelulares. Storz y cols. (1978) describen como pasos de la replicación vírica, la distensión

del SRE liso y rugoso con material granulofibrilar electrónicamente denso y formación de grandes membranas rodeando las zonas de producción del virus. Luego de la condensación de las partes centrales del virus, la envoltura se desarrolla en asociación con las membranas lisas de los sitios de ensamble del virus como lo son las vacuolas citoplasmáticas o vesículas del Golgi.

La acción del virus causa una acelerada y excesiva muerte celular y posiblemente demore la regeneración de células intestinales, lo cual llevaría a una denudación parcial de la mucosa de las vellosidades, presencia de células inmaduras, acortamiento de las vellosidades y reducción de la superficie de absorción (Dubourguier y cols. 1978; Storz cols. 1978).

## 6. Cambios Fisiopatológicos

### 6.1. Trastornos entéricos.

Las enfermedades entéricas específicas causar diarrea por mecanismos variados y característicos.

#### 6.1.1. Motilidad:

La motilidad intestinal varía según las causas que desencadenen la diarrea. La mayoría de los casos están acompañados por hipermotilidad. Un aumento de intensidad, frecuencia o tipo de progresión en los movimientos peristálticos acelera el tránsito de la ingesta y secreciones a través del intestino. Además si el tránsito es demasiado rápido, el tiempo de contacto de la ingesta con la mucosa intestinal para los procesos de digestión y absorción es inadecuado y se favorece la diarrea. Sin embargo no hay evidencia que la hipermotilidad sea causa primaria de diarrea ni que contribuya a desencadenarla en mayor grado que los otros factores. La motilidad probablemente se encuentra disminuida en algunas enfermedades diarreicas, pudiendo predisponer a una proliferación bacteriana secundaria en ciertos casos.

Un aumento en la cantidad de los líquidos intestinales causado por un desorden en la mucosa puede determinar, secundariamente, un aumento de los movimientos peristálticos. Como ya se ha señalado, las enterotoxinas de E. coli pueden tener un efecto similar a las del cólera humano, ya que estimulan las contracciones del intestino del conejo, independientemente de la cantidad de líquido en la luz y por lo tanto, aceleran el tránsito. Sin embargo, si este efecto también ocurriese en terneros contribuiría mucho menos significativamente que la hipersecreción (Middleton 1978).

#### 6.1.2. Permeabilidad Aumentada

Normalmente hay un continuo flujo de agua y electrolitos a través de la mucosa intestinal. Existe un gradiente entre las porciones proximales y distales del intestino con respecto a su capacidad de permeabilidad y transporte de electrolitos. Hay un movimiento pasivo de sodio y agua, que es máximo en las porciones anteriores y va disminuyendo hacia porciones distales. Se puede decir que el duodeno es más "permeable" que el íleon, lográndose en este segmento un rápido equilibrio osmótico. Hay un flujo neto de sodio de la sangre a la luz intestinal en las porciones anteriores del intestino y del lumen y la sangre en las distales (Moon, 1978).

En el yeyuno se absorben los iones sodio, cloro y bicarbonato a favor de sus respectivas gradientes electroquímicos transepiteliales, mientras que en el íleon, el ión cloro y el ión sodio son absorbidos y el anión bicarbonato es secretado contra sus respectivos gradientes electroquímicos (Whipp 1978).

El flujo secretorio a través de la mucosa es abundante, la cantidad de líquido endógeno (producto de las glándulas del aparato digestivo) excede a la cantidad de líquido ingerido. En un ternero normal de una a tres semanas de vida, la secreción de la mucosa

intestinal solamente, es de más de 6 litros por hora. Esta cantidad, más el volumen aportado por las glándulas salivales, gástricas, secreciones pancreáticas, hepáticas y del colon; más un comparativamente pequeño volumen de líquidos ingeridos, requieren que terneros normales absorban muchas veces por día. su volumen sanguíneo de la luz intestinal (Whipp 1978). El movimiento de ese flujo, en ambas direcciones se realiza por difusión pasiva a través de poros situados en las células epiteliales. Como resultado de esta difusión pasiva, en un animal normal, se mantiene un equilibrio o leve absorción neta. Solo una pequeña cantidad del flujo, tanto para absorción o secreción requiere ser transportado activamente por la mucosa. Sin embargo, si la secreción total aumenta más allá de la capacidad de absorción o, si la absorción está impedida por determinadas circunstancias, se produce un desequilibrio eliminándose el exceso de secreción como diarrea (Moon 1978).

La inflamación del intestino puede estar acompañada por un aumento de la presión hidrostática y a su vez esta puede aumentar el tamaño de los poros de la mucosa, ocasionando un excesivo flujo hacia la luz intestinal por diferentes gradientes de presión entre ésta y la sangre. En estos casos, si la cantidad de material exudado excede la capacidad de absorción, también hay diarrea (Whipp 1978).

El tamaño de las moléculas que se pierden a través de la mucosa varía, dependiendo de la magnitud del aumento en el tamaño de los poros. Un aumento en la permeabilidad puede ser determinado experimentalmente por el transporte activo de sustancias como creatinina fructuosa, manitol, eritritol, o inulina ~~de~~ la sangre a la luz intestinal o viceversa. Es posible que solo haya un pequeño aumento en el tamaño de los poros que permita la transudación

de gran cantidad de moléculas pequeñas en solución que tienen como consecuencia la aparición de diarrea. Diarreas asociadas a un gran aumento en el tamaño de los poros permite la exudación de proteínas plasmáticas. Un exudado hemorrágico requeriría un aumento de 10.000 veces del tamaño de los poros que normalmente miden 0.5 nm. Suelen encontrarse poros de gran tamaño en áreas donde las células epiteliales o endoteliales se han perdido o están lesionadas.

Si bien, en algunas inflamaciones intestinales, un aumento de la permeabilidad ocasiona diarrea, ello no significa necesariamente que una inflamación intestinal lleve a un aumento de permeabilidad.

#### 6.1.3. Hipersecreción

Es el resultado de una exageración del componente secretorio normal para el transporte de líquidos y electrolitos de la sangre hacia el lumen intestinal independientemente de cambios en la permeabilidad, capacidad de absorción o gradientes osmóticos exógenos, (Whipp, 1978). Su mecanismo intrínseco no es del todo conocido (Whipp, 1978; Moon 1978). La capacidad de absorción y secreción del intestino varía de las células de las criptas a las de las vellosidades. Las células jóvenes inmaduras o indiferenciadas de las criptas carecen de enzimas de absorción y digestión, por lo tanto la capacidad de absorción es mínima siendo su principal función la secreción. Estas células proliferan y continuamente reemplazan como nuevas células epiteliales a aquellas perdidas en la vellosidad. Allí se anula su capacidad proliferativa y parte de su aptitud secretoria y se diferencian en células epiteliales maduras de la vellosidad. Estas células, una vez diferenciadas, llevan a cabo la totalidad de las tareas de absorción y digestión. Si se las compara con las células de las criptas tienen una mínima capacidad

secretoria. Normalmente la absorción por las vellosidades excede la secreción por las criptas.

La colibacilosis entérica causada por E. coli es un ejemplo en el cual la diarrea se manifiesta principalmente por hipersecreción manteniéndose intacta la capacidad de absorción y digestión. Las criptas permanecen sin alteraciones aunque sin embargo su secreción está aparentemente aumentada más allá de la capacidad de absorción del intestino.

Como ya fue mencionado la secreción intestinal es regulada normalmente por la concentración del AMP cíclico, estando probablemente regulado su nivel en la mucosa intestinal por hormonas, in vitro también se demostró esta acción con prostaglandinas (Jones y cols. 1977). Las enterotoxinas producidas por E. coli podrían tener una acción de tipo hormonal, aumentando los niveles de AMP<sub>c</sub> y exacerbando de este modo los procesos secretorios normales (Whipp 1978, Moon 1978).

Por medio de la secreción intestinal activa se produce el paso de iones cloro, sodio y/o bicarbonato de sodio de la sangre a la luz intestinal. Esta puede ser clasificada en dos categorías, según intervenga o no el AMP<sub>c</sub>. Un mecanismo secretorio en el cual no interviene el AMP<sub>c</sub> es aquel determinado por un aumento del Ca intracelular. La concentración celular de AMP<sub>c</sub> es regulada por enzimas como la adenilciclase y fosfodiesterasa; la primera actúa aumentando las concentraciones de AMP<sub>c</sub> y la última inactivándolo. En general los efectos del AMP<sub>c</sub> son mediados a través de la activación de una proteína-kinasa la cual fosforila al sustrato responsable de la respuesta fisiológica (secreción de iones cloro, sodio y de bicarbonato de sodio).

Recientes investigaciones sugieren que la secreción intestinal también puede estar relacionada con el aumento intracelular de la GUANOSINA MONOFOSFATO CICLICA ( $GMP_c$ ), con aumento de la guanilatociclase de acción similar a la adenil ciclase (Hughes y cols. 1978).

Los mecanismos que controlan el movimiento de líquido y electrolíticos a través del epitelio del intestino delgado, también incluyen mecanismos termodinámicos, neurológicos y factores endócrinos. Poco es conocido sobre el mecanismo fisiológico de estos últimos. Se sabe que hay un número de hormonas gastrointestinales que inducen a la secreción, pero no si están involucradas en mecanismos fisiológicos. Peptidos intestinales estimulan la adenil ciclase; la secretina, glucagón, tirocalcitonina también estimulan la secreción intestinal, pero caen en la categoría de no  $AMP_c$  secretoras. Igualmente, aunque su rol no ha sido definido, la acción parasimática influye en la absorción y secreción intestinal, siendo NO  $AMP_c$  secretora.

De las toxinas bacterianas, la toxina termolabíl de E. coli es  $AMP_c$  secretora al igual que Salmonella typhimurium y V. cholerae. La toxina termo-estable de E. coli puede clasificarse como NO  $AMP_c$  secretora, y ha sido asociada a un aumento de la  $GMP_c$ .

Se conoce poco sobre los efectos de las infecciones víricas en los procesos de transporte activo; se sabe que rotavirus, por ejemplo, no ocasiona un aumento de la adenil ciclase (Middleton 1978).

#### 6.1.4. Alteraciones de la digestión y absorción

El término de malabsorción es usado a veces para caracterizar síndromes en los cuales la diarrea ocurre primariamente como resultado de una falla digestiva acompañada por una capacidad de absorción normal (Moon 1978).

La multiplicación selectiva de virus en las células de absorción de las vellosidades, determina la destrucción de las mismas con

atrofia de vellosidades, y una capacidad de absorción impedida. Por lo tanto la ingesta y secreciones son pobremente absorbidas pasando intactas al colon. La diarrea se produce cuando la cantidad de material en la luz supera la capacidad de absorción del colon (Mebus 1972). La función digestiva también se encuentra impedida ya que las células de las vellosidades son las responsables de esa función. Por ejemplo se ha demostrado que la pérdida de disacaridasas por el riñete en cepillo de células lesionadas ocasiona una deficiencia de lactasa, por lo cual la lactosa ingerida es pobremente digerida (Whipp, 1978). De este modo la capacidad de utilización de la lactosa se ve impedida por dos formas: mala digestión de lactosa y malabsorción de los pocos monosacáridos generados de la lactosa digerida. El material no digerido y no absorbido presente en la luz intestinal tiende a acumular agua, debido a su actividad osmótica contribuyendo a la diarrea. Este material también es fermentado principalmente por la flora del intestino grueso, favoreciendo de ese modo el aumento de partículas osmóticamente activas.

Posteriormente a la destrucción y atrofia de las células de las vellosidades, la proliferación y expansión de las células de las criptas ocasionan aumento de la capacidad secretoria. La incapacidad de los enterocitos por diferenciarse complementamente y su migración a las vellosidades parecen ser los principales factores que afectan al transporte de electrolitos (Middleton 1978).

#### 6.2. Alteraciones del medio interno

Lewis y Phillips (1978) determinan que como resultado de la diarrea aumenta unas 22 veces en el volúmen de materia fecal lo que lleva aparejado una pérdida de 28 veces más de agua, teniendo consecuentemente la materia fecal un 73 a 94% de agua. Por compensación renal las pérdidas de agua por riñón disminuyen un 38% y las de electrolitos se reducen a un 54-63%.

El peso corporal disminuye 7,9 % por día siendo la ganancia neta en un ternero normal de 0.9 % por día. Cuando la muerte ocurre en más de 38 hs. el peso corporal disminuye un 12,7 % desde que se inicia la diarrea.

Las principales pérdidas de electrolitos son de iones cloro y sodio, aunque una considerable pérdida de iones bicarbonato y potasio y leve pérdida de ión magnesio, pueden ocurrir (Tennant y cols. 1978, Lewis y Phillips, 1978).

#### 6.2.1. Cambios en el volúmen de líquidos corporales

En forma similar a lo que ocurre en el cólera humano, también se pierde una gran cantidad de líquido en la diarrea neonatal, correspondiente al extracelular (LEC), (Fisher y Martínez, 1976). Según Lewis y Phillips (1978) el LEC disminuye un 35% y el líquido intracelular (LIC) aumenta en 9,5 %. Este movimiento de agua dentro de las células a expensas del volúmen del LEC tiene un valor negativo para la supervivencia ya que contribuye al shock hipovolémico que ocurre en casos severos. El volúmen plasmático disminuye en un 40%, hay un aumento en el hematocrito ( $\pm$  39 %) y en la concentración de proteínas plasmáticas ( $\pm$  33 %). Un pequeño aumento en la concentración de proteínas plasmáticas puede deberse al catabolismo proteico como resultado de una deficiente energía o a pérdidas de proteínas por el intestino. Aunque el porcentaje de aumento en el hematocrito tiene un alto grado de correlación con la disminución del volúmen plasmático, sus valores absolutos no son adecuados para dar un pronóstico debido a amplias variaciones, individuales (Barber y Doxey, 1976; Fisher y Martínez, 1976; Tennant y cols. 1978).

Debido a la hipovolemia hay una vaso-constricción periférica e isquemia localizada. De ese modo la vaso-constricción tiende, a:

mantener la presión sanguínea y la circulación en órganos vitales. La osmolaridad plasmática comienza a decrecer antes de que se manifieste la diarrea, es marcadamente baja durante el curso de la enfermedad, aunque antes de la muerte aumenta rápidamente. Una disminución en la osmolaridad del LEC resultaría en un elevado movimiento de agua hacia el espacio intracelular y principalmente la luz intestinal (Bywater y Logan, 1977). El marcado aumento en la osmolaridad plasmática que ocurre cerca de la muerte, puede deberse a una disminución de la perfusión tisular que tiene como consecuencia hipoxia periférica y producción de ácido láctico. Debido a una menor perfusión renal, hay aumento del nitrógeno ureico en sangre (Barber y Doxey, 1975; Fisher y Martínez, 1975).

#### 6.2.2. Acidosis y cambios en la concentración de electrolitos

Ante una infección vírica (por ejemplo coronavirus) la principal causa de acidosis es la pérdida de bicarbonato por materia fecal, aunque también otros factores pueden contribuir (Fayet y Overwater 1978). Uno de ellos es la absorción de ácidos producidos por la fermentación microbiana sobre sustratos orgánicos en la luz intestinal (aunque no está bien definido en el ternero) (Mebus 1972). Otra causa de acidosis es la menor eliminación del catión hidrógeno por disminución de la función renal (Mebus 1972; Logan y cols. 1978). Una tercera causa es debida a un aumento del ácido láctico presente en terneros severamente deshidratados. Este aumento ocurre como resultado de la hipoxia periférica causado por la hipovolemia y su consecuente vasoconstricción. Una disminución en la utilización del ácido láctico se debe a su poca utilización por el hígado en la gluconeogénesis, la cual no se cree se origine por un daño hepático sino por una elevada acidosis intracelular y un potencial de óxido-reducción alterado (Barber y Doxey, 1975; Fisher y Martínez, 1975; Fayet y Overwater, 1978).

Paralelamente a la disminución del pH extracelular lo hace el intracelular, como resultado de entrada y producción de hidrogeniones. Para mantener el balance electrolítico, como resultado de este aumento de cationes hidrógeno hay salida de cationes sodio y potasio de la célula o entrada de anión cloruro (Logan y cols. 1978). La concentración de sodio plasmático generalmente baja en terneros con diarrea aunque una hipernatremia ocurre en terneros severamente deshidratados antes de la muerte (Middleton 1978).

El principal causante de desequilibrio osmótico se produce por la eliminación del ion potasio fuera de las células. Si a esta pérdida se agrega el aumento de hidrogeniones se tiene como resultado la inhibición del metabolismo celular lo que permitiría secundariamente una mayor pérdida del catión potasio al LEC (Tennant y cols. 1978; Logan y cols. 1979).

Como el ión potasio también se pierde con la materia fecal diarreica su concentración sanguínea varía marcadamente, aunque generalmente está elevado (Lewis y Phillips 1978).

El aumento del ión potasio en el LEC y disminución del potasio intracelular haría descender su concentración y de este modo el potencial de reposo de las membranas a 24 mV (10 mV mínimo compatible con la vida), dando los síntomas de debilidad muscular y letargo observados clínicamente y también efectos cardiotóxicos.

El daño cardíaco se evidencia por EKG, (onda Ten carpa) y por aumento de enzimas como lactato-dehidrogenasa isoenzima 1, creatina fosfoquinasa y aldolasa, manifestandose bradicardia y bloqueos (Lewis y Phillips, 1978; Tennant y cols. 1978).

### 6.2.3. Cambios Metabólicos y hormonales

En una diarrea aguda y severa hay hipoglucemia (menos de 40 mg/día) manifestándose con síntomas de depresión, letargo, convulsiones y coma; esto ocurre con mayor frecuencia en terneros menores de 1 semana (Tennant y cols. 1972; Acres y cols. 1977). Según Lewis y Phillips (1978), dentro de los factores que contribuyen a originar severa hipoglucemia en terneros con diarrea, se deben considerar a la anorexia y la disminución en la absorción de nutrientes. Las reservas de glucógeno son escasas a esa edad, la gluconeogénesis está inhibida y la glucólisis aumentada por disminución del flujo sanguíneo y oxigenación asociados al shock hipovolémico. Una hipoglucemia severa puede ser causada también por toxinas bacterianas que tienen efecto directo en el sistema cardiovascular y hepático; también podrían tener una acción similar a la insulina (Lewis y Phillips 1978).

La hipoglucemia así como otras causas de stress estimulan la secreción de corticoides. Las concentraciones de hidrocortizona y corticosterona están marcadamente aumentadas en terneros con diarrea, habiendo valores más altos en aquellos terneros que mueren. Los corticoesteroides promueven la gluconeogénesis y deberían por lo tanto mantener los niveles de glucosa sanguíneos, pero sus efectos son mínimos debido a las limitaciones en el metabolismo de los hidratos de carbono ya mencionadas.

La aldosterona y progesterona plasmática también están aumentadas. La acidosis, hipovolemia, hiperkalemia e hiponatremia presentes en un ternero con diarrea estimulan la secreción de aldosterona, que actúa sobre el riñón reteniendo  $H_2O$ , catión sodio y eliminando iones potasio e hidrógeno tratando de corregir el desbalance existente. Desafortunadamente la disminución de la función renal limita la capacidad de acción de la aldosterona, sobre el balance electrolítico y concentración de hidrogeniones (Lewis y Phillips, 1978).

## 7. Medidas Terapéuticas

Para obtener buenos resultados las normas terapéuticas deben tender a controlar los agentes etiológicos y complicaciones secundarias de la enfermedad. Como el diagnóstico de los agentes causantes es complejo, las medidas terapéuticas comunmente se ven limitadas y por lo tanto, son escasos los resultados favorables.

Inicialmente los antibióticos de amplio espectro, han tenido gran éxito, pero con el transcurso del tiempo esta medida terapéutica ha perdido su eficacia inicial debido a la antibiótico-resistencia de muchas cepas de E. coli (Tennant y cols. 1978).

La capacidad de resistencia se puede transferir entre enterobacterias durante la multiplicación celular y transmisión del material genético de las bacterias por el mecanismo de conjugación, por el uso indiscriminado de antibióticos y alimentación con suplementos que contienen antibióticos (Tennant y cols. 1978).

Otra forma por la cual las bacterias E. coli pueden llegar a una antibiótico resistencia es por mutación espontánea, de este modo cepas resistentes se multiplican activamente. La resistencia a tetraciclinas y sulfonamidas es común, también ha sido reportada resistencia a cloramfenicol, neomicina y ampicilina (Jones y cols. 1977).

La correcta terapia antibiótica se basa en pruebas de sensibilidad de las cepas aisladas de animales enfermos, sacrificados en la fase aguda de la enfermedad. Se debe prestar especial atención con la muestra obtenida, pues como se ha mencionado anteriormente, las cepas patógenas se hallan adheridas a las vellosidades del intestino y no se aíslan comunmente de materia fecal, (Radostis 1976).

Los antibióticos generalmente que muestran buena actividad ante cepas enteropatógenas de E. coli son el cloranfenicol (10-20 mg/kg IM por día), colimicina (25000 U/kg IM o intra peritoneal IP cada 12 hs) y polimixina, aunque esta última es tóxica para terneros.

La tetraciclina y oxitetraciclina (5-10 mg/kg IM, IV, IP cada 24 hs) tienen menor efecto ante cepas patógenas aunque, quizás sean los más frecuentemente empleados en la práctica. Pueden emplearse por vía oral (vo) pues llegan una alta concentración intestinal debido a que cumplen un ciclo entero-hepático, retomando al intestino con la bilis.

En ciertos casos la administración oral de drogas no es efectiva, ya que se demostró experimentalmente que el vaciamiento del abomaso está demorado en terneros con diarrea, encontrándose en el cuajo antibióticos que habían sido administrados 12 hs. antes de tomar la muestra (Mebus 1972). Por lo tanto, la administración parenteral de antibióticos sería la ruta más apropiada para obtener niveles terapéuticos sanguíneos en afecciones graves. Otros antibióticos que han demostrado tener buena acción son la clortetraciclina (4 mg/kg IV, o 10 mg/kg VO en varias tomas), estreptomina, dihidroestreptomina, kanamicina (1-2 gr c/100 kg peso) y neomicina (0,5 - 1g c/100 kg, SC-IM).

Los derivados furánicos poseen gran espectro de acción y la ventaja de no ocasionar, o de hacerlo raramente, quimoresistencia; suele emplearse furaltadona (10 mg kg VO) durante varios días. También se pueden asociar a antibióticos y sulfamidas (Seren 1972).

La Terapia hidroelectrolítica tiende a la reposición del volúmen plasmático, que es de principal importancia en terneros que presentan una severa deshidratación. Una dosis de 30-40 ml/kg IV debe ser administrada rápidamente durante la primer hora del tratamiento en terneros con fallas en la circulación periférica; es preferible el uso de una solución electrolítica balanceada como Ringer-lactato (Logan y cols. 1974; Tennant y cols. 1978). El empleo de las vías subcutáneas o intraperitoneal no son satisfactorias, pues al estar disminuida la circulación periférica, hay una significativa reducción de la absorción en dichas zonas.

El resto del volúmen puede ser reemplazado más lentamente en las siguientes 24-36 hs., pudiéndose emplear otras vías si la circulación periférica se ha restablecido. Como el agua y sodio se pierden en proporciones fisiológicas, la administración de una solución electrolítica balanceada es la correcta elección.

Parte de las pérdidas ocurren por el tracto respiratorio, esta pérdida de líquidos no iónicos, debe ser reemplazada con una solución de dextrosa al 5%. En terneros severamente deshidratados, la cantidad de líquidos en déficit, en las primeras 24 hs. de iniciada la diarrea, es de 100-120 ml/kg. Del volúmen total a reponer, el 75 % inicial puede emplearse una solución electrolítica balanceada y el 25 % restante con una solución de dextrosa al 5 %. Una vez reestablecido el nivel de líquidos y electrolitos perdidos, y por lo tanto reestablecida la circulación periférica, los riñones, pulmones y demás reguladores homeostáticos son los encargados de conseguir la reposición de los demás líquidos corporales.

La solución isotónica de bicarbonato de sodio es recomendable, porque en la acidosis metabólica hay déficit de bicarbonato. También podrían emplearse soluciones salinas que contengan potasio, aunque en terneros con hiperkalemia e insuficiencia renal, la adición de po-

tasio no parecería estar indicada en la terapéutica inicial de fluidos. En casos de diarreas persistente con hipokalemia, puede emplearse solución Darrow (Loger y cols. 1974).

Por la similar forma de acción entre la toxina del V. cólera y E. coli se han adoptado, en casos de DNT, los recientes avances terapéuticos logrados en medicina humana. Basados en mecanismos fisiológicos intestinales se propuso el empleo de una solución electrolítica con azúcares y aminoácidos administrados por vía oral. La fórmula empleada es: cloruro de sodio 22 grs., gluconato de calcio 4,5 grs., sulfato de magnesio 1,2 grs., fosfato monopotásico 17,5 grs., glicina 42,4 grs., dextrosa 111,2 grs., y agua 4000 ml. La entrada de iones a la célula, especialmente sodio, se ve favorecida por el transporte junto con glucosa y glicina. A su vez estos últimos aportan energía que generalmente se encuentra en déficit (Jones y cols. 1977).

Otras fórmulas que han sido empleadas son: Cloruro de sodio, 113,6 grs., cloruro de potasio 50,3 grs., bicarbonato de sodio 108,9 grs., glucosa 535,1 grs., glicina 223,0; total 1.030,9 grs. Para un litro de solución agregar 38,2 g de la mezcla inicial a un litro de agua (Radostis, 1976).

Cloruro de sodio 117,0 grs., cloruro de potasio 150,0 grs., bicarbonato de sodio 168,0 grs., fosfato de potasio 135,0 grs., total 570 grs. Para 1000 ml de solución se debe agregar 5.7 gr de la mezcla inicial, también puede agregarse 50 gr de glucosa. Con la adición de glucosa esta solución puede emplearse también en forma subcutánea (Radostis 1976).

Los terneros que no responden a la terapia oral o parenteral entre las 24-48 hs., generalmente han desarrollado lesiones renales irreversibles.

Jones y cols. (1977) se refieren al empleo de sustancias químicas antagonistas de toxinas, especialmente la del V. cólera. Se sugiere que el empleo de determinadas drogas por vía oral, impiden las pérdidas masivas de líquido y electrolitos por mecanismos de acción antagónicos. Se ha demostrado que los salicilatos, in vitro, inhiben la síntesis de prostaglandinas, aunque también es probable que el mecanismo de acción de la toxina colérica no esté mediado por estas. Se han ensayado en ratas: aspirina, indometacina, fenilbutazona, salicilato de sodio. La dexametazona y prednisona fueron efectivas a altas dosis (4 mg/kg SC). De las drogas no esteroideas, la indometacina resultó la más activa, con una inhibición del 59 % de la toxina colérica, a una dosis de 1 mg/kg y del 100 % a 5,5 mg/kg. La aspirina a una dosis de 50 mg/kg SC inhibe el 99 % de la toxina, la misma dosis por vía oral solo un 45 % y a una dosis de 100 mg/kg V. oral tiene un 90 % de inhibición. Cabe aclarar que estas medidas terapéuticas solo controlan la diarrea y no tienen efecto sobre el agente etiológico.

### 8. Profilaxis

Las medidas profilácticas son de gran importancia en la DNT. Las dificultades y resultados relativos de las medidas terapéuticas, indican que el estudio de normas profilácticas es el principal camino a seguir.

Según Radostis (1976), para un control efectivo de la DN, deben adoptarse algunos principios generales de prevención de enfermedades en neonatos, como el aislamiento del medio ambiente contaminado, tratar de disminuir los agentes infecciosos del medio donde están los terneros, aumentar la resistencia inespecífica y específica del ternero.

Para obtener buenos niveles de anticuerpos es necesaria una óptima cantidad y calidad de calostro. Para ello, se debe tener especial cuidado en brindar un adecuado tiempo de reposo a la ubre en su período preparto y dar buena alimentación a las vacas gestantes durante ese período (Logan, 1977).

Acres y cols. 1977, consideran a la inmunización de vientres con enteropatógenos, como una forma inespecífica de proveer inmunidad al ternero ya que diferentes enteropatógenos pueden encontrarse en un mismo ternero o grupo de terneros, en un mismo momento dando un síndrome clínico similar y la presencia de anticuerpos contra uno de ellos nunca provee defensas en el resto de los enteropatógenos (Tennant y col. 1978).

Además, las técnicas necesarias para demostrar la presencia de determinados agentes etiológicos, es difícil y costosa para ser adoptada como un método rutinario de diagnóstico. Por otra parte el simple aislamiento de una bacteria o virus, no es una evidencia suficiente como para darle valor etiológico.

Para la vacunación de la vaca, en caso de emplearse cepas de E. coli, se debe tener en cuenta que la vacuna produzca anticuerpos que aparezcan en calostro. Los anticuerpos sintetizados deben serlo contra el antígeno K, que siempre está en menor proporción que el antígeno O. El anticuerpo anti-K es responsable de la opsonización del antígeno K en la superficie bacteriana. Por otra parte hay que tener en cuenta que los terneros, en determinados casos, no absorben las inmunoglobulinas del calostro (Myers, 1978).

El método de vacunación más promisorio parece ser la preparación de bacterinas con cepas enteropatógenas aisladas de terneros enfermos. Experimentalmente, Myers y cols. (1973) probaron una vacuna preparada con los ocho serotipos patógenos más frecuentemente aislados, dada en establecimientos con problemas. La mortalidad fue del 3.2 % en terneros nacidos de vientres vacunados y del 20.2 % en terneros nacidos de madres no vacunados. Para la vacunación se utilizó coadyuvante de Freund's incompleto y se dieron a vacas preñadas, tres dosis durante el último tercio de la gestación, la última 15 días antes del parto.

Recientemente se han desarrollado vacunas con virus inactivado y modificado, los cuales dan altos títulos de anticuerpos neutralizantes en calostro (Woode y Bridger, 1975).

La principal medida profiláctica tendiente a brindar a los terneros un óptimo nivel de protección, es una pronta toma de calostro en cantidad suficiente luego del parto (1 litro cada 10 kg de peso en varias tomas).

Es conveniente realizar un pool con el calostro excedente para darlo a terneros de vacas con cantidades insuficientes de calostro o que sean nuevas en el rodeo. El calostro puede ser almacenado a temperatura ambiente sin que se alteren sus propiedades protectoras. En caso que una vaca no disponga de suficiente calostro también se puede emplear suero calostrual de otras vacas (50-100 cc/IV). El suero calostrual posee un 10,8 % de proteínas totales y un 8.8% de IgG, (Selman y cols. 1971).

Logan y Penhale (1971) prueban experimentalmente el valor del suero de calostro dado a terneros en forma intraperitoneal e intravenosa, comprobando que solo tiene efecto protector contra formas septicémicas de colibacilosis, pero no contra la diarrea.

Bajo condiciones de campo una fracción de suero bovino rico en Ig M, preparada con sangre de matadero, puede ser un efectivo sustituyente del calostro para uso profiláctico en casos de DNT cuando se administra oral o en forma intravenosa en terneros recién nacidos (Penhale y cols. 1971; Logan y cols. 1974 b; Tennant y cols. 1978).

Como la enfermedad generalmente se manifiesta durante las dos primeras semanas de vida, la vacunación de los terneros es ineficaz, ya que en los terneros recién hay una discreta síntesis de inmunoglobulinas a partir de la cuarta o quinta semana de vida. Si el ternero ha tomado calostro, a medida que va disminuyendo la inmunidad pasiva conferida por este, y al encontrarse en contacto con la flora microbiana ambiental, hay una respuesta a estímulos y elaboración de anticuerpos. Teniendo esto en cuenta, la inmuno-profilaxis en terneros puede hacer poco, frente a infecciones que ocurran en los primeros días de vida (Schutz, 1973; Olson y Waxler, 1977).

Las vacunas contra rota y coronavirus que se emplean por vía oral en terneros recién nacidos no estimulan su respuesta inmune, sino que actúan por competencia con las cepas patógenas de virus, replicando en las células intestinales.

En cuanto al manejo del rodeo, Bradley (1976) hace referencia a la densidad del rodeo como factor predisponente a diarreas, debido a una elevada tasa de contagio, a variaciones en el comportamiento materno, producción de leche y comportamiento del ternero en rodeos con altas cargas.

Se menciona al stress como un factor de importancia a la aparición de enfermedades con especial referencia al debido a condiciones climáticas adversas (lluvias, nieve, viento) y cambios bruscos en el manejo.

Ya que las vacunas disponibles ofrecen solo solución a parte del problema una máxima prevención, debería obtenerse con el uso criterioso de vacunas en combinación con correctas medidas de manejo (Acres y cols. 1975).

II. OBJETIVOS

1. Descripción epidemiológica de brotes naturales de diarrea neonatal ocurridos en tres años sucesivos en un establecimiento de cría del S.E. de la provincia de Bs.As.
2. Determinar la presencia de los agentes etiológicos de la D.N.T., cepas enteropatógenas de Escherichia coli, Salmonella, rotavirus y coronavirus y presencia de anticuerpos séricos contra el virus de la diarrea vírica bovina (BVD) y parainfluenza 3 (PI<sub>3</sub>).
3. Analizar la relación existente entre niveles séricos de inmunoglobulinas en terneros sanos y enfermos y la ocurrencia de la enfermedad.
4. Descripción anatomo e histopatológica de las lesiones halladas en terneros enfermos.

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 1. Establecimiento y grupos experimentales

El presente trabajo fue realizado en un establecimiento de cría del partido de Laprida (zona sudeste de la provincia de Buenos Aires) en el cual se efectuaba un manejo representativo de las demás explotaciones de cría bovina de la región. En este establecimiento, además, se había determinado que existían graves problemas de DNT desde hacía varios años, lo cual lo hizo particularmente apto para su estudio. El mismo cuenta con una extensión de 4100 has. divididas en potreros de aproximadamente 100 has. Todos los potreros que se utilizaron para realizar las observaciones y muestreos poseían pasturas cultivadas "viejas" y tuvieron buena disponibilidad forrajera durante todo el período que duró el trabajo. El servicio durante los tres años observados fue natural estacionado (fines de octubre a fines de diciembre) en vacas, e inseminación artificial en las vaquillonas de primera parición. Los porcentajes de preñez fueron superiores al 93 %, en todos los años.

No hubo antecedentes de abortos, el estado sanitario y manejo adoptado en el rodeo fue óptimo.

Para cumplir con el objetivo 1 se registró el número de terneros enfermos en los distintos potreros, durante las pariciones de los años 1977, 1978 y 1979. La información de los dos primeros años fue provista por el establecimiento.

Durante 1977 las vacas en parición se concentraron en 5 potreros: potrero N° 3 con una superficie de 97 has., con 210 vaquillonas y una carga instantánea de 2.16 Vq/ha; potrero N° 4 de 125 has., 216 vacas y una carga animal instantánea de 1.72 Vc/ha; en el potrero N° 20 de 60 has.

había 144 vacas y una carga instantánea de 2.4 Vc/ha. El potrero N° 27 de 57 has. contaba con 257 vacas en parición y una carga de 2.8 Vc/ha y el potrero N° 9 con 67 has., 256 vacas en parición y una carga instantánea de 3.8 Vc/ha.

En la parición de 1978 los vientres se distribuyeron en cuatro potreros: potrero 17 de 125 has., 229 vacas en parición y una carga animal instantánea de 1,83 Vc/ha; potrero N° 18 de 163 has, con 241 vacas y una carga de 1,4 Vc/ha; potrero N° 20 de 122 has. 226 vaquillonas y una carga instantánea de 1,8 Va/ha, en el potrero N° 23 de 132 has. hubo 228 vacas y una carga de 1.7 Vc/ha.

Durante la parición de 1979 se observaron cuatro grupos de vacas: Lote A): 336 vacas en 96 has., carga animal instantánea, 3.5 Vc/ha; Lote B): 198 vaquillonas de primer servicio en 65 has., carga animal instantánea 3 Vc/ha; Lote C): 300 vacas en 91 has, carga instantánea 3.2 Vc/ha y Lote D): 100 vacas en 118 has, carga instantánea 0.8 Vc/ha. Este último lote se lo consideró como de baja carga instantánea.

En cada uno de los potreros durante los tres años se registró la cantidad de terneros que enfermaron por día durante el período de parición. Para ello se recorrieron dos veces por día (a la mañana y por la tarde) señalando los terneros con síntomas de diarrea. Con estos datos se graficaron las ondas epizooticas de los brotes.

También se obtuvo información sobre la relación existente entre carga animal e incidencia en cada potrero, para su posterior evaluación y análisis.

Como no fue posible determinar la cantidad de terneros nacidos en cada potrero la incidencia fue calculada en base al número de casos registrados sobre el total de vacas preñadas existentes en cada

potrero antes de iniciarse la parición. Teniendo esto en cuenta la incidencia así estimada debería ser levemente inferior a real ya que suele haber diferencias del 2 ó 3 % entre el tacto y la parición.

Para estudios etiológicos e inmunológicos fueron empleados 51 terneros inicialmente sanos y 20 terneros enfermos del Lote A. Los estudios anatomo e histopatológicos fueron realizados en cuatro terneros enfermos del Lote A. Un ternero sano de igual edad fue utilizado como testigo.

## 2. Recolección de las muestras

Se tomaron muestras de sangre y materia fecal de terneros de la siguiente manera: en el Lote A, de 336 vacas, se identificaron al nacimiento 51 terneros sanos, tomados al azar. Luego fueron muestreados a los 3 días y posteriormente a los 8 días de vida. Nuevamente se tomaron muestras en la fase aguda de la diarrea de los terneros de ese grupo que enfermaron. Para contar con mayor información de animales enfermos, también se muestrearon 20 terneros con diarrea elegidos al azar, sin disponer en estos casos información previa de estos terneros.

Las muestras de sangre fueron extraídas de la vena yugular, y el suero obtenido fue almacenado a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento en el laboratorio. La materia fecal fue recolectada induciendo a los terneros a la defecación por estímulo del esfínter anal y por compresión abdominal, las muestras así obtenidas también fueron conservadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

## 3. Determinación de Agentes Etiológicos

### 3.1. Identificación de Partículas Víricas

Según la información obtenida en la bibliografía consultada y la posibilidad de desarrollar algún método de diagnóstico para la iden-

tificación de virus, se optó por emplear microscopía electrónica.

El procesamiento de las muestras de materia fecal para su observación al microscopio electrónico consistió, basados en las técnicas descritas por Flewett (1978), en centrifugaciones diferenciales para obtener como producto final un "pellet" rico en partículas víricas.

Las muestras de materia fecal se suspendieron al 20 % en solución salina fisiológica (aproximadamente 10 gr en 50 ml), se homogeneizaron (1) durante 3 minutos a bajas revoluciones y luego de filtrar por gasa para eliminar las partículas muy groseras, fueron centrifugadas (2) 15 minutos a 3.000 r.p.m. y 4°C. El sedimento resultante de esta centrifugación, formado por restos groseros de materia fecal, fue descartado. A continuación, el sobrenadante fue centrifugado (3) 30 minutos a 7000 r.p.m. (aproximadamente 5000 G) a igual temperatura y finalmente el sobrenadante se centrifugó a 18.000 r.p.m. (aproximadamente 30.000 G), durante 3 horas y media, a 4°C. El sedimento fue suspendido con 0,2 ml de solución fisiológica y conservado a -80°C hasta su observación.

Para la observación de partículas víricas al ME se realizaron tinciones negativas de los "pellets" obtenidos en las centrifugaciones. Una gota del material fue montada sobre una grilla de cobre cubierta previamente con una membrana de formvar y de carbono, realizado en evaporador de vacío.

---

(1) Homogeinizador Virtis, modelo 45

(2) Centrífuga MSE refrigerada

(3) Centrífuga IEC, modelo B-20 A, Damon/IEC División

La tinción negativa se realizó con ácido fosfotúngstico al 2% y a pH 7.0.

La observación al microscopio electrónico se realizó a 10.000 x y 25.000 x para observar detalles especiales. El tiempo de observación no fue mayor de 15 min. por grilla. En algunos casos se tomaron microfotografías para su posterior análisis.

### 3.2. Determinación de anticuerpos contra virus BVD y PI<sub>3</sub>

En las muestras de sueros tomados de los terneros a los 3 y 8 días se determinaron anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral Bovina (BVD) por inmunofluorescencia indirecta y parainfluenza 3, por hemoaglutinación-inhibición. Estas determinaciones fueron realizadas en el Laboratorio de Virología del Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias del INTA en Castelar.

### 3.3. Aislamientos Bacterianos

Las muestras que se utilizaron para realizar los cultivos bacterianos fueron obtenidas de los 4 terneros enfermos que se sacrificaron para su estudio patológico y de un ternero sano utilizado como control. Los cultivos realizados estuvieron basados en las técnicas descritas por Isaacson y cols. (1978) y Moon y cols. (1978).

En cada ternero anestesiado se tomó en forma aseptica una porción del íleon, a aproximadamente un metro de la válvula íleo-cecal. Un trozo de mucosa intestinal fue lavada con solución salina fisiológica estéril y homogeneizada (1) en 20 ml de peptona fría al 0.3 %. Este material al igual que muestras de contenido intestinal, hígado, bazo, riñón, pulmón, cerebro y linfonódulos mesentéricos obtenidos durante la necropsia, fueron sembrados en caldo nutritivo, en placas de agar sangre y agar McConkey e incubado a 37°C 24 hs. (Ver esquema pag. 77). El contenido intestinal también fue sembrado en agar selenito y tetracionato durante 24 hs. a 37°C, las colonias sospechosas fueron repicadas en el medio Salmonella-Shigella.

---

(4) Microscopio Hitachi.HU 12



#### 4. Determinación de Proteínas e Inmunoglobulinas séricas

En todas las muestras de suero obtenidas se determinaron proteínas totales por la reacción de Biuret (5) y las distintas fracciones proteicas (albúmina  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  globulinas) por semi-microelectroforesis (6) sobre tiras de acetato de celulosa (7), utilizando como tampón Veronal sódico 0,04 M. (Margni, 1977). Las corridas fueron de 37 minutos de duración con una intensidad de corriente de 2,5 miliamperes por tira. Las lecturas se realizaron por fotodensitometría (8), obteniéndose los valores absolutos de cada fracción de acuerdo a los porcentajes de cada una de ellas.

En un primer análisis de los resultados obtenidos se determinó la no normalidad de la distribución de las frecuencias de las variables, optándose, por lo tanto, por el empleo de métodos de análisis estadísticos no paramétricos.

#### 5. Necropsias y toma de muestras para estudios histopatológicos

Debido a que la mucosa del tracto gastrointestinal es sumamente sensible a los cambios autolíticos post-mortem, (Pearson y Logan, 1978; Pearson y cols. 1978 a y b), las muestras obtenidas para estudios histopatológicos fueron tomadas bajo anestesia general. Cada ternero fue anestesiado con una asociación de Hidrocloruro de xilazina (Rompun, Bayer) y Cloridrato de Ketamina (Ketalar, Parke Davis) por vía intravenosa a las dosis máximas recomendadas por los Laboratorios. Se abordó la cavidad abdominal por una laparotomía xifo-púbica.

---

(5) Proti2, Wiener Lab.

(6) Electrophoresis, Thomas-Model 20

(7) Cellogel. Chemetron

(8) Analytrol, R.B. Beckman

Para evitar cualquier deformación en la estructura de las vellosidades, cada sección a extraer (aproximadamente de 5 cm) fue fijada con clamps, ligada en sus extremos y luego inyectada con líquido fijador. De esta manera se recolectaron muestras de duodeno, yeyuno, íleon, colon,espiral, ciego y recto. Los terneros fueron sacrificados con una sobredosis de anestesia, realizándose luego la necropsia completa, completando el muestreo para su estudio histopatológico con los siguientes órganos: hígado, bazo, riñón, adrenales, pulmón, cerebro, linfonódulos mesentéricos y abomaso.

Todo el material obtenido del tracto gastrointestinal fue fijado en fijador de Bouin y las demás muestras tomadas, en formol neutro buferado al 10 %. Ambas se procesaron rutinariamente con inclusión en parafina. Los cortes se realizaron a 5  $\mu$  y se tiñeron con Hematoxilina-eosina.

#### IV. RESULTADOS

##### 1. Datos Epidemiológicos

Los resultados obtenidos de las observaciones de los brotes espontáneos de DNT durante las pariciones de los años 1977, 1978 y 1979 se han representado en los Gráficos Nos. 1, 2, 3 y 4.

El Gráfico N° 1, muestra los casos registrados en períodos de cinco días en distintos potreros y el total de casos registrados durante el año 1977, En todos los potreros la onda epidémica se inicia unos 15 días de iniciada la época de parición, con un número variable de casos iniciales que es mínimo en el potrero N° 20 y máximo en el N° 4; luego describe un pico de máxima incidencia para ir decreciendo en forma fluctuante, pudiendo haber un segundo pico (potreros Nros. 3, 4 y 9) antes de la finalización del brote. La forma de iniciación fue similar en todos los potreros, siendo los brotes menos prolongados, los ocurridos en los potreros 20 y 27. En estos tuvo una duración aproximada de

25 días, mientras que en los potreros 4 y 9 se prolongó por 40 días.

El brote con características menos espectaculares y con menor incidencia se registró en el potrero N° 3, en el que sólo había vaquillonas.

La incidencia por potrero, número de casos sobre el total de vacas preñadas, varió de un 23.8 % en el potrero 3 a un 45.3 % en el potrero 9. Siendo la carga animal instantánea en estos potreros de 2.16 Vc/ha y 3.8 Vc/ha respectivamente.

Tomando en conjunto todo el establecimiento, durante ese año se registraron 398 casos de DN sobre 1083 vientres en parición, dando una incidencia estimada del 36.7 %. La carga animal instantánea promedio en los potreros estudiados fue del 2.4 Vc/ha.

El gráfico N° 2 muestra la secuencia de casos detectados en la parición de 1978.

La iniciación y duración de los brotes fue coincidente en la mayoría de los potreros; comenzaron durante la segunda semana de agosto a unos 15 días de iniciada la parición. En los potreros Nros. 17 y 18, la forma de aparición fue abrupta, con una alta difusión; prácticamente en un período de 20 días se vió afectado un alto porcentaje de los terneros que enfermarían durante ese año.

En el potrero N° 23, además de haberse observado una forma de aparición abrupta hubo una elevada incidencia (68,8%) y su duración fue más prolongada que en los otros potreros. Además se registró un segundo pico de prevalencia unos 10 días antes de la finalización.

La curva descrita por el número de casos en el potrero N° 20 tiene un perfil practicamente plano; en este potrero, en el

que solo se encontraban pariendo vaquillonas, se registró una incidencia de 14,3 %, teniendo el brote una duración de unos 30 días. La incidencia en los distintos potreros varió del 14.3 % en el potrero N° 20, al 68 %, siendo la carga animal instantánea promedio para los potreros estudiados de 1.7 Vc/ha. En ese años se registraron 432 casos de DN sobre 924 vacas en parición con una incidencia general estimada en un 46,7 %.

Los cuatro grupos de terneros estudiados durante el año 1979, están representados en el Gráfico N° 3. La onda epidémica de ese año tiene un comportamiento semejante a la de años anteriores, sin embargo, el número de casos por potrero mostró mayor variación. Esa variación se hace evidente en el potrero N° 3 (Lote A) con respecto a los potreros Nos. 9 y 24 (Lotes B y D).

Es de hacer notar que el brote observado en el Lote B (potrero N° 9) solo tuvo una duración de 15 días mientras que en los demás potreros se prolongó de 30 a 45 días.

Al igual que en los 2 años anteriores, la incidencia registrada en la población de terneros nacidos de vaquillonas no superó el 25% de incidencia. En los potreros con alta carga animal instantánea (3 Vc/ha), (fig.1) Lotes A, B y C, la incidencia fue del 72,2 %, 24,2 % y 12,3 % respectivamente y en el potrero con baja carga (potrero 24), Lote D, del 36 %. El número de casos registrados en todo el establecimiento durante ese año fue de 361 y la incidencia del 38,6 %.

La secuencia de casos registrados durante las tres pariciones consecutivas, (Gráfico 4) brindan la siguiente información: los brotes tienen una fecha de iniciación y duración coincidentes. La onda epidémica registrada en todos los casos es la típica de una enfermedad infecciosa. Comienzan en la segunda semana de agosto cuando ha nacido aproxi-

madamente más de 1/3 parte de los terneros y tienen un pico de incidencia máxima entre la 2da. y 3ra. semana de iniciada. Se puede observar que en ese pico de prevalencia está incluido el 20,1 % de los terneros que enfermaron durante el año 1977, el 27,3 % de los que enfermaron en el año 1978 y el 20,7 % de los terneros que enfermaron en 1979. En los tres casos la finalización de las enzootias se produjo gradualmente, terminando luego de unos 40 días de iniciadas, poco antes de culminar el período de parición.

Durante los años estudiados (Gráfico 5) la frecuencia acumulada de casos muestran curvas sigmoideas semejantes con leves variaciones en su amplitud debido a la diferente prevalencia en cada año en particular. La duración de los brotes fue similar en los tres años estudiados, tuvieron una duración aproximada de 45 días, registrándose el 50 % de los casos a unos 20 días de iniciados.

La información obtenida sobre carga animal e incidencia (Gráfico 6) revela una falta de correlación. Incidencias superiores al 50 % fueron observadas tanto con una carga animal de 1.4 Vc/ha como de 3.6 Vc/ha. Durante el año 1978, con cargas entre 1,5 - 2 Vc/ha la incidencia varió de un 15 a un 70 %.

De los 51 terneros inicialmente sanos identificados al nacimiento en el lote A, (año 1979), enfermaron 21. La distribución de las edades en las cuales enfermaron varió entre los 6 y 16 días de vida (Gráfico 7); observándose una mayor prevalencia de terneros enfermos entre los 12 y 14 días.

## 2. Determinación de Agentes Etiológicos

### 2.1. Identificación de partículas víricas al microscopio electrónico

En el grupo de los terneros que no enfermaron, del lote A, se observaron partículas similares a rotavirus en 2 de los terneros (8%) (Cuadro 1) en el muestreo realizado a los 8 días de vida. En el muestreo realizado a la misma edad (8 días de vida) pero en los terneros que posteriormente enfermaron se identificaron partículas similares a rotavirus en 3 casos (12%). La observación de los "pellets" de materia fecal obtenidos de terneros muestreados con síntomas de diarrea, dió resultados positivos en 26 casos (64 %). De 41 terneros enfermos muestreados, 21 del Lote A más los 20 terneros enfermos tomados al azar, en 24 se observaron partículas similares a rotavirus (Figs. 4 y 5) y solamente en 2 oportunidades se encontraron partículas víricas similares a coronavirus. Por otra parte, 15 terneros con diarrea, (36 %) resultaron negativos a la observación de partículas víricas por microscopía electrónica.

### 2.2. Serología de virus, Parainfluenza 3 (PI<sub>3</sub>) y diarrea vírica bovina (BVD)

Parainfluenza 3: Se observaron elevados niveles de anticuerpos contra este virus en la totalidad de los terneros muestreados.

En el 70 % de los terneros muestreados a los 3 días de vida tanto en los 30 terneros sanos como en los 21 terneros que posteriormente enfermaron (Cuadro 2), los títulos fueron superiores a 1/320 sin existir diferencias entre ambos grupos.

En el segundo muestreo (Cuadro 3) los títulos obtenidos disminuyeron levemente manteniéndose aún elevados. Se determinaron títulos de 1/320 en el 24.0% de los terneros enfermos y en el 13.3 % de los que permanecieron sanos.

Alrededor del 20 % de los terneros en ambos grupos poseían títulos menores de 1/80 llegando solamente a un 4 % de animales sin título.

Diarrea Vírica Bovina: Los resultados obtenidos en el primer muestreo (3 días de vida) revelan la presencia de anticuerpos contra el virus solamente en el 13.3 % de los terneros que no enfermaron y en el 23.8 %, de los terneros que posteriormente presentaron diarrea (Cuadro 2). En el muestreo realizado a los 8 días de vida los resultados revelan que alrededor del 10 % de los terneros en ambos grupos poseían anticuerpos específicos contra el virus de la diarrea vírica bovina. (Cuadro 3).

### 2.3. Aislamientos Bacterianos:

En tres de los cuatro terneros enfermos necropsiados se aislaron cepas de E. coli (Cuadro 4) y en dos casos las cepas desarrollaron solamente en caldo nutritivo. Un ternero enfermo resultó negativo a aislamientos bacterianos. Las cepas aisladas fueron identificadas bioquímicamente como E. coli (Tabla 1) no encontrándose diferencias entre las cepas aisladas en los terneros enfermos y el ternero clínicamente sano utilizado como control. La cepa aislada en el ternero 010 desarrolló formando colonias mucoides, era inmóvil y no metabolizaba la lisina; por otra parte la cepa aislada del ternero N° 030 se caracterizó bioquímicamente por no fermentar la rafinosa.

En ningún caso se aisló Salmonella sp.

### 2.4. Pruebas de entero patogenicidad y serotipificación

Las tres cepas aisladas de los terneros enfermos se determinaron como enterotoxigénicas por la prueba del asa ligada de intestino de conejo.

Las pruebas de serotipificación realizadas en el Escherichia y Klebsiella Centre de Copenhagen dieron los siguientes resultados:

Ternero N° 010	09:H-
Ternero N° 030	025:H21
Ternero N° 036	04:H5

### 3. Hallazgos Anatomopatológicos e Histopatológicos

#### 3.1. Necropsias

Ternero N° 010: Aberdeen Angus, hembra de 7 días de vida, estado general regular, con severa deshidratación. Curso de la diarrea, 4 días. Temperatura rectal 38.2°C.

La zona perineal, cola y garrones estaban manchados con materia fecal de color blanco-verdosa de olor fétido. El pelo se presentaba hirsuto, con falta de elasticidad de la piel.

El tubo digestivo tenía una severa congestión en su mucosa, principalmente el yeyuno e íleon. Se observaron pequeñas áreas hemorrágicas de 2-3 cm en la mucosa del íleon. Los linfonódulos mesentéricos adyacentes a las zonas congestivas se encontraban aumentados de tamaño, a casi el doble de su tamaño normal, presentándose edematosos al corte.

Ternero N° 030: Aberdeen Angus, hembra de 14 días de vida, en buen estado general. Curso de la diarrea 48 hs. Temperatura rectal 39 °C. El abomaso se presentaba sin contenido. La mucosa de íleon se observó moderadamente congestiva. El contenido del recto era pastoso, de color verde oscuro y de olor fétido.

Los linfonódulos mesentéricos adyacentes al íleon estaban aumentados a casi tres veces de su tamaño normal, al corte se observaron edematosos.

Ternero N° 036: Aberdeen Angus, macho de 15 días de vida, buen estado nutricional. Curso de la diarrea 24 hs. Temperatura rectal 38,8 °C. El abomaso no tenía contenido, el yeyuno e íleon tenían un contenido líquido gaseoso y su mucosa estaba levemente congestiva. En el recto había abundante contenido pastoso de color blanco-verdoso. Los linfonódulos mesentéricos estaban levemente aumentados de tamaño y congestivos.

Ternero N° 043: Aberdeen Angus, macho de 14 días de vida, en regular estado general, levemente deshidratado. Curso de la diarrea 24 hs. Temperatura rectal 38,5 °C.

La cola y zona perineal estaban manchadas con materia fecal. El pelaje se presentaba hirsuto y había un moderado grado de deshidratación. El abomaso no tenía contenido. La mucosa del íleon se presentaba congestiva y edematosa y su contenido era mucoso, de color verdoso. El contenido del recto era líquido de color verde claro y olor muy fétido.

Los linfonódulos mesentéricos, sobre todo los correspondientes al íleon estaban muy aumentados de tamaño, tres veces de lo normal, al corte se observaban edematosos.

Además de las lesiones descritas no se observaron cambios macroscópicos en el resto de los órganos de ninguno de los terneros enfermos necropsiados.

Ternero control: Aberdeen Angus, macho de 14 días de vida, buen estado nutricional, Sin síntomas de diarrea. Temperatura rectal 38,9 °C.

En el abomaso había abundante cantidad de leche cuajada. La mucosa del intestino delgado no presentaba alteraciones, solamente

se observaron pequeñas zonas levemente congestivas. El contenido era escaso y líquido, con grumos de leche cuajada. El contenido del colon y recto era de consistencia pastosa, de color amarillento. La materia fecal era de consistencia y aspecto normal. No se observaron alteraciones macroscópicas.

### 3.2. Histopatología

Ternero N° 030: El duodeno presentaba su mucosa y submucosa congestionada, se observaron unas pocas células necrosadas con denudación de las vellosidades, especialmente en sus extremos (Fig. 5). En el yeyuno se observó congestión de vellosidades, algunas edematosas y hemorrágicas. Las vellosidades, en general, se presentaban acortadas (Fig. 6) y en ciertos casos fusionadas (Fig. 7). Los vasos linfáticos centrales estaban dilatados.

En el íleon se observaron lesiones similares a las del yeyuno, las vellosidades en esta porción del intestino no estaban muy acortadas, aunque algunas de ellas, estaban revestidas por epitelio cúbico o escamoso (Fig. 8). La presencia de células caliciformes era abundante.

En los ganglios linfáticos mesentéricos adyacentes al yeyuno e íleon, se observó una leve reacción celular y un marcado edema en la zona medular (Fig. 9).

No se apreciaron lesiones histopatológicas en el resto del tracto gastrointestinal ni en otros órganos muestreados.

Ternero N° 010: Se observó marcada congestión en la mucosa del yeyuno y presencia de eritrocitos en la luz intestinal. Las vellosidades, en general presentaban disminuida su longitud y sus vasos linfáticos centrales estaban marcadamente dilatados (Fig. 10). En los extremos de las vellosidades se observaron algunas células con diversos grados de degeneración (Fig. 11), presencia de células muy vacuoladas y cú-

bicas (Fig. 12).

En algunas vellosidades se observaron espacios claros subepiteliales (Figs. 13 y 14).

Las figuras de mitosis en las criptas del yeyuno e ileon se observaron en abundante cantidad.

Los ganglios linfáticos mesentéricos presentaban una leve hiperplasia linfoidea y edema en su zona medular.

No fueron halladas otras lesiones histológicas en el resto de las muestras obtenidas.

Ternero N° 036: El yeyuno de este ternero presentaba una marcada disminución en la longitud de sus vellosidades (Fig. 15), algunas de ellas estaban fusionadas (Figs. 16 y 17) y cubiertas por epitelio cúbico o escamoso. Fue observada una leve congestión submucosa, y vasos linfáticos dilatados (Fig. 18). Se evidenció la presencia de células inflamatorias mononucleadas en el corion de las vellosidades (Fig. 19) principalmente en aquellas, en las que había denudación de unas pocas células epiteliales (Fig. 20).

En el ileon se observaron algunas vellosidades acortadas con epitelio cúbico (Fig. 21) y células con núcleos pignóticos. Las células cilíndricas (normales) de las vellosidades se presentaban vacuoladas en muchas vellosidades.

La mucosa del recto aparecía levemente congestiva,

Al igual que en los anteriores terneros los linfonódulos mesentéricos se presentaban edematosos.

Los demás órganos tomados durante la necropsia no presentaron cambios histopatológicos.

Ternero N° 043: Al igual que en los otros terneros la mucosa del duodeno aparecía levemente congestiva, y con vasos linfáticos dilatados (Fig. 22). La submucosa y vellosidades del yeyuno e íleon se observaron congestivas, con algunas hemorragias, presencia de glóbulos rojos en la luz intestinal fue evidente.

Las vellosidades en general, mantenían su longitud normal, solo en el yeyuno, unas pocas se veían acortadas (Fig. 23). Se observaron abundantes figuras de mitosis en las criptas del yeyuno. En este caso también había algunas vellosidades adheridas en las cuales se confundían sus células epiteliales (Figs. 24 y 25).

En un linfonódulo mesentérico fue observada la presencia de neutrófilos. En general todos los linfonódulos se presentaban hiperplásicos y edematosos. No se hallaron lesiones en el resto del tracto gastrointestinal ni demás órganos muestreados.

Ternero control: La mucosa del duodeno se observó levemente congestiva, con linfáticos algo distendidos.

Las vellosidades del yeyuno e íleon se presentaban alargadas con epitelio cilíndrico (Fig. 26) , aunque algunas vellosidades se observaron acortadas con células epiteliales cilíndricas vacuoladas (Fig. 27 y 28). Estas vacuolas se hallaban en posición supranuclear, y estaban compuestas por varias vesículas.

Frecuentemente se hallaron linfocitos y eosinófilos en la mucosa y submucosa de las vellosidades, este tipo de células también se presentaron en los terneros enfermos.

Los linfáticos centrales de las vellosidades solo se encontraron moderadamente dilatados.

#### 4. Determinación de Inmunoglobulinas séricas

Los valores de las medianas de los niveles de Ig séricas en los muestreos realizados en los 51 terneros del lote A durante el año 1979 se resumen en el siguiente cuadro. Se tomó el valor de la mediana y no el de la media para expresar los resultados obtenidos, debido a la distribución no normal de los valores de Ig.

Edad al muestreo (días)	Nivel de Ig del grupo de terneros que no enfermaron (gr/d) n= 30	Nivel de Ig. del grupo de terneros que enfermaron (gr/d) n= 21
3	3,24	2,90
8	2,25	2,15

No hubo diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,01$ ) en los niveles de Ig entre ambos grupos en los muestreos realizados a los 3 y 8 días de vida como así tampoco en las diferencias observadas entre los dos muestreos.

## V. DISCUSION

La distribución de la época de parición del rodeo que se repitió durante los 3 años del desarrollo de este estudio podría considerarse como una de las principales causas que hacen que la reiteración e incidencia de las epizootias de DNT observadas presenten similares características. Teniendo en cuenta la curva normal de parición estimada para el rodeo, en un determinado momento, que generalmente ocurre alrededor de los 30 días en un rodeo con servicio de 90 días, hay una elevada población de terneros susceptibles; ante estas circunstancias el comienzo de un brote de DN tiene una difusión muy rápida, afectando inmediatamente un gran número de individuos. Los brotes estudiados comenzaron unos 20 días luego de iniciada la parición del rodeo, coincidiendo con el momento en que existía un gran número de terneros recién nacidos, y por lo tanto susceptibles. De este modo muchos terneros se vieron afectados en pocos días, evidenciando la onda epizootica de cada brote un pico de prevalencia máximo durante la tercer semana. Se observaron fluctuaciones en la prevalencia de casos antes de finalizar los brotes en los potreros N° 3 y 9, durante el año 1977; en el potrero N° 23 durante 1978 y en el potrera N° 9 en 1979, que probablemente se debieron al nacimiento de nuevos terneros susceptibles.

Las diferentes incidencias observadas entre los distintos potreros durante los años 1977, y 1978 son de difícil interpretación dado que la experiencia actual no permite reconocer posibles causas de manejo, descontándose el efecto de carga, o de susceptibilidad que puedan hacer variar la difusión de la DNT.

Para explicar la marcada diferencia en la incidencia registrada entre el potrero N° 3 con respecto a los restantes potreros estudia-

dos durante el año 1979 se debería tener en cuenta que en el primero de los lotes se realizó el muestreo de terneros sanos y enfermos y que por lo tanto las condiciones de "stress" de ese grupo fueron mucho mayores que en los restantes.

La falta de correlación entre la carga animal e incidencia para las cargas estudiados en este sistema de manejo (Gráfico 6) puede atribuirse a que una alta tasa de contacto entre los terneros puede depender de los hábitos de vida del rodeo, ya que se ha observado en distintos potreros, que vacas recién paridas tienden a formar grupos en los cuales los terneros menores de una semana de vida están en estrecho contacto prácticamente independientemente de la carga animal existente (Figura 2).

La observación que todos los terneros que habían sido identificados al nacimiento enfermaron a una edad mayor de una semana (Gráfico 7), muy probablemente se deba a la natural disminución de los anticuerpos protectores provistos por el calostro de sus madres. Según Acres y cols. (1977), y Woode (1978) los terneros serían más susceptibles de padecer infecciones entéricas, principalmente debidas a rotavirus, una vez que disminuye la inmunidad local que aportan las inmunoglobulinas calostrales.

En el gráfico de distribución de las edades de terneros enfermos de DN es de hacer notar que habría una edad de más susceptibilidad durante la segunda semana de vida, pues se ha registrado el mayor número de terneros enfermos entre los 12 y 15 días de nacidos. Por otra parte la resistencia a la enfermedad parecería aparecer en forma abrupta, ya que no se han observado terneros enfermos mayores de 16 días de vida. Esta resistencia muy probablemente se deba a un factor de edad más que a una menor oportunidad de contagio, pues la población de terneros

fue en aumento a medida que transcurrió el tiempo. Se menciona que un proceso de maduración fisiológica de la mucosa intestinal debida a cambios en las cadenas enzimáticas de sus células (Middleton 1978) podría ser uno de los factores responsables de la resistencia a algunas infecciones entéricas (Acres y cols. 1977).

Considerando que todos los terneros enfermos (con excepción de los que se utilizaron para realizar aislamientos bacterianos y estudios patológicos) fueron tratados con antibióticos por vía oral, no fue objetivo de este trabajo determinar el curso natural y letalidad de la DNT.

La observación de partículas víricas al microscopio electrónico morfológicamente clasificadas como rotavirus (Figs. 3 y 4) en la materia fecal de 24 terneros enfermos (63 %) muestra una importante correlación entre su aparición y la ocurrencia de diarrea. Los resultados obtenidos en este estudio son semejantes a los publicados por Mebus y Newman (1977) y Marsolaris y cols. (1978), quienes informan que con dicha metodología se puede llegar a diagnosticar casi el 80 % de las diarreas neonatales causadas por rotavirus. En las 15 muestras (36 %) de materia fecal provenientes de terneros enfermos en las cuales no fue posible la observación de partículas víricas, habría que considerar como posibles causas una baja densidad de virus en materia fecal (menos de  $10^8$  partículas/ml, Flewett, 1978) o, a E. coli u otros agentes enteropatógenos como probables responsables del proceso diarreico.

La observación de partículas víricas morfológicamente similares a rotavirus en la materia fecal de 3 terneros (12 %) de 8 días de edad, que posteriormente manifestaron diarrea, se debería a la eliminación de estas en las heces antes de la aparición de los síntomas.

En los 3 casos la diarrea comenzó en las 24-36 hs posteriores al muestreo.

Estos resultados no son similares a los hallazgos de Gouet y cols. (1978) quienes correlacionan estrechamente la aparición de rotavirus en materia fecal y el comienzo de la diarrea. Sin embargo Acres y cols. (1975) y Flewett (1978) demuestran la presencia de rotavirus, por microscopía electrónica e inmunofluorescencia, desde 6 días antes hasta 7 días luego de iniciada la diarrea.

Solamente se demostró la presencia de partículas víricas similares a rotavirus en la materia fecal de 2 terneros (8%) muestreados a los 8 días de vida; estos no presentaron síntomas de diarrea durante el período que duró el estudio, tal observación podría deberse, según la información publicada por Logan (1977) y Woode (1978), a infecciones subclínicas en terneros que han recibido una adecuada cantidad de anticuerpos protectores con el calostro.

En los 24 terneros enfermos en los que se demostró la presencia de partículas víricas similares a rotavirus, la iniciación de los síntomas ocurrió entre los 8 y 15 días de vida; similares resultados informan Mebus (1971) y Acres y cols. (1975 y 1977) en sus trabajos.

Stair y cols. (1972) y Mebus (1972) identificaron más frecuentemente coronavirus en terneros diarreicos entre dos y tres semanas de vida que en terneros enfermos de una semana de vida. Coincidentemente con esta información, en los dos casos en que se determinaron partículas víricas similares a coronavirus, los terneros habían enfermado a edades de 14 y 16 días.

Si bien no se pretendió evaluar la incidencia de cada enteropatógeno en particular, por los resultados obtenidos en los estudios de morfología vírica y aislamientos bacterianos realizados en terneros enfermos sacrificados, se pudieron determinar infecciones simples y mixtas en las que participaron rotavirus y E. coli. En dos terneros (Nros. 030 y 036), que enfermaron al finalizar la segunda semana de

vida, se determinó la presencia de rotavirus y E. coli enterotoxigénica. En estos casos, de acuerdo a la información bibliográfica disponible, rotavirus podría haber sido la causa desencadenante de la enfermedad y E. coli haber actuado en forma secundaria agravando el proceso diarreico (Acres y cols. 1975; Gouet y cols. 1978, House 1978). En otro de los terneros (Nº 043) sólo fue posible identificar partículas víricas similares a rotavirus y, en el restante (Nº 010) se identificó a E. coli enterotoxigénica como único agente enteropatógeno.

La mayor facilidad para el aislamiento de cepas enterotoxigénicas de E. coli a partir de homogeneizados de mucosa del íleon que del contenido intestinal de terneros enfermos (Cuadro 4) sugiere que estas cepas desarrollan adheridas a la pared intestinal (Logan y cols. 1977 b, Gouet y cols. 1978, Moon y cols. 1978). De estos resultados, y debido a que E. coli es un habitante normal del tracto intestinal, surge como de importancia para un correcto diagnóstico, la obtención de las muestras de la porción posterior del intestino delgado de terneros enfermos. De otra manera el simple aislamiento a partir de materia fecal no sería suficiente evidencia para atribuir a una cepa, aunque fuera toxigénica la causa de la diarrea (Acres y cols. 1975, y 1977, Tennant y cols. 1978).

Coincidiendo con los resultados obtenidos por Braaten y Myers (1977) e Isaacson y cols. (1978) no se han encontrado diferencias en las pruebas bioquímicas y de fermentación de azúcares (Tabla 1) entre las cepas de E. coli enteropatógenas, aisladas de terneros enfermos y las de la cepa de E. coli no enteropatógena aislada del ternero control. Solo las cepas aisladas de los terneros 010 y 036 se ajustan al biotipo fermentativo que describen Isaacson y cols. (1978) como con alta posibilidad (77%) de poseer el antígeno K 99<sup>+</sup>. Por lo tanto

debe considerarse como de fundamental importancia para determinar cepas de E.coli toxigénicas el empleo de pruebas biológicas, como las de segmentos ligados de intestino, fistula de Thiry Vella, prueba de Serény y patogenicidad en ratón lactante.

Los elevados títulos de anticuerpos séricos contra los virus PI<sub>3</sub> y BVD en el muestreo realizado en los terneros controlados del lote A a los 3 días de vida, indicaría la presencia de ambos virus en el rodeo (Loosmore 1966), los cuales tendrían una buena capacidad inmunógena, dando una alta concentración de anticuerpos específicos en el calostro.

La significativa disminución de los niveles de anticuerpos en el muestreo realizado en los 8 días de vida es debida al catabolismo de los IA durante las primeras semanas de vida (Logan y cols. 1974, a y c. Fey (1972); informa que la mayoría de los terneros recién nacidos reciben suficiente inmunidad pasiva con el calostro como para prevenir las infecciones víricas que ocurren durante las primeras semanas de vida, especialmente virus PI<sub>3</sub> y BVD, sin embargo, Loosmore y cols. (1966) y Fey (1972) asocian a PI<sub>3</sub> y BVD con varios procesos infecciosos en terneros; Acres (1977) cita que no se sabe con certeza las pérdidas causadas por estos virus, mientras que House (1978) no les da significación en terneros neonatos.

En ningún caso los niveles de Ig séricas a los 3 días de vida en ambos grupos de terneros (los sanos y los que posteriormente enfermaron estuvieron por debajo de un nivel menor de 1 gr/dl considerado como crítico por Fey, (1972) Mac Guire y cols. (1976) y Logan (1977). El valor de la mediana del nivel de Ig séricas en el grupo de terneros sanos fue de 3,24 gr/dl en el muestreo realizado a los 3 días de vida y de 2,25 gr/dl en el muestreo efectuado a los 8 días de vida. En el grupo de ter-

neros enfermos la mediana de los niveles de Ig séricas fue de 2,90 gr/dl y 2,15 gr/dl en los muestreos realizados a los 3 y 8 días respectivamente. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,01$ ) en los niveles de Ig séricas en ambos grupos de terneros. La caída de los niveles de anticuerpos entre los dos muestreos realizados fue de similar magnitud en los dos grupos de terneros y, se debe al catabolismo normal de las Ig. maternas durante las primeras semanas de vida.

En forma similar a los resultados obtenidos por Logan y cols. (1977) terneros severamente afectados de diarrea poseían valores normales de inmunoglobulinas, este hecho muy probablemente se deba a que la función protectora local de los anticuerpos del calostro sobre la mucosa intestinal sería de mayor importancia en la DN que los niveles de anticuerpos circulantes (Logan y cols. 1974 a y b; Olson y Waxler, 1977, Moon 1978). La acción de la inmunidad pasiva local fue evidente ya que durante la primera semana de vida, cuando los niveles de Ig. calostrales fueron óptimas, no enfermó ningún ternero; sin embargo, cuando el nivel de anticuerpos calostrales disminuye, comienza a manifestarse la acción de virus y bacterias enteropatógenas. Por otra parte, como la resistencia de las membranas mucosas a la infección está mediada en parte por la producción y secreción de Ig. a nivel de la mucosa intestinal, especialmente IgA, sería necesario para tener una buena apreciación del estado inmunitario del tracto intestinal de los terneros, medir los niveles de Ig. excretados en materia fecal (Logan y cols. 1974, Olson y Waxler, 1977, Welliver y Ogra 1978).

A pesar de haberse determinado infecciones simples y mixtas en los terneros necropsiados, la sintomatología y lesiones anatomopatológicas no reflejaron diferencias. La sintomatología observada

fue coincidente en todos los terneros enfermos, caracterizándose por una profusa diarrea acuosa de color verde-amarillento, a veces hemorrágica, de olor fétido, que invariablemente manchaba la cola y perineo. En algunos casos el esfínter anal se presentaba dilatado, levemente prolapsado y congestivo.

El grado de deshidratación en general no fue marcado con excepción de aquellos terneros con diarrea de un curso de más de 2 días, observándose en estos casos, decaimiento, pelaje hirsuto y ojos hundidos.

Las lesiones anatomopatológicas predominantemente halladas fueron congestión de la mucosa del yeyuno e íleon e hiperplasia de los linfonódulos mesentéricos adyacentes a esos segmentos intestinales.

No se encontraron lesiones en riñones debido, probablemente, a que el curso de la enfermedad en ningún caso fue lo suficientemente largo como para causar alteraciones macroscópicas en esos órganos.

Las lesiones histopatológicas halladas en este trabajo confirman las observaciones realizadas en las anteriores investigaciones (Mebus y cols. 1971, y 1973, Pearson y Logan 1974; Pearson y cols. 1978 a, b, c y d; Dubourguier y cols. 1978). Las principales alteraciones histológicas observadas fueron marcada disminución en la longitud de las vellosidades del yeyuno e íleon (Figs. 6, 8, 15 y 23) reemplazo de las células epiteliales cilíndricas altas por epitelio cilíndrico bajo o cúbico (Figs. 8, 12, 18 y 21), aumento del número de células del corion (Figs. 6, 8, 15, 19, 20 y 21) y ocasionalmente, adherencia de vellosidades adyacentes por sus bordes laterales (Figs. 7, 16, 17, 24, y 25). Los quilíferos centrales de las vellosidades en la mayoría de los cortes realizados se presentaron dilatados en mucho mayor grado que en el ternero control (Figs. 10, 18 y 22).

No se encontró como un cambio patológico predominante la denu-  
dación celular de los extremos apicales de las vellosidades, si bien  
este cambio ha sido descrito por varios autores como una alteración pa-  
tológica; Pearson y Logan (1978 b) lo citan como artefactos de técnicas  
producidos por la autólisis en muestras obtenidas del intestino de ter-  
neros muertos. Estos resultados probablemente confirman las observacio-  
nes de Pearson, ya que en las muestras obtenidas de terneros bajo anes-  
tesia general sólo se encontró descamación de unas pocas células de los  
extremos de las vellosidades intestinales (Figs. 5 y 20), sin embargo  
un cambio más frecuentemente hallado, también descrito por Pearson y  
Logan (1978 b) como un artefacto de técnica, fue la formación de espe-  
cios claros subepiteliales (Figs. 13 y 14).

A pesar de haberse demostrado la presencia de rotavirus o E.coli  
enterotoxigénica la apariencia histológica de la mucosa intestinal fue  
similar. Probablemente, en el caso de infecciones mixtas, la longitud  
de la superficie del intestino afectado sea mayor que en caso de infec-  
ciones simples, ya que las lesiones debidas a rotavirus se encuentran  
localizadas en las porciones anteriores del intestino delgado y las de-  
bidas a E. coli, en yeyuno e íleon (Pearson y cols. 1978 b).

.Si bien las lesiones descritas fueron un hallazgo frecuente en  
todos los terneros enfermos independientemente del agente etiológico  
identificado, no se puede precisar que estas se deban a la acción de a-  
gentes enteropatógenos o a un mecanismo de respuesta general del intes-  
tino frente a varias entidades nosológicas.

## VI. CONCLUSIONES

Del estudio epidemiológico de los brotes naturales de DNT realizado durante tres pariciones consecutivas en un establecimiento de cría, surgen las siguientes conclusiones:

- La distribución de casos en las epizootias observadas guardó una estrecha correlación con la distribución de la parición del rodeo y la rápida difusión de las mismas estuvo asociada al elevado número de terneros susceptibles presentes en el momento que ocurrieron los primeros casos.
- El factor determinante de susceptibilidad a la enfermedad en los terneros del Lote A, parición 1979, estuvo dado por la edad de los mismos.
- Trabajando con densidades de población que variaron entre 0,8 y 3,5 vacas por hectárea la incidencia no estuvo relacionada con la carga animal.
- Los únicos agentes víricos y bacterianos identificados en terneros enfermos fueron rotavirus, coronavirus y cepas enterotoxigénicas de E. coli.
- Altos títulos de anticuerpos contra los virus PI<sub>3</sub> y BVD indican su presencia en el rodeo.
- No se determinaron diferencias significativas en los niveles de inmunoglobulinas séricas a los 3 y 8 días de vida entre el grupo de terneros sanos y el de terneros enfermos.

- . Las lesiones anatómo e histopatológicas halladas no fueron específicas de los agentes etiológicos aislados o identificados, pudiendo considerarse como mecanismo de respuesta común del intestino.

VII: GRAFICOS, CUADROS Y FIGURAS

**CUADRO 1 : RESULTADOS DE LA OBSERVACION DE PARTICULAS VIRICAS AL MICROSCOPIO ELECTRONICO.**

<b>MUESTREO DE :</b>	<b>PRESENCIA DE PARTICULAS VIRICAS (M.E)</b>			
		<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>TOTAL</b>
<b>TERNEROS QUE NO ENFERMAN</b> (EDAD AL MUESTREO : 8 días)	Nº	<b>2</b>	<b>23</b>	<b>25</b>
<b>TERNEROS ENFERMOS</b> (EDADES AL MUESTREO: (VARIABLES))	Nº	<b>26</b>	<b>15</b>	<b>41</b>

**CUADRO 2 ANTICUERPOS PRESENTES CONTRA VIRUS PI<sub>3</sub> Y BVD EN TERNEROS DE 3 DIAS.**

	TI- TU- LO	<b>PI<sub>3</sub> +</b>					<b>BVD ++</b>	
		1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	+	-
<b>TERNEROS SANOS</b> *	Nº	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>26</b>
	%	<b>6.6</b>	<b>20</b>	<b>23.3</b>	<b>46.6</b>	<b>3.3</b>	<b>13.3</b>	<b>86.7</b>
<b>TERNEROS SANOS</b> <b>QUE ENFERMAN</b> **	Nº	<b>-</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>16</b>
	%	<b>-</b>	<b>9.5</b>	<b>28.6</b>	<b>47.6</b>	<b>14.2</b>	<b>23.8</b>	<b>76.2</b>

\* = N: 30

\*\* = N: 21

+ = INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION

++ = INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA

**CUADRO 3 ANTICUERPOS PRESENTES CONTRA VIRUS PI<sub>3</sub> Y BVD EN TERNEROS DE 8 DIAS.**

		<b>PI<sub>3</sub></b>					<b>BVD</b>	
		NEG.	1/40	1/80	1/160	1/320	+	-
<b>TERNEROS SANOS</b>	<b>Nº</b>	1	2	9	14	4	1	29
	<b>%</b>	3.3	6.6	30	46.6	13.3	3.3	96.7
<b>TERNEROS QUE ENFERMAN</b>	<b>Nº</b>	1	0	3	12	5	2	19
	<b>%</b>	4.7	0.0	14.3	57.1	24.0	9.5	90.5

**CUADRO 4 : AISLAMIENTOS BACTERIANOS EN TERNEROS ENFERMOS DE DIARREA NEONATAL**

<b>CULTIVO</b> <b>TERNERO</b>	<b>MI</b> <b>AGAR</b> <b>SANGRE</b>	<b>MI</b> <b>AGAR</b> <b>Mc CONKEY</b>	<b>MI</b> <b>CALDO</b> <b>NUTRITIVO</b>	<b>GI</b> <b>AGAR</b> <b>Mc CONKEY</b>	<b>GI</b> <b>AGAR</b> <b>SEL. TETR.</b>	<b>GI</b> <b>SALMONELLA</b> <b>SHIGUELLA</b>
<b>010</b>	-	-	<b>E. COLI</b>	-	-	-
<b>030</b>	<b>E. COLI</b>	<b>E. COLI</b>	<b>E. COLI</b>	<b>E. COLI</b>	-	-
<b>036</b>	-	-	<b>E. COLI</b>	-	-	-
<b>043</b>	-	-	-	-	-	-
<b>CONTROL</b>	-	-	-	<b>E. COLI</b>	-	-

**MI**, MUCOSA INTESTINAL

**GI** : CONTENIDO INTESTINAL

**TABLA 1: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS DE LAS CEPAS DE ESCHERICHIA COLI AISLADAS DE TERNEROS ENFERMOS.**

CEPA		010	030	036	CON-TROL
COLONIA MUCOSA		++	-	-	-
S <sub>M</sub>		-	-	-	-
INDOL		+	+	+	+
MOVILIDAD		+	+	+	+
LISENSA		-	-	-	-
REDUCCION DE NITRATOS		+	+	+	+
RM - VP		+	+	+	+
IMPLUMATO		-	-	-	-
CITRATO SIMMONS		-	-	-	-
GELATINA		-	-	-	-
ONPG		+	+	+	+
	GLUCOSA	+ GAS	+ GAS	+ GAS	+ GAS
	LACTOSA	+	+	+	+
	MELOBIOSA	+	+	+	+
	ESULINA	+	+	+	+
	RAMNOSA	+	+	+	+
	RIBOSA	+	+	+	+
	SORBITOL	+	+	+	+
	ADONITOL	-	-	-	-
	GELORINOSA	-	-	-	-
	ARABINOSA	+	+	+	+
TERMENTACION DE AZUCARES	FRUCTUOSA	+	+	+	+
	GALACTOSA	+	+	+	+
	SALICINA	-	-	-	-
	SORBOSA	+	+	+	+
	SACAROSA	+	+	+	+
	MALTOZA	+	+	+	+
	DULCITOL	-	-	-	-
	MANITOL	+	+	+	+
	ERITROL	-	-	-	-
	TREHALOSA	+	+	+	+
	RAFINOSA	+	+	+	+
	INOSITOL	-	-	-	-
	XILOSA	+	+	+	+
AMINOACIDOS	ORNITINA	+	+	-	-
	ARGININA	+	+	+	+
	LISINA	-	-	+	+
	FENILALANINA	-	-	-	-

GRAFICO 1 : SECUENCIA DE CASOS DE DIARREA NEONATAL TRES CARDOS AÑO 1977

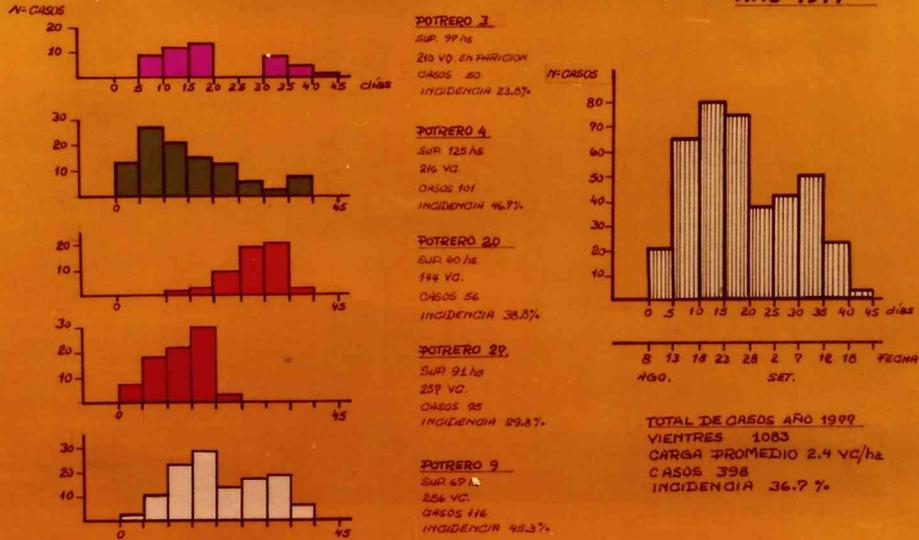


GRAFICO 2: SECUENCIA DE CASOS DE DIARREA NEONATAL - TRES CARDOS - LA PRIDA - AÑO 1978.

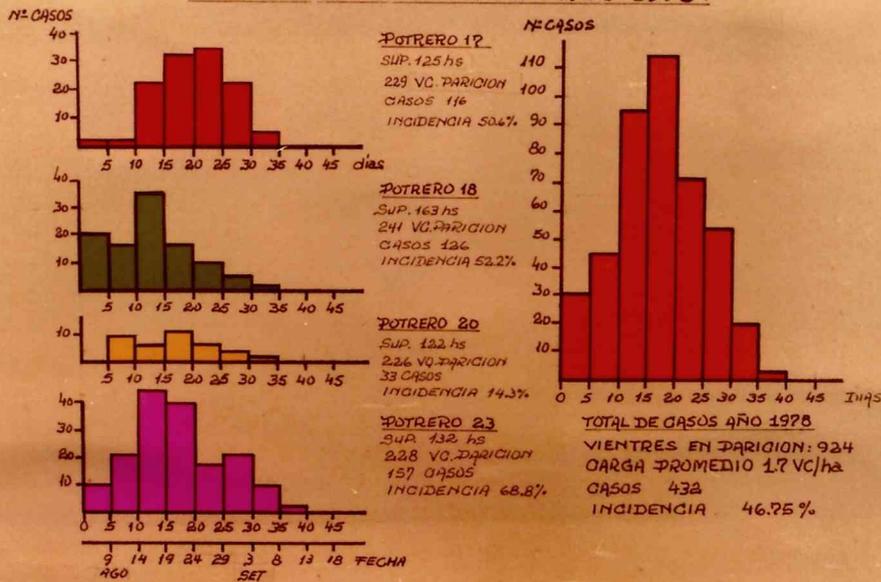


GRAFICO 3: SECUENCIA DE CASOS DE DIARREA NEONATAL "TRES CARDOS" LAPRIDA - AÑO 1979

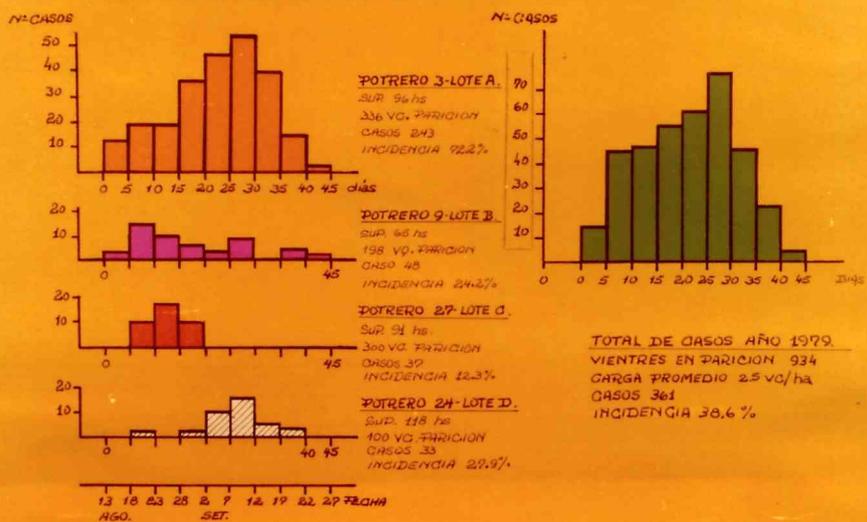
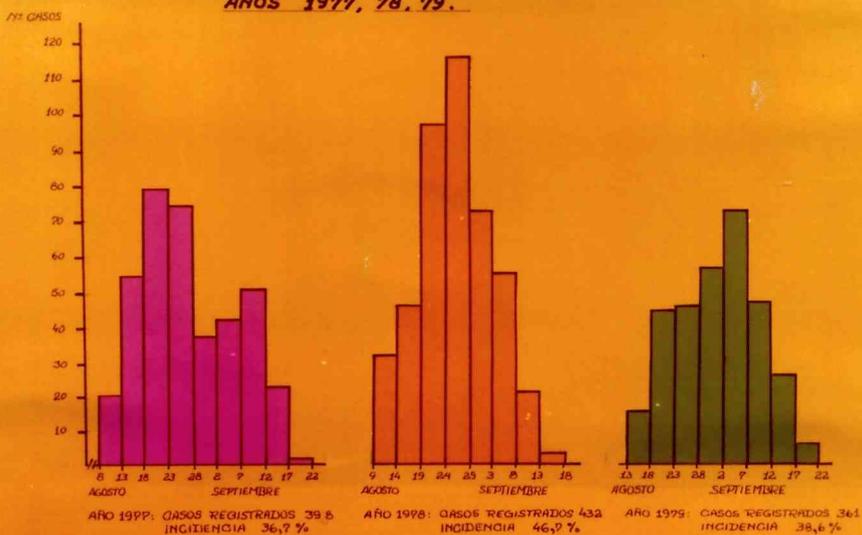


GRAFICO 4: SECUENCIA DE CASOS DE DIARREA NEONATAL DURANTE TRES PARICIONES CONSECUTIVAS "TRES CARDOS" LAPRIDA AÑOS 1977, 78, 79.



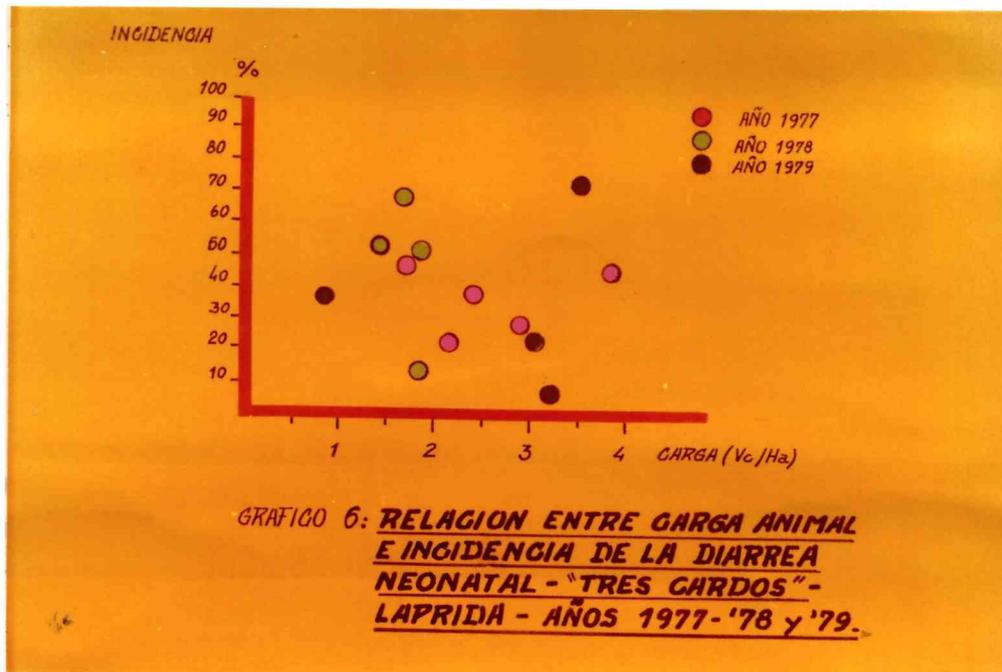
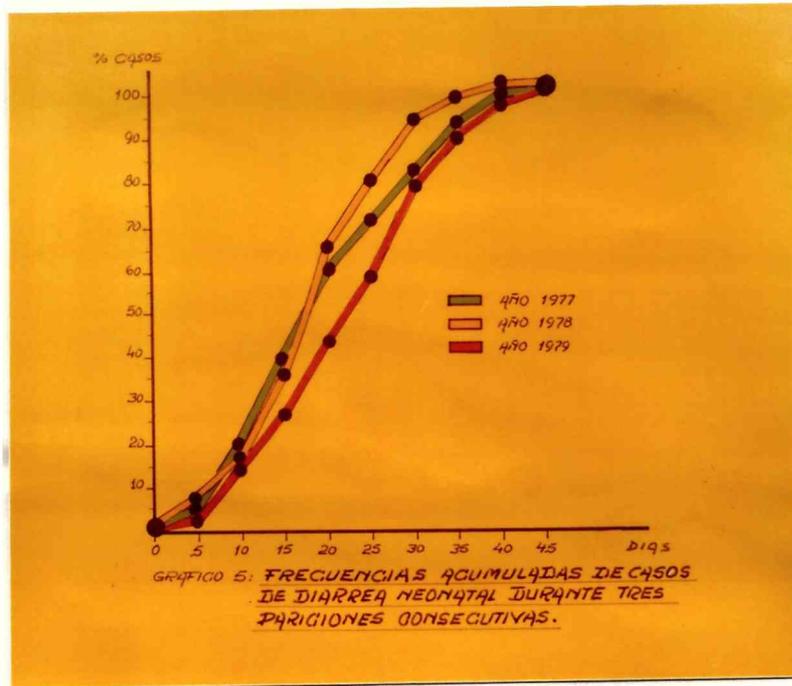
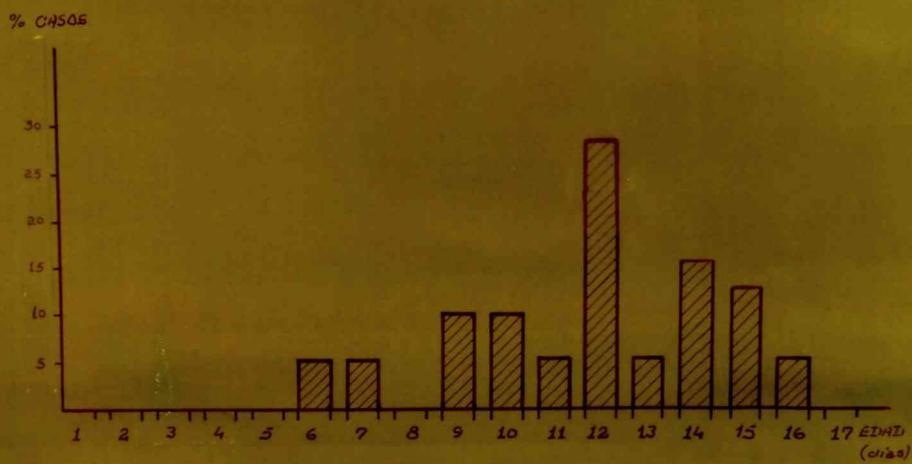


GRAFICO 7 : DISTRIBUCION DE LA EDAD DE TERNEROS ENFER-  
MOS DE DIARREA NEONATAL



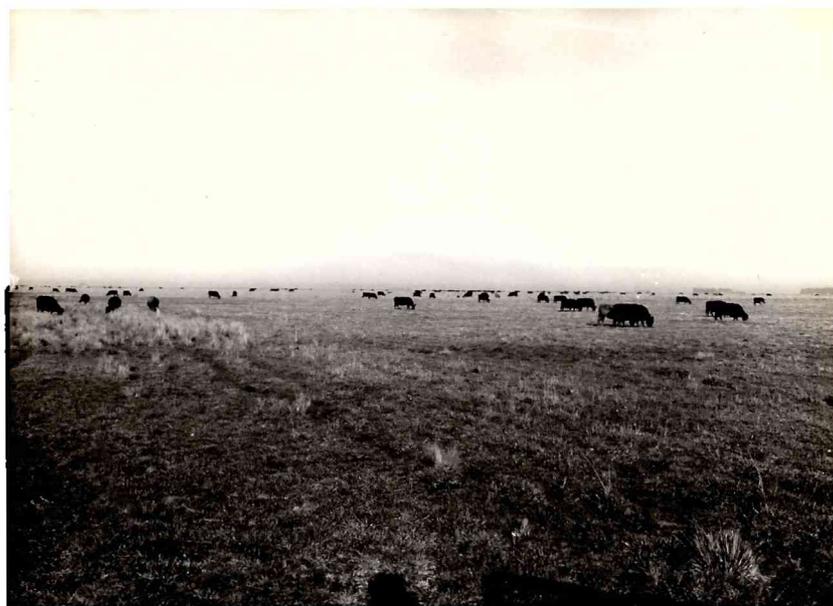


Fig. 1. Vista parcial del Lote "A" de 336 vacas en un potrero de 92 hs. (carga animal 3,5 Vc/ha). En este grupo enfermaron 243 terneros siendo la incidencia del 72,2 %.



Fig. 2. Vista parcial del Lote "A", en la que se puede apreciar conducta del rodeo formando grupos de vacas paridas en los que los terneros están en estrecho contacto.

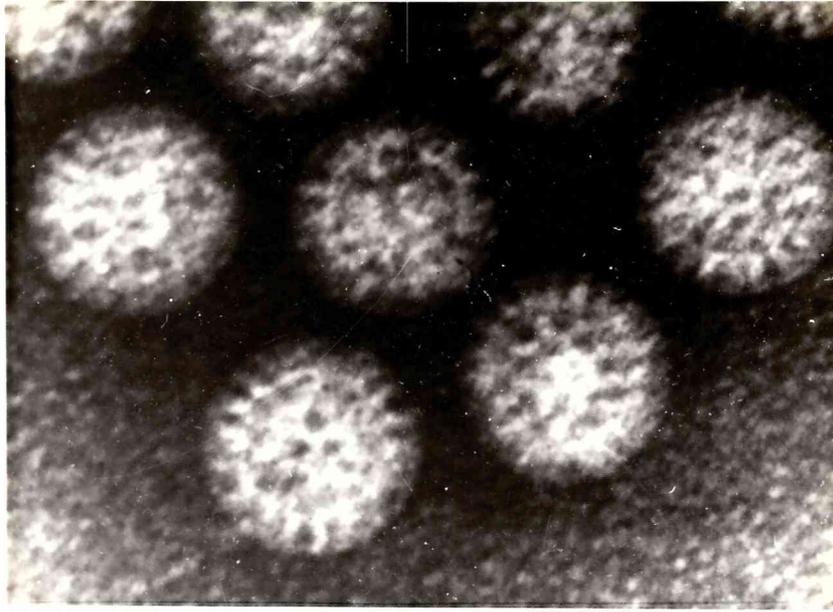


Fig. 3. Partículas víricas morfológicamente identificadas como rotavirus halladas al microscopio electrónico en la materia fecal de un ternero enfermo. 250.000 X.

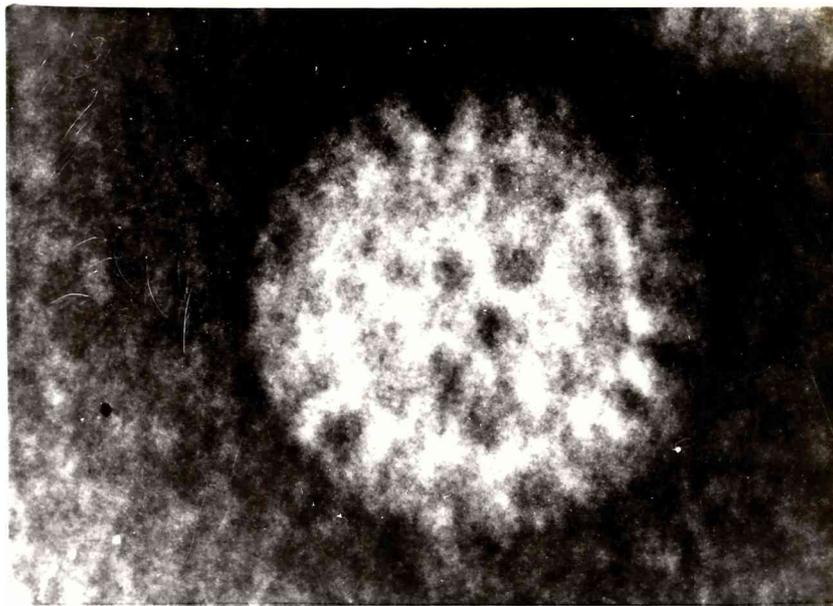


Fig. 4. Una de las partículas de la Fig. 3, representada con mayor aumento. Se puede observar la característica estructura radiada del virus. 500.000 X.

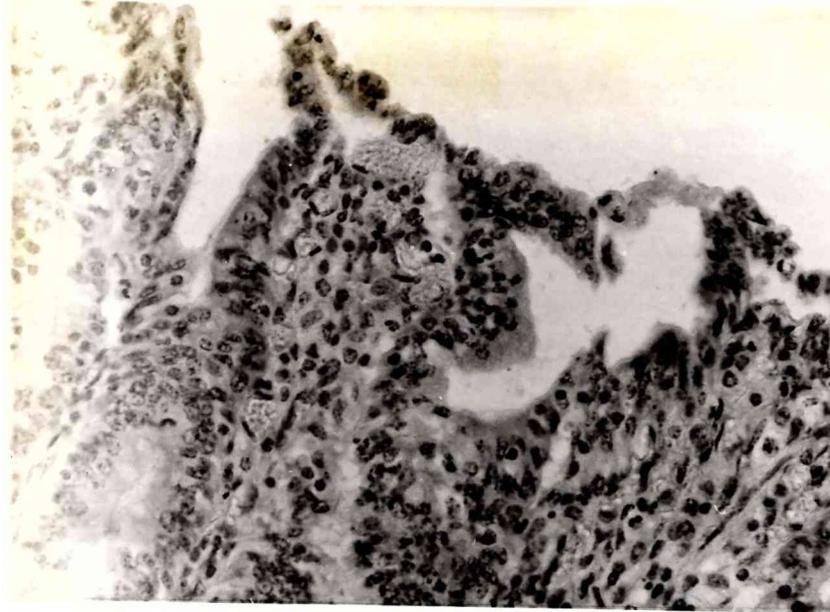


Fig. 5. Ternero 030, duodeno. Vellosidad intestinal acortada, con necrosis y desprendimiento de algunas células epiteliales. Los capilares sanguíneos se presentan congestivos. 250 X.

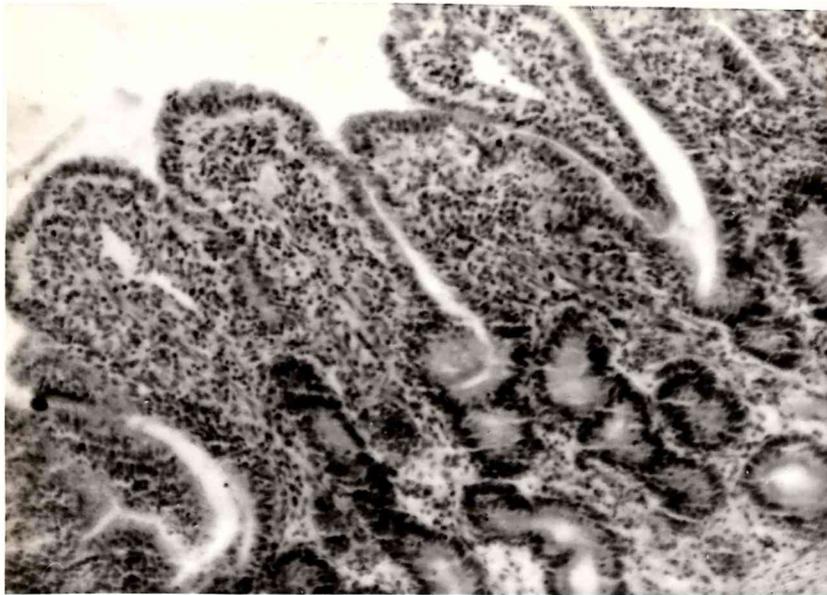


Fig. 6. Ternero 030, Yeyuno. Vellosidades acortadas y de grosor aumentados. 100 X.

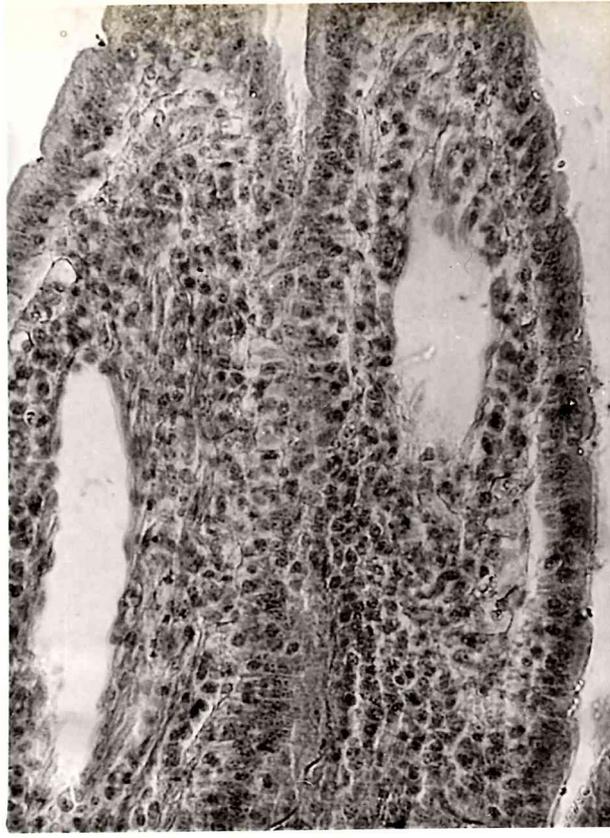


Fig. 7. Ternero 030, Yeyuno. Velloidades intestinales adyacentes, adheridas por sus bordes laterales, en las que se confunden sus células.



Fig. 8. Ternero 030, Ileon. Velloidades acortadas y de grosor aumentado. Se observa leve reacción celular mononuclear y epitelio cilíndrico bajo o cúbico en las velloidades. 100 X.

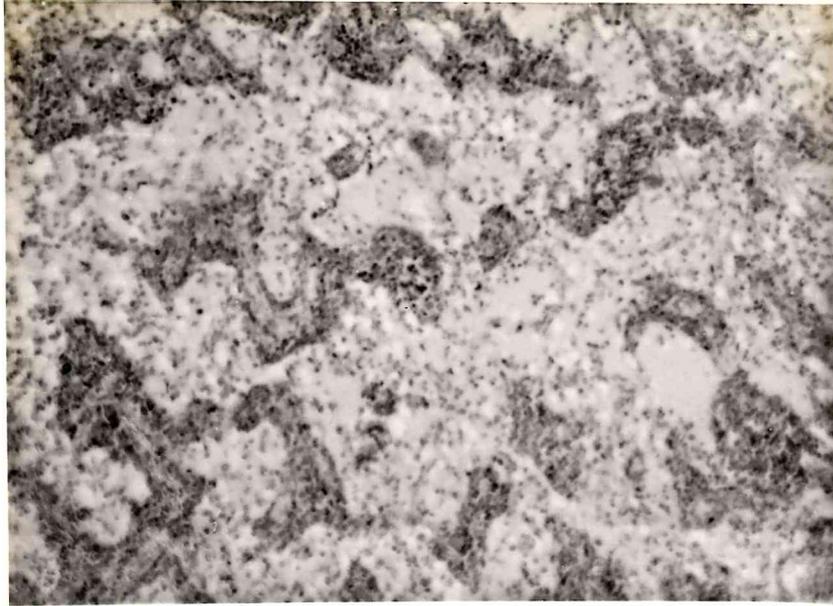


Fig. 9. Ternero 030, Ganglio linfático mesentérico. Marcado edema en la zona medular. 100 X.

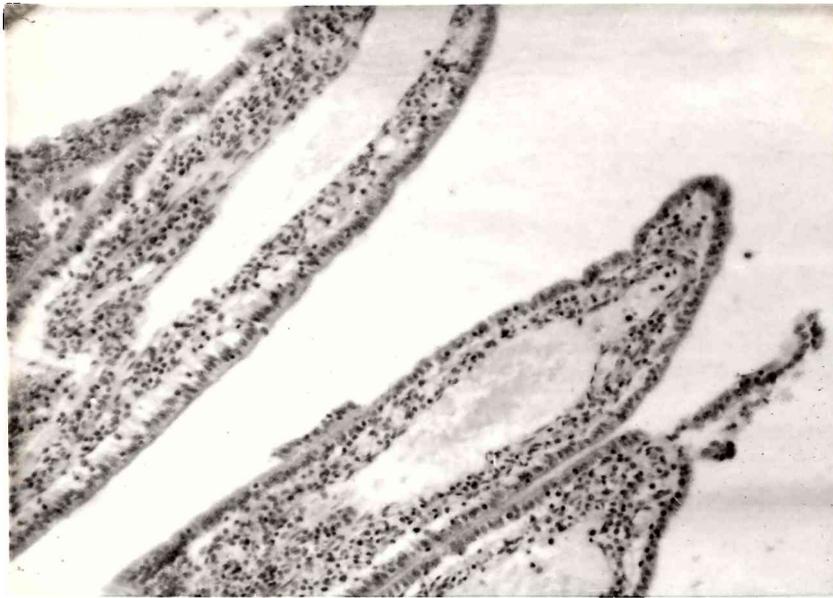


Fig. 10. Ternero 010, Yeyuno. Los vasos linfáticos centrales de las vellosidades se observan marcadamente dilatados. 100 X.

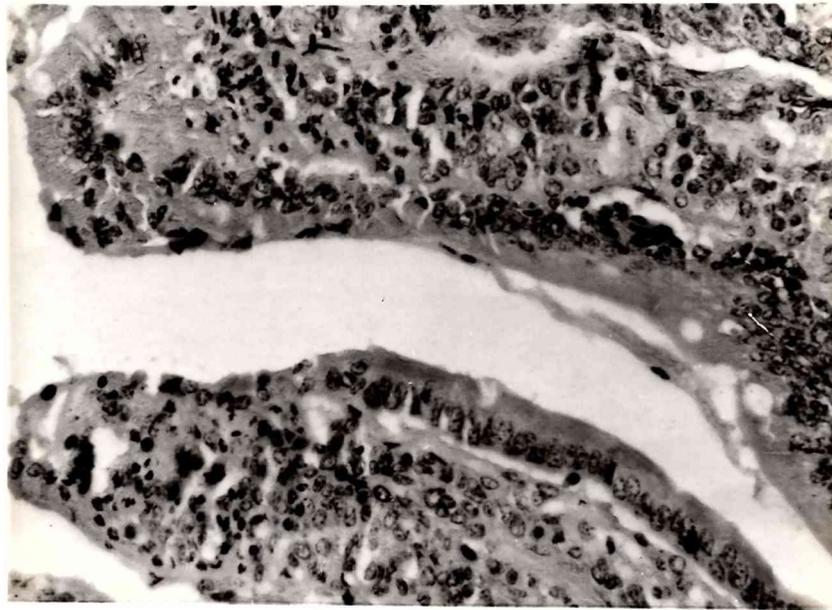


Fig. 11. Ternero 010, Yeyuno. Necrosis y pérdida de algunas células epiteliales de la vellosidad. 250 X.

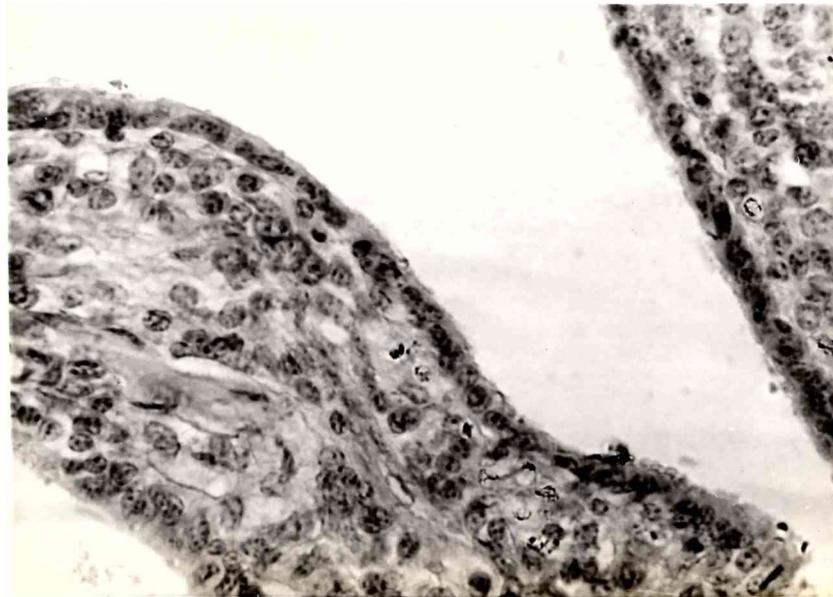


Fig 12. Ternero 010, Yeyuno. Vellosidades con células epiteliales cúbicas. 400 X.

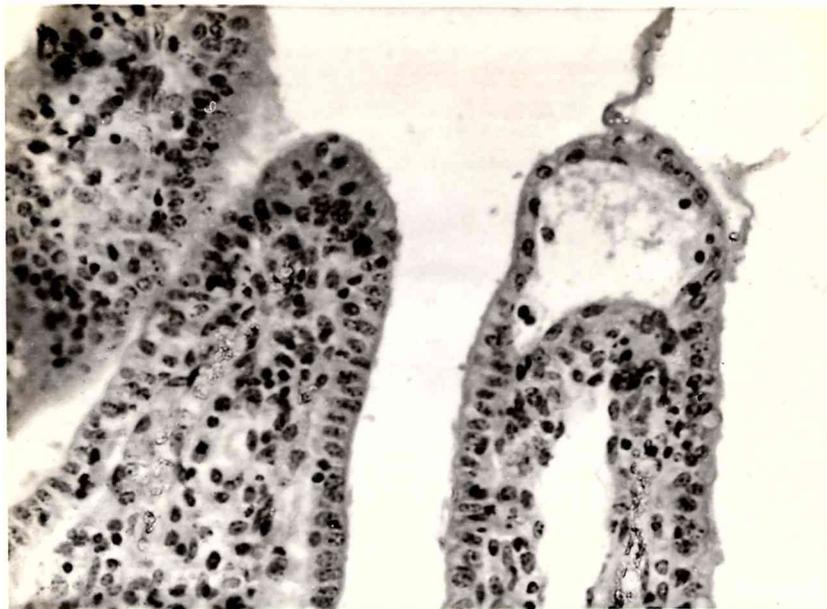


Fig. 13. Ternero 010, Yeyuno. Formación de un espacio subepitelial en el extremo de una vellosidad. 250 X.

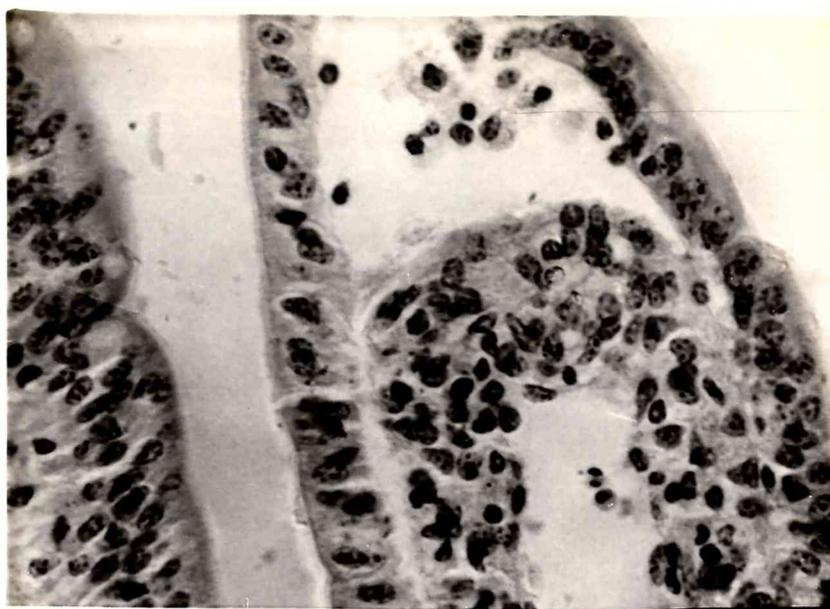


Fig. 14. Ternero 010, Ileon. Detalle a mayor aumento de un espacio subepitelial en el extremo apical de una vellosidad. 400 X.

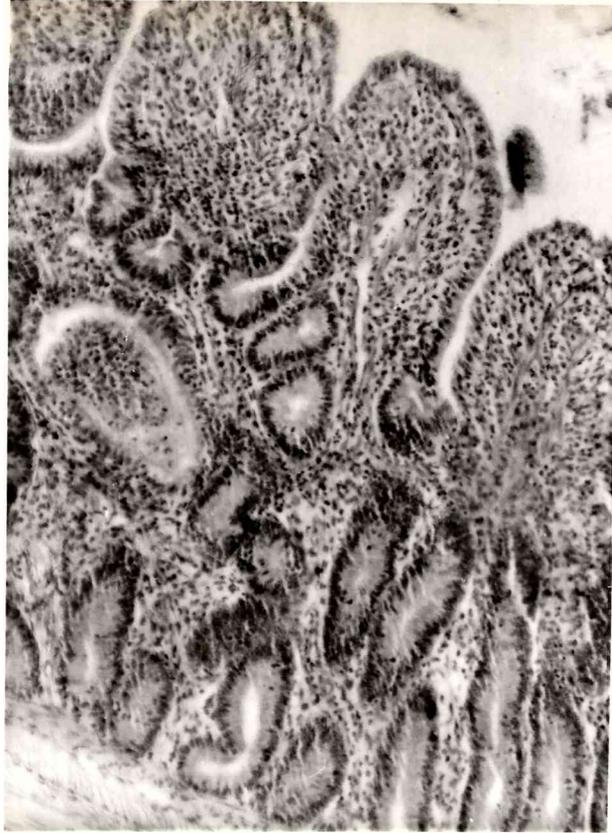


Fig. 15. Ternero 036, Yeyuno. Se pueden observar vellosidades con su longitud marcadamente disminuída y su grosor aumentado. 100 X.



Fig. 16. Ternero vellosi

laterales de

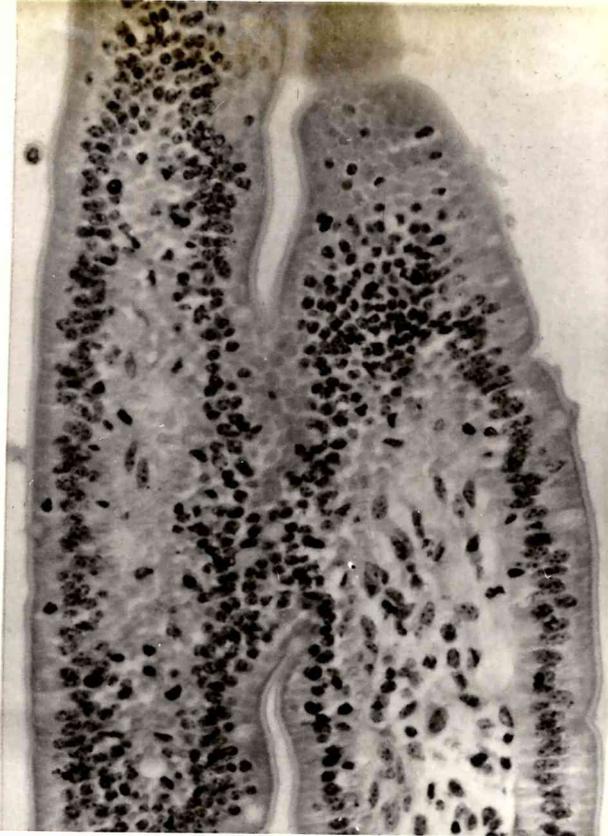


Fig. 17. Ternero 036, Yeyuno, Idem. Fig. 16 con mayor aumento.  
Las células epiteliales de ambas vellosidades se confunden desordenadamente. 250 X.

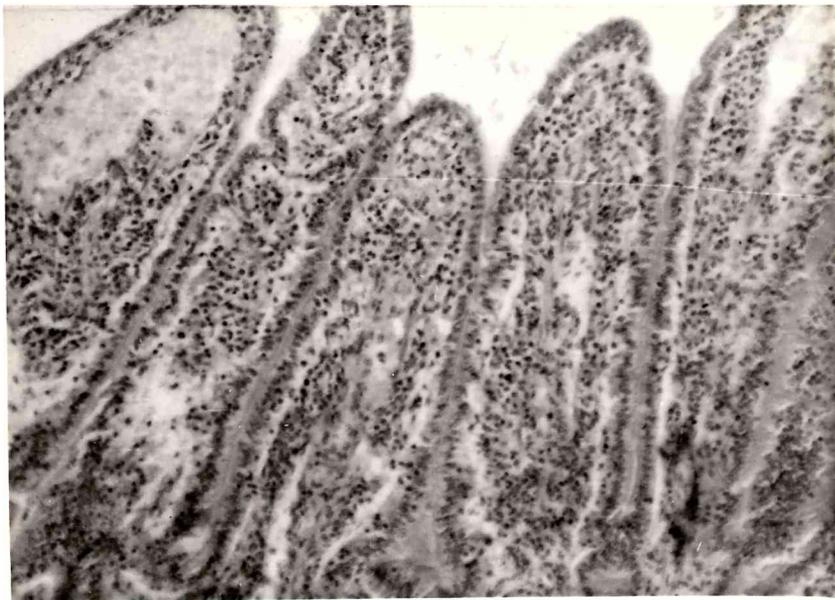


Fig. 18. Ternero 036, Yeyuno. Vellosidades con epitelio cilíndrico bajo que, en zonas tiende a cúbico. El vaso linfático central de una de las vellosidades se observa muy dilatado.

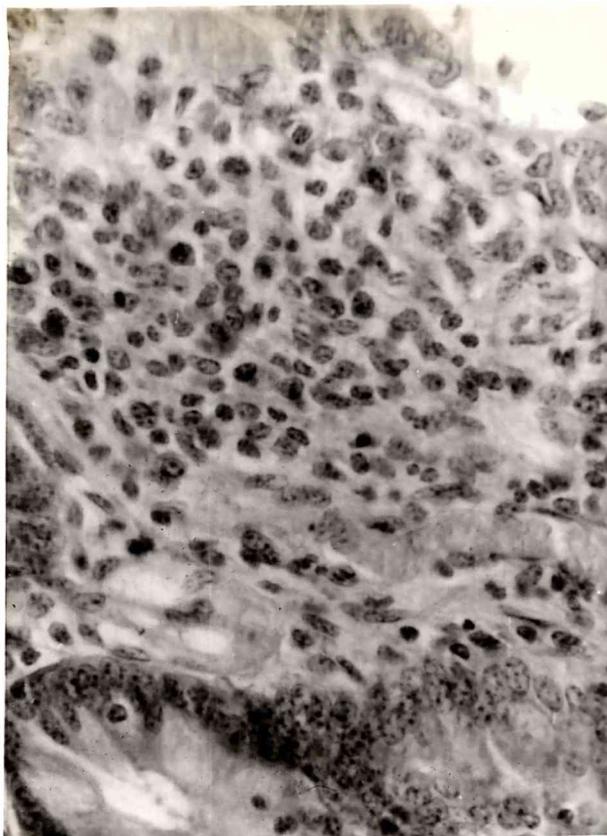


Fig. 19. Ternero 036. Presencia de células mononucleares en el corion del yeyuno. 400 X.

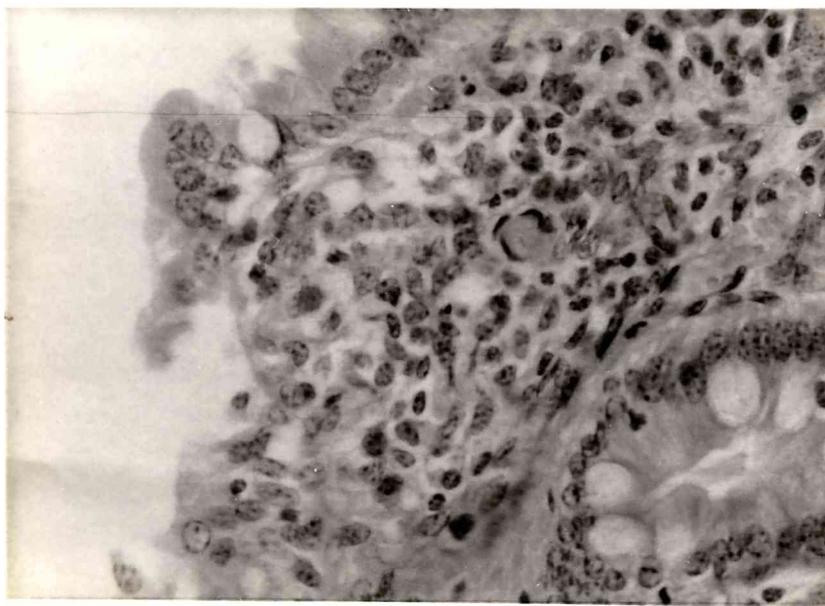


Fig. 20. Ternero 036. Yeyuno. Descamación de células epiteliales de una vellosidad y aumento del número de células reticulares en el corion.

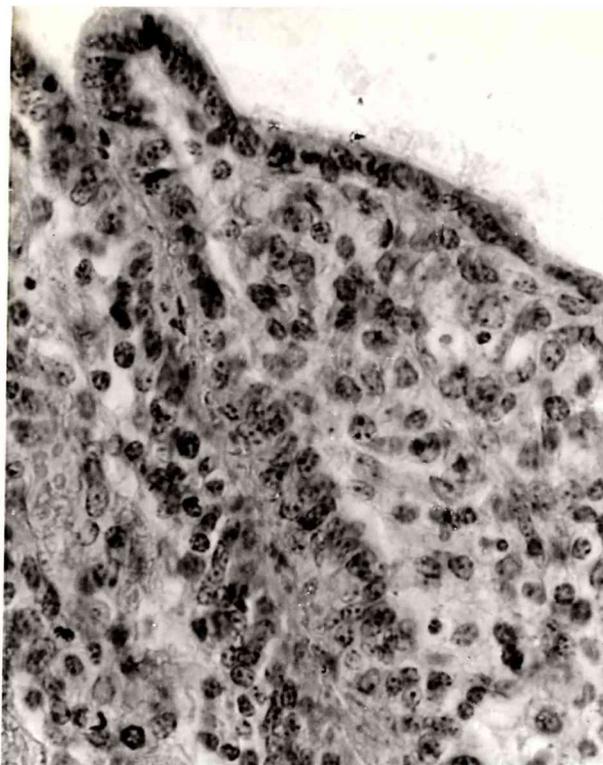


Fig. 21. Ternero 036, Ileon. Vellosidad acortada, con epitelio cilíndrico bajo y cúbico y aumento del número de células del corion. 400 X.

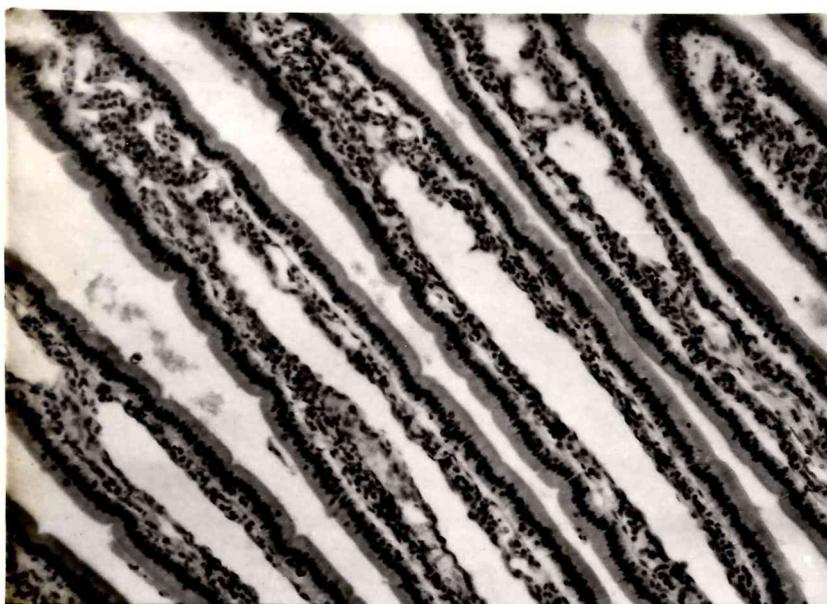


Fig. 22. Ternero 043, duodeno. Dilatación de los quilíferos centrales de las vellosidades. 100 X.

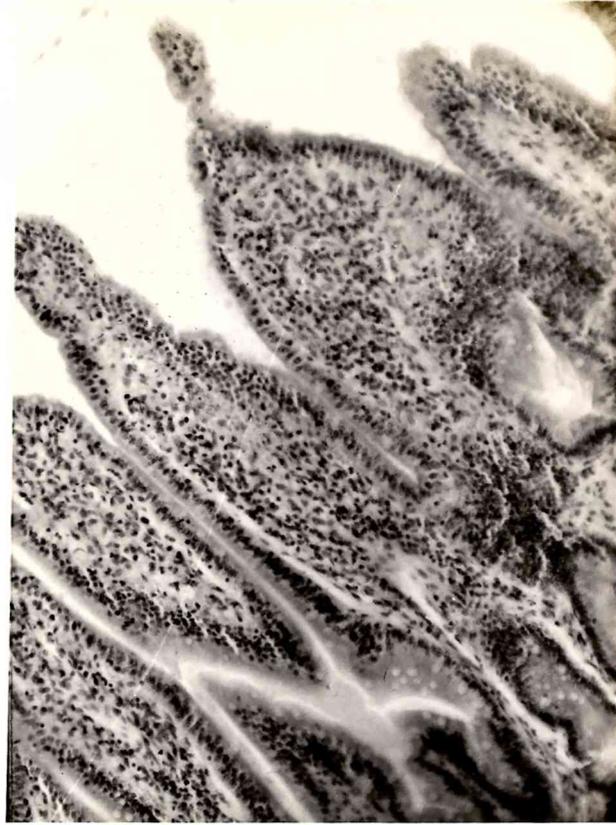


Fig. 23. Ternero 043. Yeyuno. Vellosidades acortadas con evidente aumento de grosor y presencia de un número elevado de células mononucleares en el corion. 100 X.

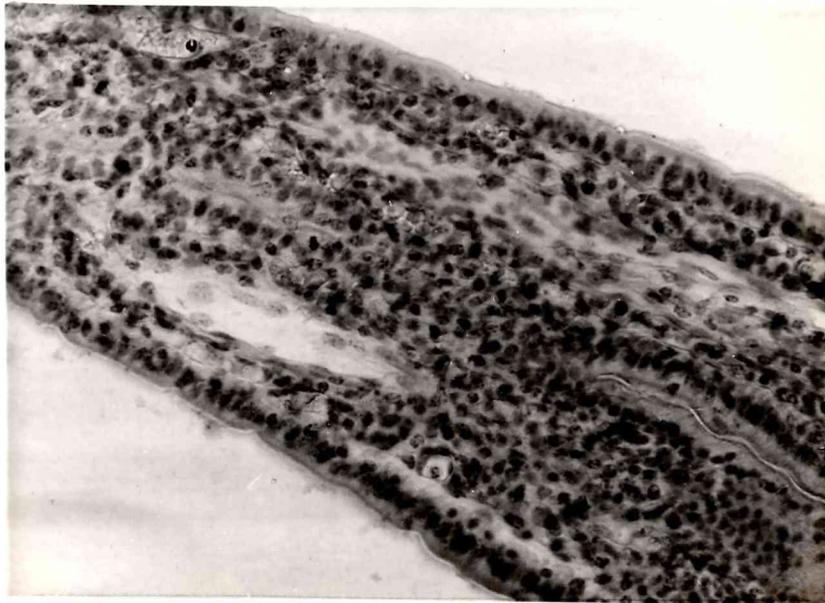


Fig. 24. Ternero 043. Yeyuno. Se puede observar la adherencia por sus bordes laterales de vellosidades adyacentes. 250 X.

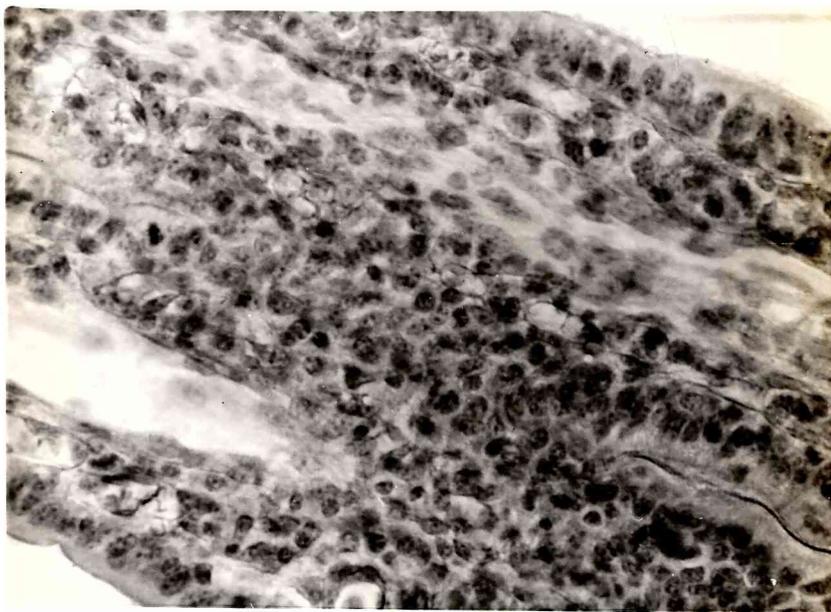


Fig. 25. Ternero 043, Yeyuno. Idem Fig. 24 a mayor aumento, se observa una desordenada distribución de las células de las vellosidades contiguas. 400 X.



Fig. 26. Ternero control, Yeyuno. Vellosidades normales con epitelio de tipo cilíndrico alto. 100 X.



Fig. 27. Ternero control, Yeyuno. Vellosidades con epitelio cilíndrico alto. Se observa una fina vacuolación supranuclear en algunas células. El quilífero central de una de las vellosidades es evidente. 250 X.

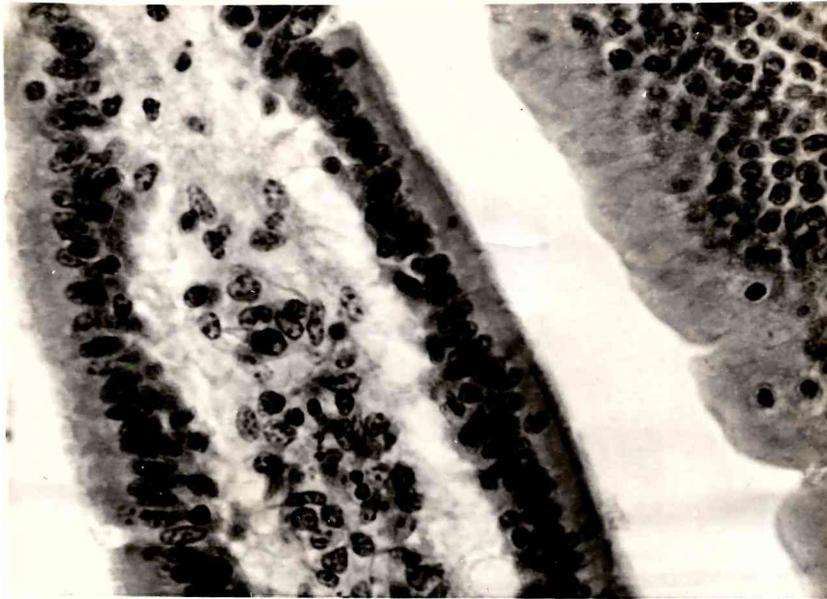


Fig. 28. Ternero control, íleon. Vellosidad normal con cubierta con epitelio cilíndrico alto.

VII. BIBLIOGRAFIA

ACRES, S.D., LAING, C.J., SAUNDERS, J.R., RADOSTIS, O.M.

Acute Undifferentiated Neonatal Diarrhea in Beef Calves I:  
Occurrence and Distribution of Infectious Agents.  
Canadian Journal of Comparative Medicine, Vol. 39: 116-  
132. (1975).

ACRES, S.D., SAUNDERS, J.R., RADOSTIS, O.M.

Acute Undifferentiated Neonatal Diarrhea in Beef Calves:  
The Prevalence of Enterotoxigenic Escherichia coli, Reo-  
Like (Rota) virus, and other Enteropathogens in Cow-calf  
Herds.  
Canadian Veterinary Journal, Vol. 18. Nº 5: 113-121. (1977)

ANSARI, M.M., RENSCHAW, H.W., GATES, N.L.

Colibacillosis in Neonatal Lambs: Onset of Diarrheal Disease  
and Isolation and Characterization E. coli Forms of the  
Disease.  
American Journal of Veterinary Research, Vol. 39 Nº 1 (1978).

BARBER, D.M., Mc LENNAN, W.

Immune Globulin Studies of the "Collapse Syndrome" in Suckled  
Calves.  
Veterinary Record, Vol. 97: 424-428. (1975).

BARBER, D.M., DOXEY, D.L.

Biochemical Studies of the "Collapse Syndrome" in Suckled  
Calves.  
Veterinary Record, Vol. 97, Nov. (1975).

BRAATEN, B.A., MYERS, L.L.

Biochemical Characteristics of ETEC and NETEC E. coli Isolated  
From Calves With Diarrhea.  
American Journal of Veterinary Research, Vol. 39. Nº 1.

BRADLEY, J.

Control of Undifferentiated Neonatal Diarrhea Through Herd Management Proceedings. Minisymposium on Neonatal Diarrhea in Calves and Pigs. V.I.D.O. (Veterinary Infections Disease Organization).

University of Saskatchewan, May (1976).

BRIDGER, J.C., WOODE, G.N.

Neonatal Calf Diarrhoea: Identification of a Reovirus-Like (Rotavirus) Agent in Faeces by Immunofluorescence and Immune-Electron Microscopy.

British Veterinary Journal, Vol. 31: 528 (1975).

BURTONBOY, G., PASTORET P.P., HERMAN, E., SCHOENAERS, F.

Hémagglutination par le rotavirus du veau.

Ann. Méd. Vét. 122, 51-54 (1978).

BYWATER, R.J., LOGAN, E.F.

The Site and Characteristics of Intestinal Water and Electrolyte Loss in E.coli - Induced Diarrhes in Calves.

Journal of Comparative Pathology, Vol. 84 N° 4 (1977).

DUBOURGUIER, H.C., GOUET, Ph, MANDARD, O., CONTREPDIS, M., BACHELEIRE, C.

Scanning Electron Microscopy of Abomasum and Intestine of Gnotoxenic Calves Infected Either With Rotavirus, Coronavirus or Enteropathogenic Escherichia coli or Rotavirus and E. coli  
Ann. Rech. Vét. Vol. 9 (3) (1978).

FAYET, J.G., OVERWATER, J.

Prognosis of Diarrhoea in the Newborn Calf: Statistical Analysis of Blood Biochemical Data.

Ann. Rech. Vét. Vol. 9 (1) (1978).

FEY, H.

Colibacillosis in Calves. pp. 27-125.

Viena. Hans Huber Publishers. 1972.

FISHER, B., MARTINEZ, A.

Aspects of Body Fluid Dynamics of Neonatal Calf Diarrhea.

Veterinary Science 20: 302-305. (1976).

FISHER, B., MARTINEZ, A.

Studies of Neonatal Calf Diarrhoea: Fluid Balance in Spontaneous Enteric Colibacillosis.

British Veterinary Journal, Vol. 131. (2) (1975).

FLEWETT, T.H.

Electron Microscopy in the Diagnosis of Infectious Diarrhea.

Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 173  
N° 5 (2) (1978).

GOUET, Ph., CONTREPOIS, M., DUBOURGUIER, H.G., RIOU, Y., SCHERRER, R.,  
LAPORTE, J., VAUTHEROT, J.F., COHEN, C., L'HARIDON, R.

The Experimental Production of Diarrhoea in Colostrum Deprived  
Axenic and Gnotoxenic Calves With Enteropathogenic Escherichia  
coli, Rotavirus, Coronavirus and in a Combined Infection of  
Rotavirus and E. coli

Ann. Rech. Vét. 9 (3), 433-440. (1978).

HOUSE, J.A.

Economic Impact of Rotavirus and Other Neonatal Disease Agents  
of Animals.

Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 173  
N° 5 (2): 573-576. (1978).

HUGHES, J.M., MURAD, F., CHANG, B., GUERRANT, R.L.

Role of Cyclic GMP in the Action of Heat-Stable Enterotoxin of  
Escherichia coli.

Nature. Vol. 271. N° 5647. (1978).

ISAACSON, R.E., MOON, H.W., SCHNEIDER, R.A.

Distribution and Virulence of Escherichia coli in the Small Intestines of Calves with and Without Diarrhea.

American Journal of Veterinary Research, Vol. 39 N° 11. (1978).

JOHNSTON, N.E., ESTRELLA, R.A., OXENDER, W.D.

Resistance of Neonatal Calves Given Colostrum Diet to Oral Challenge With a Septicemia Producing Escherichia coli.

American Journal of Veterinary Research, Vol. 38 N° 9 (1977).

JONES, E.W., HAMM, D., CORLEY, L, BUSH, L.

Diarrhoeal diseases of the calf: Observations on treatment and prevention.

New Zealand Veterinary Journal. 25:312-316 (1977).

LEWIS, L.D., PHILLIPS, R.W.

Pathophysiologic Changes Due to Coronavirus-Induced Diarrhea in the Calf.

Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 173.

N° 5 (2): 636-642 (1978).

LOGAN, E.F.

The influence of Husbandry on Colostrum Yield and Immunoglobulin Concentration in Beef Cows.

British Veterinary Journal, 133: 120-125. (1977).

LOGAN, E.F., Mc BEAT, M.C., LOWMAN, B.G.

Quantitative Studies on Serum Immunoglobulin Levels in Suckled Calves From Birth to Five Weeks.

Veterinary Record, 94. N° 16: 367-370. (1974c).

LOGAN, E.F., PEARSON, G.R., Mc NULTY , M.S.

Studies on the Immunity of the Calf to Colibacillosis VII:

The Experimental Reproduction of Enteric Colibacillosis in Colostrum-Fed Calves.

Veterinary Record, 101. 443-446. (1977).

LOGAN, E.F., PEARSON, G.R., Mc NULTY, M.S.

Quantitative Observations on Experimental Reo-Like (Rotavirus) Infection in Colostrum Deprived Calves.  
Veterinary Record, 104. 206-209 (1979).

LOGAN, E.F., PENHALE, W.J.

Studies on The Immunity of the Calf to Colibacillosis III:  
The Local Protective Activity of Colostrum Within the Gastro-intestinal Tract.  
Veterinary Record, 89. 628-631. (1971).

LOGAN, E.F., STENHOUSE, A., ORMROD, D.J.

The Role of Colostral Immunoglobulin In Intestinal Immunity to Enteric Colibacillosis in the Calf.  
Research in Veterinary Science, 17: 290-301 (1974 a).

LOGAN, E.F., STENHOUSE, A., ORMROD, D., PENHALE, W.J., ARMISHAW, M.

Studies on the Immunity of the Calf to Colibacillosis VI:  
The Prophylactic use of a Pooled Serum IgM-rich Fraction under Field Conditions.  
Veterinary Record, 94: 386-389 (1974 b).

LOOSMORE, R.M., ANDERSON, K.P., EDGSON, F.A.

Simposium on Calf Disease.  
Veterinary Record, 76: 1335-1348, (1964).

MARGNI, R.A.

Inmunología e Inmunoquímica. pp. 96-147 y 444-445.  
Buenos Aires, Ed. Panamericana, (1977).

MARSOLARIS, G., ASSAT, R., MONPETIT, C.

Diagnosis of Viral Agents Associated with Neonatal Calf Diarrhea.  
Canadian Journal of Comparative Medicine. 42, (2). (1978).

Mc EWAN, A.D., FISHER, E.W., SELMAN, I.E.

An Estimation of the Efficiency of the Absorption of Immune Globulins From Colostrum by Newborn Calves,  
Research in Veterinary Science, 11: 239-243. (1970 a).

Mc EWAN, A.D., FISHER, E.W., SELMAN, I.E.

Observations on the Immune Globulin Levels of Neonatal Calves and Their Relationship to Disease.  
Journal of Comparative Pathology, 80: 259-265. (1970 b).

Mc GUIRE, T.C., PFEIFFER, N.E., WEIKEL, J.M. et al

Failure of Colostral Immunoglobulin Transfer in Calves Dying From Infectious Disease.  
Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 169. pp. 713-718. (1976).

Mc NULTY, M.S., ALLAN, G.M., CURRAM, W.L., Mc FERRAN, J.B.

Comparison of Diagnostics Methods in Rotavirus Infection in Calves.  
Veterinary Record, 98: 463-464 (1976 a).

Mc NULTY, M.S., Mc FERRAN, J.B., BRYSON, D.G., LOGAN, E.F. et al.

Studies on Rotavirus Infection and Diarrhoea in Young Calves.  
Veterinary Record, 94. N° 12 (1976 b).

MEBUS, C. A.

Concepts of Viral-Diarrhea.  
Norden News. Vol. 47. N° 4 (1972).

MEBUS, C. A.

Pathogenesis of Coronaviral Infection in Calves.  
Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 173, N° 5 (2). (1978).

MEBUS, C.A., NEWMAN, L.E.

Scanning Electron Light, and Immunofluorescent Microscopy of Intestine of Gnotobiotics Calf Infected With Reovirus-Like Agent. American Journal of Veterinary Research. Vol. 38 N° 5. (1977).

MEBUS, C.A., RHODES, M.W., UNDERDAHL, N.R.

Neonatal Calf Diarrhea Caused by a Virus that Induces Villous Epithelial Cell Syncytia. American Veterinary Research. Vol. 39 N° 7 (1978).

MEBUS, C.A., STAIR, E., NEWMAN, L.E.

Scanning Electron Light and Immunofluorescent Microscopy Of Intestine of Gnotobiotic Calf Infection with Calf Diarrhea Coronavirus. American Journal of Veterinary Research. Vol. 36: 1719-1725 (1975).

MEBUS, C.A., STAIR, E.L., UNDERDAHL, N.R., TWIEHAUS, M.H.

Pathology of Neonatal Diarrhea Induced by a Reo-Like Virus. Veterinary Pathology. Vol. 8 pp. 490-505 (1971).

MEBUS, C.A., TAYLOR, E.L., RHODES, M.B., TWIEHAUS, M.J.

Pathology of Neonatal Calf Diarrhea Induced by a Coronavirus-Like Agent. Veterinary Pathology, Vol. 10: 45-64. (1973).

MIDDLETON, P.J.

Pathogenesis of Rotaviral Infection. Journal of American Veterinary Medical Association, vol. 173. N° 5 (2). (1978).

MIKAL, S.

Homeostasis en el Hombre. pp. 143-151. Buenos Aires, Ed. "El Ateneo" 3ª ed. (1972).

MOON, H.W.

Pathogenesis of Enteric Diseases Caused by *Escherichia coli*.  
Advances in Veterinary Science. Vol. 18 (1974).

MOON, H.W.

Mechanisms in the Pathogenesis of Diarrhea: A Review.  
Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 172.  
Nº 4 (1978).

MOON, H.W., McCLURKIN, A.W., ISAACSON, R.E., POHLENZ, J., SKARTVET, M.S.,  
GILLETTE, K.G., BAETZ, A.L.

Pathogenic Relationships of Rotavirus, *Escherichia coli*, and  
Other Agents in Mixed Infections in Calves.  
Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 173  
Nº 5 (2), (1978).

MOON, H.W., WHIPP, S., SKARTVET, M.S.

Etiologic Diagnosis of Diarrheal Diseases: Frequency and Methods  
For Detecting Enterotoxin and K99 Antigen Production by *E. coli*.  
American Journal of Veterinary Research, Vol. 37, Nº 9 (1976).

MYERS; L.L.

Enteric Colibacillosis in Calves: Immunogenicity and Antigenicity  
of *Escherichia coli* Antigens.  
American Journal of Veterinary Research. Vol. 39, Nº 5. (1978).

MYERS, L.L., NEWMAN, F.S., WARREN, G.E., CATLIN, J.E., ANDERSON, C.K.

Calf Ligated Intestinal Segment Test to detect Enterotoxigenic  
*Escherichia coli*.  
Infection and Immunity. p. 588-591. (1975).

MYERS, L.L., NEWMAN, F.S., WILSON, R.A., CATLIN, J.E.

Passive Immunization of Calves Against Experimental Induced  
Enteric Colibacillosis by Vaccination of Dams.  
American Journal of Veterinary Research Vol. 34, pp. 29-33. (1973).

NAYLOR, J.M., KRONFELT, D.S., BECH-NIELSEN, S. et al.

Plasma total Protein Measurement for Prediction of Disease  
and Mortality in Calves.

Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 171:  
635-638. (1977).

NORDEN LABORATORIES

Laboratory Methods for Detecting Calf Diarrhea Viruses.  
Lincoln, Nebraska. 68501, USA. (1973).

OLSON, D.P., WAXLER, G.L.

Immune Responses of the Bovine Fetus and Neonate to Escherichia  
coli: Plaque-Forming and Intestinal Immune Responses.

American Journal of Veterinary Research, Vol. 38, N° 8 (1977).

OSBURN, B.I., STABENFELT, G.H.

Immune Responsiveness in Perinatal Calves.

Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 163.  
pp. 1188. (1973).

OSBURN, B.I., STABENFELT, G.H., ARDANS, A.A., et al.

Perinatal Immunity in Calves.

Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 164:  
295-298. (1974).

PAYMENT, P., MARSOLARIS, G., TRUDEL, M., FAUVEL, M., LAMONTAGNE, L.,  
ASSAF, R., MAROIS, P.

Use of Electron Microscopy and an Enzyme-Linked Immunosorbent  
Assay for the Detection of Rotaviruses in Neonatal Calf Diarrhea.

Canadian Journal of Comparative Medicine. Vol. 43: 328-329. (1979).

PEARSON, G.R., LOGAN, E.F.

Demonstration of Cryptosporidia in the Small Intestine of a  
Calf by Light, Transmission and Scanning Electron Microscopy.

Veterinary Record, Vol. 103: 212-213. (1978 a).

PEARSON, G.R., LOGAN, E.F.

The Rate of Development of Postmortem Artefact in the Small Intestine of Neonatal Calves.

British Journal of Experimental Pathology, Vol. 59: 178-182.  
(1978 b).

PEARSON, G.R., LOGAN, E.F., BRENNAN, B.F.

Scanning Electron Microscopy of the Small Intestine of a Normal Unsuckled Calf and a Calf With Enteric Colibacillosis.

Veterinary Pathology, Vol. 15: 400-406. (1978 a).

PEARSON, G.R., LOGAN, E.F., McNULTY, M.S.

Comparison of Enteropathogenic Escherichia coli and Rotavirus Infections of Neonatal Calves.

VIDO (Veterinary Infections Disease Organization) Symposium on Diarrhea in Neonates.

Saskatchewan. October, 1978 (b).

PEARSON, G.R., McNULTY, M.S., LOGAN, E.F.

Pathological Changes in the Small Intestine of Neonatal Calves Naturally Infected With Reo-Like Virus (Rotavirus).

Veterinary Record, Vol. 102: 454-458. (1978 c).

PEARSON, G.R., McNULTY, M.S., LOGAN, E.F.

Pathological Changes in the Small Intestine of Neonatal Calves With Enteric Colibacillosis.

Veterinary Pathology, 15: 92-101 (1978 d).

PENHALE, W., CHRISTIE, G., McEWAN, A.

Quantitative Studies on Bovine Immunoglobulins.

British Veterinary Journal, Vol. 126, N° 130 (1970).

PENHALE, W.J., LOGAN, E.F.

Studies on the Immunity of The Calf to Colibacillosis I: The Influence of Colostral Whey and Ig Fractions on Experimental Colisepticemia.

Veterinary Record, Vol. 88, N° 9. (1971).

PENHALE, W.J., LOGAN, E.F., STENHOUSE, A.

Studies on the Immunity of the Calf to Colibacillosis II: Preparation of an IgM-rich Fraction from bovine serum and its Prophylactic use in Experimental Coliseptisemia.

Veterinary Record, Vol. 86, N° 24. (1971).

POHLENZ, J., BEMRICK, W.J., MOON, H.W., et al.

Bovine Cryptosporidiosis: A Transmission and Scanning Electron Microscopy Study of Some Stages in the Life Cycle and of the Host Parasite Relationship.

Veterinary Pathology, Vol. 15: 417-427. (1978 a).

POHLENZ, J., MOON, H.W., CHEVILLE, N.F., et al.

Cryptosporidiosis as a Probable Factor in Neonatal Diarrhea of Calves.

Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 172. 452-457. (1978 b).

RADOSTIS, O.M.

Treatment and Control of Neonatal Diarrhea in Calves.

Proceedings. Minisymposium on Neonatal Diarrhea in Calves and Pigs. V.I.D.O. (Veterinary Infections Disease Organization).

University of Saskatchewan. May (1976).

ROY, J.

El ternero, Vol. II. pp. 144-157.

Zaragoza. Ed. Acribia. (1972).

SCHULTZ, R.D.

Comments on the Immune Response of the Fetus and Neonate.  
Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 163:  
804-806. (1973).

SELMAN, I.E., McEWAN, A.D., FISHER, E.W.

Absorption of Immune Lactoglobulin by Newborn Dairy Calves:  
Attempts to Produce Consistent Immune Lactoglobulin Absorption  
in Newborn Dairy Calves Using Standardized Methods of Colostrum  
Feeding and Management.  
Research in Veterinary Science. 12: 205-210. (1971).

SEREN, E.

Patología de los Preestómagos de los Rumiantes. Vol. II.  
pp. 286-326.  
Zaragoza, Ed. Acribia. (1975).

SMITH, H.W., HALLS, S.

Observations by the Ligated Intestinal Segment and Oral Inocula-  
tion Methods of Escherichia coli Infections in Pigs, Calves,  
Lambs and Rabbits.  
Journal of Pathology Bacteriology. 93: 499-529. (1967).

SMITH, H.W., O'NEIL, J.A., SIMMONS, E.J.

The Immune Globulin Content of the Serum of Calves in England.  
Veterinary Record. Vol. 80. N°23. (1967).

STAIR, E.L., RHODES, M.B., WHITE, R.G., et al.

Neonatal Calf Diarrhea: Purification and Electron Microscopy of  
a Coronavirus Like Agent.  
American Journal of Veterinary Research, 33: 1147-1156. (1972).

STORZ, J., DOUGHRI, A.M., HAJER, I.

Coronaviral Morphogenesis and Ultrastructural Changes in Intestinal  
Infections of Calves.  
Journal of American Veterinary Medical Association. Vol. 173.  
N° 5 (2). 633-635. (1978).

TENNANT, B., BALDWIN, B.H., BRAUN, R.K., NORCROSS, N.L., SANDHOLM, M.  
Use of Glutaraldehyde Coagulation Test for Detection of Hypo-  
gammaglobulinemia in Neonatal Calves.  
Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 174.  
Nº 8: 848-853. (1979).

TENNANT, B., HARROLD B, REINA GUERRA M.  
Physiologic and Metabolic Factors in the Pathogenesis of Neonatal  
Enteric Infections in Calves.  
Journal of American Veterinary Medical Association. Vol. 161.  
Nº 9. (1972).

TENNANT, B., HARROLD, B., REINA GUERRA, M., LABEN, R.  
Neonatal Alterations in Serum Gamma-Globulin Levels on Jersey  
and Holstein-Friesian Calves.  
American Journal of Veterinary Research, 30: 345-354. (1969).

TENNANT, B., WARD, D.E., BRAUN, R.K., HUNT, E.L., BALDWIN, B.H.  
Clinical Management and Control of Neonatal Enteric Infections  
of Calves.  
Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 173  
Nº 5 (2). (1978).

WARD, A.C., WALDHALM, D.G., FRANK, F.W., et al.  
Effect of Oral Inoculation of Escherichia coli and Colostral  
Antibody Production in Cattle.  
Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 170.  
Nº 3. (1977).

WELCH, A., TWIEHAUS, M.J.  
Cell Culture Studies of a Neonatal Calf Diarrhea.  
Canadian Journal of Comparative Medicine. 37: 287. (1973).

WELLIVER, R.C., OGRA, P.L.

Importance of Local Immunity in Enteric Infection.

Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 173.  
N° 5 (2). (1978).

WHIPP, S.C.

Physiology of Diarrhea—Small Intestines.

Journal of American Veterinary Medical Association, Vol. 173.  
N° 5. (2). (1978).

WOODE, G.N.

Epizootiology of Bovine Rotavirus Infection.

Veterinary Record, Vol. 103: 44-46. (1978).

WOODE, G.N., BRIDGER, J.C.

Viral Enteritis of Calves.

Veterinary Record, Vol. 95: 85-88. (1975).

WOODE, G.N., BRIDGER, J.C.

Rotavirus in Calves.

Veterinary Record, Vol. 99: 322-323. (1976).

WOODE, G.N., BRIDGER, J.C.

Significance of Bovine Coronavirus Infection.

Veterinary Record, Vol. 102: N° 1. (1978).

WOODE, G.N., JONES, N.F., BRIDGER, J.C.

Levels of Colostral Antibodies Against Neonatal Calf Diarrhea,  
Virus.

Veterinary Record, Vol. 97: 148-149. (1975).

WRAY, C., THOMLINSON, J.R.

Factors Influencing Occurrence of Colibacillosis in Calves.

Veterinary Record, Vol. 96: 52-56. (1975).

ZORATTI de VERONA, A.

Etiología de la Diarrea Neonatal del Ternero.

Revista de Medicina Veterinaria, 60, N° 6. (1979).

ZORATTI de VERONA, A., CASARO, A.P., LOMBARDI, G.

Coronavirus en Diarrea Neontatal de los Terneros.

Revista de Medicina Veterinaria, 60, N° 5. (1979).

ZORATTI de VERONA, CASARO, A.P., TERZOLO, H.R., LOMBARDI, G.,  
BARRERA ORO, J.

Rotavirus en Diarrea Neonatal de los Terneros.

Revista de Medicina Veterinaria, 58. N° 4. (1977).



La Facultad no se hace solidaria de las opiniones

vertidas en una Tesis