



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

MENCIÓN MEDICINA PREVENTIVA

VALOR PREDICTIVO POSITIVO DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE DIARREA EN TERNEROS

Selma del Carmen FRANCO SCHAFER

Para optar por el título de

MAGISTER SCIENTIAE EN CIENCIAS VETERINARIAS

Esperanza, Santa Fe; Marzo de 2011.



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIA MENCIÓN. “MEDICINA PREVENTIVA”

VALOR PREDICTIVO POSITIVO DEL DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE DIARREA EN
TERNEROS

Selma del Carmen FRANCO SCHAFFER

Aspirante a: MAGISTER SCIENTAE EN CIENCIAS VETERINARIA

DIRECTOR: PhD Héctor Dante TARABLA

CO-DIRECTOR: Dr. Marcelo Lisandro SIGNORINI

MIEMBROS DEL JURADO

PhD Alejandro José LARRIESTRA

PhD Pablo Martín BELDOMENICO

Dr. Laureano Sebastián FRIZZO

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE	i
RESÚMEN	ix
SUMMARY	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Diarreas de etiología parasitaria	3
2.1.1. Criptosporidiosis	3
2.1.2. Coccidiosis.	6
2.2. Diarreas de etiología bacteriana	10
2.2.1. Salmonelosis	10
2.2.2. Colibacilosis	12
2.3. Distribución	16
2.4. Diagnóstico	16
2.5. Valor Predictivo	16
2.6. Hipótesis	18
2.7. Objetivos	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Muestras recolectadas	19
3.2. Procedimiento de laboratorio	20

3.2.1. Parasitarias	20
3.2.1.1. <i>Cryptosporidium</i> spp.	20
3.2.1.2. <i>Eimeria</i> spp.	21
3.2.2. Bacterianas	22
3.2.2.1. <i>Salmonella</i>	22
3.2.2.2. <i>Escherichia coli</i>	23
3.3. Análisis estadístico	24
IV. RESULTADOS	26
4.1. Diagnóstico en la diarrea neonatal de terneros	26
4.1.1. Diagnóstico clínico presuntivo	26
4.1.2. Diagnóstico de laboratorio	28
4.2.1. Característica de los terneros muestreados	31
4.2.2. Características de la diarrea	33
4.3. Asociaciones	35
4.3.1. Asociación entre el diagnósticos clínicos presuntivos y los de laboratorio	35
4.3.2. Asociaciones del diagnóstico clínico presuntivo con característica de los terneros muestreados	39
4.3.3. Asociación entre el diagnóstico clínico presuntivo y las características de la diarrea neonatal en terneros	40
4.3.4. Asociaciones diagnóstico de laboratorio y las características de los terneros muestreados	42

4.3.5. Asociación entre el diagnóstico de laboratorio y las características de la diarrea	44
4.3.6. Asociación entre el diagnóstico de laboratorio y tratamiento	44
V. DISCUSIÓN	45
VI. CONCLUSIONES	50
VII. BIBLIOGRAFÍA	51
ANEXO I	63

Índice de Tablas	Página
1. Agentes etiológicos y características asociadas a la diarrea neonatal en terneros	15
2. Frecuencia de agentes etiológicos presuntivos sobre el total de terneros con diarrea neonatal (n=92)	26
3. Frecuencia de etiologías presuntivas sobre el total de diagnósticos realizados (n=118)	27
4. Etiologías presuntivas en diagnósticos etiológicos combinados (bacteria/parásito) (n=26)	28
5. Frecuencia de agentes etiológicos detectados en el laboratorio sobre el total de terneros con diarrea (n=92)	29
6. Frecuencia de etiologías detectadas en laboratorio sobre el total de diagnósticos efectuados (n=103)	30
7. Etiología detectada en los diagnósticos de laboratorio combinados (bacterias/parásitos) (n=11)	31
8. Confirmación por laboratorio de los diagnósticos presuntivos	36
9. Confirmación por laboratorio de los diagnósticos etiológicos presuntivos bacterianos /parasitarios	37
10. Concordancia entre los diagnósticos bacterianos presuntivos y de laboratorio	38
11. Concordancia entre los diagnósticos bacterianos presuntivos y de	

laboratorio	38
12. Concordancia entre los diagnósticos combinados clínico y presuntivo	39
13. Asociación entre el diagnóstico clínico presuntivo y la consistencia de la diarrea neonatal en terneros	41
14. Frecuencia del diagnóstico clínico presuntivo con el agente bacteriano y el tratamiento	42
15. Asociación del diagnóstico de laboratorio y la consistencia de la materia fecal en la diarrea neonatal en terneros	44
16. Frecuencia del diagnóstico de laboratorio con el agente bacteriano y tratamiento	45

Índice de Figuras	Páginas
1. Ciclo biológico de <i>Eimeria</i>	7
2. Distribución de los 92 casos de terneros con diarrea neonatal según sexo	32
3. Color de la diarrea neonatal en terneros	33
4. Consistencia de la diarrea neonatal en terneros	34
5. Signos clínicos en la diarrea neonatal de terneros	34
6. Tratamiento en la diarrea neonatal en terneros	35

Índice de Gráficas	Página
1. Frecuencia de diagnósticos clínicos presuntivos en la diarrea neonatal en función de la edad de los terneros	40
2. Frecuencia del diagnóstico de laboratorio en relación a la edad en la diarrea neonatal de terneros	43

RESUMEN

En el diagnóstico a campo, el Médico Veterinario clínico debe estimar cuál es el diagnóstico etiológico más probable ante una serie de signos y datos anamnésicos y epidemiológicos de un ternero con diarrea neonatal. Cuando se sospecha de un agente etiológico determinado, el tratamiento se inicia inmediatamente aunque el diagnóstico no pueda ser verificado por el laboratorio. El objetivo de este trabajo fue determinar el valor predictivo positivo del diagnóstico parasitológico y bacteriano efectuado por veterinarios de campo en terneros con diarrea.

Durante un período de ocho meses, tres veterinarios recolectaron muestras de heces provenientes de 92 terneros con diarrea. Se consideró como caso de diarrea la presencia de heces acuosas o pastosas. El Valor predictivo positivo (VP+) del diagnóstico por ellos efectuado fue definido como la probabilidad de aislar agentes etiológicos parasitarios (*Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp.) o bacterianos (*Escherichia coli*. y *Salmonella* spp.) en animales con diarrea y diagnóstico clínico etiológico de uno o más de estos cuatro agentes. Para las identificaciones y caracterizaciones microbiológicas y parasitológicas se emplearon procedimientos estándar. El análisis estadístico se efectuó en tres etapas: a) análisis descriptivo, b) búsqueda de asociaciones entre los diagnósticos y las características de los terneros, de las diarreas y los tratamientos efectuados y c) búsqueda de asociaciones entre los diagnósticos clínicos presuntivos y de laboratorio. El análisis incluyó Ji-cuadrado para establecer la existencia de asociaciones y el índice kappa para estimar el grado de concordancia entre ambos diagnósticos. Todos los análisis se efectuaron con SPSSTM.

En total, se registraron 118 diagnósticos presuntivos, 68 bacterianos, 46 parasitarios y cuatro virales. En el laboratorio se efectuaron 86 diagnósticos, 63 bacterianos (*E. coli* 60,2%, *Salmonella* spp. 1,0%) y 23 parasitarios (*Eimeria* spp. 5,8%, *Cryptosporidium* spp. 16,5%). El diagnóstico clínico presuntivo estuvo significativamente asociado con el de laboratorio en el caso de presunción de etiologías bacterianas ($p < 0,05$), pero no en las parasitarias. La concordancia entre los diagnósticos bacterianos presuntivos y de laboratorio fue moderada con un valor de kappa= 0,538 (0,358; 0,717). No hubo asociaciones entre los diagnósticos presuntivos y de laboratorio con el color de la diarrea ($p=0,371$ y $0,371$), pero sí con la consistencia de las mismas ($p=0,01$ y $0,02$, respectivamente). No se encontraron asociaciones entre los diagnósticos presuntivos y la dificultad en incorporarse ($p= 0,80$), la debilidad en el tren posterior ($p= 0,39$), el hundimiento de ojos ($p= 0,23$), ni la presentación de extremidades frías ($p= 0,32$). Veintiséis de los 63 casos con diagnósticos de laboratorio bacterianos recibieron tratamiento específico con quimioterápicos, mientras que tres de seis con diagnóstico confirmado de coccidiosis recibieron sulfamidas. Existe una concordancia de pobre a moderada entre el diagnóstico presuntivo y el diagnóstico clínico en terneros con diarrea neonatal. En general, no parece existir signos o síntomas patognomónicos, que permitan pronosticar con precisión aceptable el agente etiológico asociado a la presencia de diarrea neonatal en terneros, razón por la cual el diagnóstico basado exclusivamente en el examen clínico tiene un margen de error y deja a una gran proporción de terneros con diarrea, sin un diagnóstico y tratamiento adecuado.

SUMMARY

During practice, field veterinarians must determine the most probable etiology upon a series of signs, anamnesic and epidemiological data on a calf with diarrhea. Treatment is generally installed at once, even though laboratory confirmation is not at hand. The objective of this study was to find out the positive predictive value of parasitological and bacteriological diagnoses performed by veterinary clinicians on calves with diarrhea.

Three veterinarians collected feces samples from 92 calves with diarrhea over an eight month period. Case of diarrhea was defined by the presence of watery or soft feces. Positive predictive value (PV+) was defined as the probability of finding parasites (*Cryptosporidium* spp. or *Eimeria* spp.) or bacteria (*Escherichia coli*. or *Salmonella* spp.) in animals with diarrhea and an etiological clinical diagnosis of one or more of these agents. Bacteriological and parasitological identification and characterization were performed following standard procedures. Statistical analysis was carried out on three stages: a) descriptive analysis, b) search for associations between diagnosis and calf, diarrhea and treatment features and, c) search for associations between clinical and laboratory diagnosis. Analysis included Chi-squared and kappa and were performed using SPSSTM.

In total, 118 clinical diagnosis were registered, 68 bacterial, 46 parasitological and four viral diagnosis. On the laboratory 86 diagnosis were registered, 63 bacterial (6 *Escherichia coli*. 0.2%, *Salmonella* spp. 1.0%) and 23 parasitological diagnosis (*Eimeria* spp. 5.8%, *Cryptosporidium* spp. 16.5%). Clinical diagnosis was significantly associated to

laboratory findings upon bacterial presumption ($p < 0.05$), but not in the case of parasites. Concordance between clinical and laboratory bacterial diagnoses was moderate and kappa= 0.538 (0.358; 0.717). No associations were found between clinical and laboratory diagnoses and the color of the diarrhea ($p=0,371$ y $0,371$), but associations with its consistency were significant ($p=0.01$ and 0.02 , respectively). No associations were found between clinical diagnosis and calf difficulties in raising up ($p= 0.80$), hind weakness ($p= 0.39$), eye collapse ($p= 0.23$), nor cold legs ($p= 0.32$). Twenty six of 63 bacterial laboratory cases received specific chemotherapeutic treatment, while three out of six calves with confirmed coccidia infestation got sulfonamides. Concordance between clinical and laboratory diagnoses ranged from poor to moderate o calves with acute diarrhea. No clinical signs allowed a precise prognosis of the etiological agent was associated to calf diarrhea. For those reasons, diagnosis based exclusively upon clinical examination leaves a high proportion of calves with diarrhea without an appropriate treatment.

I. INTRODUCCIÓN

La diarrea neonatal de los terneros es una entidad clínica compleja que se presenta durante las primeras horas de vida caracterizada por excreción de heces acuosas y profusas, deshidratación progresiva, acidosis y en casos severos, muerte en pocos días. Esta enfermedad es una de las principales causas de muerte de terneros en el mundo, independientemente del sistema de explotación y nutrición (Ludovit 1999; Langoni *et al.*, 2004; Thompson *et al.*, 2007; Younis *et al.*, 2009).

Estudios desarrollados en diferentes países incluyendo Argentina, demostraron que *Escherichi. coli* enterotoxigénica, *Salmonella* spp., *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp., Rotavirus y Coronavirus **son los principales agentes etiológicos diagnosticados en la diarrea neonatal de terneros** (Bellinzoni *et al.*, 1990; Naciri *et al.*, 1999; Lorino *et al.*, 2005). Sin embargo, para que se manifieste el síndrome clínico los agentes causales y los factores contribuyentes pueden actuar en diferentes combinaciones, habiéndose demostrado la relevancia de factores como la transferencia de inmunidad pasiva y las condiciones ecológicas en las cuales se cría el ternero en sus primeros días (Krogh, 1987; Williams *et al.*, 2007).

En el diagnóstico a campo, el Médico Veterinario clínico puede estimar con base en su experiencia cuál es la probabilidad de que un animal que presente determinada signología tenga una enfermedad dada. El clínico debe decidir cuál es el diagnóstico más probable ante una serie de signos, síntomas y/o hallazgos de laboratorio (Tarabla, 2000).

Como paso inicial, el veterinario efectúa la anamnesis del caso, que permite conocer la historia del rodeo y del animal en particular. Durante la evaluación clínica se considera la edad de los terneros, se inspecciona la región anal, se determina la consistencia y el color de la materia fecal, la turgencia de la piel y la temperatura rectal. Conjuntamente con los datos epidemiológicos se emite un diagnóstico presuntivo de los posibles agentes responsables de la diarrea. Sin embargo, solo el diagnóstico de laboratorio podrá determinar el agente causal de la diarrea. La identificación del agente patógeno es importante, para determinar las medidas de prevención y el tratamiento adecuado basándose en las características epidemiológicas del mismo.

Cuando se sospecha de un agente etiológico determinado, el diagnóstico no puede ser verificado inmediatamente en muchos casos. A pesar de esto, el tratamiento para la diarrea se inicia inmediatamente para reducir síntomas y así prevenir la difusión de la enfermedad en el establecimiento.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los sistemas de crianza artificial intensivos concentran una gran cantidad de animales por unidad de superficie, lo que obliga a los terneros a permanecer en ambientes altamente contaminados con gérmenes patógenos que sobrepasan los niveles de defensa del animal (Leyván, 1994). En este contexto, la diarrea neonatal de los terneros es uno de los problemas sanitarios de mayor relevancia en las primeras semanas de vida, representando una importante fuente de pérdidas económicas para los productores, debido a los costos de prevención, tratamiento, la pérdida de peso de los animales afectados y la mortalidad de terneros (Parreño, 2008). En Argentina se ha publicado que la incidencia de las diarreas neonatales en bovinos puede llegar a valores de 70%, con una mortalidad del 20%, aunque estos valores son altamente variables entre diferentes estudios y entre establecimientos (Zarzo y Margueritte, 2000; Parreño, 2008). Los agentes bacterianos y parasitarios más frecuentemente involucrados fueron *Salmonella* spp., *Escherichia coli.*, *Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp. (Sánchez *et al.*, 2008; Parreño, 2008).

2.1. Diarreas de etiología parasitaria

2.1.1. Criptosporidiosis

2.1.1.1. Agente etiológico

La criptosporidiosis es una infección causada por protozoarios del género *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporididae). El *C. parvum* coloniza las células

epiteliales que se encuentran a lo largo del tracto digestivo de los mamíferos (Romero *et al.*, 2001; Satín *et al.*, 2004).

2.1.1.2. Epidemiología

Esta enfermedad se presenta en terneros de 3 a 35 días de edad, con signos clínicos como diarrea, tenesmo, anorexia y pérdida de peso (Acha y Szyfres, 2001; Balbir *et al.*, 2006). La diarrea es de consistencia pastosa, color amarillento y pésimo olor, conteniendo leche no digerida, sangre, moco y bilis (Tabla1) (Castro *et al.*, 2009).

En una alta proporción de animales el proceso de la enfermedad puede ser asintomático, sin embargo, puede agravarse conduciéndose a cuadros agudos con diarrea severa (2 a 14 días) y mortalidad (cuando está asociado con otros agentes etiológicos primarios) (Naciri *et al.*, 1999; Díaz, 2002; Ramírez *et al.*, 2007).

Los ooquistes son infectantes desde el momento que son eliminados con las heces y son capaces de sobrevivir en el medio ambiente hasta 6 meses por su alta resistencia a las condiciones adversas (O' Donoghue, 1995; Tzipori y Griffiths, 1998; Del Coco *et al.*, 2008). Cuando las condiciones sanitarias ambientales donde permanecen los terneros son inadecuadas, el riesgo de contagio y presencia de la enfermedad se incrementa (Ortolani y Soares, 2003).

2.1.1.3. Ciclo biológico

Es un ciclo monoxeno, donde todos los estadios de desarrollo (asexual y sexual) ocurren dentro de un mismo hospedador (Varela *et al.*, 2001). Una vez ingeridos los ooquistes se produce el desenquistamiento y la activación en el tracto intestinal. La etapa de reproducción incluye dos fases, esquizogonia (multiplicación asexual) y gametogonia (multiplicación sexual). La fase de esporogonia (esporulación) puede tener lugar dentro del hospedador. En la esquizogonia se desarrolla un meronte Tipo 1 con 6 u 8 merozoitos, los cuales una vez liberados, invaden nuevas células donde pueden manifestar desarrollo cíclico como Tipo 1 u originar merontes Tipo 2, constituidos solo por cuatro merozoitos. Luego en la gametogonia los merozoitos Tipo 2 no exhiben desarrollo cíclico pero dan origen a los estadios sexuales, diferenciándose en macro y microgametos (Pérez *et al.*, 2005; Del Coco *et al.*, 2008).

Los ooquistes son eliminados en las heces completamente esporulados (esporulación endógena), siendo la mayoría de pared gruesa. Ésto permite la diseminación del parásito en el medio ambiente y la infección de otros hospedadores. Sin embargo, un 20% de los ooquistes tienen un desenquistamiento dentro del mismo hospedador, dando lugar a un nuevo ciclo de autoinfección (Current y Resse, 1986; Chalmers y Davies, 2010). Ésto se puede producir a través del reciclamiento de los merontes Tipo 1 y de los esporozoitos liberados por la ruptura de los ooquistes de pared delgada (Díaz, 2002).

2.1.1.4. Factores de riesgo

Entre los principales factores de riesgo que contribuyen a la aparición de *Cryptosporidium* spp. se encuentra el hacinamiento, que favorece la transmisión del parásito. La falta de higiene en los sistemas de crianza artificial, así como también ciertas prácticas de manejo deficientes. (ej.: falla en la administración temprana del calostro) y el estado nutricional de la madre, son factores que también han sido identificados como predisponentes de la enfermedad (Ortolani y Soares, 2003).

2.1.2. Coccidiosis

2.1.2.1. Agente etiológico

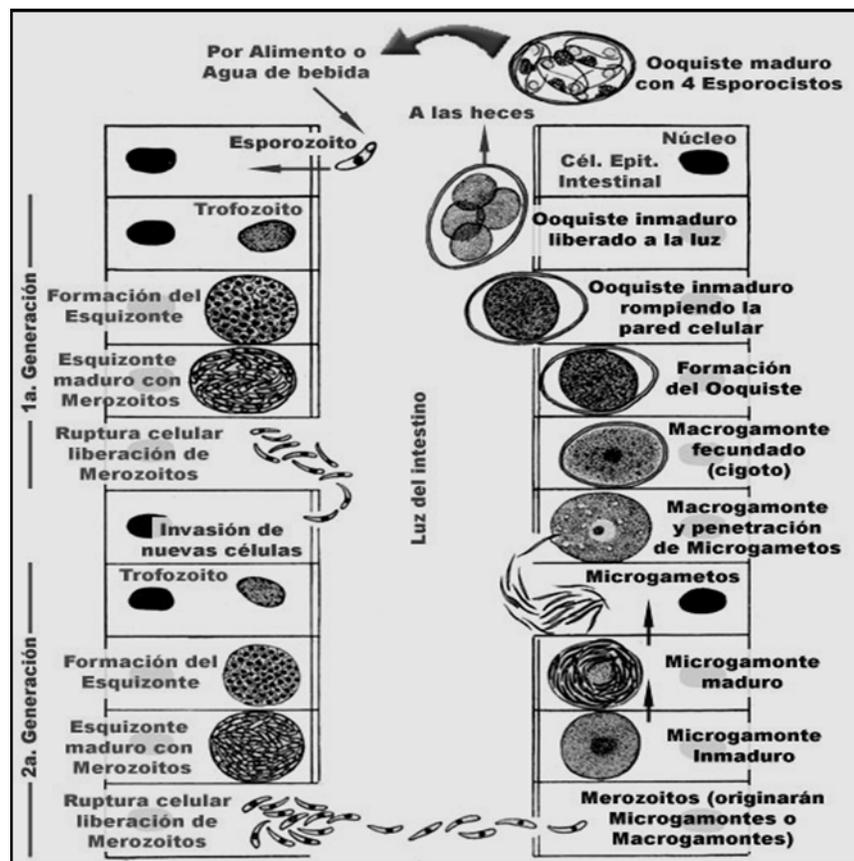
La coccidiosis es causada por protozoos del género *Eimeria* spp. En Argentina las especies de mayor prevalencia en bovinos son: *Eimeria bovis*, *Eimeria züernii*, *Eimeria ellipsoidalis* y *Eimeria auburnensi* (Nuñez, 1967; Sánchez *et al.*, 2008).

2.1.2.2. Ciclo biológico

Los coccidios son parásitos intracelulares de las células epiteliales del intestino, de ciclo biológico directo (monoxeno). Éste comienza con la ingestión de los ooquistes maduros y la liberación de esporozoítos dentro del intestino delgado. Allí se vuelven activos, introduciéndose en las células epiteliales de las vellosidades; pudiendo incluso ser fagocitados por los macrófagos de la sangre.

La coccidiosis se desarrolla en dos etapas fuera del huésped (esporogonia) y dentro del huésped (asexual esquizogonia y sexual gametogonia) (Figura1).

Figura1: Ciclo biológico de *Eimeria* spp. (Drugueri Modern, 2002)



2.1.2.3. Epidemiología

La coccidiosis bovina afecta a terneros principalmente de 3 semanas a 6 meses de edad a causa de la falta de inmunidad adaptativa frente a estos parásitos. La infección se inicia al ingerir alimento o agua contaminada con ooquistes. La aparición de signos clínicos está relacionada con el número de ooquistes ingerido por los animales (Heise *et al.*, 1999; Romero, 2000). Generalmente los recuentos de ooquistes en la forma clásica de presentación subaguda son relativamente bajos de (de 3.000 a 5.000 ooquistes por gramo – opg-) aunque eventualmente pueden llegar hasta los 15.000 opg. En mayor medida prevalece *Eimeria bovis* o asociado especialmente a *E. zuernii* y *E. auburnensis* (Sánchez y Romero, 2003). En ocasiones la enfermedad se presenta en forma aguda y con un cuadro diferente: baja morbilidad, alta mortalidad, diarrea hemorrágica y elevado recuento de ooquistes (habitualmente entre 10.000 y 50.000 y hasta más de 1.000.000 opg). En estos casos suele predominar *E. zuernii* (Sánchez y Romero, 2003; Aaron *et al.*, 2007).

Los coccidios colonizan en pocos días las células epiteliales del intestino. Hasta el día 17 post infestación no se presenta síntoma alguno. Con periodicidad aparece una fuerte diarrea de color oscuro que más tarde contiene estrías de sangre. Después la diarrea se torna más severa, sanguinolenta y con fragmentos de mucosa intestinal. Algunos signos clínicos son: tenesmo, depresión con fiebre, anorexia, deshidratación y debilidad progresiva hasta la muerte (Tabla1) (Campillo, 1999). La principal fuente de infección de los terneros está asociada a la sobrevivencia invernal de ooquistes eliminados por terneros el año previo durante su primera estación de pastoreo (Sánchez *et al.*, 2008).

Los animales que se recobran de una infección severa o moderada con *Eimeria* spp. son resistentes a un desafío posterior con la misma especie, aunque algunos ooquistes pueden ser eliminados con las heces (Sánchez *et al.*, 2005). El nivel de inmunidad adquirido por el animal depende de la cantidad de ooquistes ingeridos durante la primera infección y si el desafío es bajo o moderado. La respuesta inmune puede no ser suficiente como para proteger frente a un alto desafío parasitario (Fitzgerald, 1967; Conlogue *et al.*, 1984). El continuo contacto con el parásito mantiene activa la respuesta inmunitaria, sin embargo los animales adultos pueden eliminar ooquistes lo que demuestra que la inmunidad conferida no es de tipo esterilizante y puede ser quebrada bajo diversas situaciones (Cornelissen *et al.*, 1995).

2.1.2.4. Factores de riesgo

Los factores de riesgo en coccidiosis pueden relacionarse a fallas en la transferencia de inmunidad pasiva, factores estresantes como el transporte, el hacinamiento, la malnutrición, y los temporales climáticos (Von Samson *et al.*, 2006; Sánchez *et al.*, 2008).

2.2. Diarreas de etiología bacteriana

2.2.1. Salmonelosis

2.2.1.1. Agente etiológico

Salmonella es un género de bacterias de forma bacilar, Gram negativa, anaeróbica facultativa, que no esporula. Sobre 2400 serotipos de *Salmonellas* identificadas, sólo unos 50 causan infección clínica en hombre y animales. Todos ellos pertenecen a la especie *entérica* subespecie *entérica* (Uzzau *et al.*, 2000). El serotipo *dublin* está adaptado al bovino, pero puede infectar otras especies (Maguire *et al.*, 1992). Los serotipos más frecuentemente aislados en bovinos son *S. dublin* y *S. typhimurium* (Sojka y Field, 1970; Vena *et al.*, 1984; Bergevoet *et al.*, 2009).

2.2.1.2. Ciclo biológico

Una vez que la bacteria ingresa al organismo vía oral y alcanza el intestino, coloniza el íleon y ciego donde se multiplica. Luego se disemina a los nódulos linfáticos y finalmente a la sangre resultando en bacteriemia (Stellmacher, 1981; Rings, 1985; Van Kruiningen, 1995).

2.2.1.3. Epidemiología

La Salmonelosis se presenta de 2 a 6 semanas de edad. Las manifestaciones clínicas son diarrea líquida que ocasionalmente contiene sangre o moco (Richardson y Watson,

1971; Nielsen *et al.*, 2009). Como consecuencia de la diarrea, los terneros se deshidratan y pierden peso llegando a presentar emaciación (Tabla1). Los animales infectados excretan *Salmonella* en las heces y orina contaminando el ambiente e incrementando el riesgo de transmisión dentro del tambo y pueden servir como fuente de infección a otros animales (House y Smith, 1998; Bergevoet *et al.*, 2009; Alexander *et al.*, 2009). Las bacterias eliminadas en las heces pueden sobrevivir hasta 10 o más meses. Los porcentajes de morbilidad y mortalidad varían de acuerdo a las condiciones de manejo en el ambiente a los que son sometidos los terneros (Cumming *et al.*, 2009).

2.2.1.4. Factores de riesgo

Entre los factores de riesgos asociados a la diarrea por *Salmonella* spp. se encuentran la falta de transferencia de inmunidad pasiva, la falta de higiene en los sistemas de crianza artificial y fallas nutricionales (sustitutos lácteo de mala calidad, cambios repentinos en la dieta, utilización de leche fermentada mal conservada o preparada). Otros factores asociados a la diarrea por *Salmonella* spp incluyen al estrés por las inclemencias del tiempo y manejo (en la administración de alimento, temperatura de leche o sustituto lácteo) (House y Smith, 1998).

2.2.2. Colibacilosis

2.2.2.1. Agente etiológico

Forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*. El agente etiológico *Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo, móvil o inmóvil, anaerobio facultativo. Se clasifica en serotipos con base en los siguientes antígenos: antígeno somático O (polisacáridos y termoestables), antígeno flagelar H (termolábil de naturaleza proteica), antígeno K (capsulares), antígeno F (fimbriales). Las cepas patógenas son: enterohemorrágicas (ECEH), enterotoxigénica (ECET), enteroinvasivas (ECEI), enteropatógena (ECEP), enteroagregativa (ECEA) y las con adherencia difusa. Las cepas causantes de diarrea blanca en terneros son las del tipo enterotoxigénicas especialmente la F5 (K99) (Acha y Szyfres, 2001; Nagy y Fekete, 2005).

2.2.2.2. Ciclo biológico

Se inicia con la ingestión por vía oral de la cepa patógena, la cual coloniza la parte distal del intestino delgado fijándose a receptores característicos de los enterocitos de los neonatos. Posteriormente se producen enterotoxinas que causan una diarrea por hipersecreción e interfieren en la capacidad de absorción de los fluidos en el intestino pudiendo llegar hasta la necrosis de los enterocitos (Acha y Szyfres, 2001).

La patogenicidad de una cepa particular de *E. coli* enterotoxigénica, depende de dos factores de virulencia (pilis y enterotoxinas). Los pilis son finos filamentos que se

proyectan a partir de la pared celular de la bacteria. A partir de estas estructuras *E. coli* se adhiere a las células epiteliales del intestino primariamente, extendiéndose luego a la porción proximal del intestino delgado. Se producen dos tipos de enterotoxinas: enterotoxina termolábil y enterotoxina termoestable. La enterotoxina termoestable es la toxina de importancia en la infección por ECET en terneros (Radostits *et al.*, 2000; Piller *et al.*, 2005).

Las enterotoxinas termoestables son de bajo peso molecular, aumentan la activación de la guanilato ciclasa en los enterocitos, dando lugar a un aumento de la concentración intracelular de guanocina monofosfato cíclico (GMPC) que estimula la secreción de líquido y electrolitos al intestino e inhibe su reabsorción (Al-Majali *et al.*, 2000; Nagy y Fekete, 2005).

2.2.2.3. Epidemiología

La vía de transmisión es fecal-oral directa o indirecta por la ingestión de agua y alimentos contaminados. Los terneros con diarrea se consideran la principal fuente de infección. La enfermedad es de curso aguda, con alta mortalidad en terneros menores de 10 días de edad (Wieler *et al.*, 2007). Por otro lado, Bartels *et al.* (2010) sostiene que la mayor prevalencia de diarrea por *E. coli* ocurre entre la primera y segunda semana de edad (1-21 días).

Se manifiesta con diarrea grave, heces de color blanquecino-café y deshidratación rápida (Tabla1). Si la infección pasa a ser septicémica los que sobreviven a este proceso

pueden padecer posteriormente artritis y meningitis. Afecta principalmente a terneros que no consumen calostro en las primeras horas de vida y los animales moderadamente afectados pueden recuperarse espontáneamente. Presenta una morbilidad de 75% y una mortalidad de 50% (Acha y Szyfres, 2001).

2.2.2.4. Factores de riesgo

Entre los principales factores de riesgo que contribuyen a la aparición de diarrea por *E.coli* se encuentran: fallas en la vacunación, carencia de suplementación vitamínica y mineral de las madres gestantes, fallas en la transferencia de inmunidad pasiva, especialmente en las vaquillonas; concentración de las pariciones en los sistemas de cría que conlleva a una alta densidad de animales susceptibles en determinada época del año; falta de higiene en los sistemas de crianza artificial; fallas de manejo. Las condiciones climáticas invernales con bajas temperaturas, alta humedad ambiente y baja luminosidad favorecen la viabilidad de los agentes infecciosos en el medio y actúan directamente sobre los terneros (Radostits *et al.*, 2000).

El estado nutricional de la vaca al final de la gestación y el parto es primordial. Una adecuada condición corporal de la vaca al momento del parto, determina una producción promedio de calostro de 2,5 litros en las primeras 6 horas postparto contra 1,21 litros para una vaca delgada al parto (Spitzer, 1986). La protección que el ternero tiene durante el período neonatal, depende de dos factores: la ingestión de un adecuado volumen de calostro de buena calidad (concentraciones de inmunoglobulinas) y de una absorción eficiente de las

mismas dentro de las primeras 12 horas de nacido (Radostits *et al.*, 2000; Svensson *et al.*, 2003).

Tabla 1. Agentes etiológicos y características asociadas a la diarrea neonatal en terneros.

Enfermedad	Agente etiológico	Presentación	Diarrea	Consistencia heces	Signos clínicos
Cryptosporidiosis	<i>Cryptosporidium parvum</i>	3-35 Días	Amarillenta, Sangre y/ó Mucosidad	Líquida- Pastosa	Deshidratación Hundimiento de ojos Extremidades frías Dificultad para la incorporación Debilidad tren posterior Anorexia
Coccidiosis	<i>Eimeria bovis</i> <i>Eimeria zuernii</i> <i>Eimeria auburnensi</i> <i>Eimeria ellipsoidalis</i>	3 Semanas-6 Meses	Verde- Oscuro Con sangre	Líquida	Deshidratación Hundimiento de ojos Extremidades frías Dificultad para la incorporación Debilidad tren posterior Anorexia
Colibacilosis	<i>Escherichia coli</i> , enterohemorrágica (ECEH), enterotoxigénica (ECET), enteroinvasiva, (ECEI) enteropatógena (ECEP), enteroagregativa (ECEA)	< 10 Días	Blanquecino Amarillenta- café	Líquida	Deshidratación Hundimiento de ojos Extremidades frías Dificultad para la incorporación Debilidad tren posterior Anorexia
Salmonelosis	<i>Salmonella dublin</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	2-6 Semanas	Sangre y/o mucosidad	Líquida	Deshidratación Hundimiento de ojos Extremidades frías Dificultad para la incorporación Debilidad tren posterior Anorexia

2.3. Distribución

Los agentes etiológicos *Cryptosporidium*, *Salmonella*, *Eimeria* y *E. coli* tienen una distribución mundial y en Argentina se encuentran distribuidas en todo el país. El estudio más completo a nivel nacional fue realizado por Bellinzoni (1990) llevándose a cabo en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe, Entre Ríos y La Pampa. En el mismo se estudiaron 452 muestras de heces de terneros con diarrea pertenecientes a 36 rodeos de cría y 33 de tambo. En los rodeos de tambo se encontró baja incidencia de *Salmonella* spp., destacándose que una tercera parte de los terneros eliminaba *Cryptosporidium* spp y en menor proporción rotavirus.

2.4. Diagnóstico

El diagnóstico etiológico de la diarrea neonatal se lleva a cabo a través de la identificación del agente en materia fecal. Con respecto a *E. coli* y *Salmonella* se obtiene mediante aislamiento e identificación de agente causal en cultivos bacterianos. Sin embargo para *Cryptosporidium* spp y *Eimeria* spp. se determina de acuerdo a las características de los ooquistes.

2.5. Valor predictivo positivo

- El valor predictivo de la prueba positiva o valor predictivo positivo (VP+) es la probabilidad de que un animal positivo a una prueba diagnóstica esté realmente enfermo y depende en gran medida de la sensibilidad de las

pruebas diagnósticas utilizadas y de la prevalencia real de la enfermedad (Tarabla, 2000). White *et al* (1986) describieron el dilema al cual se enfrenta el médico veterinario en el tratamiento de la mastitis bovina debido a las dificultades que presenta la diferenciación de las etiologías basándose solamente en la inspección clínica y a la necesidad de instaurar el tratamiento rápidamente, antes de contar con los resultados de los exámenes de laboratorio. En un estudio sobre mastitis realizado en Nueva York (EE.UU), se efectuaron cultivos bacterianos en 118 muestras de leche, comparando los resultados de laboratorio con los diagnósticos que habían efectuado los veterinarios actuantes basados sólo en la inspección clínica. De un total de 51 diagnósticos presuntivos de bacterias Gram positivas, sólo 31 fueron confirmados por los cultivos bacterianos (VP+ 60,8%). En el caso de bacterias coliformes, 23 de 55 diagnósticos fueron confirmados por el laboratorio (VP+ 41,8%). En la práctica, esto significa que el 39,2% de los casos de infecciones por bacterias Gram positivas y el 58,2% de las causadas por coliformes recibieron tratamiento inadecuado. El presente trabajo tiene un enfoque similar e intenta cuantificar la probabilidad que los diagnósticos clínico etiológicos bacteriológicos y parasitarios efectuados por veterinarios de campo sean confirmados por pruebas de laboratorio específicas. Los veterinarios de campo realizaron sólo un diagnóstico etiológico clínico en animales con diarrea manifiesta. Los casos de enfermedad con sinología de

menor importancia no fueron tenidos en cuenta, pudiendo existir casos donde el agente bacteriano o parasitario pudo haber pasado desapercibido. Por otro lado, pudieron haber existido otros agentes bacterianos y parasitarios no incluidos entre las pruebas de laboratorio que pudieron también afectar el cálculo del valor predictivo positivo (VP+).

2.6. HIPÓTESIS

El diagnóstico clínico de los veterinarios no es preciso en la determinación de la etiología de las diarreas en terneros.

2.7. OBJETIVOS

2.7.1 GENERAL:

Determinar el valor predictivo positivo del diagnóstico parasitológico y bacteriano efectuado por veterinarios de campo en terneros con diarrea.

2.7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

2.7.2.1. Identificar los agentes etiológicos parasitarios y bacterianos presentes en terneros con diarrea.

2.7.2.2. Determinar la concordancia entre el diagnóstico presuntivo clínico y el de laboratorio.

2.7.2.3. Identificar factores asociados a los diagnósticos parasitológicos y bacterianos presuntivos y de laboratorio.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Del 12 de agosto 2009 al 7 de junio 2010, tres veterinarios recolectaron muestras de heces provenientes de 92 terneros con diarrea. Se consideró como caso de diarrea la presencia de heces acuosas o pastosas. Los terneros eran de raza Holstein con edades comprendidas entre 2 y 60 días y pertenecían a nueve establecimientos lecheros de la región central santafesina.

En este trabajo el VP+ fue definido como la probabilidad de aislar agentes etiológicos parasitarios (*Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp.) o bacterianos (*E. coli* y *Salmonella* spp.) en animales con diarrea y diagnóstico clínico etiológico de uno o más de estos cuatro agentes.

3.1. Muestras recolectadas

Se le entregó un protocolo a los Médicos Veterinarios para recabar información sobre el caso que remitían (raza, sexo, edad, alimentación, diagnóstico presuntivo, mortalidad, características de la diarrea, tiempo de duración de la diarrea (ver ficha epidemiológica anexo 1). Las muestras de materia fecal de cada ternero fueron obtenidas directamente del recto con bolsas de polietileno rotuladas con el número del animal y fecha de muestreo. Luego fueron conservadas en refrigeración a 4°C y enviadas al Laboratorio del Hospital de Grandes Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL) en cajas de telgopor refrigeradas.

Para cada caso de diarrea, se siguió el siguiente protocolo:

- Seleccionar e identificar los terneros con sintomatología de diarrea.
- Tomar una muestra de materia fecal y colocarla en bolsa estéril rotulada.
- Adjuntar historia clínica del ternero.
- Realizar un diagnóstico clínico del caso.
- Remitir todo el material, incluyendo la historia clínica, en caja de tégopor con refrigerantes (4°C) para su respectivo análisis.

3.2. Procedimiento de laboratorio

Para la identificación y caracterización microbiológica se emplearon los siguientes procedimientos:

3.2.1. Parasitarias

3.2.1.1. *Cryptosporidium* spp.

Técnica de Telleman (concentración de ooquistes). Se colocó en un mortero una cucharada de heces, la cual se diluyó en formol-sal (1:2) hasta formar una mezcla homogénea. Luego se tamizó por medio de un embudo con malla y la emulsión que se obtuvo fue vertida en un tubo de centrífuga hasta sus 2/3 partes. Seguidamente se agregaron

2 ml de éter etílico y se agitó el tubo, destapándolo lentamente. Se centrifugo a 1500 g durante 5 min.

El sobrenadante fue eliminado con un golpe seco y con una varilla se extrajo una pequeña cantidad de sedimento, colocándolo sobre un portaobjeto.

Tinción de Ziehl Neelsen modificada. Se dejó secar al aire una gota de sedimento de materia fecal (MF) en un portaobjetos, se cubrió con fucsina fenicada durante 5 minutos, se lavó con agua corriente y se decoloró con alcohol clorhídrico al 3%. Posteriormente se lavó con agua corriente y se cubrió con azul de metileno al 1% durante 10 minutos, se lavó, secó y se observó al microscopio (45 x y 100 x). Con esta coloración los ooquistes de *Cryptosporidium* spp. se tiñeron de color rosado intenso o claro, con bordes definidos.

3.2.1.2. *Eimeria* spp.

Para detectar *Eimeria* spp. se realizó un conteo de ooquistes por gramo de heces utilizando la técnica de Mc Master modificada (Roberts y O'Sullivan, 1949), con un límite de detección de 100 opg.

Técnica de Mc Master (modificada). Se colocaron 3g de materia fecal y 60 ml de solución saturada de cloruro de sodio (NaCl) se tapó y agitó para disolver las heces. Se coló recogiendo la suspensión en otro envase y se dejó reposar solo unos segundos hasta que flotaran las burbujas mayores. Posteriormente se tomó una muestra con pipeta. Luego de cargar las cuatro celdas de la cámara de Mc Master; se esperó 3 minutos y posteriormente se observó al microscopio con un aumento de 100X.

3.2.2. **Bacterianas**

3.2.2.1. *Salmonella* spp.

Para su aislamiento se utilizó como medio de pre-enriquecimiento caldo tetrionato adicionado con yoduro, incubándose a 24 horas a 37 °C, posteriormente se realizó un repique al medio selectivo y diferencial SS (*Salmonella-Shigella*, Britania, Argentina), incubándose 24-48 horas a 37 °C en aerobiosis, seleccionándose como colonias sospechosas aquellas de 2-3 mm de diámetro, lactosa negativas y productoras de sulfhídrico. Las mismas fueron repicadas en agar tripticosa soya y a partir de ahí se realizaron pruebas bioquímicas para determinación de género: Tinción de Gram, oxidasa, ureasa, fenilalanina desaminasa, lisina, ornitina, hierro triple azúcar (TSI), IMVIC.

Prueba TSI: determina la capacidad de un microorganismo para atacar los hidratos de carbono glucosa, lactosa y/o sacarosa, con producción o no de gases (CO₂ y H₂), junto con la producción o no de ácido sulfhídrico (H₂S). Se sembró a partir de un cultivo puro picando el fondo con un ansa y extendiéndolo sobre la superficie del medio. Se incubó a 37°C durante 24 horas. La presencia de ácido sulfhídrico fue un indicativo de *Salmonella* por lo cual se realizaron otras pruebas bioquímicas para diferenciarla de otras bacterias.

Prueba IMVIC (Indol, Rojo metilo, Voges Proskauer y Citrato).

Indol: se inocularon tubos con caldo triptonado y se incubaron a 37°C por 24 horas. Luego se le agregaron unas gotas del reactivo Kovacs y, tras unos minutos, se observó la superficie. El cambio a un color rojizo indicó que la prueba era positiva.

Rojo metilo: se inocularon tubos con caldo RM- VP e incubaron a 37°C por 48 horas. Luego se le agregaron 5 gotas de solución de rojo metilo. Se consideró positivo cuando se desarrolló un color rojo y negativo cuando el color era amarillo.

Voges Proskauer (VP): Se inocularon tubos con caldo RM- VP e incubaron a 37°C por 48 horas luego se le agregaron 5 gotas de solución de VP, 1 ml de KOH (hidróxido de potasio) al 10%. Se agitó el tubo cuidadosamente para exponer el medio al oxígeno atmosférico y se dejó reposar durante 10 a 15 minutos. El desarrollo de un color rojo-fucsia luego de 15 minutos indicó la presencia de diacetilo, producto de oxidación de la acetoina y por lo tanto una prueba VP positiva

Citrato: Se inoculó en la superficie del tubo luego se incubó a 37°C por 24 horas. La presencia de un color azul indica que la prueba es positiva.

La Prueba IMVIC debe generar un resultado - + - + para que se considere presuntivo de *Salmonella*.

3.2.2.2. *Escherichia coli*.

Para realizar el aislamiento e identificación de *E. coli* a partir de las muestras de materia fecal, se tomó una alícuota con ansa de ojal y se estirió sobre la superficie en agar Mc Conkey (Merck, Argentina) incubándose durante 24 horas a 37°C. A las colonias fermentadoras de lactosa (2 o 3 por placa) se las repicó en agar tripticasa soya (Britania, Argentina) para obtenerlas en cultivo puro y abundante. Luego se realizó la determinación

de su perfil bioquímico utilizando la siguiente metodología estandarizada (Koneman *et al.*, 1999): morfología microscópica, Gram, oxidasa, TSI (agar hierro triple azúcar Britania, Argentina) e IMVIC (Indol, Rojo metilo, Voges Proskauer y Citrato).

Prueba de hierro triple azúcar: Se sembró a partir de un cultivo puro picando el fondo con un ansa y extendiéndolo sobre la superficie del medio. Se incubó a 37°C durante 24 horas. Resultó positiva para *E.coli* cuando existió producción de gas.

Los resultados + + - - a las pruebas IMVIC (Indol, Rojo metilo, Voges Proskauer y Citrato) indicaron la presencia de *E. coli* (ver *Salmonella*).

3.3. Análisis Estadístico

Las variables incluidas en este estudio fueron: los diagnósticos clínicos presuntivos de etiologías bacterianas y parasitarias efectuados a campo por los veterinarios actuantes, los diagnósticos de laboratorio que confirmaron o negaron la presencia de estas etiologías en las muestras de materia fecal, las características de los terneros (sexo, edad, consumo de calostro y vacunaciones recibidas por la madre), de las diarreas (duración, color, consistencia y signos clínicos asociados) y los tratamientos efectuados.

El análisis estadístico se efectuó en tres etapas: a) análisis descriptivo, b) búsqueda de asociaciones entre los diagnósticos y las características de los terneros, de las diarreas y los tratamientos efectuados y c) búsqueda de asociaciones entre los diagnósticos clínicos presuntivos y de laboratorio.

El análisis incluyó Ji-cuadrado para establecer la existencia de asociaciones y el índice kappa para estimar el grado de concordancia entre el diagnóstico clínico presuntivo y el de laboratorio. La valoración de este índice se basó en la siguiente escala: mayor a 0,75 excelente, 0,75-0,40 buena a regular y menor a 0,40 pobre (Fleiss, 1981). En este trabajo el VP+ fue definido como la probabilidad de detectar agentes etiológicos parasitarios (*Cryptosporidium* y *Eimeria* spp.) o bacterianos (*E. coli* y *Salmonella* spp.) en animales con diarrea y diagnóstico clínico etiológico de estos cuatro agentes. Todos los análisis se efectuaron con el programa estadístico SPSS®.

IV. RESULTADOS

De las muestras de materia fecal procedentes de terneros (n=92) con signología diarreica, en 75 (81% de lo casos) se detectó la presencia de alguno de los cuatro agentes etiológicos investigados.

4.1 Diagnósticos en la diarrea neonatal de terneros

4.1.1 Diagnóstico clínico presuntivo.

Las etiologías presuntivas fueron mayoritariamente bacterianas (n= 68; 74,0%) y parasitarias (n= 46; 50,0%). En 66 terneros (67,4%) el veterinario diagnosticó un único agente causal y en el resto (n= 26; 28,3%) diversas combinaciones de un agente bacteriano y uno parasitario (Tabla 2).

Tabla 2. Frecuencia de agentes etiológicos presuntivos sobre el total de terneros con diarrea neonatal (n=92).

Diagnóstico presuntivo		
Agente etiológico	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
Bacterias	42	45,7
Parásitos	20	21,7
Combinadas	26	28,3
Rotavirus	4	4,3
Total	92	100,0

En total, se registraron 118 diagnósticos presuntivos, 68 bacterianos, 46 parasitarios y cuatro virales (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencias de etiologías presuntivas sobre el total de diagnósticos realizados (n=118).

Diagnóstico presuntivo			
Agente etiológico		Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
Bacterias (n= 68)	<i>E. coli</i>	57	48,3
	<i>Salmonella</i> spp.	11	9,3
Parásitos (n= 46)	<i>Eimeria</i> spp.	10	8,5
	<i>Cryptosporidium</i> spp.	36	30,5
Rotavirus		4	3,4
Total		118	100,0

Los 26 diagnósticos presuntivos combinados (bacterianos y parasitarios) mostrados en la Tabla 2 se distribuyeron de la siguiente manera (Tabla 4):

Tabla 4. Etiologías presuntivas en diagnósticos etiológicos combinados (bacteria/parásitos) (n=26).

Diagnóstico presuntivo		
Agente etiológico	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
<i>E.coli, Cryptosporidium</i> spp.	25	96,2
<i>E.coli, Eimeria</i> spp.	1	3,8
Total	26	100,0

4.1.2. Diagnóstico de laboratorio

Los agentes detectados en laboratorio fueron, en su mayoría, de naturaleza bacteriana (n= 63), estando en 11 oportunidades combinados con un agente parasitario (Tabla 5).

Tabla 5. Frecuencia de agentes etiológicos detectados en laboratorio sobre el total de terneros con diarrea (n=92).

Diagnóstico de laboratorio		
Agente etiológico	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
Bacterias	52	56,6
Parásitos	12	13,0
Combinadas	11	11,9
Cultivo bacteriano y detección de parásitos negativos	17	18,5
Total	92	100,0

En el laboratorio se efectuaron 86 diagnósticos, 63 bacterianos y 23 parasitarios. Sólo se detectaron combinaciones entre un agente parasitario y uno bacteriano, no habiéndose diagnosticado la presencia de dos agentes bacterianos ni de dos parásitos en la misma muestra. La frecuencia de detección de cada agente se presenta en la Tabla 6.

Tabla 6. Frecuencia de etiologías detectadas en laboratorio sobre el total de diagnósticos efectuados (n=103).

Diagnóstico de laboratorio			
Agente etiológico		Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
Bacterias (n= 63)	<i>E. coli</i>	62	60,2
	<i>Salmonella</i> spp.	1	1,0
Parásitos (n= 23)	<i>Eimeria</i> spp.	6	5,8
	<i>Cryptosporidium</i> spp.	17	16,5
Cultivo bacteriano y detección de parásitos negativos		17	16,5
Total		103	100,0

Los 11 diagnósticos de laboratorio que combinaron un agente bacteriano y uno parasitario mostrados en la Tabla 5 se distribuyeron de la siguiente manera (Tabla 7):

Tabla 7. Etiología detectada en los diagnósticos de laboratorio combinados (bacteria/ parásitos) (n=11).

Diagnóstico de laboratorio		
Agente etiológico	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
<i>E.coli, Cryptosporidium spp.</i>	8	73
<i>E.coli, Eimeria spp.</i>	3	27
Total	11	100,0

4.2.1. Características de los terneros muestreados

Los animales eran todos de raza Holstein y pertenecían a tambos del área centro-oeste de la Provincia de Santa Fe. La distribución por sexo se presenta en la Figura 2.

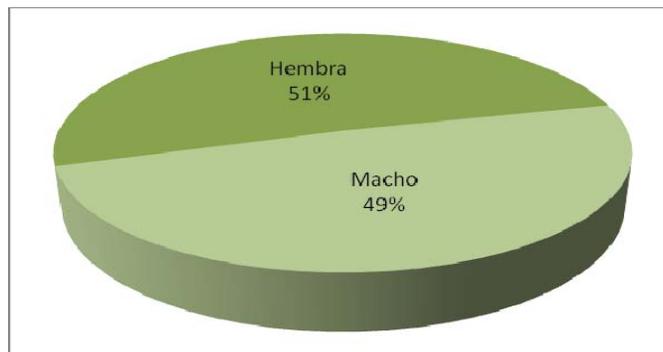


Figura 2. Distribución de los 92 casos de terneros con diarrea neonatal

según sexo.

El 22,8% de los animales muestreados estaban en su primera semana de vida (2-7 días), el 51,9% entre la segunda y tercera semana (8-21 días) y el 25,3% de la tercera semana en adelante (21 o más días).

El 54,8% de los terneros consumió calostro dentro de las 12-24 horas de nacidos, un 38,1% lo hizo antes de las 12 horas, mientras que el 7,1% no lo consumió. Luego del período de calostrado el 51,5% se alimentó con leche entera y sustituto lácteo, el 43,9% recibió sólo leche entera, y el 4,6% restante sólo sustituto lácteo.

El 68,9% de las madres recibieron algún tipo de vacunación para prevenir afecciones en las crías, encontrándose con mayor frecuencia la vacuna Rotatec[®] (31,0%), seguida de la vacuna contra IBR (Rinotraqueitis infecciosa bovina)-DVB (Diarrea viral bovina) (37,9%).

4.2.2. Características de la diarrea

La mayor proporción de diarreas presentó color amarillo-verdoso (80,0%), mientras que el 20% restante tuvo aspecto sanguinolento (Figura 3).

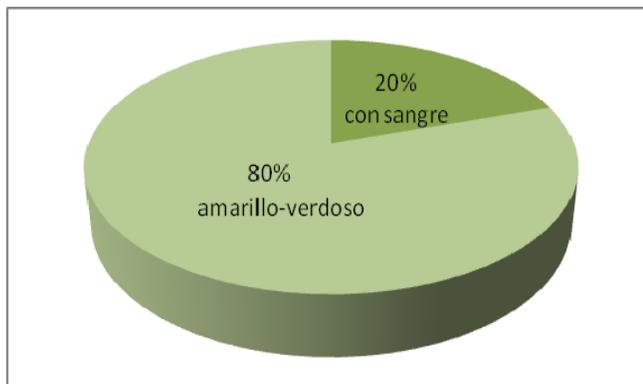


Figura 3. Color de la diarrea neonatal de terneros

Con referencia a la consistencia de la materia fecal, en la mayoría de los casos (65,0%) fue líquida (Figura 4.)

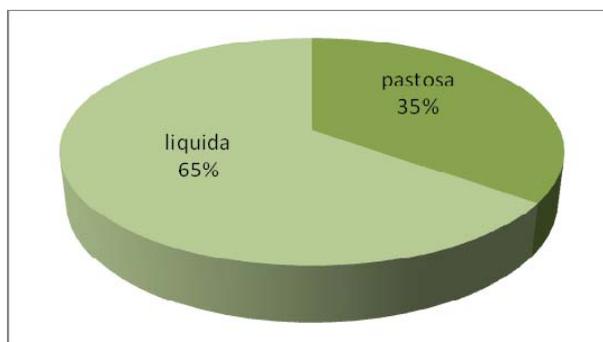


Figura 4. Consistencia de la materia fecal en la diarrea neonatal de terneros

El 55% de los terneros con diarrea no presentaron otros signos clínicos. El 45% restante manifestó alguno de los signos que se presentan en la Figura 5.

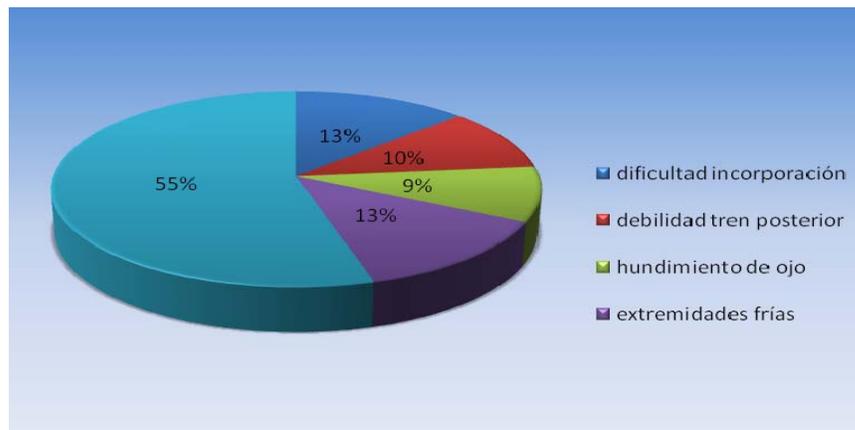


Figura 5. Signos clínicos en la diarrea neonatal de terneros

En el 65,9% de los casos las diarreas tenían uno o dos días en el momento de ser detectadas, mientras que en el 34,1% restante tenían tres o más días de evolución.

Del total de animales incluidos en el estudio, se obtuvo información sobre la terapia instaurada en 71 de ellos. De ese total, el 61% no recibió tratamiento, mientras que 39% recibió algún tipo de antimicrobiano y sales hidratantes (Figura 6).

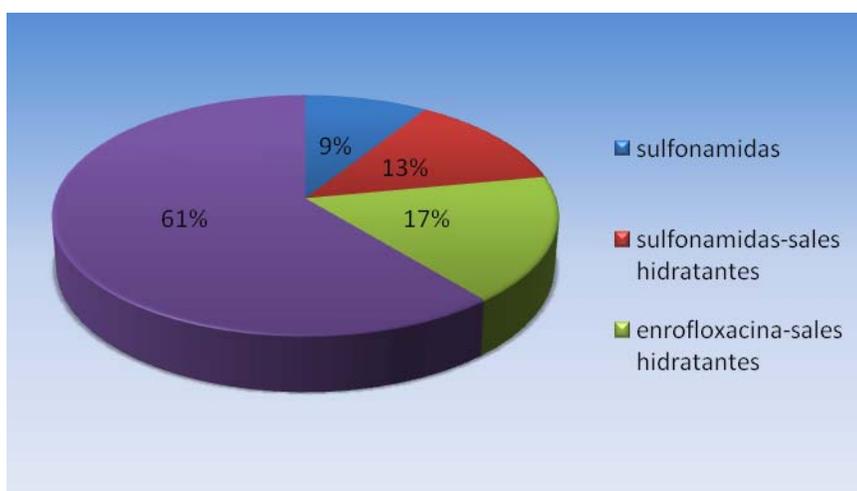


Figura 6. Tratamiento en la diarrea neonatal de terneros

4.3. Asociaciones

4.3.1. Asociaciones entre los diagnósticos clínicos presuntivos y los de laboratorio.

La presencia del agente etiológico presuntivo fue confirmada con mayor frecuencia en los diagnósticos presuntivos bacterianos (Tabla 8).

Tabla 8. Confirmación por laboratorio de los diagnósticos presuntivos.

Diagnósticos		De laboratorio			VP+ (%)
		Positivo	Negativo	Total	
Presuntivo	Bacteria	52	16	68	76,5
	Parásito	12	34	46	28,3
	Combinado	3	23	26	11,5

El diagnóstico clínico presuntivo estuvo significativamente asociado con el de laboratorio en el caso de presunción de etiologías bacterianas ($p < 0,05$), pero no en las parasitarias. La confirmación por laboratorio fue más frecuente en el caso de *E. coli* (Tabla 9).

Tabla 9. Confirmación por laboratorio de los diagnósticos etiológicos presuntivos bacterianos y parasitarios.

Diagnósticos		De laboratorio			VP+ (%)
		Positivo	Negativo	Total	
Presuntivo	<i>E. coli</i> spp.	20	11	31	64,5
	<i>Salmonella</i> spp.	0	11	11	0
	<i>Eimeria</i> spp.	2	7	9	22,2
	<i>Cryptosporidium</i> spp.	4	7	11	

La concordancia entre los diagnósticos bacterianos presuntivos y de laboratorio fue regular (Tabla 10).

Tabla 10. Concordancia entre los diagnósticos bacterianos presuntivos y de laboratorio.

Diagnóstico		Laboratorio			Índice Kappa
		+	-	Total	
Presuntivo	+	52	16	68	0,538 (0,358; 0,717)
	-	11	39	50	
	Total	63	55	118	

Por otra parte, la concordancia en los diagnósticos combinados fue pobre (Tabla 11).

Tabla 11. Concordancia entre los diagnósticos parasitarios presuntivos y de laboratorio.

Diagnóstico		Laboratorio			Índice Kappa
		+	-	Total	
Presuntivo	+	12	34	46	0,119 (-0,042; 0,280)
	-	11	61	72	
	Total	23	95	118	

Por último, la concordancia en los diagnósticos combinados fue pobre (Tabla 12).

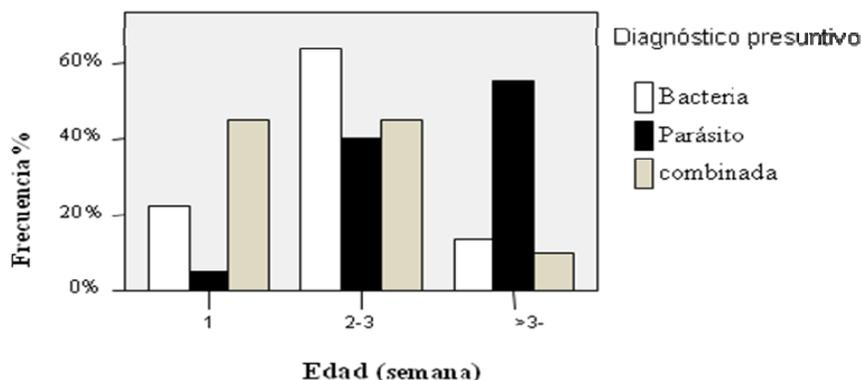
Tabla 12. Concordancia entre los diagnósticos combinados presuntivo y de laboratorio.

Diagnóstico		Laboratorio			Índice Kappa
		+	-	Total	
Presuntivo	+	3	23	26	0,007 (-0,186; 0,171)
	-	8	58	66	
	Total	11	81	92	

4.3.2. Asociaciones del diagnóstico clínico presuntivo con características de los terneros muestreados.

No hubo asociaciones significativas entre el diagnóstico clínico presuntivo con el sexo de los animales enfermos ($p= 0,214$). Hubo una mayor proporción de diagnósticos etiológicos bacterianos y combinados (bacterias y parásitos) antes de la tercera semana de edad, mientras que las de origen parasitario fueron más frecuentes de la tercera semana en adelante (Grafica 1).

Grafica 1. Frecuencia de diagnósticos clínicos presuntivos en la diarrea neonatal en función de la edad de los terneros.



4.3.3. Asociación entre el diagnóstico clínico presuntivo y las características de la diarrea neonatal en terneros

No hubo asociación entre el diagnóstico presuntivo y el color de la diarrea ($p=0,371$). Sin embargo, el diagnóstico presuntivo de agentes etiológicos bacterianos o combinados (bacterias y parasito), estuvo asociado a diarreas de consistencia pastosa, mientras que los diagnósticos parasitarios lo hicieron con diarreas líquidas ($p < 0,01$) (Tabla13).

Tabla 13. Asociación entre el diagnóstico clínico presuntivo y la consistencia de la diarrea neonatal en terneros.

Diagnóstico presuntivo	Consistencia de diarrea	
	Pastosa	Líquida
Bacteria	23 62,2%	14 37,8%
Parásito	5 35,7%	9 64,3%
Combinadas	21 80,8%	5 19,2%

No se encontraron asociaciones entre los diagnósticos presuntivos y la dificultad en incorporarse ($p= 0,80$), la debilidad en el tren posterior ($p= 0,39$), el hundimiento de ojos ($p= 0,23$), ni la presentación de extremidades frías ($p= 0,32$).

Diecinueve de 61 casos con diagnósticos presuntivos bacterianos recibieron tratamiento específico quimioterápicos. Mientras tanto, se realizaron 10 diagnósticos presuntivos de coccidiosis de los cuales sólo 4 recibieron tratamiento con sulfamidas (Tabla 14).

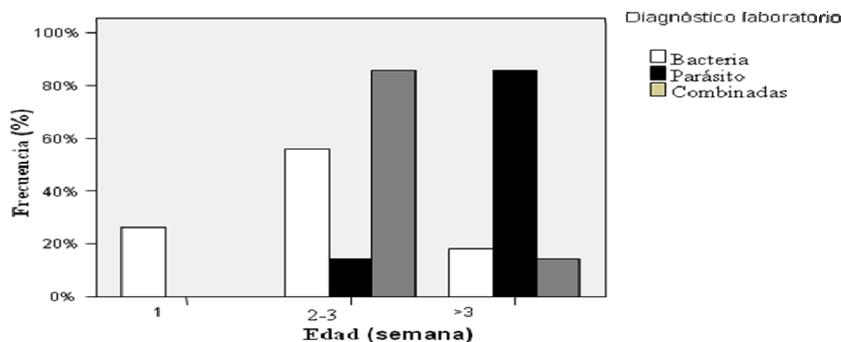
Tabla 14. Frecuencia del diagnóstico clínico presuntivo con el agente bacteriano y el tratamiento

Diagnósticos	Tratamiento	Frecuencia		
		Si	No	Total
Bacteria	Quimioterápico	19	49	61
Coccidiosis	Sulfamida	4	6	10

4.3.4. Asociaciones diagnóstico de laboratorio y las características de los terneros muestreados.

No se encontró asociación con el sexo de los terneros ($p= 0,214$). Hubo una mayor proporción de infección por bacterias y combinadas (bacterias y parásitos) entre la segunda y tercera semana de edad, mientras que las de origen parasitario se presentaron con más frecuencia luego de la tercera semana (Gráfica 2).

Gráfica 2. Frecuencia de la edad en función al diagnóstico de laboratorio en la diarrea neonatal de terneros.



No se encontraron asociaciones entre el agente etiológico hallado y el consumo de calostro ($p=0,520$), el tipo de alimentación ($p=0,263$), ni la vacunación de la madre ($p=0,310$). Tampoco se encontraron asociaciones entre el diagnóstico de laboratorio y los siguientes signos clínicos: dificultad en incorporarse ($p=0,20$), debilidad en el tren posterior ($p=0,68$), hundimiento de ojos ($p=0,26$) y presencia de extremidades frías ($p=0,94$).

4.3.5. Asociación entre el diagnóstico de laboratorio y las características de la diarrea.

No se encontró asociación estadísticamente significativa entre el agente etiológico detectado y el color de la diarrea ($p=0,371$) o los días de evolución hasta el momento de ser detectadas ($p=0,302$). No obstante, la asociación con la consistencia de la misma fue significativa ($p=0,02$). La mayor proporción de diarreas con el agente bacteriano y

combinado (bacterias y parásitos) presentaron materia fecal de tipo pastosa, mientras que con el agente parasitario se halló diarreas de tipo líquida. (Tabla 15).

Tabla 15. Asociación del diagnóstico de laboratorio y la consistencia de la materia fecal en la diarrea neonatal de terneros.

Diagnóstico clínico	Consistencia de la diarrea	
	Pastosa	Líquida
Bacteria	32 72,7%	12 27,3%
Parásito	3 27,3%	8 72,7%
Combinadas	5 62,5%	3 37,5%

4.3.6. Asociación entre el diagnóstico de laboratorio y el tratamiento.

Veintiséis de los 63 casos con diagnósticos de laboratorio bacterianos recibieron tratamiento específico con quimioterápicos (Tabla 16).

Tabla 16. Frecuencia del diagnóstico de laboratorio con el agente bacteriano y el tratamiento

Diagnósticos	Tratamiento	Frecuencia		
		Si	No	Total
Bacteria	Quimioterápico	26	37	63
Coccidio	Sulfamida	3	3	6

V. Discusión

Las etiologías presuntivas más frecuentes fueron bacterianas, con predominio de *E. coli*. Los agentes detectados en laboratorio fueron también mayoritariamente de naturaleza bacteriana, siendo *E. coli* el agente más aislado. Estos resultados no reflejan la prevalencia de agentes en la población en riesgo, sino la tasa proporcional dentro de los que padecían diarrea. Esta última está influenciada, no sólo por la probabilidad de diarreas y la de cada agente en la población susceptible, sino también por la frecuencia relativa de los agentes dentro de la población con diarrea. Es decir, la tasa proporcional de diarreas por agentes bacterianos puede no variar en la población en riesgo de sufrir diarreas (compuesta por animales con y sin diarreas), pero estar aumentada dentro de los animales con diarrea por una disminución de los agentes parasitarios. Los cuatro agentes etiológicos investigados son reconocidos como responsables del 75% al 95% de los casos de diarreas en terneros (Bellinzoni *et al.*, 1990; Pérez *et al.*, 1998; Margueritte *et al.*, 2001; Ruíz *et al.*, 2000; Acha *et al.*, 2004; Williams *et al.*, 2007). Igualmente, la menor detección de *Cryptosporidium* y *Eimeria* podría estar indicando una menor agresividad de estos agentes, su menor presencia en el medio rural de la zona estudiada y/o la mayor frecuencia de agentes bacterianos en esta franja etárea. Asimismo, Nagy y Fekete (2005) especulan que podrían ser agentes causales co-laterales a la presencia de un agente más agresivo (como por ejemplo la presencia de cepas patógenas de *E. coli*) para desencadenar trastornos gastrointestinales de tipo diarreico detectables clínicamente.

Es importante recordar que *E. coli* es una presencia habitual en la flora intestinal de animales sin diarrea (Martín *et al.*, 2003), por lo que su detección no es sinónimo de causalidad dado que no se procedió a la identificación de los géneros patógenos. Sin embargo en este trabajo, el diagnóstico de laboratorio se efectuó simplemente para corroborar el diagnóstico clínico presuntivo del veterinario actuante. Como es lógico la probabilidad de detectar un agente etiológico aumenta con el número de muestras analizadas. Por consiguiente, en este estudio sólo se analizó una muestra donde quizás la eliminación del agente por las heces no coincidía con la toma de muestras o bien la concentración de agentes etiológicos en las heces era baja. Por ello, su ausencia en el laboratorio puede reflejar no sólo un diagnóstico presuntivo falso positivo (falla del veterinario en detectar la ausencia del agente en el examen clínico) sino también el efecto de diagnósticos falso negativos en el laboratorio (falla en detectar un agente existente en la diarrea) o la combinación de ambos. Por otra parte, a medida que aumenta la prevalencia de un agente en la población, aumenta también la probabilidad de diagnósticos verdadero positivos (Tarabla, 2000), por lo que no puede descartarse que el mayor VP+ en los diagnósticos bacterianos y específicamente *E. coli*, se deba simplemente a su mayor prevalencia en la población en riesgo.

La edad de los terneros muestreados correspondió al período donde los terneros se encuentran, por un lado, más expuestos a los factores medio ambientales y a agente infecciosos y por otra parte son más susceptibles a los mismos (Tadich, 1994). La vacunación de la madre antes del parto resulta en un aumento de las concentraciones de

anticuerpos calostrales y títulos de anticuerpos pasivos en terneros. A través del calostro los terneros pueden obtener inmunidad específica contra agentes infecciosos. Este consumo fue mayor dentro de las 12- 24 horas (54,8%). La provisión de un volumen adecuado y de buena calidad dentro de las primeras 12 horas de nacido es sumamente importante para una mejor absorción de inmunoglobulinas (Leyán, 1994).

La literatura sugiere que cada agente etiológico produce un color y consistencia de diarrea característico. Zurita *et al.* (1994) describieron la diarrea por *E.coli* de color amarillo a café, mientras que Acha y Szyfres, (2001) la describieron como diarrea de color blanquecino. Por su parte, en coccidiosis fue descrita como rojizas, con presencia de sangre o moco a causa de la destrucción del epitelio, atrofia de las vellosidades intestinales, pérdida de tejido, ruptura de los vasos sanguíneos y hemorragia (Díaz, *et al.*, 2001). Por último varios autores describieron a *Cryptosporidium* spp. como causante de diarreas amarillentas (Vergara y Quilez, 2004; Castro, *et al.*, 2009). Estos antecedentes sin embargo, no fueron confirmados por este trabajo. Todos los animales muestreados provenían de crianzas artificiales donde es dable esperar una atención precoz (el 65,9% fueron detectados dentro de las 48 hs. de iniciados los signos clínicos). Es probable que las características descritas para las diarreas según el agente etiológico actuante puedan observarse solo en casos más avanzados de las enfermedades, pudiendo en estos casos haberse observado asociaciones significativas. Lo mismo es posible que haya sucedido con la presentación de otros signos clínicos. En este trabajo, los signos clínicos asociados habitualmente con estas diarreas (Wieler *et al.*, 2007) estuvieron ausentes en el 55% de los terneros. Los signos

clínicos asociados a la diarrea en los restantes terneros fueron similares entre los diferentes agentes diagnosticados. Varios autores coinciden en que no parecen existir signos o síntomas patognomónicos que permitan predecir con exactitud aceptable el agente etiológico infeccioso asociado con la diarrea (Langoni *et al.*, 2004, Ramírez *et al.*, 2007).

Los signos clínicos empiezan antes de que exista eliminación de microorganismos en las heces (Campillo, 1999) e incluyen anorexia, deshidratación con hundimiento del globo ocular, enfriamiento de extremidades, temblores musculares, pérdida de peso, decaimiento y debilidad progresiva hasta la muerte (Richardson y Watson, 1971; Heine *et al.*, 1984; Gorman, 1994; Zurita, 1994; Campillo, 1999; Acha y Szyfres, 2001; Balbir *et al.*, 2006; Nielsen *et al.*, 2009). Entre los posibles factores que pueden afectar la severidad de la infección se encuentra el tiempo de exposición, las prácticas de manejo como la calidad y cantidad de calostro administrado y la contaminación ambiental (Rings y Rings, 1996).

Con referencia a la consistencia de las diarreas, ésta estuvo asociada tanto en el diagnóstico presuntivo como en el de laboratorio. Las consistencias líquidas tendieron a estar asociadas con las etiologías parasitarias, coincidiendo con lo publicado por Heine *et al.* (1984), Vergara y Quilez (2004) y Sánchez *et al.* (2008).

Los veterinarios realizan el diagnóstico presuntivo o clínico con el objetivo de poder instrumentar medidas terapéuticas dirigidas a revertir el proceso patológico iniciado. De manera general se considera que las diarreas originadas presuntivamente por agentes bacterianos deberían ser tratadas con quimioterápicos y que las sulfamidas son los agentes terapéuticos apropiados para las diarreas ocasionadas por coccidios. No obstante, se

observó que una gran proporción de los animales no recibieron ningún tratamiento, mientras que los terneros que fueron diagnosticados presuntamente como afectados por agentes bacterianos, solamente la tercera parte recibió un antimicrobiano como tratamiento. De igual manera, menos de la mitad de los terneros con diarreas diagnosticadas clínicamente como provocadas por coccidios recibieron sulfamidas. La mayor parte de los animales enfermos recibieron una terapia de apoyo para reducir la signología, la cual constó básicamente de agentes re-hidratantes y antidiarréicos.

En este estudio sólo se investigaron los agentes etiológicos bacterianos y parasitarios diagnosticables por las técnicas tradicionales. Así es posible que en un porcentaje de terneros con diarrea que no pudieron ubicarse en ninguna de las categorías diagnosticadas estuvieran presentes otros microorganismos responsables también de la diarrea neonatal. Sin embargo, a los fines de cuantificar el VP+ del diagnóstico clínico veterinario, el diagnóstico confirmatorio en laboratorio fue la mejor opción.

Para finalizar si bien en el presente estudio se logro determinar los principales agentes etiológicos (bacterianos y parasitarios) en la diarrea neonatal en terneros, este es sólo un primer paso para futuros trabajos que contribuyan al conocimiento de esta patología y conlleven al establecimiento de estrategias de control y prevención asociadas a un manejo adecuado para la región y consecuentemente mejoren el estado de salud y rendimiento animal.

VI. Conclusiones

Existe una concordancia pobre entre el diagnóstico presuntivo y el diagnóstico de laboratorio en terneros con diarrea neonatal. En general, no parece existir signos o síntomas patognomónicos, que permitan pronosticar con precisión aceptable el agente etiológico asociado a la presencia de diarrea neonatal en terneros, razón por la cual el diagnóstico basado exclusivamente en el examen clínico tiene un margen de error y deja a una gran proporción de terneros con diarrea, sin un diagnóstico y tratamiento adecuado.

VII. BIBLIOGRAFÍA

AARON, S.L.; SWESCKER, W.S.; LINDSAY, D.S.; SCAGLIA, G.; ELVINGER F.C.; ZAJAC, A.M. (2007). The effect of weaning method on coccidial infections beef calves. Vet. Parasitol. **145**:228-233. <http://www.elsevier.com/locate/vetpar>.

<http://www.sciencedirect.com>

ACHÁ, N.P.; SZYFRES, B. (2001). Bacteriosis. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Ed. Organización Panamericana de la Salud. 3ª ed. Washington, D.C. 76-84.

ACHÁ, S.A.; KUHN, I.; JONSSON, P.; KOTOULI, M.; MÖELLBY, R. (2004). Studie on calf diarrhoea in Mozambique prevalence of bacterial pathogens. Rev. Vet. Scan. **45**:27-36.

ALEXANDER, K.A.; WARNICK, L.D.; CRIPPS, C.J.; McDONOUGH, PL.; GROHN, Y.T.; WIEDMANN, M.; REED, K.E.; JAMES, K.L.; SOYER, Y.; IVANEK, R. (2009). Fecal shedding of, antimicrobial resistance in and serologic response to *Salmonella typhimurium* in dairy calves. J. Am. Vet. Med. Assoc. **235**: 739-748.

AL-MAJALI, A.M.; ASEM, E.K.; LAMAR, C.H.; ROBINSON, J.P.; FREEMAN, M.J.; SAEED, A.M. (2000). Studies on the mechanism of diarrhea induced by *Escherichia coli* Heat-Stable enterotoxin (ST) in new born calves. J. Vet. Pathobiol. **24**: 327-338.

BALBIR, B.S.; RAJNISH, S.; HARDEEP, K.; BANGA, H.S.; RABINDER, S.A.; JATINDER, P.S.; JAGDISH, K.S. (2006). Prevalence of *Cryptosporidium parvum*

infection in Pujab (India) and its association with diarrhoea in neonatal dairy calves. *Vet. Parasitol.* **140**:162-165.

BARTELS, J.M.; HOLZHAUER, M.; JORRITSMA, R.; SWART, A.J.M.; LAM, J.G.M. (2010). Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Prev. Vet. Med.* **93**: 162-169.

BELLINZONI, R.C.; BLACKHALL, J.; TERZOLO, H.R.; MOREIRA, A.R.; AUZA, N.; MATTION, N. (1990). Microbiology of diarrhea in young beef and dairy calves in Argentina. *Rev. Arg. Microbiol.* **22**: 130-137.

BERGEVOET, R.H.; SCHAIK, V.; VELING, J.; BACKUS, G.B.; FRANKEN, P. (2009). Economic and epidemiological evaluation of *Salmonella* control in Dutch dairy herds. *Prev. Vet. Med.* **89**: 1-7.

CAMPILLO, DEL C. (1999). Criptosporidiosis. *Parasitología Veterinaria*. 3ed. McGraw-Hill interamericana de España. 213p.

CASTRO, A.; BILBAO, G.; ECHEVARRÍA, H.; MORÁN, P.; CATENA, M.; CASSIATTO, C.; MONTEAVARO, C. (2009). Criptosporidiosis: caracterización de la infección en terneros de rodeos lecheros. *UNCPBA.* **21**: 10.
<http://www.lrrd.org/lrrd21/10/pint21168.htm>

CHALMERS, R.; DAVIES, A. (2010). Clinical cryptosporidiosis. *Exp. Parasitol.* **124**: 138-146.

CONLOGUE, G.; FOREYT, W.J.; WESCOTT, R.B. (1984). Bovine coccidiosis: protective effects of low-level infection and coccidiostat treatments in calves. *Am. J. Vet. Res.* **45**: 863-866.

CORNELISSEN, A.W.; VERSTEGEN, E.R.; VAN DEN, B.H, PERIE, N.M.; EYSKER, M.; LAM, T.J; PIJPERS, A. (1995). An observational study of *Eimeria species* in housed cattle on Dutch dairy farms. *Vet Parasitol.* **56**: 7-16.

CUMMING, K.J.; WARNICK, L.D.; ALEXANDER, K.A.; CRIPPS, C.J.; GRÖHN, Y.T.; JAMES, K.L.; McDONOUGH, P.L.; REED, K.E. (2009). The duration of fecal *Salmonella* shedding following clinical disease among dairy cattle in the northeastern USA. *Prev. Vet. Med.* **92**:134-139.

CURRENT, W.L.; RESSE, N.C. (1986). A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. *J. Protozool.* **35**:98-108.

DEL COCO, V.F.; CORDOBA, M.A.; BASUALDO, J.A. (2008). *Cryptosporidium* infection in calves from a rural area of Buenos Aires, Argentina. *Vet. Parasitol.* **158**: 31-35.

DIAZ, A. (2002). Criptosporidiosis en el ganado bovino. Memorias XI Congreso venezolano de Producción e Industria Animal, 22-26 octubre. http://avpa.ula.ve/congresos/cd_xi_congreso/pdf/adelinadias.PDF.

DIAZ DE RAMIREZ, A., HERNANDEZ, A., GARCIA, L., RAMIREZ IGLESIAS, L.N., (2001). Excreción de oocistos de *Eimeria* spp. durante los tres primeros meses de vida en

becerros de fincas lecheras del occidente de Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ/vol XI, N8 3,207–212.

DRUGUERI, L.; MODERM, D. (2002) Coccidiosis en bovinos. Zoe Tecno-Campo. Parte (1) <http://www.zoetecnocampo.com/documento/eimeria/eimeria.htm>.

FITZGERALD, P.R. (1967). Results of continuous low-level inoculations with *Eimeria bovis* in calves. A. J. Vet. Res. **28 (124)**: 659-665.

FLEISS, J. L. (1981). Statistical Methods for Rates and Proportions, 2nd Ed., John Wiley & Sons Inc., New York, 321 **pp.**

GORMAN, T. (1994). Coccidiosis y cryptosporidiosis de los rumiantes. Patología Anim. **8**: 40-45.

HEINE, J.; POHLENS, J.F.; MOON, H.W.; WOODE, G.N. (1984). Enterics lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. J. Infect Dis. **150**: 768-775.

HEISE, A.; PETERS, W.; ZAHNER, H. (1999). Phosphocholine epitopes in *Eimeria bovis*. Exp. Parasitol, **92**: 279-282

HOUSE, J.; SMITH, B. (1998). Current strategies for managing *Salmonella* infections in cattle. Rev. Vet. Med. **93**: 756-764.

KONEMAN EW; ALLEN, SD; JANDA, WM; SCHRECKENBERGER, PC; WINN, WC. (1999) *Enterobacteriaceae*. En: Koneman EW; Allen, SD; Janda, WM; Schreckenberger, PC; Winn WC; editors. Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, p. 171-250.

KROGH, K. (1987). Presentación de *E. coli* enterotoxigénica en terneros con diarrea aguda neonatal. Información Express **9** (52):20-22,1987.

LANGONI, H.; LINHARES, C.; AVILA, F.A.; DA SILVA, A.V.; ACACIA, E. (2004). Contribution to the study of diarrhea etiology in neonate dairy calves in São Paulo state, Brazil. J. Vet. Anim. Scien. Brazilian **41**:313-319.

LEYVÁN, V. (1994). Desarrollo del sistema inmune del ternero. Patología Animal. **8**:3-9.

LORINO, T.; DAUDIN, J.J; ROBIN, S.; SANAA, M. (2005). Factors associated with time to neonatal diarrhea in French beef calves. Prev. Vet. Med **68**: 91-102.

LUDOVIT, S.A. (1999). Water and electrolyte losses in neonatal calves with diarrhoea. Rev.Vet. **62**: 596-607.

MARGUERITTE, J.A.; FUMOSO, E.; GONZÁLEZ, C.; BECALUBA, M.; BIAGIONI, R.; CONFALONIERI, O.; MEDINA, L. 2001. Diarreas neonatales en terneros de rodeos de cría. Vet. Arg. **XVIII**: 517-533.

- MAGUIRE, H.; COWDEN, J.; JACOB, M.; ROWE, B.; ROBERTS, D.; BRUCE, J.; MITCHELL, E. (1992). An outbreak of *Salmonella* dublin infection in England and Wales associated with a soft in pasteurized cows' milk cheese. *Epidemiol Infect.* **109**:389–396
- MARTÍN, M.J.; MARTÍN-SOSA, S.; ALONSO, J.M.; HUESO, P. (2003). Enterotoxigenic *Escherichia coli* strains bind bovine milk gangliosides in a ceramide-dependent process. *Lipids* **38**:761–768.
- NAGY, B.; FEKETE, P.Z.; (2005). Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *Int. J. Med. Microbiol.* **295**: 443-454.
- NACIRI, M.; LEFAY, M.P.; MANCASSOLA, R.; POIRIE, P.; CHERMETTE, R. (1999). Role of *Cryptosporidium* parvum as a pathogen in neonatal complex in suckling and dairy calves in France. *Vet. Parasitol.* **85**: 245-257.
- NIELSEN, T.D.; NIELSEN, L.R.; TOFT, N.; HOUE, H. (2009). Association between bulk-tank milk *Salmonella* antibody level and high calf mortality in Danish dairy herds. *J Dairy Scien.* Jan. **93**(1):304-310.
- NUÑEZ, J.L. (1967). Los coccidiosis del bovino de la República Argentina. *Rev. Med. Vet.(Bs.As)* **48**: 45-55.
- O'DONOGHUE, P.J. (1995). *Cryptosporidium* in man and animals. *Int. J. Parasitol.* **25**(2): 139-195.

ORTOLANI, E.L.; SOARES, P. (2003). Aspectos epidemiológicos de la criptosporidiosis en becerros de rebaños lecheros. Rev. Parasitol Latinoam. **58**: 122-127.
http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-77122003000300006&script=sci_arttext

PARREÑO, V. (2008). Diarrea Neonatal Bovino: Protegerlos desde la Panza. Rev Angus, Bs. **As.241**:61-65.
http://www.produccionbovina.com/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_en_general/65-diarrea.pdf.

PÉREZ, E.; KUMMELING, A.; JANSSEN, M.M.H.; JIMÉNEZ, C.; ALVARADO, R.; CABALLERO, M.; DONADO, P.; DWINGER, R.H. (1998). Infectious agents associated with diarrhoea of calves in the canton of Tilarán, Costa Rica. Prev. Vet. Med. **33**:195-205.

PÉREZ, M.A.; BRUZUAL, E.; BRITO, A.; HURTADO, MP. (2005). *Cryptosporidium spp.* Criptosporidiosis. Rev. Soc. Ven. Microbiol. **25**: 1.
http://www2.bvs.org.ve/scielo.php?pid=S131525562005000100003&script=sci_arttext&tlng=e

PILLER, K.J.; CLEMENTE, T.E.; MUJUN, S.; PETT, C.C.; SATO, S.; PASCUAL, D.W.; BOST, K.L.; (2005). Expression and immunogenicity of and Escherichia coli K99 fimbriae subunit antigen in soybean. Rev. Vet. Molecular Biology. **222**:6-18

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.& HINCHCLIFF, K.W. (2000). Veterinary Medicine, 9, Edition, :130,785, p.

RAMÍREZ, A.; IGLESIA, L.; LUQUE, J.; BASTIDA, A. (2007). Infección con *Cryptosporidium* spp. y su asociación con diarrea en becerros de ganadería de doble propósito. Rev. Zootec. Trop. **25(1)**: 29-36

http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt2501/arti/diaz%20a.htm

RICHARDSON, A.; WATSON, A. (1971). Contribution to the epidemiology of *Salmonella dublin* infection in cattle. Br. Vet. J. **127**: 173,183

RINGS, D. M. (1985). Salmonellosis in calves. Vet. Clin. N. Amer. **1**: 529-539.

RINGS, M.L.; RINGS, M. (1996). Managing *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in domestic ruminants. Vet. Med. **91**: 1125-1130.

ROBERTS, F. H.; O' SULLIVAN, P. J. (1949). Methods for eggs counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. Austr. J. Agr. Res. **1**:99-102.

ROMERO, J.R. (2000) Coccidiosis en grandes rumiantes (Bovinos). Libro de resúmenes del II Congreso Argentino de Parasitología. Mar Del Plata 1 al 4 nov (**I**): 55-58.

ROMERO, R.D.; PEDROZO, R.H.; VERA, E. (2001). La criptosporidiosis en terneros recién nacidos, Su etiología, patogenia, síntomas, tratamiento, profilaxis. Rev. Ciencia y Tecnología. **1**: 99-108. <http://newton.cnc.una.py/id151.htm>.

RUÍZ, J.A.; GARCIA, A.; ORDEN, J.A.; CID, D.; DE LA FUENTE, R. (2000). Detección de los enteropatógenos principales en brotes diarreicos de terneros. *Rev. Med. Vet.* **17**: 155-162.

SÁNCHEZ, R.O.; ROMERO, J.R. (2003). Variación anual en la producción de diferentes especies de *Eimeria* en terneros de crianza artificial. *Rev Arg Prod Anim*, **1**: 329-330.

SÁNCHEZ, RO.; SANABRIA, R.E.F.; ROMERO, J.R. (2005). Coccidiosis bovina. *Rev. Vet Arg.* **59** **22(217)**:492 – 501

SANCHEZ, R.O.; ROMERO, J.; FONROUGE, R. (2008). Dynamic of *Eimeria* oocyst excretion in dairy calves in the province of Buenos Aires (Argentina) during their first 2 months of age. *Vet. Parasitol.* **151**: 133-138

SATÍN, M.; TROUT, J.; XIAO, L.; ZHOU, L.; GREINER, E.; FAYER, R. (2004). Prevalence and age related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet. Parasitol.* **122**: 103-117. <http://www.sciencedirect.com>

SOJKA, J.W.; FIELD, H.I. (1970). Salmonellosis in England and Wales. *Vet Bull.* **40**:515-531.

SPITZER, J.C. (1986). Influences of inhibition on reproduction in beef cattle. In. Ed. D.A. Morrow. *Current Therapy in Therigenology* (2. Ed.) W.B. Saunders Co, Phyladelphia, 339-341 p.

- STELLMACHER, W. (1981). Infecciones por *Salmonella*. En: Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Tomo II. J. Beer (ed.). Acribia S.A. Zaragoza.
- SVENSSON, C.; LUNDBORG, K.; EMANUELSON, U.L.F.; OLSSON, S.O. (2003). Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Prev. Vet. Med.* **58**: 179-197
- TADICH, N. (1994). Ambiente y enfermedad en los animales de crianza artificial. *Patología Animl.* **8**:10-14.
- TARABLA, H. (2000). Valor Predictivo. Epidemiología Diagnostica. Centro de Publicaciones, Secretaria de Extensión UNL. Santa Fe, Argentina. 60 p.
- THOMPSON, H.P.; DOOLEY, J.S.; KENNY, J.; McCOY, M.; LOWERY, C.J.; MOORE, J.E.; XIAO, L. (2007). Genotypes and subtypes of *Cryptosporidium* spp. In neonatal calves in Northern Ireland. *Vet.. Parasitol* **100**: 619-624.
- TZIPORI, S.; GRIFFITHS, J.K. (1998). Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum*.. *Advan. Parasitol.* **40**: 5-35.
- UZZAU, S.; BROWN, D. J.; WALLIS, T.; RUBINO, S.; LEORI, G.; BERNARD, S.; CASADESUS, J.; PLATT, D. J.; OLSEN, J. E. (2000). Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. *Epidemiol Infect.* **125**:229–255.

VAN KRUININGEN, H. J. (1995). Gastrointestinal sistem. In: Thomsons Special Veterinary Pathology. Garitón W. W., Mc Gavin, M. D. (Eds). 2ª ed., Mosby-YearBook, Inc. St. Louis.

VARELA, Z.; QUINTERO, W.; VILLARROEL, R.; DIAZ, E. (2001). *Cryptosporidium spp.* en becerros neonatales de una finca del municipio de Rosario en Perija, estado de Zulia, Venezuela. Rev. Científica, FCV-luz. **11**: 213-218.

VENA, M.M.; RIVERO, B.; GARCÍA BOUISSOU, R.; COSTA, J. (1984). Salmonelosis en terneros de tambo. Primer aislamiento de *Salmonella dublin* en terneros de la República Argentina. Rev. Vet. Arg. **1 (6)**: 571-575.

VERGARA, C.; QUILEZ, J.; (2004). Criptosporidiosis : una zoonosis parasitaria. . Rev. MVZ.-CORD. **9(1)**: 363-372.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; EPE, C.; WIRTHERLE, N.; VON DER HEYDEN, V.; WELZ, C.; RADELOFF, I.; BEENING, J.; CARR, D.; HELLMANN, K.; SCHNIEDER, T.; KRIEGER, K.. (2006). Clinical and epidemiological characteristics of *Eimeria* infections in first-year grazing cattle. Vet Parasitol; **136 (3-4)**: 215-221.

WIELER, L.H.; SOBJINSKI, G. SCHLAPP, T.; FILING, K.; WEISS, R.; MENGE, C.; BALJER, G. (2007). Longitudinal prevalence study of diarrheagenic *Escherichia coli* in dairy calves. Berl Much Tierarztl Wochenshr Jul-Aug;**120**:296-306.

WILLIAMS, T.; MARTIN, W.; LESLIE, K.; DUFFIELD, T.; NYDAM, D.; PRERGRINE, A. (2007). Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev. Vet. Med.* **82**: 12–28

WHITE, M.; GLICKMAN, L.T.; PALLESEN, F.D.; STEM, E.S.; DINMORE, P.; POWERS, M.S.; POWERS, P.; SMITH, M.; JASKO, D. (1986). Accuracy of clinicians in predicting the bacterial cause of clinical bovine mastitis. *Can Vet. J.* **27**: 218-220.

YOUNIS, E.E.; AHMED, A.; EL-KHODERY, S.A.; OSMAN, S.A.; EL-NAKER, Y. (2009). Molecular screening and risk factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. In diarrheic neonatal calves in Egypt. *Rev. Vet. Scien.* **87**: 373-399.

ZARZOZO, R.J.; MARGUERITTE, J.A. (2000) Evaluación de una estrategia vacunal para prevenir el síndrome diarreico en terneros neonatales. *Rev. Vet. Arg.* **159**:672-676.

ZURITA, L.; SMITH, P.; NUÑEZ, C. (1990). *Escherichia coli* enteroadhesiva (K99) y rotavirus en terneros con síndrome diarreico. Signología y serotipificación antigénica de cepas de *E. coli*. *Av. Cs. Vet.* **5**: 124-128.

ZURITA, L.; MONTES, G.; MUHLENBROCK, H.; SMITH, P.; LARENAS, J.; JARA, M. (1994). - Inoculación experimental de *Escherichia coli* K99+ ST+ en terneros. Estudio clínico y anatómo patológico. *Av. Cs. Vet.* **9**: 29-35.

PROTOCOLO DE ENVIÓ DE MUESTRAS

Raza: _____ Sexo: _____ Edad: _____

Diagnóstico Presuntivo: _____

DATOS GENERALES:

Propietario: _____

Ubicación del establecimiento: _____

Profesional remitente: _____

Domicilio: _____ Teléfono: _____

RESEÑA:

Consumió Calostro: 2 horas 6 horas 12-24 horas

Tipo de explotación: _____

Tipo de alimentación: _____

Vacunación de la madre: _____

HISTORIA CLÍNICA:

Morbilidad: _____ Mortalidad: _____

Característica de la diarrea: Líquida Pastosa Con sangre

Color: _____

Tiempo de la diarrea: _____

Temperatura corporal: _____ Deshidratación (%): _____

Signología	SI	NO
Hundimiento de ojos		
Extremidades frías		
Dificultad para la incorporación		
Debilidad del tren posterior		

Tratamientos Realizados: _____ extracción de la muestra: _____ Fecha y Hora

ENVIAR REFRIGERADA