

Detección de rotavirus en lechones lactantes de granjas localizadas en el estado de Yucatán

Marilyn Puerto S.*
Fernando I. Puerto*
Gerardo G. Polanco*
María del R. González L.*
Mario Alvarez F.**
Jorge C. Rodríguez B.**

La Diarrea Infecciosa Aguda (DIA) es uno de los problemas de salud más importantes que afectan a la industria porcina, causando porcentajes variables de morbilidad y mortalidad que repercuten en el crecimiento, la ganancia de peso y en la conversión alimenticia de los lechones.^{4,12}

Los agentes causales de este síndrome pueden ser de origen parasitario, bacteriano, viral o nutricional. Dentro de los de etiología viral el rotavirus (RV) debe ser considerado como un agente patógeno potencial.^{4,6,10} Los RV poseen un genoma constituido por 11 segmentos de ARN, los cuales migran en el gel de poliacrilamida dando un patrón característico de su género.⁹

Dentro de las especies animales susceptibles a estos virus se señala a los bovinos, equinos, caprinos y porcinos, en los cuales la infección puede ser asintomática, leve o severa, tal como sucede en la especie humana.^{6,8,12}

Esta enfermedad viral afecta principalmente a lechones de 1 a 4 semanas de edad y con menor frecuencia durante la primera semana de vida. En consecuencia, a esta edad los lechones son muy susceptibles a la infección por RV y la replicación viral es extensa y rápida; el resultado es una elevada tasa de morbilidad que puede alcanzar de 80 a 90% y una mortalidad de 7% a un 20%.^{1,3,5,7,11,14,15}

En el estado de Yucatán no existen estudios estadísticos que demuestren la presencia, ni la repercusión económica que pueda causar el RV en las granjas porcícolas. Este trabajo da a conocer resultados preliminares de un estudio cuyo objetivo fue determinar la presencia de RV en granjas ejidales del estado de Yucatán.

Desde febrero hasta la primera semana de mayo de 1992, se analizaron 170 muestras de heces de lechones con DIA de 1 a 4 semanas de edad, procedentes de 15 granjas porcícolas ejidales, localizadas en la zona

henequenera del estado de Yucatán (Figura 1). Cabe mencionar que en esta zona se encuentran localizadas el 90% de las granjas ejidales donde las medidas de bioseguridad son mínimas. Las muestras obtenidas fueron analizadas por la técnica de electroforesis en

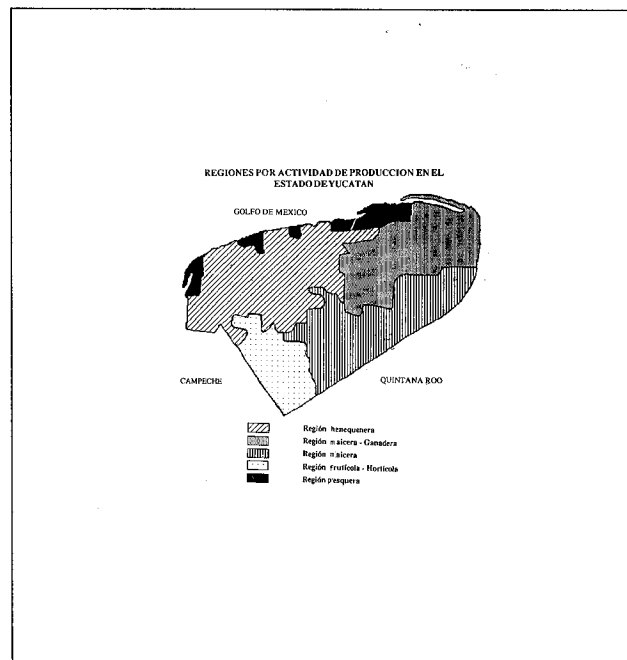


Figura 1. Mapa del edo. de Yucatán dividido por zonas de acuerdo con el uso de la tierra. En la zona henequenera lugar donde se encuentran localizadas las granjas ejidales en donde se recolectaron las muestras de heces de los lechones estudiados

geles de poliacrilamida con tinción de nitrato de plata,⁹ la cual a resume a continuación. A cada muestra se le agregó un volumen de amortiguador compuesto de (SDS 6%; B-2-Mercaptoetanol 0.6% y EDTA 0.036 M), fenol bidestilado con TE (Tris 10 mM y EDTA 3 mM), cloroformo y alcohol isoamílico (24:1). Se homogeneizó la muestra y se centrifugó a 10,000 g. El ARN viral del sobrenadante se concentró con acetato de sodio y etanol absoluto; luego, se colocó en los geles de poliacrilamida pasándole una corriente de 20 mA hasta

Recibido para su publicación el 19 de octubre de 1992

* Laboratorio de Virología. Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi". Universidad Autónoma de Yucatán. Calle 59 x Av. Itzaes no. 490. Apartado postal 2-1232, 97240. Mérida, Yucatán.

** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Carretera Xmatkuil km 15.5.

que el colorante llegó al gel concentrador. En este punto, se disminuyó la intensidad de la corriente a 5 mA y se dejó por 20 h. El gel se fijó (con alcohol etílico al 10% y ácido acético 5%) y se tiñó con nitrato de plata (11 mM), 9, 11 revelando la reacción con hidróxido de sodio (0.75 M) y formaldehído (0.0037%), poniendo de manifiesto las bandas de ARN; la reacción se detuvo con ácido acético (5%). Se detectaron 15 muestras positivas a RV (8.8%) (Figura 2). En estas muestras se encontraron diferencias en los patrones electroforéticos

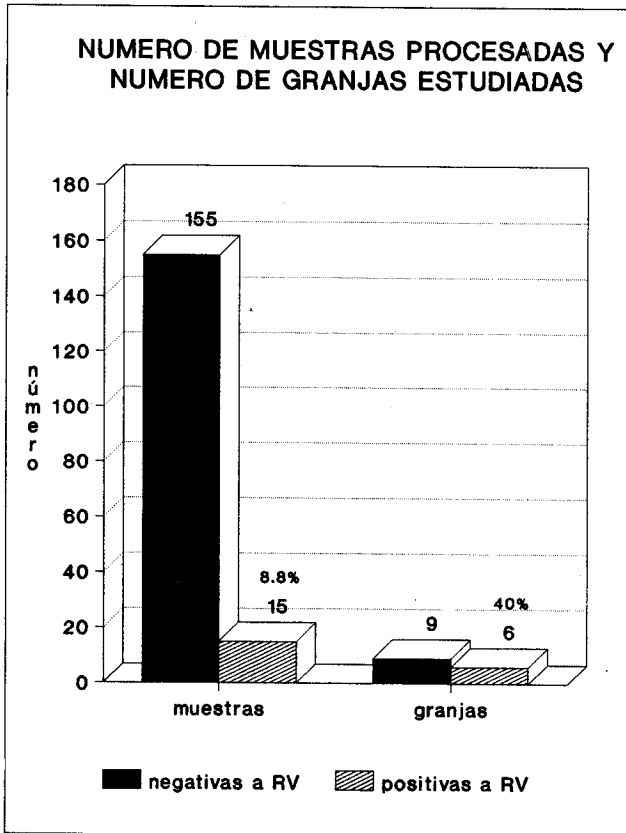


Figura 2. Histograma donde se observa el porcentaje de positividad existente en las granjas (6/15) y de las muestras obtenidas (15/170)

con respecto al número de bandas; sin embargo, todas parecen quedar clasificadas dentro del grupo A de los RV (Figura 3). De las 15 granjas muestreadas en 6 (40%) de ellas se encontró la presencia de RV. De los resultados obtenidos de las muestras trabajadas, se observa que la rotavirus es una patología que debe ser considerada en el diagnóstico de la DIA en las granjas porcícolas del estado. El porcentaje de muestras positivas encontrado en lechones lactantes con DIA es relativamente bajo, ya que se esperaba una mayor tasa de infección, debido a que en la literatura se menciona, que el 42% de las marranas excretan RV antes y después del parto, lo cual puede infectar a los lechones.^{2,4,13} En relación con el porcentaje de granjas ejidales donde se encontró la presencia de RV puede ser considerado

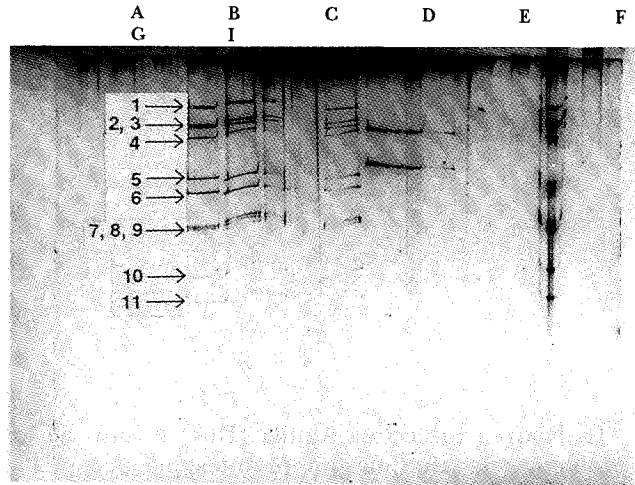


Figura 3. Se presenta el patrón electroforético de cepas de RV obtenidas de heces de lechones. Carril A. patrón electroforético en el cual se observa, además de las 11 bandas, una banda extra en el segmento 1. Carril B. Se observa una banda extra a nivel del segmento 4. Carril C. Se observan dos bandas extras a nivel de los segmentos 1 y 4. Carril D. Se observa un patrón característico de RV. En los carriles E, F y G se observó un patrón electroforético diferente, al realizar una doble extracción con fenol y cloroformo apareció un patrón normal, como en el carril D.I. Control de un rotavirus de origen humano.

alto. Esto podría atribuirse a que las medidas de bioseguridad que se practican en ellas son mínimas. Asimismo, los datos sugieren que dicha afección puede estar diseminada en la mayoría de este tipo de granjas localizadas en la zona henequenera del estado de Yucatán. Aunque se demostró la presencia de RV en lechones con DIA, hay que considerar que en este síndrome pueden estar involucrados otros agentes etiológicos. Por otro lado, los patrones electroforéticos de los RV encontrados en las muestras procesadas pertenecen al grupo A, mismos que son señalados con mayor frecuencia en la literatura.⁸ Sin embargo, en algunas muestras se observaron bandas extras, que no migran con las características de los RV del grupo A. Esta observación necesita ser estudiada con mayor detalle para poder dar una explicación a la misma.

Aunque los resultados obtenidos son importantes, se debe considerar que son datos preliminares obtenidos de un estudio piloto, durante un periodo de tres meses, en el cual se utilizó un tamaño de muestra relativamente pequeño. Sin embargo, dichos datos pueden servir de base para el diseño y desarrollo de estudios posteriores que proporcionan mayor información de esta afección viral en el estado de Yucatán.

Abstract

Acute Infectious Diarrhoea (AID) is a major problem in animal health that affects the swine industry. It is known that rotaviruses (RV) are frequently associated with AID and the accurate diagnosis in piglets would be of great value to farm producers. Preliminary results of a pilot study designed to investigate the incidence of RV

in the faeces of piglets with AID in 15 farms of the state of Yucatan, Mexico, are reported. One hundred and seventy faeces samples from piglets with AID were analyzed for the presence of rotavirus RNA using polyacrylamide gel electrophoresis. Results showed that 15 (8.8%) samples were positive to RV RNA. These samples were obtained from 6 farms. This data indicates that RV should be considered as a potential aetiologic agent of AID in piglets in the state of Yucatan, Mexico.

Agradecimientos

Este proyecto está siendo financiado por DGISA a través del convenio No. 91-01-2807 y pertenece al programa Estudio y Control de la Diarrea Infecciosa Aguda.

Literatura citada

1. Arias, C.: Perspectivas para el control de la diarrea causada por rotavirus en cerdos a través de la inmunización con antígenos obtenidos por medio de la ingeniería genética. En: Avances en Enfermedades del Cerdo. Editado por: Morilla, A., Correa, P., Stephano, A., 383-387. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos*, México, D.F., 1985.
2. Benfield, D.A., Stotz, I., More, R. and McAdarage, J.P.: Shedding of rotaviruses in faeces of sows before and after farrowing. *J. Clin. Microbiol.*, 16: 186-190 (1982).
3. Bishop, R.F., Davidson, G.P., Holmes, I.H. and Ruck, B.J.: Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with viral gastroenteritis. *Lancet*, 2: 1281-1283 (1973).
4. Blood, D.C. and Radostits, S.O.: *Veterinary Medicine*. 6th ed. Oxford University Press, Oxford, U.K., 1989.
5. Bohl, E.H., Saif, L.J., Theil, K.W., Agnes, A.G. and Cross, R.F.: Porcine paratovirus detection, differentiation from rotavirus and pathogenesis in gnotobiotic pigs. *J. Clin. Microbiol.*, 15: 312-319 (1982).
6. Bridger, J.C.: The role of viruses in enteric diseases of farm animals. *Outlook Agric.*, 19: 251-256 (1990).
7. Chiba, S., Yokoyama, T., Nakata, S., Morita, Y., Urasawa, T., Taniguchi, K., Urasawa, S. and Nakao, T.: Protective effect of naturally acquired homotypic and heterotypic rotavirus antibodies. *Lancet*, 2: 417-421 (1986).
8. Estes, M.L. and Cohen, J.: Rotavirus gene structure and function. *Microbiol. Rev.*, 53: 410-449 (1989).
9. Herring, A.J., Inglis, N.F., Ojeh, C.K., Snodgrass, D.R. and Menzies, J.D.: Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acids in silver stained polyacrylamide gels. *J. Clin. Microbiol.*, 16: 473-477 (1982).
10. Holland, R.E.: Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clin. Microbiol. Rev.*, 3: 345-375 (1990).
11. Ruiz, A.: Métodos utilizados en el diagnóstico de rotavirus y paratovirus porcinos. En: Avances en Enfermedades del Cerdo. Editado por: Morilla, A., Correa, P., Stephano, A., 375-381. *Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos*, México, D.F., 1985.
12. Spicer, M., Driesen, S.J., Fahy, V.A., Horton, B.J., Sims, L.D., Jones, R.T., Cutler, R.S. and Prime, R.W.: Causes of preweaning mortality on a large intensive piggyery. *J. Aust. Vet.*, 63: 71-75 (1980).
13. Torres, A. and Huang, L.J.: Diarrheal response of gnotobiotic pigs after fetal infection and neonatal challenge with homologous and heterologous human rotavirus strains. *J. Virol.*, 60: 1107-1112 (1986).
14. Woode, G.N.: Porcine rotavirus infection. In: Diseases of Swine. 6th ed. Edited by: Leman, A.D., Straw, B., Glock, R.D., Mengeling, W.L., Penny, R.H.C., Scholl, E., 368-383. *Iowa State University Press*, Ames, Iowa, 1986.
15. Woode, G.N., Bridger, J., Hall, G.A., Jones, J.M. and Jackson, G.: The isolation of reoviruses-like agents (rotaviruses) from acute gastroenteritis of piglets. *J. Med. Microbiol.*, 9: 203-209 (1976).