

TENTATIVE DE REPRODUCTION EXPÉRIMENTALE DE LA DIARRHÉE À ROTAVIRUS CHEZ DES VEAUX NOUVEAU-NÉS PRIVÉS DE COLOSTRUM^a

A. SCHWERS¹, P.-P. PASTORET¹, M. MAENHOUDT¹, L. DAGENAIS¹,
C. VANDEN BRÛCKE², A. GOOSSENS² et J. WÉRENNE²

1 : Service de Virologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, U. Lg., 45 rue des Vétérinaires, B-1070 Bruxelles, Belgique

2 : Service de Chimie Générale 1, Faculté des Sciences, ULB, 50 avenue Franklin Roosevelt,
B-1050 Bruxelles Belgique

Summary

EXPERIMENTAL INFECTION OF COLOSTRUM-DEPRIVED NEWBORN CALVES WITH BOVINE ROTAVIRUS. — Colostrum-deprived newborn calves were orally inoculated with different doses of cell-culture bovine rotavirus or with bacterium-free filtrates of calf stools containing rotavirus.

None of the animals that received high doses of cell-culture rotavirus developed diarrhoea or any other clinical sign, although all of them excreted virus for several days and produced specific antibodies; calves inoculated with lower doses of cell-culture virus or with stool filtrates showed a transient diarrhoea 48 h after inoculation. Such paradoxical results might be due to a phenomenon of interference, as bovine rotavirus is susceptible to interferon.

In experimental conditions, rotavirus produces only a mild and transient diarrhoea; this contrasts with the situation observed in farms, where that virus may provoke important problems. In association with the virus itself, numerous other factors such as the environmental conditions or the response of the calf to the infection also play a role in the evolution of the disease.

Les rotavirus sont très souvent impliqués dans les diarrhées néonatales du veau (Mebus *et al.*, 1969; Scherrer *et al.*, 1976; Pastoret et Schœnaers, 1977; Flewett et Woode, 1978; Mc Nulty, 1978) et plusieurs auteurs sont parvenus à reproduire expérimentalement la maladie en administrant à des veaux nouveau-nés soit un filtrat stérile de matières fécales diarrhéiques contenant des rotavirus (Mebus *et al.*, 1971; Woode *et al.*, 1974; de Leeuw *et al.*, 1977; Gouet *et al.*, 1978; Tzipori *et al.*, 1981), soit du virus produit en

culture cellulaire (Fernelius *et al.*, 1972; Woode et Bridger, 1975).

Lecce *et al.* (1977) ont suggéré, chez le porclet, l'existence d'une relation entre la pression d'infection et la gravité des symptômes, et la même proposition a été faite pour le bovin (Van Opdenbosch *et al.*, 1979; Bridger, 1980). Afin de vérifier et de quantifier cette relation chez le veau, nous avons infecté des veaux nouveau-nés privés de colostrum au moyen de doses connues et décroissantes de rotavirus bovin. Comme il est difficile de déterminer avec précision la quantité de particules infectieuses de rotavirus présentes dans une suspension de matières fécales, il nous a paru intéressant d'utiliser des suspensions titrées de virus produit en culture cellulaire.

a: Recherches subventionnées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (IRSIA).

Parallèlement, afin de déterminer si les modifications des propriétés de l'épithélium intestinal qui interviennent après la naissance influencent la réceptivité de l'animal au rotavirus, l'inoculation de certains veaux a été différée jusqu'à l'âge de trois jours.

Matériel et Méthodes

Souches virales

Les souches de rotavirus bovin S14 et S77 ont été isolées dans notre laboratoire à partir des matières fécales de deux veaux morts de diarrhée (Dagenais *et al.*, 1980b, 1981a), selon la technique de Babiuk *et al.* (1977). Toutes deux diffèrent significativement de la souche vaccinale atténuée NCDV par la taille moyenne des plages formées sous agarose sur cellules MA 104 (Dagenais *et al.*, 1981a). Elles ont été utilisées respectivement après quatre (S77) ou six (S14) passages sur cellules GBK (Georgia Bovine Kidney) et une partie de chaque suspension virale en milieu MEM a été préalablement titrée par la technique de formation de plages de Matsuno *et al.* (1977). Ces suspensions ont été conservées à -85°C jusqu'au moment de leur utilisation; elles ont été administrées telles quelles ou diluées dans du milieu MEM (dilutions 10^{-5} et 10^{-4}) pour les deux veaux inoculés à l'aide de plus faibles doses de virus (voir tabl. 1).

Préparation des filtrats de matières fécales

Deux filtrats stériles ont été préparés: le premier à partir des matières fécales d'un veau ayant excrété du rotavirus (souche S77), mais n'ayant pas souffert de diarrhée; le second à partir des matières fécales d'un veau ayant été atteint de diarrhée après inoculation expérimentale au moyen de rotavirus (S77) (veau 11, jour 2).

Les échantillons de matières fécales ont été mis en suspension dans un volume égal d'eau désionisée et centrifugés (10 000 g, 30 min); le surnageant a été traité pendant 30 min par un volume égal de chloroforme, puis à nouveau centrifugé (2 000 rpm, 15 min, centrifugeuse Sorvall GLC-1); la phase aqueuse a alors été filtrée sur filtre Minisart 0,2 μm et enfin, après prélèvement d'un aliquot pour contrôle de stérilité, conservé à -85°C . Immédiatement avant l'emploi, les inoculums (10 ml) ont été décongelés et amenés à un volume de 100 ml par dilution dans du milieu MEM additionné d'antibiotiques.

Protocole expérimental

Quatorze veaux nouveau-nés privés de colostrum ont été utilisés au cours de cette expérience. Tous ont été isolés immédiatement après la naissance en cuves individuelles, dans un local préala-

blement décontaminé par deux fumigations de formol à 24 h d'intervalle. Selon le hasard des naissances, un, deux ou trois veaux occupaient simultanément le local, mais sans contact direct entre eux. Ils étaient alimentés deux fois par jour au lait de vache entier.

Du méconium a été prélevé à chaque animal immédiatement après la naissance et des échantillons de méconium ou de matières fécales ont par la suite été prélevés deux à trois fois par jour pendant cinq jours, puis une fois par jour jusqu'au quinzième jour, afin d'y rechercher la présence de rotavirus.

Des échantillons de sérum ont été prélevés aux jours 0 et 15, et pour certains animaux également au jour 8. Dix de ces veaux ont été inoculés par voie orale, soit dans les deux heures qui suivent la naissance, soit à l'âge de trois jours, au moyen de doses variables de rotavirus bovin produit en culture cellulaire (en suspension dans du milieu MEM, 100 ml par veau). Un veau (13) a reçu deux heures après la naissance 100 ml d'une dilution 1/20 d'une suspension filtrée de matières fécales non diarrhéiques contenant du rotavirus (souche S77); un autre (15) a été inoculé exactement de la même manière, mais à l'aide d'un filtrat de matières fécales diarrhéiques.

Un veau sentinelle (9), n'ayant reçu que du milieu MEM non infecté, a été gardé dans le même local que deux veaux inoculés (7 et 8), mais sans contact direct avec ces derniers, afin de déterminer si une contamination indirecte pouvait se produire.

Afin de contrôler la décontamination du local entre deux occupations successives, un veau témoin (10) y a été maintenu sans inoculation.

Le protocole expérimental est donné en détail au tableau 1.

Examens bactériologiques

Les échantillons de méconium prélevés immédiatement après la naissance, de même que les prélèvements de matières fécales correspondant au début des épisodes de diarrhée, ont été soumis systématiquement à des examens bactériologiques afin de rechercher la présence éventuelle de colibacilles entéropathogènes ou de Salmonella.

Contre-immuno-électro-osmophorèse

La présence de rotavirus a été testée dans chacun des échantillons de matières fécales par contre-immuno-électro-osmophorèse, selon la technique décrite par Middleton *et al.* (1976) et couramment appliquée dans notre laboratoire (Dagenais *et al.*, 1980a; Schwers *et al.*, 1982b). Les anticorps anti-rotavirus ont été recherchés dans les sérums par la même technique.

L'antigène rotavirus de référence a été préparé comme précédemment décrit (Lansival *et al.*, 1981) et le sérum anti-rotavirus a été obtenu par hyperimmunisation de lapins (Schwers *et al.*, 1982b).

Isolement viral

Pour chacun des animaux, l'isolement viral sur cellules rénales de singe rhésus MA 104 a été réalisé sur au moins un échantillon de matières fécales par jour, selon une technique précédemment décrite (Babiuk *et al.*, 1977; Dagenais *et al.*, 1980b). Les résultats positifs ont été contrôlés par contre-immuno-électro-osmophorèse.

Résultats

Les résultats sont résumés au tableau 1.

Observations cliniques

Aucun des animaux inoculés immédiatement après la naissance au moyen de fortes doses de rotavirus (1 à 6) n'a présenté de diarrhée ni d'autres symptômes cliniques (Schwers *et al.*, 1982a). Chez deux d'entre eux, cependant, les selles prélevées au second jour suivant l'inoculation contenaient du mucus en quantité relativement abondante.

Les deux veaux inoculés à l'âge de trois jours (7

Tableau 1. — Protocole d'inoculation des veaux et signes cliniques observés.

Veau	Age	Souche virale	Dose (PFU)	Signes cliniques	Excrétion virale	Séroconversion
1	2 h	S 14	5×10^9	sans diarrhée (une selle molle 24 h après inoculation)	++	+
2	2 h	S 14	5×10^9	absent	++	+
3	1 h 30'	S 77	2×10^{10}	sans diarrhée (selles muqueuses aux jours 3 et 4)	++	+
4	2 h	S 77	2×10^{10}	sans diarrhée (une selle pâteuse 24 h après inoculation)	++	+
5	1 h	S 14	5×10^9	absent	++	+
6	1 h	S 77	2×10^{10}	sans diarrhée (selles muqueuses 2 jours après inoculation)	+	+
7	3 j	S 14	5×10^9	sans diarrhée (selles muqueuses 2 à 4 jours après inoculation)	++	+
8	3 j	S 77	2×10^{10}	sans diarrhée (selles muqueuses 2 à 4 jours après inoculation)	++	+
9	3 j	milieu MEM non infecté (sentinelle)		quelques selles molles 2-3 jours après inoculation des veaux voisins	++	+
10		témoin non inoculé		absent	—	—
11	2 h	S 77	2×10^5	diarrhée transitoire 48 h après inoculation	+	—
12	2 h	S 77	2×10^4	diarrhée intense mais transitoire 48 h après inoculation	±	+
13	2 h	S 77 (filtrat de matières fécales non diarrhéiques du veau 4)		diarrhée transitoire 48 h après inoculation (selles crémeuses mais non aqueuses)	+	—
15	2 h	S 77 (filtrat de matières fécales diarrhéiques du veau 11)		diarrhée intense mais transitoire 36 h après inoculation	+	—

et 8) n'ont pas davantage souffert de diarrhée; le mucus était également abondant dans leurs selles deux à quatre jours après l'inoculation. Un veau sentinelle maintenu dans le même local que les deux précédents (9) a présenté, entre le deuxième et le quatrième jour suivant l'inoculation de ses voisins, des selles molles et riches en mucus; il n'a jamais été abattu et son appétit s'est toujours maintenu.

Les deux animaux (11 et 12) infectés par de plus faibles doses de virus (souche S77) ont présenté un bref épisode de diarrhée 48 h après l'inoculation, diarrhée un peu plus marquée chez le veau ayant reçu la plus faible dose de virus (12); les selles sont redevenues normales après quelques heures.

Le veau inoculé au moyen d'un filtrat de matières fécales non diarrhéiques (13) a excrété 48 h après inoculation des selles jaunes et de consistance crémeuse, mais non aqueuse; ici également, le phénomène était tout à fait transitoire.

Quant au veau ayant reçu un filtrat de matières fécales diarrhéiques (15), il a présenté 36 h après inoculation une diarrhée profuse, en jets, qui a également rétrocedé spontanément après quelques heures. A l'âge de huit jours, cet animal a présenté un nouvel épisode de diarrhée, qui s'est cette fois maintenu pendant trois jours et a rendu nécessaire le remplacement de l'alimentation lactée par de l'eau glucosée isotonique.

Le veau témoin (10) n'a jamais présenté de signe clinique.

Contrôles bactériologiques

Le veau 1 était, dès la naissance, porteur d'une souche de *Salmonella* qui a été retrouvée régulièrement dans tous les échantillons de matières fécales testés jusqu'à la fin de l'expérience.

Du colibacille entéropathogène a été isolé des matières fécales du veau 15 dès l'âge de 36 h, c'est-à-dire lors du premier épisode de diarrhée, et a été retrouvé chez le même animal tout au long du second épisode de diarrhée.

Aucune bactérie pathogène n'a été observée dans les matières fécales des douze autres animaux.

Excrétion virale

Tous les veaux infectés ont excrété du rotavirus décelable par contre-immuno-électro-osmophorèse et cultivable sur cellules MA 104. Cette excrétion virale a débuté 24 à 48 h après inoculation et s'est maintenue, parfois de manière discontinue, pendant au moins dix jours.

Du virus a également été retrouvé dans les matières fécales du veau sentinelle (9): chez ce veau, l'excrétion virale a débuté 24 h plus tard que

chez les deux animaux infectés qui occupaient le local en même temps que lui et n'a duré que 48 h.

Le veau témoin non infecté (10) n'a jamais excrété de virus dans ses selles.

Recherche d'anticorps anti-rotavirus dans les sérums

Aucun des animaux ne possédait d'anticorps anti-rotavirus à la naissance.

Neuf des dix veaux inoculés au moyen de rotavirus bovin produit en culture de cellules ont présenté une séroconversion au quinzième jour, et même dès le huitième jour pour certains d'entre eux. L'animal sentinelle est également devenu séropositif au jour 15. Par contre, aucun des deux veaux inoculés au moyen d'un filtrat de matières fécales n'a développé d'anticorps, bien que ces deux animaux aient excrété du rotavirus.

La présence d'anticorps spécifiques anti-rotavirus n'a jamais été décelée dans le sérum du veau témoin non inoculé (10).

Discussion

Contrairement à ce que l'on aurait pu attendre, de fortes doses de rotavirus bovin produit en cultures cellulaires ne produisent pas de diarrhée chez des veaux nouveaux-nés privés de colostrum (Schwers *et al.*, 1982a). Par contre, si l'on réduit sensiblement la quantité de virus administrée aux animaux, la diarrhée apparaît; les souches virales utilisées sont donc bien pathogènes pour le veau nouveau-né (Schwers *et al.*, 1983).

Par ailleurs, le rotavirus bovin peut être transmis de manière indirecte, puisqu'un veau sentinelle maintenu dans le même local que des animaux inoculés, mais sans contact direct avec eux, s'est infecté, a excrété du virus et a présenté une séroconversion. La contamination de cet animal ne doit pas être attribuée à une désinfection insuffisante du local, puisque l'animal témoin n'a jamais excrété de rotavirus.

Les résultats paradoxaux observés lors de cette expérience pourraient résulter d'un phénomène d'interférence. En effet, le rotavirus bovin induit chez les animaux infectés l'apparition de taux significatifs d'interféron tant dans le plasma que dans le contenu intestinal (La Bonnardière *et al.*, 1981). Comme la sensibilité à l'effet antiviral de l'interféron des souches de rotavirus utilisées ici a été bien établie en culture de cellules (Dagenais *et al.*, 1981b), l'induction d'interféron par le virus inoculé pourrait bien expliquer la limitation des effets pathogènes. L'analyse des échantillons de plasma prélevés chez les veaux 1 à 12 établira une cinétique précise d'apparition d'interféron dans la circulation. Cette étude, actuellement en cours

(Vanden Brœcke *et al.*, manuscrit en préparation), permettra de conclure quant à la validité d'une telle hypothèse pour rendre compte de nos observations.

Aucune différence de symptomatologie n'a été observée entre les veaux inoculés avec la même dose de virus immédiatement après la naissance ou à l'âge de trois jours. Les modifications de la muqueuse intestinale qui se produisent au cours des premiers jours de la vie ne semblent donc pas influencer significativement la sensibilité du veau au rotavirus.

L'inoculation expérimentale de veaux nouveau-nés privés de colostrum au moyen de doses adéquates (de l'ordre de 10^8 unités formant plaque) de rotavirus bovin produit en culture cellulaire provoque 48 h après inoculation une diarrhée transitoire et ne s'accompagnant pas de symptômes généraux. Fernelius *et al.* (1972) avaient obtenu un résultat analogue chez un veau nouveau-né privé de colostrum, alors que Bridger et Woode (1975) ont observé chez deux veaux inoculés de la même manière une maladie plus sévère: diarrhée se prolongeant pendant trois à quatre jours et accompagnée de dépression et d'anorexie.

Les troubles semblent un peu plus marqués chez le veau inoculé selon la technique traditionnelle, au moyen d'un filtrat abactérien de matières fécales diarrhéiques contenant du rotavirus, mais les résultats obtenus dans ce dernier cas sont difficilement interprétables, puisque cet animal était également infecté par une souche de colibacille entéropathogène et qu'un synergisme d'action a été depuis longtemps décrit entre ces deux agents pathogènes (Mebus *et al.*, 1971; Moon *et al.*, 1978).

Le caractère bénin et passager de la maladie produite expérimentalement par l'administration de rotavirus bovin à des veaux nouveau-nés contraste avec ce qui est observé en fermes, où ce virus peut dans certains cas être associé à des troubles sévères se traduisant par des pertes économiques importantes (Pastoret *et al.*, 1977, 1978).

Outre le virus lui-même, il est probable que beaucoup d'autres facteurs jouent également un rôle dans le devenir de l'infection, facteurs tenant tant aux conditions d'environnement qu'au veau lui-même et aux divers mécanismes qu'il est susceptible de mettre en œuvre afin de lutter contre l'infection virale.

Accepté pour publication, le 23 février 1983.

Remerciements

Nous remercions Bernard Brochier, Georges Derboven, Christian Hanzen et Guy d'Ieteren pour l'aide apportée dans la réalisation de cette expérience.

Nous tenons également à remercier le service de Bactériologie de la Faculté pour avoir réalisé tous les contrôles bactériologiques indispensables, ainsi que le Dr C.-M. Calberg-Bacq, de la Faculté de Médecine de l'Université de Liège pour avoir contrôlé par examen en microscopie électronique les suspensions virales destinées à l'inoculation des veaux.

Résumé

Des veaux nouveau-nés privés de colostrum ont été inoculés par voie orale au moyen de doses variables de rotavirus bovin produit en culture cellulaire et préalablement titré ou de filtrats de matières fécales de veau contenant du rotavirus. Les animaux inoculés au moyen de fortes doses de virus de culture cellulaire n'ont pas présenté de diarrhée, bien que tous aient excrété du virus pendant plusieurs jours et que des anticorps spécifiques soient apparus dans leur sérum; ceux inoculés à l'aide de plus faibles doses de virus de culture cellulaire ou de filtrats de matières fécales ont manifesté une diarrhée transitoire 48 h après l'inoculation. Ces résultats apparemment paradoxaux pourraient s'expliquer par un phénomène d'interférence, puisque le rotavirus bovin est sensible aux effets de l'interféron.

Le caractère bénin et transitoire de la maladie expérimentale contraste avec ce qui est observé en fermes, où l'infection à rotavirus pose parfois de graves problèmes. Outre le virus lui-même, nombre d'autres facteurs tels que les conditions d'environnement, la réponse du veau à l'infection influencent également la sévérité de la maladie.

Références

- BABIUK L.A., MOHAMMED K., SPENCE L., FAUVEL M., PETRO R., 1977. Rotavirus isolation and cultivation in the presence of trypsin. *J. Clin. Microbiol.*, **6**, 610-617.
- BRIDGER J.C., 1980. Rotavirus: the present situation in farm animals. *Vet. Annu.*, **20**, 172.

- DAGENAIS L., LANSIVAL B., PASTORET P.-P., KAECKENBEECK A., 1980a. Détection par contre-immuno-électro-osmophorèse (CIEOP) des rotavirus dans les matières fécales de veaux nouveaux-nés, après concentration au polyéthylène glycol 6000 (PEG 6000). *Ann. Méd. Vét.*, **124**, 223-227.
- DAGENAIS L., PASTORET P.-P., SCHWERS A., KAECKENBEECK A., LANSIVAL B., ANTOINE H., JOASSIN L., CALBERG-BACQ C.-M., JACQUEMIN E., 1980b. Épizootologie de la diarrhée à rotavirus chez les bovins. *Ann. Méd. Vét.*, **124**, 565-575.
- DAGENAIS L., SCHWERS A., PASTORET P.-P., LEROY P., 1981a. Comparison of bovine rotavirus strains by the plaque assay. *Vet. Microbiol.*, **6**, 379-382.
- DAGENAIS L., PASTORET P.-P., VANDEN BRÛCKE C., WÉRENNE J., 1981b. Susceptibility of bovine rotavirus to interferon. *Arch. Virol.*, **70**, 377-379.
- DE LEEUW P.W., VAN NIEUWSTADT A.P.K.M.I., VAN BALKEN J.A.M., ELLENS D.J., 1977. Rotavirus infection in calves. II. Experimental infections with a Dutch isolate. *Tijdschr. Diergeneesk.*, **102**, 515-524.
- FERNELIUS A.L., RITCHIE A.E., CLASSICK L.G., NORMAN J.O., MEBUS C.A., 1972. Cell culture adaptation and propagation of a reovirus-like agent of calf diarrhea from a field outbreak in Nebraska. *Arch. Ges. Virusforsch.*, **37**, 114-130.
- FLEWETT T.H., WOODS G.N., 1978. The rotaviruses: brief review. *Arch. Virol.*, **57**, 1-23.
- GOUET Ph., CONTREPOIS M., DUBOURGUIER H.C., RIOU Y., SCHERRER R., LAPORTE J., VAUTHEROT J.F., COHEN J., L'HARIDON R., 1978. The experimental production of diarrhea in colostrum-deprived axenic and gnotoxenic calves with enteropathogenic *Escherichia coli*, rotavirus, coronavirus and in a combined infection of rotavirus and *E. coli*. *Ann. Rech. Vét.*, **9**, 433-440.
- LA BONNARDIÈRE C., COHEN J., CONTREPOIS M., 1981. Interferon activity in rotavirus infected newborn calves. *Ann. Rech. Vét.*, **12**, 85-91.
- LANSIVAL B., SCHWERS A., CLAEYS B., DAGENAIS L., MAENHOUDT M., PASTORET P.-P., 1981. Fréquence de l'infection par rotavirus chez les chevaux en Belgique. *Ann. Méd. Vét.*, **125**, 657-661.
- LECCE J.G., KING M.W., DORSEY W.F., 1978. Rearing regimen producing piglet diarrhea and its relevance to acute infantile diarrhea. *Science.*, **199**, 776-778.
- Mc NULTY M.S., 1978. Rotaviruses. *J. Gen. Virol.*, **40**, 1-18.
- MATSUNO S., INOUE S., KONO R., 1977. Plaque assay of neonatal calf diarrhea virus and the neutralizing antibody in human sera. *J. Clin. Microbiol.*, **5**, 1-4.
- MEBUS C.A., UNDERDAHL N.R., RHODES M.B., TWIEHAUS M.J., 1969. Calf diarrhea (scours) reproduced with a virus from a field outbreak. *Univ. Nebraska. Res. Bull.*, **233**, 1-16.
- MEBUS C.A., STAIR E.L., UNDERDAHL N.R., TWIEHAUS M.J., 1971. Pathology of neonatal calf diarrhea induced by a reo-like virus. *Vet. Pathol.*, **8**, 490-505.
- MIDDLETON P.J., PETRIC M., HEWITT C.M., SZYMANSKI M.T., TAM J.S., 1976. Counter-immuno-electro-osmophoresis for the detection of infantile gastroenteritis virus (orbi group) antigen and antibody. *J. Clin. Pathol.*, **29**, 191-197.
- MOON H.W., Mc CLURKIN A.W., ISAACSON R.E., POHLENZ J., SKARTVEDT S.M., GILLETTE K.G., BAETZ A.L., 1978. Pathogenic relationship of rotavirus, *Escherichia coli* and other agents in mixed infections in calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **173**, 577-583.
- PASTORET P.-P., BURTONBOY G., JOSSE M., KAECKENBEECK A., SCHËNAERS F., 1978. Contribution à l'étude de l'étiologie des diarrhées néonatales du veau en Belgique. *Ann. Méd. Vét.*, **122**, 679-685.
- PASTORET P.-P., BURTONBOY G., SCHËNAERS F., 1977. Présence de rotavirus dans les matières fécales de veaux nouveau-nés atteints de diarrhée. *Ann. Méd. Vét.*, **121**, 237-238.
- PASTORET P.-P., SCHËNAERS F., 1977. Les diarrhées néonatales d'origine virale chez le veau. *Ann. Méd. Vét.*, **121**, 81-90.
- SCHWERS A., PASTORET P.-P., VANDEN BRÛCKE C., WÉRENNE J., DAGENAIS L., MAENHOUDT M., D'ETEREN G., 1982a. Absence de diarrhée chez des veaux nouveau-nés privés de colostrum et infectés dès la naissance à l'aide de fortes doses de rotavirus bovin de culture cellulaire. *Ann. Méd. Vét.*, **126**, 59-62.
- SCHWERS A., PASTORET P.-P., MAENHOUDT M., DAGENAIS L., MICHAUX C., ROUPAIN J., 1982b. Fréquence de l'excrétion de rotavirus par des veaux sains âgés de six semaines à trois mois et maintenus en station expérimentale. *Ann. Méd. Vét.*, **126**, 163-166.
- SCHWERS A., VANDEN BRÛCKE C., PASTORET P.-P., WÉRENNE J., DAGENAIS L., MAENHOUDT M., 1983. Dose effect on experimental reproduction of rotavirus diarrhea in colostrum-deprived newborn calf. *Vet. Rec.*, **112**, 250.
- TZIPORI S.R., MAKIN T.J., SMITH M.L., KRAUTIL F.L., 1981. Clinical manifestations of diarrhea in calves infected with rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.*, **13**, 1011-1016.
- VAN OPDENBOSCH E., WELLEMANS G., DEKEGEL D., STROBBE R., 1979. Neonatal calf diarrhoea: a complex viral etiology. *Vlaam. Diergeneesk. Tijdschr.*, **48**, 512-526.
- WOODS G.N., BRIDGER J.C., HALL G., DENNIS M.J., 1974. The isolation of a reovirus-like agent associated with diarrhoea in colostrum-deprived calves in Great Britain. *Res. Vet. Sci.*, **16**, 102-105.
- WOODS G.N., BRIDGER J.C., 1975. Viral enteritis of calves. *Vet. Rec.*, **96**, 85-88.