

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA PESTIVIRUS EN RUMIANTES DE UNA COMUNIDAD CAMPESINA DE LA PROVINCIA DE CANCHIS, CUSCO

Sonia Alvarez LI.¹, Hermelinda Rivera G.², Danilo Pezo C.³ y Wilber García V.³

ABSTRACT

The seroprevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) and border disease virus (BDV) in serum samples of alpacas (n=200), bovine (n=38) and ovine (n=45) of a rural community of Cusco, Perú was carried out by virus-neutralization test. The $11.5 \pm 4.4\%$ (23/200) and $9.5 \pm 4.1\%$ (19/200) of alpacas had neutralizing antibodies against BVD and BD virus. The $73.7 \pm 13.9\%$ (28/38) and $76.3 \pm 13.5\%$ (29/38) of bovine and the $13.3 \pm 9.9\%$ (6/45) and $15.5 \pm 10.6\%$ (7/45) of ovine had antibodies to BVDV and BDV respectively. These results confirm the presence of pestiviral infection in ruminants of a mixed breeding system in a rural community.

Key words : Bovine viral diarrhoea virus, border disease virus, alpaca, bovine, sheep, antibodies, virus-neutralization

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la seroprevalencia de los pestivirus de la enfermedad de la diarrea viral bovina (DVB) y enfermedad de la frontera (EF) en rumiantes de la comunidad de Silly, provincia de Canchis, Cusco, a través de la detección de anticuerpos en el suero sanguíneo de alpacas (n=200), bovinos (n=38) y ovinos (n=45) hembras adultas, mediante la prueba de virus-neutralización. El $11.5 \pm 4.4\%$ (23/200) y el $9.5 \pm 4.1\%$ (19/200) de las alpacas presentaron anticuerpos neutralizantes contra los virus DVB y EF. El $73.7 \pm 13.9\%$ (28/38) y $76.3 \pm 13.5\%$ (29/38) de los bovinos y el $13.3 \pm 9.9\%$ (6/45) y $15.5 \pm 10.6\%$ (7/45) de los ovinos presentaron anticuerpos contra la DVB y EF, respectivamente. Estos resultados confirman la presencia de la infección pestiviral en rumiantes bajo un sistema de crianza mixto en una comunidad campesina del Cusco.

Palabras clave: Diarrea viral bovina, enfermedad de la frontera, alpacas, bovinos, ovinos, anticuerpos, virus-neutralización

¹ Práctica privada

² Laboratorio de Microbiología y Parasitología, FMV-UNMSM. E-mail: hriverag@vet.unmsm.edu.pe

³ Estación Experimental IVITA-Maranganí, FMV-UNMSM

INTRODUCCIÓN

Los pestivirus constituyen un género de la familia Flaviviridae, conformado por el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB), el virus de la Fiebre Porcina Clásica (VFPC) y el virus de la Enfermedad de la Frontera (VEF); agentes relacionados estructural y antigénicamente que presentan reacciones cruzadas entre ellos (Carlsson, 1991; Sakoda et al., 1999) y causan infecciones entre especies (Becher et al., 1999). El éxito en los rumiantes es debido a su habilidad de cruzar la barrera placentaria, invadir el feto y generar una infección persistente que continúa durante la vida postnatal, clínicamente inaparente, excretando el virus y diseminándolo a un amplio rango de hospederos Artiodactyla (Becher et al., 1997; Paton et al., 1999).

La transmisión puede ser por inhalación o ingestión de saliva, descarga oculonasal, orina, heces, leche, secreciones uterinas, fluido amniótico, placenta y semen de animales infectados (Baker, 1995). Los pestivirus poseen un especial tropismo por las células del sistema inmune y células epiteliales de los tractos reproductivo, entérico y respiratorio ocasionando como consecuencia de su replicación en estas células un conjunto de patologías dependiendo de la cepa viral y momento en que ocurre la infección durante la gestación (Potgieter, 1995).

Estudios serológicos han demostrado la presencia de la DVB en alpacas de una empresa asociativa de Puno (Rivera et al., 1987) y de una comunidad campesina con crianza mixta de Arequipa (Manchego, 1991), pero no ha sido detectado en alpacas criadas bajo un buen sistema de manejo (Risco et al., 1998).

Más del 80% de los camélidos en el sur del país están en manos de pequeños criadores que utilizan el sistema de crianza mixto, el cual promueve la transmisión interespecie de los pestivirus (Rivera et al., 1987). El bajo índice de natalidad y la mortalidad neonatal constituyen severos problemas

en la crianza de camélidos en crianza mixta y el rol de los pestivirus en la presentación de estos problemas aún no ha sido elucidada, por lo que el presente trabajo tuvo como objetivo determinar la seroprevalencia del VDVB y VEF en alpacas, bovinos y ovinos de crianza mixta en una comunidad campesina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y muestras

El estudio se realizó en una comunidad campesina de Sully, localizada en la Provincia de Canchis, Cusco. Se utilizaron 200 alpacas, 38 bovinos y 45 ovinos hembras criollos adultas, que eran parte del grupo mixto de producción de la comunidad.

El tamaño muestral para la población de alpacas ($n=200$) se obtuvo mediante el método para estimar una proporción a través de la aproximación normal a la distribución normal, utilizando para su cálculo una proporción de 0.14 y un nivel de confianza del 95% (Manchego, 1991). El número de bovinos y ovinos utilizados en el estudio estuvo en función de las posibilidades de la comunidad.

Las muestras de sangre fueron obtenidas individualmente por punción de la vena yugular utilizando vacutainers, y transportadas al Laboratorio de Microbiología del IVITA-Maranganí de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) para la obtención del suero sanguíneo. Las muestras procesadas fueron transportadas al Laboratorio de Virología de la FMV, UNMSM donde fueron mantenidas en congelación a -20°C hasta su procesamiento.

Reactivos

Se utilizaron cultivos primarios de células de cornete nasal de feto bovino (CNB) libres de VDVB y VEF como sistema indicador de prueba de neutralización viral; me-

dios de cultivo MEN (Eagle Minimal Essencial Medium) y L-15 (Leibovitz) (SIGMA) en una proporción 50:50 suplementadas con el 10% de suero fetal bovino libre de VDVB (SIGMA) y antibióticos. Las cepa "Singer" del VDVB y la cepa Cosbay del VEF, obtenidas comercialmente (NVS, AMES-IOWA, USA) fueron utilizadas como antígenos en la prueba de neutralización viral.

Detección de anticuerpos pestivirales

La detección y cuantificación de los anticuerpos contra el VDVB y VEF fue realizada separadamente mediante la prueba de neutralización viral según el protocolo disponible en el Laboratorio de Virología de la FMV-UNMSM. El título del suero fue la dilución más alta capaz de neutralizar las 100 DI_{50} CC/50 μ l del virus, evidenciado por la ausencia de lesión celular. Títulos del suero iguales o mayores a 1:2 fueron considerados positivos a anticuerpos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El 11.5 (23/200) y 9.5% (19/200) de las alpacas adultas fueron seroreactoras al VDVB y al VEF frente a 73.7 (28/38) y 76.3% (29/38) en bovinos y 13.3 (6/45) y 15.5% (7/45) en ovinos, respectivamente (Cuadro 1).

La habilidad de los pestivirus de cruzar la barrera de especie (Brownlie et al., 1998) debería ser altamente favorecida en un sistema de crianza mixto pero, al parecer, la infección pestiviral en los camélidos sudamericanos tiene un patrón diferente como lo indica el bajo nivel de alpacas seroreactores al VDVB y VEF, pese a que ambos virus tuvieron amplia distribución en bovinos del mismo rebaño.

La seroprevalencia del VDVB en alpacas resultó similar (11.1%) a lo reportado por Rivera et al. (1987) y Manchego (1991) hace más de una década. Esta baja seroprevalencia de los pestivirus en alpacas adultas sugiere la existencia de factores que

disminuyen la transmisibilidad viral hacia los camélidos. Algunos de estos factores podrían ser la directa incidencia de los rayos ultravioleta que no permitiría la sobrevivencia viral, así como el sistema de pastoreo en donde los bovinos pastan primero seguido por las alpacas y después los ovinos.

No hay duda de la susceptibilidad de las alpacas a los pestivirus como lo demuestran los estudios de Rivera et al. (1987) y Manchego (1991), pero al parecer el mecanismo de la infección pestiviral en las alpacas difiere de los otros rumiantes pues usualmente cuando el VDVB ingresa a un hato de bovinos susceptibles se difunde rápidamente, los animales seroconvierten y los anticuerpos perduran en niveles detectables por un tiempo largo (Fredriksen et al., 1999).

Se pudo determinar que más del 30% de las alpacas presentaron títulos de anticuerpos contra el VDVB y VEF mayores a 1:256 (Cuadros 2 y 3) los cuales en animales no vacunados son considerados títulos altos y significan un continuo desafío o infecciones recientemente adquiridas a partir de animales infectados como lo indica Luzzago et al. (1999). En este caso es probable que la infección provenga a partir de los bovinos, ya que esta especie es la principal fuente de infección a otras especies (Carlsson, 1991; Paton et al., 1999) o durante las exposiciones de alpacas, bovinos u ovinos en las ferias comunales en donde son confinados animales de diversos estados sanitarios.

El permanente estado de estrés debido a fallas nutricionales, carga parasitaria, manejo deficiente etc., podrían estar favoreciendo la circulación de los pestivirus DVB y EF en los bovinos de la comunidad como lo indican los títulos de anticuerpos detectados que van desde 1:8 hasta mayores a 1:256 para el caso del VDVB (Cuadro 2) y con ligeras variaciones en el caso del VEF (Cuadro 3), sugiriendo diversos grados de exposiciones de los bovinos y ovinos a ambos virus.

Cuadro 1. Seroprevalencia de los virus de la Diarrea Viral Bovina (DVB) y Enfermedad de la Frontera (EF) en rumiantes de crianza mixta, mediante la prueba de neutralización viral

Especie	N° Animales	Positivos a DVB		Positivos a EF	
		N°	%	N°	%
Alpacas	200	23	11.5	19	9.5
Bovinos	38	28	73.7	29	76.3
Ovinos	45	6	13.3	7	15.5

Cuadro 2. Distribución de los títulos de anticuerpos contra el VDVB en muestras de suero de rumiantes mediante la prueba de neutralización viral

Especie	Positivos	Inversa de la dilución de los títulos de anticuerpos							
	%	2	4	8	16	32	64	128	≥256
Alpacas	11.5	0	0	0	0	3	3	9	8
Bovinos	73.7	0	0	3	5	5	5	5	5
Ovinos	13.3	1	0	2	1	0	0	0	2

Cuadro 3. Distribución de los títulos de anticuerpos contra el VEF en muestras de suero de rumiantes mediante la prueba de neutralización viral

Especie	Positivos	Inversa de la dilución de los títulos de anticuerpos							
	%	2	4	8	16	32	64	128	≥256
Alpacas	9.5	1	1	0	0	1	2	7	7
Bovinos	76.3	0	0	0	8	3	10	2	6
Ovinos	15.5	0	0	1	3	0	0	1	2

En el presente estudio se utilizó la cepa Cosbay (VEF) como antígeno para detectar anticuerpos contra el VEF en las tres especies de rumiantes de la comunidad, esperándose encontrar en el ovino una prevalencia mayor o igual al reportado en el bovino (76.3%), pero sólo el 15.5% de ovinos fueron reactivos al VEF. Esta diferencia frente al bovino podría ser debido al escaso número de muestras o que el VEF no está muy difundido en los ovinos de la comunidad.

La alta prevalencia del VEF en los bovinos no podría deberse necesariamente a la mayor susceptibilidad del bovino al VEF, sino a la similitud antigénica entre las cepa Cosbay y la cepa de la DVB utilizadas como antígenos, ya que algunas cepas del VEF y VDVB poseen homologías en sus secuencias de nucleótidos (hasta de 76%, Sullivan et al., 1994). Esto podría explicar en parte los similares porcentajes de seroreactivos encontrados en cada especie estudiada (Fig.1).

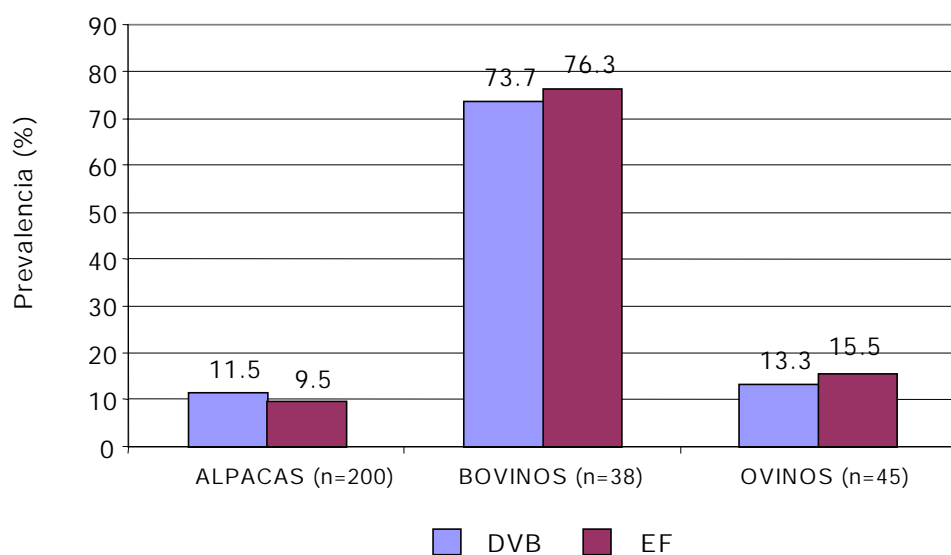


Figura 1. Seroprevalencia de los virus de la Diarrea Viral Bovina y Enfermedad de la Frontera en rumiantes de crianza mixta

La distribución de los títulos de anticuerpos contra el VEF sugieren igualmente una actividad viral en la población de ovinos estudiados pero al parecer menos intensa que en el bovino y alpacas (Cuadro 3).

Los datos recogidos directamente de los campesinos de la comunidad, por no existir registros de la situación sanitaria, indican que la enterotoxemia es una de las principales causas de la mortalidad neonatal en las alpacas. Sin embargo, los problemas respiratorios y diarreicos, y los nacimientos de crías débiles son prevalentes en la comunidad, superando al 24% reportado en sistemas con buen manejo sanitario (Risco et al., 1998).

Las seroprevalencias de 11.5 y 9.5% de los VDVB y VEF en alpacas de la comunidad de Silly sugieren que estos pestivirus no tendrían mayor responsabilidad en los diversos problemas de orden sanitario que afecta al rebaño de la comunidad. Sin embargo, no debe descartarse su asociación con las pérdidas embrionarias o fetales y mortalidad neonatal, que tienen una alta incidencia, especialmente en los animales de las comunidades campesinas.

No se dispone de datos sobre la seroprevalencia de la DVB en bovinos de las comunidades previamente estudiadas pero la prevalencia de la DVB encontrada en los bovinos de la comunidad de Silly es similar a lo reportado en las cuencas lecheras como Lima, Cajamarca, Arequipa y el Valle del Mantaro que superan el 70% (Rivera H., datos no publicados; Contreras et al., 2000). Así mismo, es similar a otros países como Polonia (83%), países escandinavos (55 a 100%), Reino Unido (62.5%), Estados Unidos (65%), Italia (71.2%), Chile (50%), etc., indicando que este virus está ampliamente distribuido en la población bovina mundial (Houe, 1999; Luzzago et al., 1999; Nuotio et al., 1999).

CONCLUSIONES

Se detectaron anticuerpos neutralizantes contra los pestivirus de la diarrea viral bovina (DVB) y enfermedad de la frontera (EF) en los rumiantes (alpacas, bovinos y ovinos) de la comunidad campesina de Silly, provincia de Canchis, Cusco bajo el sistema de crianza mixto con escasa tecnología.

La población de bovinos estudiados presentó el mayor número porcentual de reactivos tanto para la enfermedad de la diarrea viral bovina y enfermedad de la frontera, que los ovinos y alpacas examinadas.

LITERATURA CITADA

1. Baker, J.C. 1995. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet. Clinics N.A. Food Animal Practice* 11: 425-445.
2. Becher, P.; M. Orlich; A. Shannon; G. Horner; M. König. 1997. Phylogenetic analysis of pestiviruses from domestic and wild ruminants. *J. Gen-Virology* 78: 1357-1366.
3. Becher, P.; M. Orlich; A. Kosmidou; M. König; M. Baroth; H. Thiel. 1999. Genetic diversity of pestiviruses: identification of novel groups and implications for classification. *Virology* 262: 64-71.
4. Brownlie, J.; L. Hooper; I. Thompson; M. Collins. 1998. Maternal recognition of foetal infection with bovine virus diarrhoea virus (BVDV) - the bovine pestivirus. *Clinical and Diagnostic Virology* 10: 141-150.
5. Carlsson, U. 1991. Border disease in sheep caused by transmission of virus from cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 128: 145-147.
6. Contreras, G.; K. Stahl; C. Arana; H. Rivera. 2000. Anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en muestras de leche de bovinos del valle del Mantaro (Jauja, Concepción y Huancayo). *Rev. Inv. Vet. Perú* 11: 58-65.
7. Fredriksen, B.; T. Sandvik; T. Loken; S.A. Odegaard. 1999. Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet. Rec.* 114: 111-114.
8. Houe, H. 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet. Microbiol.* 64: 89-107.
9. Luzzago, C.; R. Piccinini; A. Zepponi; A. Zecconi. 1999. Study on prevalence of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibodies in 29 Italian dairy herds with reproductive problems. *Vet. Microbiol.* 64: 247-252.
10. Manchego, A. 1991. Seroprevalencia de enfermedades virales en un rebaño mixto de una comunidad alpaquera altoandina de la región Arequipa. Tesis Bachiller, Fac. Med. Vet., Univ. Nac. Mayor San Marcos, Lima. 79 p.
11. Nuotio, L.; M. Juvonen; E. Neuvonen; L. Sihvonen; J. Husu-Kallio. 1999. Prevalence and geographic distribution of bovine viral diarrhoea (BVD) infection in Finland 1993-1997. *Vet. Microbiol.* 64: 231-235.
12. Paton, D.; G. Sharp; G. Iбата. 1999. Foetal cross-protection experiments between type 1 and type 2 bovine viral diarrhoea virus in pregnant ewes. *Vet. Microbiol.* 64: 185-196.
13. Potgieter, L. 1995. Immunology of bovine viral diarrhoea virus. *Vet. Clinics N.A. Food Animal Practice* 11: 501-519.
14. Risco, V.; H. Rivera; D. Pezo; W. García; R. Rosadio. 1998. Detección de anticuerpos y virus de la DVB en alpacas durante una campaña reproductiva. *Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú) (Nº Extraordinario)* 9 (2): 59-64.
15. Rivera, H.; B. Madewell; R. Ameghino, 1987. Serologic survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama pacos*). *Am. J. Vet. Res.* 48: 189-191.
16. Sakoda, Y.; S. Ozawa; S. Damrongwatanapokin; M. Sato; K. Ishikawa; A. Fukusho. 1999. Genetic heterogeneity of porcine and ruminant pestiviruses mainly isolated in Japan. *Vet. Microbiol.* 65: 75-86.
17. Sullivan, D.; G. Chang; D. Trent; R. Akkina. 1994. Nucleotide sequence analysis of the structural gene coding region of the pestivirus border disease virus. *Virus Research* 33: 219-228.