

COMUNICACIÓN

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS Y VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA EN ALPACAS DURANTE UNA CAMPAÑA REPRODUCTIVA¹.

Verónica Risco¹, Hermelinda Rivera², Nieves Sandoval², Danilo Pezo²,
Wilber García² y Raúl Rosadio²

Abstract

The possible association of bovine viral diarrhea virus (VDVB) and reproductive failure (embryonic reabsorption and/or abortions) was monitored in 157 pregnant and 52 open Alpacas at the Marangani (Cuzco) research station of the Veterinary Institute for Tropical and High Altitude Research. The entire female population was monitored for presence of neutralizing antibodies (VN test) and/or virus in sera samples at the beginning (May) and the end (October) of the gestation period. None of the animals tested had evidence for antibodies or circulating pestivirus. Analysis of the breeding program revealed that of 25.5% of pregnant females failed to produce live offspring. A total of 6 aborted fetuses were recorded and it is thought that the remainder had fertilization failure or embryonic mortality. These findings rule out BVDV as a cause of reproductive failure in this alpaca herd.

Key words: alpacas, bovine viral diarrhea, antibodies, reproductive failure

Palabras clave: alpacas, diarrea viral bovina, anticuerpos, falta reproductiva

La diarrea viral bovina (DVB) es una de las enfermedades infecciosas de distribución mundial, que afecta principalmente a los rumiantes domésticos y salvajes (Nettleton y Entrican, 1995). Clínicamente, la enfermedad puede ser de tipo agudo, crónico pero mayormente subclínico.

La enfermedad es producida por el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), miembro del género Pestivirus, familia Flaviviridae.

El virus posee dos biotipos: citopatogénico (CP) y no citopatogénico (NCP) en base a su característica en cultivos celulares pero ambos pueden causar cualquiera de las manifestaciones clínicas mencionadas. Últimamente estudios filogenéticos basados en las diferencias en las secuencias de nucleótidos de una porción estable del genoma de muchas cepas tanto CP y NCP, han permitido agruparlas en dos genotipos: I y II (Ridpath *et al.*, 1994).

1. Trabajo parcialmente financiado por International Foundation for Science (IFS) y el Comité de Registros Genealógicos de alpacas.
2. UNMSM-FMV-IVITA.
E-mail: d170029@unmsm.edu.pe

La transmisión del agente viral a un animal susceptible puede ser por vía oro-nasal, instrumentos quirúrgicos, semen contaminado etc. (Houe, 1995; Tarry *et al.*, 1991). Las primeras células que soportan la replicación viral son las tonsilas y otros tejidos linfoides regionales, posteriormente el virus se disemina vía sanguínea y linfática ocasionando diversos síndromes, entre ellos, los de tipo reproductivo si el animal está gestando. El virus por su carácter inmunodepresor es el factor predisponente para la presentación de problemas respiratorios y/o entéricos sobre todo en animales jóvenes (Baker, 1995).

El aspecto de mayor relevancia de las infecciones subclínicas con el VDVB es la infección de una vaca durante el primer tercio de gestación (antes de 120 días) con una cepa NCP. El resultado de esta infección puede ser el nacimiento de la cría inmunotolerante al virus e infectada persistentemente (Mc Gowan y Kirkland, 1995). Los animales con infección persistente son incapaces de formar anticuerpos contra la cepa infectante y son los principales reservorios del virus (Baker, 1987). Infecciones en etapas posteriores de la preñez con cepas del mismo tipo puede también inducir nacimientos de crías prematuras con poco crecimiento, aletargadas o con alguna malformación congénita. Muchos de estos animales usualmente mueren durante los primeros meses de vida debido a infecciones secundarias del tracto respiratorio o entérico (Bolin, 1990) pero también pueden tener aspecto normal y llegar a la etapa reproductiva transmitiendo el virus a su prole.

Estudios serológicos han determinado la presencia del VDVB en ovinos y caprinos criados en forma mixta con el bovino y se ha comprobado la capacidad abortiva del virus en cabras inoculadas experimentalmente (Depner *et al.*, 1991).

Igualmente ha sido implicado en la presentación de abortos en marranas vacunadas con vacuna contra el cólera porcino contaminada con el VDVB (Wensvoort y Terpstra, 1988), también ha sido aislado de porcinos mostrando signos clínicos similares a cólera porcino (Terpstra y Wensvoort, 1997).

En el Perú el VDVB tiene amplia difusión pero su prevalencia es mayor en el ganado de las cuencas lecheras (Rivera *et al.*, 1993). Estudios previos de seroprevalencia del VDVB muestran también que las alpacas procedentes de explotaciones alpaqueras organizadas (Rivera *et al.*, 1987) y comunidades campesinas (Manchego, 1990) son susceptibles a este agente. El sistema de crianza de tipo mixto con poca o sin adecuada tecnología podría estar favoreciendo la transmisión interespecies ocasionando diversos problemas sanitarios como elevada mortalidad neonatal, índices de natalidad que no superan el 50%, etc (Rivera *et al.*, 1987; Ameghino, 1990 ; Novoa y Leyva, 1996).

Aunque estas informaciones indican que los camélidos sudamericanos (CSA) son susceptibles al VDVB, su responsabilidad en la presentación de problemas reproductivos como infertilidad, reabsorciones embrionarias y abortos en las alpacas en el país no han sido demostrados.

El presente estudio tuvo por objetivo determinar la asociación del VDVB con las pérdidas embrionarias y abortos a través del monitoreo serológico y aislamiento del virus en alpacas gestantes de la Estación Experimental del C.I. IVITA - Maranganí - La Raya, ubicada en la Provincia de Canchis del departamento del Cuzco, Región Inka, a 3,800 msnm (IVITA, boletín 1970), durante la campaña reproductiva de 1997.

Se trabajó la población total de alpacas hembras (n=209) con edades que oscilaron entre los 2 y los 12 años, preñadas

y no preñadas. La preñez de las alpacas se diagnosticó a través de la ecografía de cada hembra, determinándose gestaciones en diferentes etapas en 157 (75.1%) de las 209 alpacas.

Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción de la vena yugular utilizando tubos de vacío. Este muestreo fue realizado en dos oportunidades: la primera en el mes de mayo previo examen de preñez y la segunda en el mes de octubre de 1997. Los sueros fueron obtenidos por coagulación y trasvasados en viales estériles por duplicado, manteniéndose a -20°C hasta su procesamiento.

Una parte de las muestras de los sueros fueron inoculados en monocapas de células de cornete nasal de feto bovino (CNB) preparados en el Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para el aislamiento del VDVB y libres de VDVB endógeno y *Mycoplasma*. El virus fue observado mediante la prueba de inmunofluorescencia directa empleando anticuerpos policlonales contra el VDVB según la técnica descrita en el Manual de la OIE (1996).

La detección de los anticuerpos contra los VDVB en la muestra de suero fue realizada mediante la prueba de virus neutralización, utilizando como antígeno las cepas Singer (genotipo I) y 125 (genotipo II) y como sistema indicador se utilizaron células de CNB y de acuerdo a la técnica descrita en el Manual de la OIE (1996). Al final de la campaña reproductiva se consideraron también el porcentaje de crías nacidas, no nacidas y las pérdidas de las crías nacidas.

No se detectaron anticuerpos contra el VDVB ni la presencia de virus o antígeno del VDVB en las monocapas celulares infectadas con las muestras de los sueros obtenidos durante ambos monitoreos (inicio y al final de la campaña reproductiva). La ausencia de animales reactivos al virus obviamente, limitó el poder efectuar análisis de factores de riesgo y menos asociaciones entre la presencia de la infección y cualquier problema reproductivo. Los resultados de la campaña reproductiva del año 1997 del hato de alpacas en estudio, indican que el 74.5% (155/208) tuvieron crías pero un 25.5% (53/208) no las tuvieron. Así mismo, se observó un 23.9% (37/155) de mortalidad de crías por diversas causas, de las cuales el 70.3% (26/37) murieron por enterotoxemia (Cuadro 1).

Cuadro 1. Causas de muerte de las crías de alpacas de la E.E. C.I. IVITA-MARANGANÍ-LA RAYA, 1997.

Causas de Muerte	Crías Nº	%
Enterotoxemia	26	70.3
Nacidos muertos	5	13.5
Inanición	4	10.8
Comidos por zorros	2	5.4
TOTAL	37	100%

La infección por el VDVB ha sido reconocida en diferentes especies (Terpstra y Wensvoort, 1997) y principalmente en rumiantes (Kobrak y Weber, 1997; Depner *et al.*, 1991), ocasionando pérdidas económicas por las fallas reproductivas caracterizadas por infertilidad temporal, pérdidas embrionarias, malformaciones congénitas, abortos, mortalidad neonatal y parte importante del complejo respiratorio debido principalmente a su efecto inmunodepresor (Mc Gowan y Kirkland, 1995; Rivera *et al.*, 1993, Rivera *et al.*, 1994).

En el Perú se han detectado anticuerpos contra el VDVB en ganado vacuno y ovino (Rivera *et al.*, 1993; Rosadio *et al.*, 1984) y en alpacas y llamas de una empresa organizada (Rivera *et al.*, 1987), así como en una comunidad campesina del sur del país (Manchego, 1990).

La habilidad del VDVB de atravesar la barrera placentaria en el animal gestante y el bajo porcentaje de natalidad reportado en alpacas (Novoa, 1989; Novoa y Leyva 1996) permitieron plantear la hipótesis de que el VDVB podría ser una causa importante de este problema. Con el fin de probar la hipótesis se hizo el monitoreo serológico y aislamiento viral en toda la población de alpacas preñadas y no preñadas de la EE C.I. IVITA- Marangani- La Raya.

Los resultados de la campaña reproductiva de estas alpacas durante 1997 muestran un índice de natalidad de 74.5% (155/208), a diferencia de previos reportes que indican un índice de natalidad no mayor al 50% (Novoa, 1989). Sin embargo, de las alpacas que no tuvieron crías (n=53), el 11.3% (6/53) abortaron pero 88.7% (47/53) al parecer no concibieron indicando que probablemente existieron otros factores de tipo infeccioso o no, que interfirieron con la concepción, y/o la posible reabsorción

embrionaria. En cualquier caso, el rol del VDVB en los problemas reproductivos de las alpacas del IVITA durante la campaña reproductiva de 1997 queda descartado ante la ausencia del virus y anticuerpos contra el mismo.

Desafortunadamente, no existen reportes de la presencia del la DVB en las alpacas en estudio. Posiblemente los animales han estado libres de la infección pestiviral debido principalmente al sistema de manejo, que incluye la crianza en continuo proceso de selección para establecer el núcleo genético o quizás, la prevalencia viral es tan baja que imposibilitó su detección. En las crianzas mixtas o en explotaciones con pobre sistema de manejo la transmisión interespecies son al parecer más favorables como lo indican los previos reportes (Rivera *et al.*, 1987; Manchego, 1990).

La ausencia de infecciones pestivirales en las alpacas en estudio y la presencia de anticuerpos contra el VDVB en animales de crianza mixta o criados sin medidas zoonosanitarias, sugieren que el sistema de manejo es importante para mantener al rebaño libre de la infección o con una baja prevalencia (Manchego, 1990). Sin embargo, para elucidar el posible rol de los pestivirus y en particular del VDVB en los problemas reproductivos como infertilidad, reabsorción embrionaria y abortos de CSA debería realizarse un estudio similar en rebaños mixtos incluyendo las otras especies que componen el rebaño.

Es interesante mencionar el principal rol de los agentes infecciosos bacterianos en la mortalidad neonatal de las alpacas. El 70.3% (26/37) de las muertes fueron debidas a la enterotoxemia, entidad patológica bastante conocida y que aún continúa siendo el factor más importante de la mortalidad neonatal de las alpacas (Cuadro 1)

Conclusiones

No se detectó el virus de la diarrea viral bovina, ni anticuerpos neutralizantes contra el mismo en alpacas de la Estación Experimental del C.I. IVITA - Maranganí - La Raya, determinándose la ausencia de la infección por pestivirus.

Al final de la campaña reproductiva de 1997, el 74.5% (155/208) de las alpacas tuvieron crías, indicando un índice de natalidad superior al 50%. Sin embargo, 25-5% (33/208) se observó un 23.9% de mortalidad neonatal (37/155) debido principalmente a la enterotoxemia (26/37) de alpacas no tuvieron crías debido a abortos (n=6) y no concepción o reabsorción embrionaria (n=47)

Agradecimiento

Los autores agradecen al Dr. Don Mattson de la Universidad del Estado de Oregan, USA, por la donación de la cepa 125, prototipo del genotipo II del virus de la diarrea viral bovina.

Literatura citada

1. Ameghino, E. 1990. Neumonías. En Avances sobre investigación en salud animal. Camélidos Sudamericanos. IVITA. Bol Div, 23: 25-31.
2. Baker, J. 1987. Bovine Viral Diarrhea Virus: A Review. JAVMA, 190 (11): 1449-1458.
3. Baker, J. 1995. The clinical manifestations of Bovine Viral Diarrhea infection Vet Clin North Am Food Anim Pract, 11 (3): 425-445.
4. Bolin, S. 1990. The Current understanding about the pathogenesis and clinical forms of BVD. Symposium on BVD. Vet Med, p. 2-8.
5. Depner, K; Hubsche y O; Liess, B. 1991. Bovine viral diarrhea virus infection in goats—experimental studies on transplacental transmissibility of the virus and its effect on reproduction. Arch Virol, 3: 253-256.
6. Houe, H. 1995. Epidemiology of Bovine Viral Diarrhea Virus. Vet Clin North Am. Food Anim Pract, 11(3): 521-547.
7. IVITA. Cuarto Boletín Extraordinario. 1970. Lima – Perú.
8. Kobrak, A y Weber J. 1997. EL virus de la diarrea viral bovina: una actualización. Rev Arg Microbiol, 29 (1): 47-61.
9. Manchego, A. 1990. Seroprevalencia de enfermedades virales en un rebaño mixto de una comunidad alpaquera altoandina de la Región Arequipa. Tesis Bachillerato. Fac Med Vet Univ Nac Mayor San Marcos, Lima. p. 17.
10. McGowan, Mr y Kirkland, PD 1995. Early Reproductive loss due to bovine pestivirus infection. Br Vet J, 151:263-279.
11. Nettleton, P y Entrican, G. 1995. Ruminant pestivirus. Br Vet J, 151: 615-642.
12. Novoa, C. 1989. Reproducción, en el Simposio: Producción de alpacas y llamas. XII Reunión Científica Anual – APPA. Fac Med Vet UNMSM, p.67-73.
13. Novoa y C; Leyva, V. 1996. Reproducción en alpacas y llamas. Publ Cient IVITA, 26:1-2.
14. OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES (OIE). World Organization for Animal health. Manual of Standards for Diagnostic tests and vaccines. 1996. Bovine viral diarrhea : 651-658.
15. Ridpath, JF; Bolin, SR y Dubovi EJ. 1994. Segregation of bovine viral diarrhoea virus into genotypes. Virol, 205: 66-74.
16. Rivera, H; Madewell, B. y Ameghino, R; 1987. Serologic survey of viral

antibodies in the peruvian alpaca (*Lama pacos*). *Am J Vet Res Vet*, 48 (2): 189-191.

17. Rivera, H; Manchego, A ; Sandoval, N; *et al.*, 1993. Aborto infeccioso en bovinos de leche del valle de Lima. *Rev. Inv. Pec IVITA (Perú)*, 6 (1): 31-37.

18. Rivera, H; Manchego, A; Sandoval, N; *et al.*, 1994. Complejo respiratorio bovino en terneros del valle de Lima. *Rev Inv Pec IVITA (Perú)*, 7 (1): 35-38.

19. Rosadio, RH; Evermann, SF y De Martini, JC. 1984. A preliminary serological survey of viral antibodies in Peruvian sheep. *Vet Microbiol*, 10: 91-96.

20. Tarry, D; Bernal, L y Edwards, S. 1991. Transmition of bovine viral diarrhoea virus by blood feeding flies. *Vet. Rec*, 128: 82- 84.

21. Terpstra, C y Wensvoort, G. 1997. A congenital persistent infection of bovine virus diarrhea virus in pigs: clinical, virological and immunological observations. *Vet. Quart*, 19(3): 97-101.

22. Wensvoot, G y Terpstra, C. 1988. Bovine viral diarrhoea virus infections in piglets born to sows vaccinated against classical swine fever with contaminated vaccine. *Res Vet Sc*, 45: 143-148.