

ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS CAUSANTE DE LA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA EN VACUNOS DE LA PROVINCIA DE MELGAR, PUNO

Edgar Pariente A.¹, Alberto Ccama S.² y Hermelinda Rivera G.³

ABSTRACT

The prevalence of bovine herpesvirus type 1 (BHV-1) was determined in 382 bovine older than 6 months of age in herds of the province of Melgar, Puno, Peru. Serum samples were tested for antibodies against BHV-1 using the viral neutralization test. The $29.0 \pm 0.1\%$ (110/382) of the samples had antibodies against BHV-1, without differences between young (2 years old) and mature (≥ 2 years old) animals. Antibody titers varied between 2 to 128. The results indicated that BHV-1 infection is widespread in cattle population of the province of Melgar, Puno, and it is possibly contributing to cause respiratory disease problems in young animals.

Key words: bovine, bovine herpes virus type 1, rhinotracheitis infectious bovine, antibodies

RESUMEN

El presente estudio tuvo por objetivo determinar la prevalencia del virus herpes bovino tipo 1 (VHB-1), agente causal de la rinotraqueitis infecciosa bovina, en animales de la provincia de Melgar, Puno. Se recolectaron muestras de sangre de bovinos mayores a 6 meses de edad ($n = 382$) provenientes de nueve distritos de la provincia de Melgar, para la detección de anticuerpos contra el VHB-1 mediante la prueba de neutralización viral. La prevalencia del VHB-1 fue de $29.0 \pm 0.1\%$ (110/382), sin que hubiese diferencias entre animales jóvenes (< 2 años) y adultos (≥ 2 años). Los títulos de anticuerpos variaron entre 2 a 128. Los resultados indican que el VHB-1 está difundido en los bovinos de la provincia de Melgar y, posiblemente, esté contribuyendo en la presentación de problemas respiratorios en animales jóvenes.

Palabras clave: bovino, virus herpes bovino tipo 1, rinotraqueitis infecciosa bovina, anticuerpos

¹Práctica privada

²Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano-UNA

³Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, FMV-UNMSM

E-mail: hriverag2005@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

Puno es uno de las regiones con mayor población ganadera del país en donde la actividad pecuaria se realiza en el 80% de su territorio (Gobierno Regional de Puno, 2003). Cuenta con una población de 598,990 bovinos y la provincia de Melgar con 91,710 bovinos criollos y cruces con Brown Swiss. El ganado es criado en forma extensiva o semiextensiva, es alimentado con pastos naturales y cultivados y, generalmente, se carece de programas sanitarios de control de parásitos y agentes bacterianos o virales, con excepción de vacunaciones contra carbonosa y fiebre aftosa. Las enfermedades virales como la diarrea viral bovina y la rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB), que son causantes de problemas respiratorios y reproductivos y que están ampliamente difundidos en el país, no han sido debidamente investigados.

Datos proporcionados por los ganaderos de la zona indicaron que los problemas respiratorios son frecuentes, sobre todo en animales jóvenes. Muchos de estos problemas son causados por agentes bacterianos como la *Pasteurella* sp., y virus respiratorios como el Virus Herpes Bovino tipo-1 (VHB-1), agente causal de la RIB, ampliamente distribuido en el mundo y que es uno de los agentes más importantes que causan afecciones respiratorias en bovinos de crianza intensiva (Rivera *et al.*, 1994). Otro de los problemas referidos por los ganaderos fue la ocurrencia de abortos donde también el agente causal de la RIB podría estar involucrado.

El VHB-1 es un miembro del género Varicelovirus de la familia Herpesviridae, un virus ADN de estructura compleja y muy citolítico (Jones *et al.*, 2000). La enfermedad fue descrita en la década del 50 en los Estados Unidos como un problema respiratorio, y actualmente tiene una distribución mundial. La transmisión es por vía aerógena y a través del semen; el virus se replica en todas las células del animal ocasionando varias formas clínicas: respiratoria, aborto-

génica, conjuntivitis, mastitis y encefalitis que ocurre generalmente en terneros. La infección primaria conlleva al desarrollo de una respuesta inmunitaria celular y humoral, pero en algunos animales el VHB-1 puede persistir en forma latente en las neuronas sensoriales del ganglio trigémino o sacro, desde donde puede reactivarse ocasionando infecciones recurrentes (Roizman *et al.*, 1992; Winkler *et al.*, 2000).

En el Perú, la enfermedad clínica fue observada en 1965 en un grupo de vaquillonas importadas durante el periodo de la cuarentena sanitaria (E. De la Vega, comunicación personal). Posteriores estudios serológicos realizados en bovinos y otros ruminantes han demostrado su amplia difusión (Rosadio *et al.*, 1993; Manchego *et al.*, 1998; Zacarías *et al.*, 2002). Abortos ocasionados por el VHB-1 pueden observarse en forma esporádica (Rivera, 2001); sin embargo, el virus es un componente importante del complejo respiratorio en establos de bovinos productores de leche y ganado para engorde, ocasionando pérdidas económicas para el ganadero (Rivera *et al.*, 1994; Zanabria *et al.*, 2000).

En la provincia de Melgar, no existe información sobre la presencia de la RIB en bovinos y menos en otras especies, a pesar de que existen evidencias de problemas respiratorios y abortos. No existen restricciones con respecto a enfermedades como RIB en el movimiento de bovinos dentro del país, pudiendo ingresar un animal o animales infectados a zonas libres de la infección. Es así que el objetivo del presente estudio fue investigar la seroprevalencia del VHB-1, agente causal de la RIB, en bovinos mayores a 6 meses en la provincia de Melgar, Puno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El estudio de campo se realizó en los nueve distritos de la provincia de Melgar, ubicada al noroeste de la Región de Puno. La

zona presenta una altitud cercana a los 4,000 msnm, el clima es frío y con un promedio de precipitación anual de 831 mm.

Las muestras se analizaron en el Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Animales y muestras

Bovinos mayores a seis meses de edad, sin distinción de sexo ni raza, se muestrearon en forma aleatoria. Las muestras fueron obtenidas por punción de la vena yugular. El suero se obtuvo por centrifugación en los laboratorios de SENASA-Melgar, dentro de las 24 horas de la colección de la muestra. Los sueros, en viales de 2 ml, fueron transportados a Lima y conservados en congelación a -20°C hasta su procesamiento.

Detección de anticuerpos

La detección de los anticuerpos neutralizantes contra el VHB-1 se realizó mediante la prueba de neutralización viral, según la técnica descrita por la Oficina Internacional de Epizootias (OIE, 2004).

Se empleó cultivos secundarios de células de cornete nasal de feto bovino (CNB) libres del virus de la diarrea viral bovina (VDVB), preparados en el Laboratorio de Virología como sistema indicador de la prueba de neutralización viral. Las células fueron cultivadas empleando medios de cultivo MEM (Eagle Minimum Essential Medium) y L-15 (Leibovitz) (Sigma, EE.UU.), en una proporción 50:50 y suplementados con el 10 % de suero fetal bovino libre de VDVB y antibióticos (Sigma, EE.UU.). El virus VHB-1 utilizado como antígeno, fue la cepa Cooper (Ames, EE.UU.), cepa prototipo del VHB-1 con un título de $10^5\text{DI}_{50}\text{cc}/50\text{ ml}$.

El título del suero fue la dilución más alta capaz de neutralizar del 75 a 100% de la capacidad infectiva del virus, evidenciado por la ausencia de lesión celular. Los títulos del sue-

ro mayores o iguales a 1:2 fueron considerados positivos a anticuerpos.

Tamaño muestral

El tamaño de la muestra ($n = 382$) fue determinado mediante el método de muestreo simple al azar, empleando una prevalencia de 50%, con un nivel de confianza de 95% y un error de precisión de 5% (Thrusfield, 1990). El número de muestras por distrito se indica en el Cuadro 1.

Análisis de datos

La seroprevalencia del VHB-1 con un intervalo de confianza al 95% se determinó según la fórmula descrita por Thrusfield (1990). Se empleó la prueba de Chi Cuadrado para determinar posibles diferencias estadísticas entre grupos etarios.

Cuadro 1. Población animal y número de muestras recolectadas por distrito de la provincia de Melgar para un estudio de seroprevalencia del VHB-1 en bovinos mayores de 6 meses de edad

Distritos	Población	Muestras
Ayaviri	12,560	53
Nuñoa	17,300	72
Orurillo	13,950	58
Umachiri	12,780	53
Santa Rosa	10,610	44
Macari	10,030	42
Antauta	5,090	21
Llalli	5,080	21
Cupi	4,310	18
Total:	91,710	382

RESULTADOS

El 29.0 ± 0.1 (110/382) de los bovinos de la provincia de Melgar presentaron anticuerpos contra el VBH-1. La prevalencia de animales positivos fue similar en to-

dos los distritos con excepción del distrito de Antauta donde se observó únicamente el $5.0 \pm 0.1\%$ de animales positivos (Cuadro 2).

La seroprevalencia viral en animales con edades <2 y >2 años fue de 28.6 ± 0.1 (44/154) y 28.9 ± 0.1 (66/228). Los títulos de anticuerpos contra el VHB-1 en los 110 animales seroreactores estuvieron principalmente dentro del rango de 2 a 64 (Cuadro 3).

DISCUSIÓN

La prevalencia de bovinos con anticuerpos contra el VHB-1 ($29.0 \pm 0.1\%$, 110/382) detectados en el presente estudio indica que el virus está presente en la población bovina de la provincia de Melgar. Los anticuerpos detectados significan una infección natural con el virus de campo ya que los ganaderos no vacunan contra la RIB. Por otro lado, no han habido reportes de la enfermedad clínica de la RIB en animales adultos, pero el 90%

de los criadores reconocieron la ocurrencia de problemas respiratorios en animales jóvenes.

Es probable que el criador no pueda reconocer la enfermedad clínica o que ésta se presente en forma subclínica. Cuando un animal susceptible se infecta con el VHB-1, generalmente hace un cuadro clínico caracterizado por fiebre ($40-41^\circ\text{C}$), rinitis o traqueítis que se traduce en tos, y conjuntivitis que puede causar opacidad de la cornea. El animal puede recuperarse dependiendo de los mecanismos de defensa innata y adquirida, pero, usualmente, la infección viral predispone al animal a infecciones secundarias que puede ocasionar la muerte si no es tratado adecuadamente (Engels y Ackermann, 1996; Banks, 1999). Algunos de los animales que se recuperan quedan infectados de por vida ya que el virus permanece en estado de latencia, pero puede reactivarse en situaciones de estrés, excesiva carga parasitaria, infecciones con otros agentes, etc., ocasionándole infecciones de tipo agudo o subclínico, pero con eli-

Cuadro 2. Prevalencia de anticuerpos contra VHB-1 en bovinos de los distritos de la provincia de Melgar, Puno, determinado mediante la prueba de neutralización viral (2004)

Distritos	Muestras analizadas (n)	Muestras positivas al VHB-1	
		n	% \pm IC ¹
Ayaviri	53	15	28 ± 0.1
Orurillo	58	14	24 ± 0.1
Nuñoa	72	21	29 ± 0.1
Umachiri	53	17	32 ± 0.1
Santa Rosa	44	13	30 ± 0.1
Macari	42	15	36 ± 0.1
Antauta	21	1	05 ± 0.1
Llalli	21	8	38 ± 0.2
Cupi	18	6	33 ± 0.2
Total:	382	110	29 ± 0.1

¹ Intervalo de confianza al 95%

Cuadro 3. Distribución de títulos de anticuerpos neutralizantes contra el VHB-1 en 110 bovinos de la provincia de Melgar, Puno (2004)

Edad (años)	Títulos de anticuerpos ¹		
	2 - 8	16 - 64	128 - >256
<2	26	17	1
≥2	37	29	--
Total	63	46	1

¹ Inversa de la dilución

minación de virus y posible contagio a otros animales; situación que podría estar ocurriendo en los bovinos estudiados.

La prevalencia encontrada es similar a la observada en estudios previos en bovinos de la cuencas lecheras de Lima (Sánchez *et al.*, 2003), Arequipa, Trujillo, Cajamarca (H. Rivera, datos no publicados) donde la prevalencia viral no supera el 40%, a menos que el virus esté involucrado en la presentación del complejo respiratorio (Rivera *et al.*, 1994) o que afecte al ganado de engorde (Zanabria *et al.*, 2000). Sin embargo, estudios llevados a cabo en el valle del Mantaro, Junín, y Parinacochas, Ayacucho, señalan prevalencias mayores del 50% (Stâhl *et al.*, 2002; Zacarías *et al.*, 2002). Esta diferencia puede deberse a factores como raza, prácticas de manejo, tamaño de los hatos, etc. Las ganaderías bovinas de la provincia de Melgar y de Parinacochas son de tipo extensivo, con animales de doble propósito criados en hatos pequeños; sin embargo, Melgar es una región con antecedentes ganaderos y experiencia en la crianza de bovinos y, además, cuenta con una buena disposición de recursos hídricos, tierras fértiles para la producción de pastos naturales y cultivados; condiciones que minimizan los riesgos naturales y biológicos, causantes de estrés y predisposición de los bovinos a la infección por el virus.

La mayor prevalencia viral se encontró en los animales del distrito de Llalli (38.0 ±

0.2%) y la menor prevalencia en Antauta (5.0 ± 0.1%) (Cuadro 2). Si bien ambos distritos poseen la menor población bovina de la provincia de Melgar, Llalli dispone de ganado mejorado, utiliza inseminación artificial y monta natural, pero los reproductores no cuentan con certificados sanitarios de ser libres de infecciones como el VHB-1 o el virus de la diarrea viral bovina, y los animales son llevados a ferias ganaderas donde concurren animales de diversas condiciones sanitarias. A diferencia, la ganadería bovina no es una actividad importante en Antauta ni hay introducción de animales con fines de mejoramiento genético, lo que podría significar un mínimo riesgo de introducción y difusión del VHB-1. La introducción de agentes virales como el VHB-1 en el ganado nativo a través de reproductores o con el uso de semen congelado con fines de mejoramiento genético ha sido descrito en otras latitudes y observado en el Perú (van Oirschot, 1995; Tan *et al.*, 2006; H. Rivera, comunicación personal).

No hubo diferencia estadística en la prevalencia de animales seropositivos contra el VHB-1 entre animales menores y mayores de dos años. Estos resultados sugieren que los animales adultos serían la fuente de infección para los animales jóvenes y que los problemas respiratorios reportados por los criadores pudieron ser causados por el VHB-1. Los anticuerpos neutralizantes son capaces de eliminar al virus del organismo, pero la respuesta inmunitaria mediada por

linfocitos Th1 es responsable del control de la infección herpética (Babiuk *et al.*, 1996, Engels y Ackermann, 1996). Los títulos de anticuerpos encontrados son usualmente observados en infecciones por herpes que no se encuentren asociadas con infecciones agudas. El animal <2 años de edad con un título de 128 podría haberse recuperado poco antes de la toma de muestra o haber sufrido una reactivación subclínica reciente (Schettino *et al.*, 1996; Van Reenen *et al.*, 2000).

CONCLUSIONES

- El virus herpes bovino tipo I (VHB-1), agente causal de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, se encuentra difundido entre los bovinos de los nueve distritos de la provincia de Melgar, Puno, con una prevalencia de $29.0 \pm 0.1\%$.
- La prevalencia del VHB-1 fue similar en animales jóvenes (<2 años) y adultos (≥ 2 años).

Agradecimiento

Los autores agradecen al MVZ Reinaldo Llano Flores por su apoyo en el desarrollo del trabajo de campo y a los ganaderos de Melgar, Puno, por su gran disposición para el muestreo de los animales.

LITERATURA CITADA

1. **Babiuk, L.; S. van Drunen; S. Tikoo. 1996.** Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Vet. Microbiol.* 53: 31-42.
2. **Banks, M. 1999.** Living with IBR. *Holstein J.* 3: 84-87.
3. **Engels, M.; M. Ackermann. 1996.** Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Vet. Microbiol.* 53: 3-15.
4. **Gobierno Regional de Puno. 2006.** Plan de desarrollo de la Región Puno 2003-2006. Puno. 48 p.
5. **Jones, C.; T.J. Newby; T. Holt; A. Doster; M. Stone; J. Ciacci-Zanella; C.J. Webster; M.W. Jackwood. 2000.** Analysis of latence in cattle after inoculation with a temperature sensitive mutant of bovine herpesvirus 1 (RIB106). *Vaccine* 18: 3185-3195.
6. **Manchego, A.; H. Rivera; R. Rosadio. 1998.** Seroprevalencia de agentes virales en rebaño mixto de una comunidad andina peruana. *Rev. Inv. Pec. IVITA* 9: 1-10.
8. **Office International of Epizooties. 2004.** Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Infectious Bovine Rhinotracheitis / Infectious Vulvovaginitis. Ch. 2.3.5. O.I.E. Paris.
9. **Roizman, B.; R.C. Desrosiers; B. Fleckenstein; C. Lopez; A.C. Minson; M.J. Studdert. 1992.** The family Herpesviridae: an update. *Arch. Virol.* 123: 425-429.
10. **Rivera, H. 2001.** Etiología infecciosa del aborto bovino. *Rev. Inv. Vet., Perú Supl.* 1: 95-99.
11. **Rivera, H.; A. Manchego; N. Sandoval. 1994.** Complejo respiratorio bovino en terneros del valle de Lima. *Rev. Inv. Pec. IVITA* 7: 35-38.
12. **Rosadio, R.; H. Rivera; A. Manchego. 1993.** Prevalence of neutralising antibodies to Bovine Herpesvirus-1 in Peruvian livestock. *Vet. Rec.* 132: 611-612.
13. **Sánchez, G.; A. Benito; H. Rivera. 2003.** Seroprevalencia del virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina en ganado lechero del valle de Lima. *Rev. Inv. Vet., Perú* 14: 54-60.
14. **Ståhl, K.; H. Rivera; I. Vagsholm; J. Moreno-López. 2002.** Bulk milk for antibody seroprevalences to BVDV and BHV-1 in a rural region of Peru. *Prev. Vet. Med.* 56: 193-202.
15. **Schettino, D.; M. Santo; L. Gogorza; G. Arroyo; J. Torres; P. Moran. 1996.** Comportamiento epidemiológico de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en un rodeo de cría y otro de tambo. Tandil,

- Buenos Aires, Argentina. *Avances Cienc. Vet.* 11: 30-36.
16. **Tan, M.T.; Y. Yildirim; N. Erol; A.B. Gungor. 2006.** The seroprevalence of Bovine Herpes Virus type 1 (BHV-1) and Bovine Leukemia Virus (BLV) in selected dairy cattle herds in Aydin province, Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 30: 353-357.
17. **Thrusfield, M. 1990.** *Epidemiología veterinaria.* p 42. Ed. Acribia. España.
18. **Van Oirschot, J. 1995.** Bovine Herpes Virus -1 in semen of bulls and the risk of transmission: a brief review. *Vet. Quarterly* 17: 29-33.
19. **Van Reenen, C.; M. Mars; I. Leushuis; F. Rijsewijk; J. Van Oirschot; H. Blokhuis. 2000.** Social isolation may influence responsiveness to infection with Bovine Herpesvirus 1 in veal calves. *Vet. Microbiol.* 75: 135-143.
20. **Winkler, M.; A. Doster; C. Jones. 2000.** Persistence and reactivation of Bovine Herpesvirus 1 in the tonsils of latently infected calves. *J. Virol.* 74: 5337-5346.
21. **Zacarías, E.; A. Benito; H. Rivera. 2002.** Seroprevalencia del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa en bovinos criollos de Parinacochas, Ayacucho. *Rev. Inv. Vet., Perú* 13: 61-65.
22. **Zanabria, V.; H. Rivera; R. Rosadio. 2000.** Etiología del síndrome neumónico agudo en vacunos de engorde en Lima. *Rev. Inv. Vet., Perú* 11: 67-85.