

## ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA Y SU ASOCIACIÓN CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS EN BORREGAS DE UNA EMPRESA OVEJERA DE LA SIERRA CENTRAL DEL PERÚ

### ANTIBODIES AGAINST BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS AND ITS ASSOCIATION WITH REPRODUCTIVE PROBLEMS IN EWES OF THE CENTRAL SIERRA OF PERU

Daniel Flores B.<sup>1</sup>, Hermelinda Rivera G.<sup>1,2</sup>, César Gavidia Ch.<sup>3</sup>,  
Alberto Manchego S.<sup>1</sup>

#### RESUMEN

El objetivo del presente estudio Caso-Control fue determinar la asociación del virus de la diarrea viral bovina (vDVB) y los problemas reproductivos en borregas adultas de una empresa ovejera de la Sierra Central del Perú. Se seleccionaron 440 borregas de dos localidades de la empresa y se estratificaron en un grupo Caso (n = 220) constituido por borregas que abortaron, borregas que resultaron vacías por primera vez (vacía simple) y borregas que resultaron vacías en dos campañas consecutivas (vacía doble), y en grupo Control (n = 220) constituido por borregas que no presentaron problemas reproductivos. Se colectó muestras de sangre para la detección de anticuerpos contra el vDVB mediante la prueba de neutralización viral. El  $69.5 \pm 4.4\%$  (306/440) de las borregas presentaron anticuerpos contra el vDVB, correspondiendo 73.6% (162/220) a borregas del grupo Caso y 65.5% (144/220) al grupo Control. No hubo asociación estadística entre las variables presencia de anticuerpos contra el vDVB y la presencia de problemas reproductivos. Los títulos de anticuerpos contra el vDVB en ambos grupos tuvo un rango de 2 a >256. Los resultados indican que el vDVB está difundido en la población de borregas de la empresa ovejera pero su rol en la presentación de los problemas reproductivos no pudo ser determinado.

**Palabras clave:** borregas, pestivirus, diarrea viral bovina, anticuerpos, aborto

#### ABSTRACT

The aim of the Case-Control study was to determine the association between bovine viral diarrhea virus (BVDV) and reproductive failure in ewes from a commercial farm in the Central Sierra of Peru. Four hundred and forty ewes from two farm locations were randomly selected into two groups: the Case group (n=220) included barren and aborting ewes, and the Control group formed by ewes without reproductive failures. Blood samples were collected from both groups for testing antibodies against BVDV by the neutralization

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, <sup>3</sup> Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima

<sup>2</sup> E-mail: hriverag2005@yahoo.es

test. The  $69.5 \pm 4.4\%$  (306/440) of ewes of both groups had antibodies against BVDV, while 73.6% (162/220) of seropositive ewes were from the Case group and 65.5% (144/220) were from the Control group. None statistical association between seropositive ewes and reproductive failures was found. Antibody titers against BVDV in both groups ranged from 2 to >256. The results indicate that BVDV is widely distributed in the sheep population but its role in the reproductive failures could not be determined.

**Key words:** ewe, pestivirus, bovine viral diarrhea virus, antibody, reproductive failure

## INTRODUCCIÓN

La población ovina en el Perú es de 14.5 millones de cabezas (FAO, 2009), estando principalmente distribuidas en los departamentos de Puno, Cusco y Junín (INEI, 1994). Se considera que el 30% de los ovinos son criados con un adecuado nivel tecnológico, mientras que el 70% restante están en manos de comunidades campesinas y pequeños criadores, constituyendo el sustento de numerosas familias.

La crianza ovina en el país atraviesa por una serie de dificultades para su comercialización, así como de tipo técnico para su adecuado desarrollo, entre ellos el problema sanitario. En empresas con sistemas de producción tecnificado, los problemas respiratorios, gastroentéricos y reproductivos de origen parasitario, bacteriano y viral son frecuentes (Davies, 1985). Dentro de los problemas infecciosos que afectan la productividad ovina se encuentra el parasitismo, la epididimitis causada por *Brucella ovis*, leptospirosis, salmonelosis, la Enfermedad de la Frontera (EF) y la Diarrea Viral Bovina (DVB) (Kirkbride y Johnson, 1989).

Los virus de la DVB y EF pertenecen al género pestivirus, familia Flaviviridae (Moenning, 1990; Mayo y Pringue, 1997). Afectan al bovino y ovino, respectivamente, aunque las infecciones inter-especie son comunes entre ambos agentes virales. Ambos pestivirus afectan la eficiencia reproductiva (Brownlie, 1990; Baker, 1995). La infección con los virus de la DVB y EF en borregas y vacas tienen efectos clínicos similares, sien-

do usualmente de tipo subclínico en animales adultos y no gestantes, en tanto que en animales gestantes pueden ocasionar abortos, malformaciones congénitas, nacimientos de corderos prematuros o débiles, y corderos con mala calidad de lana (Nettleton *et al.*, 1998; Scherer *et al.*, 2001).

En una empresa asociativa del país, se ha observado hasta 6% de abortos y nacimientos de corderos con pelo en vez de lana (Rosadio y Ameghino, 1999). Las fallas reproductivas en el ovino pueden deberse a un sinnúmero de causas pero, dentro del aspecto infeccioso, el virus de la DVB (vDVB) debe ser considerado en el diagnóstico diferencial por ser un agente ampliamente distribuido en bovinos de la Sierra Central (Rivera *et al.*, 2002).

El presente estudio de caso-control tuvo por objetivo determinar la asociación entre la presencia de anticuerpos contra el vDVB y la ocurrencia de problemas reproductivos caracterizados por aborto e infertilidad en una empresa ovejera de la Sierra Central durante la campaña reproductiva de 2003.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales y Muestreo

El estudio se realizó en 440 borregas de 2 a 7 años de edad, en etapa reproductiva, aparentemente sanas y criadas en dos zonas de pastoreo de una empresa asociativa ovina de Jauja, Junín. Las zonas de pastoreo A y B estaban localizadas a una altitud de 3900 y

4200 msnm, respectivamente, y presentaron condiciones similares de pastura y manejo.

El tamaño de muestra (número de animales) se calculó usando el programa Win Episcopo 2.0, tomando como base el método de Schlesselman (Schlesselman, 1982), utilizado en estudios de Caso-Control no pareado, para determinar la relación entre la exposición a un factor y la enfermedad.

El muestreo se realizó en octubre de 2003 durante la faena de diagnóstico de preñez mediante la técnica del perneo. La población ovina se estratificó en dos grupos en base a la información reproductiva: el grupo Caso constituido por borregas con problemas reproductivos de abortos, por borregas que no preñaron por primera vez (vacía simple) y las que no preñaron en dos campañas consecutivas (vacía doble), y el grupo Control constituido por borregas sin problemas reproductivos.

Se colectó muestras de sangre con vacutainers de la vena yugular y el suero se obtuvo por centrifugación en la Estación Experimental del IVITA-Mantaro. Los sueros se transportaron al Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, y se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **Detección de Anticuerpos contra el vDVB**

Se hizo mediante la prueba de neutralización viral, según la técnica descrita por la OIE (2009). Para el efecto, se utilizó cultivos primarios de células de cornete nasal de feto bovino (CNB) libres de vDVB y vEF como sistema indicador de prueba de neutralización viral. Las células fueron cultivadas empleando medios de cultivo MEN (Minimal Essential Medium) y L-15 (Liebowitz) en una proporción 50:50, suplementados con 10% de suero fetal bovino libre de vDVB y antibióticos (SIGMA, USA). El virus utilizado fue la cepa Singer prototipo del biotipo CP, genotipo I del vDVB con título de  $10^{-5} \text{DI}_{50} \text{CC}/50\mu\text{l}$ .

### **Análisis de Datos**

Los datos se analizaron con el programa Win Episcopo 2.0. Los datos se estandarizaron por edad de los animales para determinar si existe diferencia estadística. Luego, las variables se analizaron con la prueba de Chi Cuadrado. Además, se aplicó la regresión logística para determinar posible asociación entre las variables seropositividad, edad, lugar de procedencia y problemas reproductivos.

## **RESULTADOS**

El  $69.5 \pm 4.4\%$  (306/440) de los animales resultaron seropositivos al vDVB. El  $73.6 \pm 6.1\%$  (162/220) correspondió al grupo Caso y el  $65.5 \pm 6.5\%$  (144/220) al grupo Control, sin diferencia estadística entre grupos. La distribución de las borregas seropositivas fue similar entre las dos zonas (A y B) de procedencia. La ocurrencia de los problemas reproductivos de borregas positivas a anticuerpos contra el vDVB del grupo Caso se muestran en el Cuadro 1.

El promedio de la edad de las borregas del grupo Caso fue de  $4.2 \pm 1.9$  y del grupo Control fue de  $4.0 \pm 1.7$ , no existiendo diferencias estadísticas entre grupos. La prueba de Chi Cuadrado indicó ausencia de asociación entre las variables presencia de anticuerpos contra el vDVB en las borregas de ambos grupos; asimismo, el análisis de regresión logística indicó ausencia de asociación entre las variables estudiadas (seropositividad, edad y lugar de procedencia) y la presencia de problemas reproductivos.

Los niveles de anticuerpos contra el vDVB variaron entre 2 a mayores a 256. La distribución de los títulos de anticuerpos en las borregas del grupo Caso y Control se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Frecuencia de ovejas con problemas reproductivos (grupo Caso) que resultaron seropositivas al virus de la Diarrea Viral Bovina (2003)

Problema reproductivo	Animales (N.º)	Animales seropositivos al vDVB			
		Zona A	Zona B	Total	
				N.º	%
Aborto	135	46	59	105	47.7
Vacía simple <sup>1</sup>	34	14	4	18	8.2
Vacía doble <sup>2</sup>	51	27	12	39	17.7
Total	220	87	75	162	73.6

<sup>1</sup> No preñaron por primera vez<sup>2</sup> No preñaron en dos campañas consecutivas

Cuadro 2. Frecuencia de borregas con títulos de anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral Bovina del grupo Caso y del grupo Control (2003)

Título de anticuerpos	Grupo Caso			Grupo Control		
	Zona de estudio		Total	Zona de estudio		Total
	A	B		A	B	
2 - 8	38	39	77	41	28	69
16 - 64	34	24	58	20	28	48
128 - >256	15	12	27	12	15	27
Total	87	75	162	73	71	144

## DISCUSIÓN

Los anticuerpos detectados contra el vDVB en borregas de los grupos Caso y Control indican exposición de los animales al virus de campo. Estos anticuerpos podrían haber sido inducidos por el vDVB o por el virus de la EF, o por ambos a la vez, ya que los dos pestivirus comparten estructura antigénica (Paton *et al.*, 1994; Sullivan *et al.*, 1994), lo que dificulta su diferenciación por la prueba de neutralización viral, sobre todo en títulos bajos.

El vDVB afecta principalmente al bovino y el vEF al ovino, pero ambos pueden cruzar la barrera de especie. Esta estrecha

relación antigénica permite que ambos virus puedan ser utilizados como antígenos en las pruebas de laboratorio para detectar anticuerpos. Sin embargo, los anticuerpos antigénico específico suelen tener mayor avidéz y un mayor título contra el antígeno específico (Saliki y Dubovi, 2004). En el presente estudio, al haberse utilizado como antígeno el vDVB, los resultados indican que las borregas con títulos de anticuerpos mayores a 256 han estado infectadas por el vDVB.

El  $69.5 \pm 4.4\%$  de borregas detectadas con anticuerpos contra el vDVB es un indicativo de una alta prevalencia de infección pestiviral en la zona de influencia de la empresa ovejera, sugiriendo fallas en el sistema

de manejo como uso de pasturas comunes entre ovinos y bovinos o, por lo menos, una cercanía física entre ambas especies favoreciendo las infecciones inter-especie. No se dispone de información sobre la prevalencia del vDVB en bovinos de la empresa en estudio, pero es probable que la infección esté difundida en el ganado bovino, pudiendo ser fuente de infección mutua si hubiese fallas en el manejo de los animales. Estudios realizados en bovinos en la zona vecina del valle del Mantaro detectaron prevalencias mayores a 70% en bovinos (Rivera *et al.*, 2002; Ståhl *et al.*, 2002), indicando una amplia distribución del virus en el valle y una fuente de contagio para los animales de la zona central del país.

La falta de asociación entre las variables presencia de anticuerpos contra el vDVB y los problemas reproductivos, así como entre seropositividad, edad y lugar de procedencia con los problemas reproductivos indican que el vDVB no fue la causa de los problemas reproductivos durante la campaña 2003 (Cuadro 1). Los abortos y las pérdidas embrionarias pudieron ser causados por otros agentes infecciosos o por causas no infecciosas. Un estudio realizado en los mismos animales detectó anticuerpos contra *Leptospira* sp, aunque tampoco se observó asociación entre seropositividad y problemas reproductivos, pero en ese caso se observaron mayores prevalencias y altos títulos de anticuerpos contra algunas serovariedades de *Leptospira* sp., en borregas del grupo Caso frente al grupo Control (Flores *et al.*, 2008).

Los títulos de anticuerpos contra el vDVB en ambos grupos de borregas fueron similares y variaron entre 2 a mayores a 256 (Cuadro 2). Usualmente, cuando el bovino es expuesto al vDVB desarrolla una buena respuesta inmunitaria, tanto humoral como celular, donde los anticuerpos aparecen y se elevan a partir de la segunda semana de infección y pueden tener larga duración (Brownlie, 1990). Los niveles de anticuerpos detectados en las borregas sugieren activi-

dad viral, y los bajos títulos podrían ser anticuerpos que estén en ascenso o en declinación, en tanto que los altos títulos corresponden a una infección reciente o se encuentran en la parte más alta de la curva conocida como meseta (Fredriksen *et al.*, 1999).

## CONCLUSIONES

- No existió asociación entre la presencia de anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral Bovina y los problemas reproductivos de aborto e infertilidad en las borregas.
- La frecuencia de anticuerpos contra el vDVB en las borregas estudiadas fue de  $69.5 \pm 4.4\%$ .

## LITERATURA CITADA

1. **Baker JC. 1995.** The clinical manifestations of bovine viral diarrhea infection. *Vet Clin N Am Food A* 11: 425-445.
2. **Brownlie J. 1990.** The pathogenesis of bovine virus diarrhea virus infections. *Rev Scie Tech (OIE)* 9: 43-59.
3. **Davies DH. 1985.** Aetiology of pneumonias of young sheep. *Prog Vet Microbiol Immunol* 1: 229-251.
4. **[FAO] Food and Agriculture Organization. 2009.** FAOSTAT. . [Internet], [15 diciembre 2009]. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=573>
5. **Flores A, Rivera H, Gavidia C. 2008.** Asociación de infección leptospiral y problemas reproductivos en ovejas de una empresa ganadera en la Sierra Central del Perú. *Rev Inv Vet, Perú* 20: 120-127.
6. **Fredriksen B, Sandvikt T, Loken T, Odejarrrd S. 1999.** Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine virus diarrhoea virus. *Vet Rec* 114: 111-114.



7. [INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO). 1994. [Internet], [5 de diciembre 2008]. Disponible en: <http://www.inei.gob.pe/>
8. Kirkbride C, Johnson MW. 1989. Serologic examination of aborted ovine and bovine foetal for the diagnosis of border disease, bluetongue, bovine viral diarrhoea and leptospiral infections. *J Vet Diagn Invest* 1: 132-138.
9. Mayo MA, Pringue CR. 1997. Virus taxonomy. *J Gen Virol* 79: 649-657
10. Moenning V. 1990. Pestivirus: a review. *Vet Microbiol* 23: 35-54.
11. Nettleton P, Gilray J, Russo P, Dllissi E. 1998. Border disease of sheep and goats. *Vet Rec* 29: 327-340.
12. [OIE] World Organization for Animal Health. 2009. Manual of standards for diagnostic test and vaccines for terrestrial animals 2009. Bovine Viral Diarrhoea. Vol 2, Ch 2.4.8. p 698-711.
13. Paton DJ, Carlsson U, Lowings JP, Sands JJ, Vilcek S, Alenius S. 1994. Identification of herds-specific bovine viral diarrhoea virus isolates from infected cattle and sheep. *Vet Microbiol* 43: 283-294.
14. Rivera H, Huamán K, Benito A, Díaz A, Arana C. 2002. Prevalencia del virus de la diarrea viral bovina y animales portadores del virus en un hato lechero del valle del Mantaro. *Rev Acad Peru Cienc Vet* 3: 1-7.
15. Rosadio R, Ameghino E. 1999. Enfermedades en ovinos en el Perú. Pub. Tec. N° 40. Lima: FMV-UNMSM. 81 p.
16. Salike JT, Dibovi EJ. 2004. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Vet Clin Food Anim* 20: 69-83.
17. Schlesselman JJ. 1982. Case-Control Studies: design, conduct, analysis. New York: Oxford University Press. 368 p.
18. Scherer CFC, Flores EF, Weiblen E, Caron L, Irigoyen LF, Neves JP, Maciel MN. 2001. Experimental infection of pregnant ewes with bovine viral diarrhoea virus type-2 (BVDV-2): effects on the pregnancy and fetus. *Vet Microbiol* 79: 285-299.
19. Ståhl K, Rivera H, Vagsholm I, Moreno-López J. 2002. Bulk milk testing for antibody seroprevalences to BVDV and BHV-1 in a rural region of Perú. *Prev Vet Med* 56: 193-202.
20. Sullivan D, Chang G, Trent D, Akkina R. 1994. Nucleotide sequence analysis of the structural gene coding region of pestivirus border disease virus. *Virus Res* 33: 219-228.