

## PREVALENCIA DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA Y DE ANIMALES PORTADORES DEL VIRUS EN BOVINOS EN LA PROVINCIA DE ESPINAR, CUSCO

### PREVALENCE OF BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS AND PERSISTENTLY INFECTED CATTLE IN THE PROVINCE OF ESPINAR, CUSCO

César Cárdenas A.<sup>1</sup>, Hermelinda Rivera G.<sup>1,2</sup>, Mariluz Arañga R.<sup>1</sup>, Mercy Ramírez V.<sup>1</sup>, Jimmy De Paz M.<sup>1</sup>

#### RESUMEN

Se determinó la prevalencia del virus de la diarrea viral bovina (VDVB) en bovinos mayores a seis meses de edad, entre hembras y machos (n = 406), pertenecientes a 114 pequeños criadores de tres comunidades de la cuenca de Ccañipía, provincia de Espinar, departamento del Cusco. La colección de sangre se realizó en tres grupos, según la edad (6 a 12, 13 a 23 y >24 meses de edad), para la detección de anticuerpos contra el VDVB, mediante la prueba de neutralización viral. El  $56.2 \pm 4.8\%$  (228/406) de las muestras tuvieron anticuerpos contra el VDVB. No se detectaron animales portadores del virus. Animales con anticuerpos fueron encontrados en los tres grupos etarios pero el 65.4% (149/228) de serorreactores estuvieron en el grupo mayor de 24 meses. El 51.3% (20/39) de los toros jóvenes y adultos presentaron anticuerpos contra el VDVB. Los títulos de anticuerpos variaron entre 2 a mayor a 256. El 42.1% de animales entre 13 a >24 meses de edad tuvo títulos entre 128 a >256. El 86.8% (99/114) de los criadores tuvieron al menos un animal seropositivo al VDVB.

**Palabras clave:** bovino, virus de la diarrea viral bovina, anticuerpos, antígeno, prevalencia

#### ABSTRACT

The prevalence of bovine viral diarrhea virus (BVDV) was evaluated in 406 cattle of both sexes and older than 6 months. Animals belonged to 114 small farmers from three rural communities of the province of Espinar, Cusco, Peru. Blood samples were collected according to three age groups (6-12, 13-23, >24 months old). Serum samples were tested for antibodies against BVDV using the viral neutralization test. The  $56.2 \pm 4.8\%$  (228/406) of samples had antibodies against BVDV. Persistently infected animals were not detected. Antibodies were present in the three age groups, but the highest prevalence (65.4%) was

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

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

detected in animals older than 24 months of age. The 51.3% (20/39) of young and adult bulls had antibodies against BVDV. Antibodies titers varied from 2 to >256, and high titers (128 to >256) were detected in 42.1% of animals of 13 to >24 months of age. The 86.8% (99/114) of the small farmers had at least one animal seropositive to BVDV.

**Key words:** bovine, bovine viral diarrhea virus, antibodies, antigen, prevalence

## INTRODUCCIÓN

El Perú cuenta con una población de 4 977 504 de cabezas de ganado bovino, donde 518 300 (11%) son vacas destinadas a la producción de leche, distribuidas en las cuencas de Lima, Cajamarca y Arequipa, con una producción de 153 780, 153 603 y 245 264 TM/año de leche, respectivamente (Gamara, 2001). Asimismo, más del 80% de la población bovina corresponde a ganado criollo localizado en la Sierra y criados en forma extensiva o semiintensiva, con escasa tecnología y con una producción de 700 a 2300 L de leche por campaña (Portal Agrario, 2008).

El desarrollo de la ganadería lechera intensiva en la costa del país dejará de ser rentable, a menos que se disponga del recurso forrajero como está ocurriendo en La Libertad, Cañete e Ica, como consecuencia del desarrollo de productos agrícolas para exportación. Por otro lado, existe un creciente interés en el desarrollo de ganadería lechera en zonas altoandinas con recurso forrajero, donde podría desarrollarse una ganadería rentable si se adoptan un conjunto de estrategias para mejorar la productividad de los pequeños y medianos ganaderos (La Revista Agraria, 2002; Portal Agrario, 2008).

Ccañipía es una pequeña cuenca ubicada en la provincia de Espinar, departamento de Cusco, a una altitud de 4000 msnm, en el piso ecológico denominado Puna. Dispone de un sistema de irrigación para el cultivo de pastos destinado a la crianza de cerca de 1800 cabezas Brown Swiss y sus cruces con ga-

nado criollo. Hay cerca de 180 criadores con un promedio de 12 animales por hatu, los cuales se crían en forma semi-intensiva con pastos cultivados y naturales con fines de producción de leche (Alagón G, Lima, comunicación personal). Esta cuenca tiene un gran potencial para el desarrollo de la ganadería lechera; sin embargo, se dispone de escasa información sobre el estado sanitario de los animales, aparte de la brucelosis y tuberculosis. Informaciones proporcionadas por los criadores indicaron la ocurrencia, cada vez mayor, de abortos y problemas respiratorios, sobre todo en terneros.

Los problemas reproductivos y respiratorios son de origen multifactorial, siendo los agentes infecciosos bacterianos y virales parte del problema. El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) es ampliamente conocido por ser uno de los causantes de fallas reproductivas, y que por su efecto inmunosupresor, predispone al animal a infecciones secundarias de origen bacteriano o viral. La enfermedad de la diarrea viral bovina (DVB) no es restrictiva para el tránsito de los animales dentro del país, lo que explica en parte su amplia difusión, no solo en la población bovina, sino también en otras especies como camélidos sudamericanos (Contreras *et al.*, 2000; Alvarez *et al.*, 2002; Victorio *et al.*, 2004).

El VDVB fue introducido al Perú a fines de la década del 60, y los estudios epidemiológicos demuestran que la DVB está difundida en la población bovina, especialmente en las principales cuencas lecheras (Cajamarca, Lima, Arequipa) y algunos valles interandinos, con prevalencias que varían

de 40% a más del 70% (Rivera, 2001; Stahl *et al.*, 2008); sin embargo, estos estudios no incluyen bovinos de comunidades altoandinas. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la seroprevalencia del VDVB en la población de bovinos mayores a seis meses de edad en comunidades de la cuenca de Ccañipía, departamento del Cusco.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de Estudio y Animales

El estudio se realizó en la cuenca de Ccañipía, provincia de Espinar, departamento de Cusco, situada a una altura de 4000 msnm, y a 450 km de la ciudad de Cusco.

El tamaño muestral se determinó mediante el método no paramétrico de muestreo simple al azar, considerando una prevalencia referencial de 46% (Quispe *et al.*, 2008), con un nivel de confianza del 95% y un error admisible de 5% (Daniel, 1996). Se trabajó con 406 animales, mayores de 6 meses, pertenecientes a 114 pequeños productores de las comunidades. La información se estratificó según la edad de los animales, en terneras (6-10 meses), vaquillas y vaquillonas (10-18 meses), vacas en producción y en seca (>19 meses), y toros y toretes (>10 meses).

### Colección de Muestras

Se colectó muestras de sangre por punción directa de la vena yugular de los animales mayores a 6 meses de cada hato seleccionado. Se registró la identificación del animal, sexo y categoría. Asimismo, en una hoja de encuesta, se colectó datos sobre abortos, infertilidad, problemas respiratorios y otros que el criador proporcionó. Todos los toros y toretes fueron muestreados por tratarse de animales que serían utilizados como reproductores en la zona.

El suero se obtuvo por centrifugación en un laboratorio de Espinar, y se transportaron

al Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), Lima, donde se almacenaron a -20 °C hasta su procesamiento.

### Cultivos Celulares

Se utilizaron cultivos celulares de cornete nasal de feto bovino, libres de VDVB, como sistema indicador. Las células fueron cultivadas empleando medios de cultivo Eagle Esencial Medium (MEM) y Leibowitz (L-15) (SIGMA, EEUU), en una proporción de 50:50 suplementadas con 10% de suero fetal bovino libre de VDVB y antibióticos (SIGMA, EEUU).

### Detección de Anticuerpos Contra VDVB

La detección de los anticuerpos contra el VDVB se realizó mediante la prueba serológica de neutralización viral, utilizando placas descartables de 96 hoyos, según la técnica descrita por la OIE (2009), y el protocolo disponible en el Laboratorio de Virología de la FMV de la UNMSM. Se empleó como antígeno la cepa NADL, prototipo del biotipo CP genotipo I, con un título de  $10^{-5}$   $DI_{50}$  CC/50  $\mu$ l.

Un suero fue considerado positivo a anticuerpos al ser capaz de neutralizar el 100% de  $DI_{50}$  CC/50  $\mu$ l del virus, evidenciado por la ausencia del efecto citopático en las células indicadoras, y negativo cuando el suero no fue capaz de neutralizar el 100% de  $DI_{50}$  CC/50  $\mu$ l del virus, observándose la presencia del efecto citopático en las células. Los títulos de suero iguales o mayores a la dilución 1:2 fueron considerados positivos a anticuerpos contra el VDVB.

### Detección del Antígeno Viral

Los sueros que resultaron negativos a anticuerpos contra el VDVB fueron analizados en busca de antígenos del VDVB

Cuadro 1. Detección de anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina en sueros de bovinos de la cuenca Ccañipía, Espinar, departamento de Cusco

Edad (meses)	Categoría animal	Muestras (n)	Positivos a VDVB (% $\pm$ IC)
6 – 9	Terneras	48	31.3 $\pm$ 13.1
10 – 18	Vaquillas y vaquillonas	85	51.8 $\pm$ 10.6
>19	Vacas en producción y en seca	234	63.7 $\pm$ 6.2
>10	Toros y toretes	39	51.3 $\pm$ 15.7
Total		406	56.2 $\pm$ 4.8

Cuadro 2. Distribución de títulos de anticuerpos neutralizantes contra el virus de la diarrea viral bovina en muestras de suero de bovinos procedentes de la cuenca Ccañipía, Espinar, Cusco

Categoría animal	Muestras (n)	Inversa de los títulos de anticuerpos contra el VDVB			Total
		2 - 8	16 - 64	128 - >256	
Terneras	48	7	4	4	15
Vaquillas y vaquillonas	85	10	15	19	44
Vacas en producción y en seca	234	34	54	61	149
Toros y toretes	39	5	3	12	20
Total	N. <sup>o</sup> 406	56	76	96	228
	%	24.6	33.3	42.1	

mediante la prueba de ELISA de captura (IDEXX, EEUU) para identificar animales con infecciones persistentes (PI).

### Análisis de Datos

La seroprevalencia fue expresada en porcentaje, con intervalo de confianza (IC) de 95%, y la asociación entre las variables presencia de anticuerpos y edad de los animales se analizó mediante la prueba de Chi cuadrado.

## RESULTADOS

El 56.2  $\pm$  4.8% (228/406) de las muestras presentaron anticuerpos contra el VDVB. Todos los grupos tuvieron animales positivos contra el VDVB, aunque el mayor porcentaje (65.4%) de los animales serorreectores fueron del grupo de vacas en producción y en seca (Cuadro 1). Los títulos de anticuerpos contra el VDVB estuvieron dentro del rango de 2 a >256 (Cuadro 2).

No se detectaron animales PI en sueros de animales que resultaron negativos a anticuerpos contra el VDVB. El 86.8% (99/114) de los ganaderos tuvieron, al menos, un animal con anticuerpos contra el virus.

## DISCUSIÓN

El  $56.2 \pm 4.8\%$  de los animales presentó anticuerpos contra el VDVB. Los anticuerpos detectados fueron inducidos por el VDVB de campo, ya que los criadores no utilizan la vacuna disponible en el mercado nacional para prevenir la enfermedad. Aproximadamente, el 90% del ganado presente en el área es Brown Swiss y sus cruces con bovinos criollos, sugiriendo que el virus ingresó a la población bovina de Ccañipía con animales infectados, aunque de apariencia saludable. El 70% o más de bovinos infectados con el VDVB desarrollan la enfermedad subclínica (Houe, 1995), pero eliminan virus por sus secreciones, por lo que un bovino infectado subclínicamente puede ser transportado de un lugar a otro. De esta forma, los animales infectados pueden haber ingresado a esta región con fines de crianza y mejora genética. Otra posibilidad, es a través de las ferias comunales, donde se venden y compran animales para cría, sin considerar el estado sanitario. El ingreso de otros agentes infecciosos causantes de enfermedades como la brucelosis y la artritis-encefalitis viral caprina pueden, también, ingresar a zonas libres con la introducción de animales infectados o portadores (Cárdenas y Rivera, 2001).

La presencia de animales con anticuerpos contra el virus en todos los grupos etarios, indica amplia difusión y actividad viral dentro de los animales de las tres comunidades (Cuadro 1). La actividad viral también sugiere el reciente ingreso del virus a una población susceptible, ya que en hatos pequeños, como los de Ccañipía, la infección por el VDVB ocurre en forma casi simultánea en todos los individuos susceptibles y, además, es autolimitante, debido a que todos

los animales del hato quedan naturalmente inmunizados. Sin embargo, también sugiere la existencia de animales PI que son la fuente del virus y eficientes transmisores de la infección en condiciones naturales, ya que en 2 a 4 meses de vida pueden infectar a más del 70% de los animales del hato (Houe, 1995, 1999; Sandvik, 2004; Brock, 2004; Stahl *et al.*, 2008).

El 63.7% (149/234) de las vacas en producción y en seca resultaron positivas a anticuerpos contra el VDVB. La prevalencia del VDVB suele incrementarse con la edad debido a reinfecciones, generando una buena respuesta inmunitaria. El 51% de prevalencia en vaquillas y vaquillonas indica actividad viral en este grupo, con el riesgo de haber generado un animal PI, si la infección ocurrió durante el primer tercio de la gestación. La similar prevalencia en los toros jóvenes y adultos sugiere el riesgo de transmitir la infección a través del semen, contribuyendo a la difusión del virus en los animales del hato o en aquellos que pastorean el área.

El 42.1% de los animales, incluyendo los toros, tuvieron títulos de anticuerpos entre 128 a mayores de 256, especialmente en los grupos de hembras jóvenes y adultas (Cuadro 2). Los títulos altos de anticuerpos contra el VDVB pueden significar infección reciente o reinfección, pero que rápidamente es controlada por el sistema inmunitario, persistiendo títulos elevados de anticuerpos por periodos largos (Fredriksen *et al.*, 1999). Sin embargo, la infección de los animales susceptibles en la etapa reproductiva puede ocasionar fallas reproductivas, caracterizada por abortos, nacimientos de terneros débiles y mortalidad de terneros por problemas neumónicos; debido a que el VDVB es un agente inmunodepresor y condicionante a infecciones con otros agentes infecciosos como la *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella*, virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina (McGowan *et al.*, 1993; Campbell, 2004) y el nacimiento de animales PI.

El 86.8% (99/114) de los criadores que permitieron el muestreo de sus animales tuvieron al menos un animal seropositivo al VDVB. La alta difusión del VDVB en los animales de las tres comunidades sugiere similares prácticas de manejo, como pasturas y fuentes de agua comunes y compra-venta de animales entre los criadores de las tres comunidades. En un estudio similar efectuado en la irrigación de Majes, Arequipa, el 47.2% de los animales de 57 hatos tuvieron anticuerpos contra el VDVB (Huamán *et al.*, 2007) indicando similares prácticas de manejo. Las altas prevalencias del VDVB en un hato o zona ganadera, indica la existencia de una fuente de infección que son los animales PI (Lindberg y Alenius, 1999), pero también un deficiente sistema de manejo y falta de bioseguridad que promueven la transmisión de la infección viral.

En el presente estudio no se detectaron animales PI. La ausencia de animales PI en el momento del muestreo pudo deberse a que solo se muestrearon animales mayores de 6 meses, ya que usualmente estos animales mueren durante los primeros meses de edad, debido a infecciones secundarias del tracto respiratorio o gastrointestinal. Además, a una altitud sobre 4000 msnm, los terneros PI tienen menos oportunidad de sobrevivir por las condiciones climáticas. En las cuencas lecheras como Cajamarca, Lima y Arequipa, donde el sistema de crianza es mayormente intensivo o semiintensivo, los animales PI son detectados en animales que pueden llegar hasta el primer parto, pero no existen reportes de animales PI en vacas de más de dos años (Chacón *et al.*, 2003; Huamán *et al.*, 2007).

## CONCLUSIONES

- ? El VDVB está difundido en el ganado bovino en las tres comunidades de Ccañipía, provincia de Espinar, Cusco, con una prevalencia de 56.2%.

- ? La presencia de anticuerpos en diversos títulos indica actividad viral.
- ? No se detectó animales persistentemente infectados con el VDVB.

## LITERATURA CITADA

1. **Álvarez S, Rivera H, Pezo D, García W. 2002.** Detección de anticuerpos contra pestivirus en rumiantes de una comunidad campesina de la provincia de Canchis, Cusco. *Rev Inv Vet, Perú* 13(1): 46-51.
2. **Brock KV. 2004.** Strategies for the control and prevention of bovine viral diarrhea virus. *Vet Clin Food Anim* 20: 171-180.
3. **Campbell JR. 2004.** Effect of bovine viral diarrhea virus in the feedlot. *Vet Clin Food Anim* 20: 39-50
4. **Cárdenas J, Rivera H. 2001.** Brucella abortus en bovinos de la provincia de Tambopata, Madre de Dios. *Rev Acad Peru Cienc Vet* 2: 6-10.
5. **Contreras H, Ståhl K, Arana C, Rivera H. 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(1): 58-65.
6. **Chacón J, Benito A, Rivera H. 2003.** Detección de animales portadores del virus de la diarrea viral bovina en un establo vacunado y en otro sin vacunar del valle de Lima. *Rev Acad Perú Cienc Vet* 3: 14-23.
7. **Daniel W. 1996.** Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 3ª ed. México: Limusa. 924 p.
8. **Fredriksen B, Sandvik T, Loken T, Odegaard S. 1999.** Level and duration of serum antibodies in cattle infected experimentally and naturally with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Rec* 144: 111-114.
9. **Gamarra M. 2001.** Situación actual y perspectivas de la ganadería lechera en la cuenca de Lima. *Rev Inv Vet, Perú* 12(2): 1-13.

10. **Houe H. 1995.** Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin N Am: Food A* 11: 521-547.
11. **Houe H. 1999.** Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet Microbiol* 64: 89-107.
12. **Huamán JC, Rivera H, Araínga M, Gavidia C, Manchego A. 2007.** Diarrea viral bovina y animales portadores del virus en hatos productores de leche de la irrigación de Majes, Arequipa. *Rev Inv Vet, Perú* 18: 141-149.
13. **La Revista Agraria 41. 2002.** [Internet], [20 marzo 2008]. Disponible en: <http://www.cepes.org.pe/revista/r-agra41/arti-01c.htm>
14. **Lindberg AIE, Alenius S. 1999.** Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet Microbiol* 64: 197-222.
15. **McGowan M, Kirkland P, Rodwell B, Kerr D, Carroll C. 1993.** A field investigation of the effects of bovine viral diarrhoea virus around the time of insemination on the reproductive performance of cattle. *Theriogenology* 39: 443-449.
16. **[OIE] Office International des Epizooties. 2009.** World organization for animal health. Bovine Viral Diarrhoea in: *Manual of standards diagnostic tests and vaccines*. p. 698-711.
17. **Portal Agrario. 2008.** Lima: Ministerio de Agricultura. [Internet], [22 marzo 2008]. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe/pecuaria/sector-pecuario-en-el-peru.html>
18. **Quispe R, Ccama A, Rivera H, Araínga M. 2008.** El virus de la diarrea viral en bovinos criollos de la provincia de Melgar, Puno. *Rev Inv Vet, Perú* 19: 176-182.
19. **Rivera H. 2001.** Causas frecuentes de aborto bovino. *Rev Inv Vet, Perú* 12: 117-122.
20. **Sandvick T. 2004.** Progress of control and prevention programs for bovine viral diarrhoea virus in Europe. *Vet Clin N Am: Food A* 20: 151-169.
21. **Ståhl K, Lindberg A, Rivera H, Ortiz C, Moreno-López J. 2008.** Self-clearance from VDVB infections-A frequent finding in dairy herds in an endemically infected region in Peru. *Prev Vet Med* 83: 285-296.
22. **Victorio W, Rosadio R, Rivera H, Manchego A. 2004.** Seroprevalencia de virus neumopatógenos en alpacas adultas de la provincia de Canchis, Cusco. *Rev Inv Vet, Perú* 15: 127-131.