

Estudio serológico de la Diarrea Viral Bovina en bovinos en el Uruguay

Saizar, J.^{1,2} ; Gil, A.²

RESUMEN

Se realizó un estudio serológico de Diarrea Viral Bovina (DVB) en rodeos de carne y algunos de leche, mediante la técnica de ELISA indirecta para identificación de anticuerpos en suero. Fueron estudiados un total de 1.485 sueros provenientes de 152 establecimientos de 10 departamentos del país, (Artigas, Cerro Largo, Durazno, Lavalleja, Paysandú, Rio Negro, Rivera, Salto, Tacuarembó, y Treinta y Tres). El índice de prevalencia cruda encontrado fue entre 60,5% a 62,9% con un nivel de confianza del 95%, detectándose entre un 99,2% a 99,4% de establecimientos positivos. Estos resultados confirman que esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuída en el país.

Palabras Clave: *DVB, serología, Uruguay*

SUMMARY

A serological survey for Bovine Viral Diarrhea (BVD) in beef cattle, including a few dairy herds was performed using the indirect ELISA test for the identification of circulating antibodies. The survey included 1.485 sera samples from 152 farms from 10 provinces of the country (Artigas, Cerro Largo, Durazno, Lavalleja, Paysandú, Rio Negro, Rivera, Salto, Tacuarembó, and Treinta y Tres). The crude prevalence index established was between 60,5% and 62,9% with a confidence level of 95%. The percentage of positive farms identified was between 99,2% and 99,4%. Results indicate that this disease is widely distributed in the country.

Keywords: *DVB, serology, Uruguay*

INTRODUCCION

La Diarrea Viral Bovina (DVB), es una enfermedad distribuída mundialmente que presenta un amplio espectro de síndromes clínicos. Estas manifestaciones incluyen las infecciones subclínicas que ocurren en un 80/90% (ochenta o noventa por ciento) de los casos, reabsorción embrionaria, momificación fetal, defectos congénitos, abortos, inmunotolerancia y dos formas fatales (Enfermedad de las Mucosas (EM) y la forma hemorrágica con trombocitopenia). (2,3,15).

El agente causal, es un virus miembro del género Pestivirus, de la familia Flaviviridae cuyo genoma es una molécula de RNA monocatenario que replica en el citoplasma de las células huésped.(18). Existen dos biotipos diferentes, citopatogénico (CP) y no citopatogénico (NCP), de acuerdo con su comportamiento en cultivos celulares,(10,13). Según su comportamiento clínico, existen dos genotipos, el causante de las afecciones embrionarias y el de la forma hemorrágica trombocitopénica, esta última con alta morbilidad y letalidad.(21).

La enfermedad se transmite

principalmente por inhalación e ingestión del agente a través de saliva, orina, heces, corrimiento ocular, semen y secreciones uterinas contaminadas. El virus es teratogénico, produciendo infección fetal, cuya magnitud depende de la etapa de la preñez en que se encuentra la madre. (3,8,9,15, 20,21,26).

El animal persistentemente infectado (PI), es la fuente principal de difusión de la enfermedad y de su perpetuación en los rodeos. El mismo resulta de la infección por el virus de DVB de una hembra susceptible en una etapa temprana de la gestación

¹ DILAVE «M.C.Rubino»,MGAP - Casilla 6577, Montevideo - Fax: 22.11.57-e-mail: julia@pedeciba.edu.uy

² Fac. Veterinaria

- Financiado por International Foundation for Science-IFS Grant B-1134-F

- Aprobado 31/05/99

(100/150 días). En este momento el feto no ha desarrollado aún su sistema inmune y toma al virus como propio, no desarrollando anticuerpos y al nacer presentará una viremia que permanecerá toda su vida, excretando el virus constantemente por vía nasal, bucal, urinaria y fecal. (7,8,9,16,26). Estadísticamente estos animales ocurren en los rodeos entre el 1% y el 2%. Cualquier medida de control que se adopte deberá contemplar la identificación y eliminación de estos animales PI.(4,14,17).

La enfermedad de las mucosas ocurre esporádicamente y solamente en aquellos animales PI que se sobreinfectan con una cepa CP. Estudios realizados en los últimos años permiten suponer que esta cepa CP ocurre por una mutación de la cepa NCP existente en el animal PI. Clínicamente se caracteriza por hipertermia, depresión, diarrea, emaciación, deshidratación y muerte. Se observa sialorrea, lesiones erosivas en labios, lengua, morro y piel del espacio interdigital (con cojera). Se caracteriza por presentar cuadros clínicos severos con baja morbilidad y alta letalidad. Dado que el animal PI ocurre en porcentajes bajos en los rodeos, la EM carece de importancia económica, simplemente impacta por la magnitud del cuadro clínico.(5,6,8).

Son consideradas millonarias las pérdidas económicas que la DVB causa en los rodeos, desde la infección de la hembra gestante hasta la reabsorción embrionaria,

aborto, nacimiento de animales PI o con malformaciones congénitas que le impedirán su adecuado desarrollo. Constituye motivo de gran preocupación en Europa y por ello se realizan reuniones anuales de puesta al día de las últimas investigaciones que permitan lograr un adecuado control de la enfermedad en los rodeos.

Algunos países europeos, como Suecia y Dinamarca basan el control de esta enfermedad exclusivamente en la eliminación de los animales PI. (4,15,19).

Esta enfermedad fue diagnosticada clínicamente en Uruguay hace varios años, y la presencia del virus fue determinada por inmuno-fluorescencia en el INTA, Castelar, en el año 1985, a solicitud del Laboratorio Rubino, ante un caso clínico. Recién en 1995 se pudo confirmar en DILAVE M.C. Rubino la presencia del virus por técnicas inmunohistoquímicas, en un estudio retrospectivo de cortes histológicos existentes en el Depto. de Histopatología (11), así como en muestras de casos clínicos recibidos en el Depto. de Virología (23). Estudios serológicos preliminares realizados en DILAVE permiten suponer que la prevalencia es alta, igual que en el resto del mundo.(24,25).

El propósito del presente trabajo es conocer la prevalencia de la enfermedad en el país en forma preliminar, por dos motivos: a) se dispuso de un banco de sueros en DILAVE, obtenidos

en el año 1992 para un estudio epidemiológico de fiebre aftosa (12) y b) no fue muestreado todo el país.

MATERIALES Y METODOS

Muestras de sueros

Se procesaron un total de 1.485 sueros provenientes de 152 establecimientos ubicados en diez departamentos del país: Artigas (siete), Cerro Largo (doce), Durazno (veintiuno), Lavalleja (veintiseis), Paysandú (quince), Rio Negro (veintiuno), Rivera (doce), Salto (diez), Tacuarembó (doce), y Treinta Tres (dieciseis), existentes en el banco de sueros de DILAVE. Los mismos fueron obtenidos entre el 5 de octubre y el 20 de diciembre de 1992, para un estudio epidemiológico de fiebre aftosa (12). Se tomaron 10 sueros por establecimiento (5 de la categoría menor de 2 años y 5 de animales mayores de 2 años). La discriminación por edades se realizó en todos los establecimientos excepto en los sueros de los departamentos de Durazno y Lavalleja. Los resultados obtenidos en primera instancia registraron la presencia de solamente 6 establecimientos negativos a la enfermedad. Para confirmar que efectivamente los mismos eran negativos, se amplió el número de la muestra de los mismos, procesándose un total de 145 sueros más. De los 152 establecimientos muestreados, 136 eran rodeos de carne (89%) y 16 de leche (11%).

El marco estadístico del muestreo provino de la Dirección

de Control de -Semovientes (DI.CO.SE) para los departamentos de Artigas y Rivera y de la Dirección General de los Servicios Ganaderos (DGSG) para el resto de los departamentos. Los establecimientos en el marco de la DGSG fueron determinados al azar, en forma proporcional a su población ganadera y los de Artigas y Rivera estratificados de acuerdo al tamaño de los mismos, con alocación proporcional. En ambos marcos, la muestra se obtuvo aleatoriamente en dos etapas. Primeramente se eligieron los establecimientos y en una segunda etapa se seleccionaron los animales por establecimiento.

El número de la muestra se obtuvo con un programa en dBase IV (1) y la selección de una tabla de números al azar (27).

Técnica de ELISA indirecta

Todos los sueros fueron procesados por la técnica de ELISA indirecta (SVANOVA, Uppsala), siguiendo las instrucciones del kit.

La empresa no provee información respecto a la sensibilidad y la especificidad de la técnica.

RESULTADOS

El estudio de los sueros procesados permitió determinar una prevalencia cruda para esta enfermedad entre un 60,5% a un 62,9%. (Tabla 1).

Resultaron positivos a la presencia de anticuerpos anti DVB un total de 916 sueros y en 569 no se detectaron anticuerpos circulantes. (Tabla 1).

De los 152 establecimientos muestreados, se identificaron animales serológicamente positivos a la enfermedad en 151, lo cual indica presencia del agente causal en el 99,2 al 99,3%. (Tabla 1).

Al realizar el muestreo por edad de animales mayores y menores de 2 años, se pudo constatar que un 35% de los animales mayores de dos años fueron positivos a anticuerpos anti DVB. Los animales menores de dos años lo fueron en un 25%. (Tablas 1 y 3).

Al ampliar el número de la muestra de los seis establecimientos negativos a la presencia de anticuerpos anti DVB, cinco resultaron positivos, y solamente uno se mantuvo negativo. En el cuadro 1, se toma el número

Tabla 1 - Resumen corregido de resultados¹

	TOTAL	(+)DVB	(-)DVB	%(+)DVB
Total Establecimientos	152	151	1	99,2-99,3
Total Departamentos	10			
Total Sueros procesados	1.485	916	569	60,5-62,9
Porcentaje (+) < de 2 años ²		25%		
Porcentaje (+) > de 2 años ²		35%		

¹ Se procesaron 145 muestras más de los 6 establecimientos negativos, para aumentar la probabilidad de detección.

² Excepto los Deptos. de Lavalleja y Durazno

corregido de establecimientos positivos, pero no se modifica el total de sueros procesados, para no desvirtuar la representatividad de la muestra.

El cuadro que resume los resultados por Departamento indica la amplia distribución de la enfermedad en los diez departamentos estudiados (Tabla 2).

DISCUSION

Se determinó en forma preliminar, la prevalencia cruda de la Diarrea Viral Bovina en el

Tabla 2 -Resumen por departamento de sueros positivos y negativos a anticuerpos anti DVB

Departamento	No.establ.	%(+)	Total(+)	Total(-)	TOTAL
Artigas	7	46	32	38	70
Cerro Largo	12	61	68	44	112
Durazno	21	57	118	90	208
Lavalleja	26	72	187	71	258
Paysandú	15	53	78	70	148
Rio Negro	21	68	130	60	190
Rivera	12	63	75	45	120
Salto	10	60	59	40	99
Tacuarembó	12	73	87	33	120
Treinta y Tres	16	53	84	76	160
TOTAL	152	62	916	569	1485

Tabla 3 - Porcentaje de animales positivos por categoría¹

Departamento	< 2 años	> 2 años	TOTAL sueros
Artigas	15	17	70
Cerro Largo	32	36	112
Paysandú	34	44	148
Rio Negro	57	73	190
Rivera	28	46	120
Salto	24	35	99
Tacuarembó	36	49	120
Treinta y Tres	32	52	160
TOTAL	258	352	1019
PORCENTAJE	25%	35%	

¹ Los muestreos realizados en los Deptos. de Lavalleja y Durazno no diferencian las categorías, por lo cual no se incluyen en este cuadro.

Uruguay en rodeos de carne y algunos de leche, que por ser pocos no fueron identificados particularmente y sus resultados mencionados independientemente. El marco del muestreo abarcó solamente algunos departamentos (diez), por lo cual no es posible inferir la prevalencia de la enfermedad a nivel nacional.

El número de establecimientos negativos identificados en primera instancia, fue corregido a la luz de los resultados obtenidos con la ampliación de la muestra. Se procesaron 145 sueros más provenientes de dichos establecimientos, de forma de aumentar la probabilidad de detección de animales seropositivos. En esta segunda instancia, cinco de los seis establecimientos que habían resultado negativos en el primer muestreo, resultaron positivos. No se consideró conveniente modificar el número total de sueros para no desvirtuar la representatividad de la muestra. El hecho de identificar cinco establecimientos más positivos a esta enfermedad, (con la ampliación del número de la muestra en los seis que resultaron negativos), estaría indicando que se trata de establecimientos con una prevalencia más baja o que caían dentro de los errores del muestreo.

Si bien el estudio no abarcó un número significativos de establecimientos lecheros (dieciséis), que permita sacar conclusiones respecto al comportamiento de la enfermedad en rodeos lecheros, la amplia literatura científica permite asumir que la

prevalencia sería similar.(2,3,15).

Los autores estiman que los animales se positivizan con la edad. Esto queda respaldado por la diferencia del 10% entre las dos categorías de animales estudiadas.

El Laboratorio productor del kit de ELISA no brinda información respecto a la especificidad/sensibilidad del kit, no habiéndose encontrado en la literatura datos sobre otros kits similares de ELISA que permitan suponer cuan sensible/específico podría ser el utilizado. Si la prevalencia encontrada de la enfermedad hubiera sido baja, el desconocimiento de este dato podría influir en la interpretación de los resultados, dado que no se podría estimar el porcentaje de falsos positivos o falsos negativos. Sin embargo, el resultado preliminar obtenido (60,5% a 62,9%), es coincidente con la prevalencia existente en otros países, que por ser alta no estaría seriamente afectada por el desconocimiento de las características del kit. No obstante, se considera conveniente hablar de prevalencia cruda.

La vacunación contra BVD e IBR fue autorizada en Uruguay con vacunas inactivadas en agosto de 1996. Se tiene conocimiento de que algunos productores vacunaban sus rodeos con vacunas provenientes del exterior, con anterioridad a esta fecha. Ello podría desvirtuar los resultados obtenidos en el presente estudio, si los sueros hubieran sido obtenidos alrededor de esa fecha.

Sin embargo, los sueros provienen de un muestreo realizado en el año 1992, y se considera muy probable que no se vacunara entonces, por la escasa sintomatología encontrada, el desconocimiento de la prevalencia de la enfermedad y la no disponibilidad de vacunas autorizadas.

La prevalencia encontrada coincide con la existente en otros países, que no practican la vacunación. (4,6,17).

El elevado número de animales seropositivos y el porcentaje de establecimientos positivos a la enfermedad contrastan con la relativa ausencia de casos clínicos. Dadas las características de esta enfermedad, de presentarse en forma subclínica (2,3,15) o con sintomatologías casi desapercibidas para productores y veterinarios, es muy importante determinar si realmente constituye un problema para el establecimiento. Es necesario estudiar el rodeo, sus datos reproductivos, las condiciones de manejo y otros parámetros de importancia en el establecimiento, antes de tomar decisiones de trascendencia económica, como puede ser la vacunación. Interesa recordar que la EM ocurre muy esporádicamente, sólo del 1% al 2%, porque sólo enferman los animales PI y por lo tanto no constituye un problema económico. Sin embargo, las grandes pérdidas económicas que causa la DVB son debidas a los trastornos reproductivos que a veces son muy difíciles de diagnosticar. Productores y veterinarios deben

acercarse a los laboratorios de diagnóstico para confirmar la existencia del problema y luego optar por la mejor forma de controlarlo, de acuerdo con sus condiciones particulares de manejo y situación del establecimiento.

NOTA: El presente trabajo se realizó a través de la financiación de la International Foundation for Science-IFS, Proyecto B/1134-3F, y no compromete en absoluto la posición de la DILAVE y del MGAP.

Agradecimientos

Se agradece muy especialmente a IFS, sin cuyo apoyo económico no hubiera sido posible realizar el presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ashton-Tate. 1990. dBase IV. Version 1.1. Ashton-Tate, P.O.Box 2833, Torrance, Ca.90509-2833.
2. Baker JA., York CJ., Gillespie JH., Mitchell GB. 1954. Virus Diarrhea in cattle. *Am.J.Vet.Res.* 15, 525-531.
3. Baker, John C., 1995. The Clinical Manifestations of Bovine Viral Diarrhea Infection. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. Vol.II.* 3:425-445.
4. Bitsch, Viggo, 1995. Control of BVD Infection without Vaccines. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. Vol.II.* 3:627-640.
5. Brock, Kenny V., 1995. Dagnosis of BVDV Infections. *Veterinary Clinics of North America: Food animal Practice, Vol.II.* 3:549-561.
6. Brownlie J., Clarke M.C., Howard C.J.1984. Experimental production of fatal mucosal disease in cattle. *Vet.Rec.* 114, 535-536.
7. Brownlie J., Clarke M.C., Howard C.J.1989. Experimental infection of cattle in early pregnancy with a cytopathic strain of bovine virus diarrhoea virus. *Res.Vet.Sci.*46, 307-311.
8. Brownlie,J. 1991. The Pathways for Bovine Virus Diarrhoea Virus. Biotypes in the Pathogenesis of Disease. *Arch.Virol.(Suppl.3)*79-99.
9. Casaro A.P.E., Kendrick J.W., Kennedy P.C. 1971. Response of the bovine fetus to bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus. *Am.J. Vet.Res.*32, 1543-1562.
10. Castrucci G., avelliniG., Cilli V., Pedini, B., McKercher D.G., Valente C. 1975. A study of immunologic relationships among serologically heterologous strains of bovine viral diarrhoea virus by cross immunity tests. *Cornell Vet.*65, 65-72.
11. Cesar, D., 1996. Diagnosis of BVDV in Uruguay by Immuno-histochemistry. *Regional Congress of Diagnostic Laboratories, Campo Grande, Brasil, May 1996.*
12. Gil, A., 1993. Epidemiological Study of Foot-and-mouth Disease (FMD), in Uruguay. *Tesis de Doctorado presentada en la Escuela de Graduados de la Universidad de Minnesota, USA.*
13. Gillespie J.H.,Coggins L., Baker J:A., 1961. Comparison by neutralization test of strains of virus isolated from virus diarrhoea and mucosal disease. *Cornell Vet.*51, 155-159.
14. Harkness,J.W. 1987. The Control of Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection. *Am.Rech.Vet.*18:167-174.
15. Houe, Hans, 1995. Epidemiology of BVD Virus. *Veterinary Clinics of North America: Food animal Practice. Vol.II,* 3:521-547.
16. Kendrick,J.W.,1971. Bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus infection in pregnant cows. *Am.J.Vet.REes.*32, 533-544.
17. Kelling, C.L., 1996. Planning BVDV vaccination programs. *Vet.Medicine, Sept. 1996.*
18. Kwang J.,Littledike ET., Donis RO., Dubovi E.J. 1992. Recombinant polypeptide from gp48 region of the BVDV detects serum antibodies in vaccinated and infected cattle. *Vet.Microbiology,* 32, 281-292.
19. Niskanen, R., 1993. Relationship between the levels of antibodies to BVD Virus in bulk tank milk and the prevalence of cows exposed to the virus. *Vet.Rec.,* 133:341-344.
20. Orban, S., Liess,B. Hafez, S.M. et al, 1983. Studies on transplacental transmissibility of a BVD vaccines virus. Inoculation of pregnant cows 15 to 90 days before parturition. *Zbl.Vet.Med.B.*30:619-634.
21. Pellerin,C., et al. 1994. Identification of a New Group of Bovine Viral Darrhea Virus Strains Associated with Severe Outbreaks and High Mortalitie. *Virology* 203: 260-268.
22. Perdrizet,J.A. et al. 1987. Bovine Virus Diarrhoea, Clinical Syndromes in Dairy Cattle. *Cornell Vet.*77:46-74.
23. Saizar, J. 1996. Diagnosis of BVDV by the Immunoperoxidase Test. Regional Congress of Diagnostic Labs. *Campo Grande, Brazil, May 1996.*
24. Saizar,J., Gil.A. 1997. Estudio Serológico de la Diarrea Viral Bovina en rodeos de carne en el Uruguay. *Comunicación Personal Conferencia Academia Nacional de Medicina Veterinaria del Uruguay. Diciembre, 1997.*
25. Saizar, J. 1996. Studies of interest concerning the epidemiology of Bovine Viral Diarrhoea in Uruguay. *Poster presentation at National Veterinary Congress, Montevideo, November 1996. Poster presentation at International IAEA Symposium «Towards Disease Control in the 21st Century», Vienna, April 1997.*
26. Tremblay,R., 1996. Transmission of bovine viral diarrhoea virus and the effects of BVDV infection on cattle. *Vet.Medicine, Sept.1996*
27. Snedecor G.W., Cochran, W.G., 1989. Statistical Methods. Eighth Edition. Iowa State Univ.
28. Dubovi, E.J.1992. Genetic Diversity and BVD Virus. *Comp. Immun. Microbiol.infec.Dis.*Vol.15, No.3,155-162.
29. Dubovi,E.J.1996. Laboratory diagnosis of BVDV infections. *Vet.Medicine, Sept.1996.*