Aspectos epidemiológicos y entomológicos de la enfermedad de lengua azul en ganado bovino

Jorge Hernández de Anda*
Mowafak D. Salman**
Thomas E. Walton***
Teresa J. Raich**
Carolina Pujol Manríquez*
John Mason****
Ellis C. Greiner*****

Resumen

Se realizó un estudio prospectivo de la enfermedad de lengua azul en 2 hatos de ganado bovino en la región del Istmo de Tehuantepec. El estudio incluyó la detección mensual de anticuerpos grupo-específicos contra el virus de lengua azul (VLA) y la captura de moscas culicoides. En enero de 1988, el total de ganado bovino en los 2 hatos (600) fue clasificado seropositivo al VLA, utilizando un método ELISA. Con base en este resultado, 40 bovinos adultos y 35 becerros nacidos entre octubre de 1987 y enero de 1988 fueron evaluados mensualmente (enero a diciembre de 1988) para detectar la producción de anticuerpos grupo-específicos VLA. Se detectó un patrón positivo de seroconversión contra el VLA en becerros, durante la temporada de lluvias en los meses del verano (junio-septiembre). Sin embargo, en algunos becerros se determinó serológicamente actividad de VLA en la temporada seca, durante marzo y abril. Debido a la ausencia de anticuerpos maternos, la mayoría de los becerros fueron susceptibles de infección con el VLA a los 6 meses de edad. La evidencia serológica de la actividad del VLA en becerros se relacionó con la abundacia de moscas *Culicoides insignis* capturadas durante el estudio.

Introducción

La lengua azul es una enfermedad viral, infecciosa, transmitida por insectos, que ataca a rumiantes domésticos y silvestres.[17] El virus de la lengua azul (VLA) es el prototipo del género *Orbivirus*, de la familia Reoviridae.[12] Estudios anteriores en la región del Caribe, América del Sur, América Central y México, han demostrado serológicamente evidencia de la actividad del VLA en ganado bovino, sin la presencia de casos clínicos.[4, 7, 8, 13, 14, 15] Actualmente, hay 24 serotipos del VLA (VLA 1-24) identificados en todo el mundo. En Estados Unidos de América (EUA) se han aislado 5 serotipos (VLA-2, VLA-10, VLA-11, VLA-13 y VLA 17)[2, 5] y en México 4 (VLA-10, VLA-11, VLA-13 y VLA-17).[14] El vector biológico del VLA en los EUA, *Culicoides variipennis* var. *sonorensis*, se encuentra en la región oeste y sur de ese país y en la región norte de México, mientras que otras subespecies no vectoras del complejo *C. variipennis* se hallan en todo el territorio de los EUA excepto en la zona sur del estado de Florida y la región sur de Canadá.[17] *C. insignis* es el vector sospechoso del VLA en la región del Caribe.[6]

La presencia de animales domésticos, animales silvestres infectados, o ambos, con *Orbivirus* puede resultar en la impresión de barreras no arancelarias que interfieran con la movilización de animales entre países.[3] La presencia de animales infectados en una región ganadera es consecuencia de sus condiciones ecológicas; por tanto, la única política de importación segura es no llevar a cabo tal movilización de animales, lo cual resulta poco realista.[3] Este razonamiento se debe, en parte, a que el desarrollo de los programas nacionales de producción animal pueden ser mejorados sustancialmente, mediante el acceso internacional a material genético de rumiantes disponibles en otros países.[3] En México y EUA, estudios publicados anteriormente demuestran que hay una distribución importante de reactores seropositivos al VLA en ambos países.[2, 4, 13, 14, 15, 16, 17] Además, actualmente, las perspectivas de erradicar el VLA en ambos países son extremadamente pobres.[16] Por tanto, México y EUA no representan una amenaza inmediata para su propio mercado, ya sea por la introducción de animales o movilización de vectores.[16] Es posible que existan serotipos diferentes en los 2 países; sin embargo, dado que la barrera natural de diseminación, por ejemplo el Río Bravo, es muy estrecha, la región del sur de los EUA y el norte de México deben ser considerados esencialmente un ecosistema

Recibido para su publicación el 16 de agosto de 1993.

* Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Baja California. Av. Alvaro Obregón y J. Carrillo s/n 21100, Mexicali, Baja California.
** College of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences, Colorado State University, Fort Collins, CO 80523.
*** USDA, ARS, Arthropod-Borne Animal Diseases Research Laboratory, PO Box 3965, Laramie, WY 82071.
**** USDA, APHIS, Comisión Fiebre Aftosa. PO Box 3087, Laredo, Texas 78044.
***** College of Veterinary Medicine, University of Florida, Gainsville, Florida 32610.

en cuanto al VLA se refiere.[16] De esta manera, una guía lógica y razonable para la movilización internacional de animales se debe basar en un conocimiento amplio de los factores ecológicos que determinan la distribución de la enfermedad.

El control de enfermedades causadas por *Orbivirus* y la prevención de la diseminación de virus depende en gran parte del conocimiento de la epidemiología de la enfermedad de interés. Para comprender la epidemiología de los *Orbivirus* se requiere de estudios prospectivos, más que de investigaciones ejecutadas durante el desarrollo de epizootias. No existe información básica suficiente, a partir de estudios prospectivos de campo, para determinar los aspectos epidemiológicos del VLA en ganado bovino en el trópico de México. El objetivo del estudio fue detectar y vigilar la producción de anticuerpos grupo-específicos del VLA en ganado bovino, en 2 hatos ganaderos en el Istmo de Tehuantepec, en relación con la frecuencia y distribución estacional de moscas *Culicoides insignis*.

Material y métodos

Lugar del estudio. El estudio se llevó a cabo en 2 hatos ganaderos (hatos 1 y 2) localizados en el Istmo de Tehuantepec (17°19'N 95°65'W). Ambos hatos ganaderos estaban integrados por ganado Cebú (carne) y cruzas de ganado europeo (doble propósito). La precipitación pluvial promedio en la región es de 2,000 a 2,500 mm y la temperatura promedio anual es de 25°C. La temperatura de lluvias se presenta de junio a septiembre.

Diseño del estudio. La población de ganado bovino en los hatos 1 y 2 fue de 400 y 200 cabezas, respectivamente. En enero de 1988, la población total de ganado bovino en ambos hatos fue clasificada seropositiva contra el VLA utilizando un método indirecto ELISA, que detecta anticuerpos grupo-específicos del VLA. Basado en este resultado serológico inicial, se seleccionó una muestra al azar de 40 vacas, mayores de 4 años de edad (grupo 1); 15 becerros de 1 mes de edad (grupo 2); 10 becerros de 2 meses (grupo 3) y 10 becerros de 3 meses (grupo 4). Los 4 grupos de animales fueron evaluados serológicamente durante 12 meses (enero a diciembre de 1988) para la detección de anticuerpos grupo-específicos del VLA.

Detección de anticuerpos VLA. Las muestras de suero fueron analizadas para la detección de anticuerpos grupo-específicos del VLA con un método ELISA, siguiendo los procedimientos descritos por Hernández *et al.*,[9] con las siguientes modificaciones. Brevemente, en el método ELISA se utilizó como anticuerpo secundario un conjugado de conejo anti-IgG de bovino. Las diluciones del antígeno gradiente-purificado VLA-11, suero y conjugado fueron seleccionadas para determinar una reacción óptima de sueros testigos positivos y negativos. Antes de agregar la muestra sérica, se agregaron 100 µl de una solución bloqueadora (albúmina de huevo al 1% en solución salina amortiguadora) a cada pozo y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se estimaron las proporciones de densidad óptica (lectura de ELISA de la muestra de suero dividido entre la lectura de ELISA del suero testigo negativo) para describir la respuesta de anticuerpos VLA en ganado bovino.

Interpretación de los resultados de ELISA. La definición de muestras séricas seropositivas al VLA se llevó a cabo de la siguiente manera: un total de 40 muestras de suero testigo con títulos seronegativos al VLA, mediante la prueba de inmunodifusión en Agar Gel (IDAG), fueron analizadas para la detección de anticuerpos grupo-específicos del VLA mediante el método ELISA que se describe en este artículo. El valor de la media y desviación (DE) de las proporciones de densidad óptica para las 40 muestras de suero testigo negativo fue 1.71 ± 0.20. De esta manera, muestras séricas con valores de proporción mayores de 2.31 (3 DE arriba de la media) fueron clasificadas como seropositivas por ELISA. El valor de la media y DE para los sueros (40) testigos positivos fue 4.30 ± 0.50. El total de las muestras de suero testigo positivo registró un valor ELISA mayor de 2.70. Los sueros testigos utilizados fueron parte del Banco de Sueros del Laboratorio de Epidemiología de la Universidad Estatal de Colorado.

Captura de insectos. La captura de moscas culicoides se llevó a cabo utilizando trampas tipo "Centro de Control de Enfermedades" con fuente de luz y hielo seco. Las trampas fueron operadas durante dos noches consecutivas (6 p.m. a 6 a.m.), mensualmente, de enero a diciembre de 1988, en 5 lugares de captura en los hatos 1 y 2.

Resultados

La Figura 1 presenta la frecuencia y distribución estacional de moscas *Culicoides insignis* capturadas en los hatos 1 y 2. La mayoría (95%) de las moscas culicoides fueron capturadas durante la temporada de lluvias en los meses del verano; sin embargo, un porcentaje menor (4%) de moscas fueron capturadas durante la temporada seca en los meses de la primavera. La Figura 2 presenta la respuesta de anticuerpos grupo-específicos del VLA en ganado adulto y becerros. Las 40 vacas examinadas presentaron reacciones seropositivas en los 12 meses que duró el estudio. En la temporada de lluvias (junio-septiembre) se observó un patrón de seroconversión (un incremento de 100 puntos porcentuales en la lectura ELISA) contra el VLA en 24 (69%) de los 35 becerros estudiados. Sin embargo, desde marzo, se detectó producción de anticuerpos VLA en 7 (20%) de los 35 becerros. Los 4 becerros restantes (11%) presentaron títulos elevados de anticuerpos VLA en octubre y noviembre. Con base en la ausencia de anticuerpos maternos, la mayoría de los becerros fueron susceptibles de infección con el VLA a los 6 meses de edad.

Discusión

La detección de anticuerpos grupo-específicos contra la VLA se efectuó mediante un método indirecto ELISA.

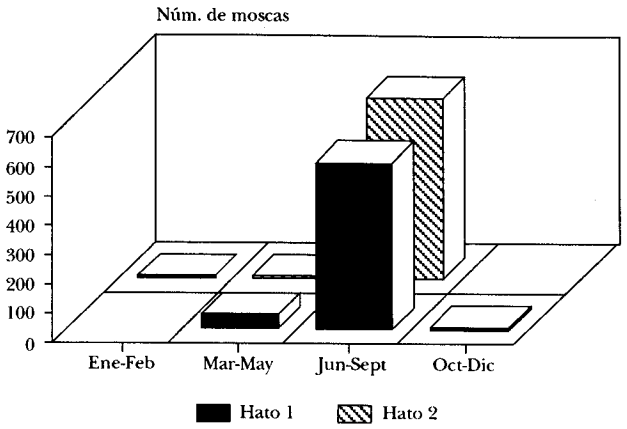

Figura 1. Frecuencia y distribución estacional de moscas *Culicoides insignis* capturadas de enero a diciembre de 1988

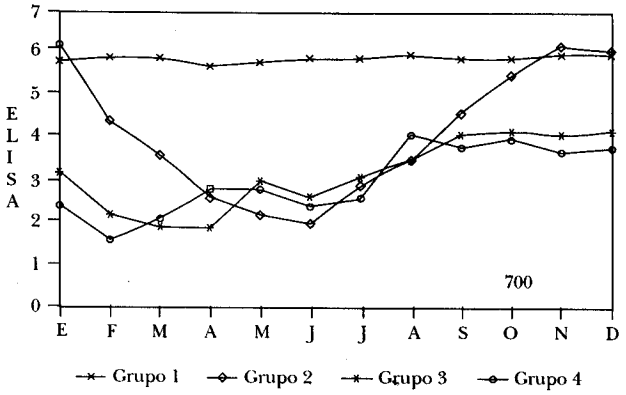

Figura 2. Patrón de seroconversión de anticuerpos grupo-específicos contra el VLA en los 4 grupos de animales estudiados durante enero a diciembre de 1988
Grupo 1: Vacas mayores de 4 años de edad, enero 1988 (n=40)
Grupo 2: Becerros de 1 mes de edad, enero 1988 (n=15)
Grupo 3: Becerros de 2 meses de edad, enero 1988 (n=10)
Grupo 4: Becerros de 3 meses de edad, enero 1988 (n=10)

Después de haber sido estandarizado dicho método ELISA, el ensayo inmunoenzimático identificó correctamente el total de las 80 muestras de suero utilizadas como testigos seropositivos y seronegativos. Sin embargo, es importante considerar que, en condiciones de campo, la presencia de anticuerpos dirigidos a otros *Orbivirus* puede causar reacciones positivas-falsas. Por ejemplo, en el método indirecto ELISA utilizado en este estudio, o bien en la prueba convencional de IDAG, es posible la reacción de anticuerpos no específicos.[1] La reacción posible de anticuerpos no específicos puede ser disminuida mediante el uso de anticuerpos monoclonales en un método ELISA competitivo.

La evidencia serológica de la actividad del VLA en becerros, coincidió con la abundancia de moscas *C. insignis* capturadas de enero a diciembre de 1988. Los resultados de este estudio concluyen, al igual que estudios anteriores en América Central y la región del Caribe, que los patrones de incidencia tienden a desarrollarse en forma paralela con la precipitación pluvial y la disponibilidad de moscas culicoides.[10] Empero, este comportamiento contrasta con el patrón estacional de seroconversión detectado en 5 hatos ganaderos en el noreste de México, donde se presentaron mensualmente casos nuevos –de abril de 1982 a noviembre de 1983.[16] Aun cuando se detectó una frecuencia más elevada de seroconversiones en 4 de los 5 hatos ganaderos estudiados, durante marzo, abril y mayo de 1983, dicho estudio no generó información que pudiera explicar el patrón de seroconversión contra el VLA detectado en ganado bovino en los estados de Nuevo León y Tamaulipas.[16]

La detección de 7 (20%) becerros con un patrón positivo de seroconversión de anticuerpos VLA durante la temporada seca sugiere varias hipótesis. Los becerros adquieren anticuerpos maternos a través de la ingestión de calostro; después de los 6 meses de edad, los becerros resultan susceptibles de infección con el VLA transmitido por las primeras generaciones de moscas de *C. insignis* infectadas. Este escenario sugiere que los becerros se infectan a partir de moscas culicoides que tomaron su primer alimento (sangre) a partir de ganado adulto virémico infectado con el VLA. La posibilidad de transmisión transovárica requiere de investigaciones adicionales, con la reserva de que estudios anteriores han demostrado que la transmisión transovárica en *C. variipennis* var. *sonorensis* es poco probable.[11]

Los resultados de la serología de este estudio demuestran que los becerros se infectan antes de alcanzar su edad reproductiva; la mayoría de los becerros estudiados resultaron susceptibles de infección con el VLA a los 6 meses de edad. Por lo tanto, es poco probable que la primera infección se presente durante la gestación.[10] Además, los resultados sugieren que la infección del ganado bovino con el VLA fue un padecimiento subclínico y endémico en los 2 hatos ganaderos estudiados. La ausencia de casos clínicos, asociada con la incidencia alta de infección subclínica, indica que las cepas o serotipos del VLA en la región del Istmo de Tehuantepec quizás sean menos virulentas que aquellas detectadas en zonas templadas, o que las manifestaciones clínicas de infección con el VLA pueden ser confundidas con otras enfermedades vesiculares.[10]

Abstract

A prospective study of bluetongue was conducted in 2 cattle herds in the Isthmus of Tehuantepec, Oaxaca, Mexico. The study included the monthly detection of bluetongue virus (BTV) group-specific antibodies and collection of culicoid flies. In January 1988, the total number of animals in both cattle herds (600) was classified as seropositive to BTV using the ELISA method. Based on this result, 40 adult cows and 35 calves born during October 1987 and January 1988 were monthly tested (January-December 1988) for detection of BTV group-specific antibodies. A positive seroconversion pattern to BTV was observed in some calves as early as March and

April. Most newborn calves became susceptible, as defined by the absence of maternal antibodies, to BTV infection by 6 months of age. Serologic evidence of BTV activity in calves coincided with the abundance of *Culicoides insignis* trapped during the study period.

Literatura citada

1. Afshar, A., Thomas, F.C., Wright, J.L., Shapiro, J.L. and Anderson, J.: Comparison of competitive ELISA, indirect ELISA and standard AGID tests for detecting blue-tongue virus antibodies in cattle and sheep. *Vet. Rec., 124*: 136-141 (1989).
2. Barber, T.L.: Temporal appearance, geographic distribution and species of origin of bluetongue virus serotypes in the U.S. *Am. J. vet. Res., 40*: 1654-1656 (1979).
3. Blancou, J. and Osburn, B.I.: Bluetongue, African horse sickness and related orviviruses. 2nd International Symposium on Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbiviruses. Paris, France. 1992. 1-47. *Office International Des Epizooties.* Paris, France (1992).
4. Gibbs, E.P.J. and Greiner, E.C.: Bluetongue infections and *Culicoides* species associated with livestock in Florida and the Caribbean region. Double-stranded RNA viruses. *Elsevier Biomedical,* New York, 1983.
5. Gibbs, E.P.J., Greiner, E.C., Alexander, F.C.M., King, T.H. and Roach, C.J.: Serological survey of ruminant livestock in some countries of the Caribbean region and South America for antibody to bluetongue virus. *Vet. Rec., 113*: 446-449 (1983).
6. Greiner, E.C., Garris, G.I. and Rollo, R.T.: Preliminary studies on the *Culicoides* spp. as potential vectors of bluetongue in the Caribbean region. *Prev. vet. Med., 2*: 389-399 (1984).
7. Groocock, C.M. and Campbell, C.H.: Isolation of an exotic serotype of bluetongue virus from imported cattle in quarantine. *Can. J. comp. Med., 46*: 160-164 (1982).
8. Gumm, I.D., Taylor, W.P. and Roach, C.J.: Serological survey of ruminants in some Caribbean and South American countries for type-specific antibody to bluetongue and epizootic haemorrhagic disease viruses. *Vet. Rec., 114*: 635-638 (1984).
9. Hernández-Anda de, J., Salman, M.D., Webb, P.A. and Keefe, T.J.: Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to vesicular stomatitis virus in cattle in an enzootic region of Mexico. *Am. J. vet. Res., 53*: 440-443 (1992).
10. Homan, E.J., Mo, C.L. and Thompson, L.H.: Epidemiologic study of bluetongue viruses in Central America and the Caribbean: 1986-1988. *Am. J. vet. Res., 51*: 1089-1094 (1990).
11. Jones, R.H. and Foster, N.M.: Transovarian transmission of bluetongue virus unlikely for *Culicoides variipennis. Mosq. News, 31*: 434-437 (1971).
12. Mathews, R.E.F.: Classification and nomenclature of viruses. *Intervirology, 17*: 1-79 (1982).
13. Metcalf, H.E., Pearson, J.E. and Klingsporn, A.L.: Bluetongue in cattle. A serologic survey of slaughter cattle in the United States. *Am. J. vet. Res., 42*: 1057-1061 (1981).
14. Stott, J.L., Blanchard-Channell, M., Osburn, B.I., Riemann, H.P. and Obeso, R.C.: Serologic and virologic evidence of bluetongue virus infection in cattle and sheep in Mexico. *Am. J. vet. Res., 50*: 335-340 (1989).
15. Suzan, V.M., Onuma, M., Aguilar, R.E. and Murakami, Y.: Prevalence of bovine herpesvirus-1, parainfluenza-3, bovine rotavirus, bovine viral diarrhea, bovine adenovirus-7, bovine leukemia virus and bluetongue virus antibodies in cattle in Mexico. *Jpn. J. vet. Res., 31*: 125-132 (1983).
16. Teclaw, R.F., McConnell, S., Wagner, G.G., Romo, S. and García, Z.: Serologic study of the incidence and prevalence of bluetongue infections in cattle in the Mexican states of Nuevo Leon, Tamaulipas, Coahuila and San Luis Potosi. *Prev. vet. Med., 3*: 437-443 (1985).
17. Walton, T.E., Barber, T.L., Jones, R.H. and Luedke, A.J.: Epizootiology of bluetongue virus: Transmission cycle, vectors and serotypic distribution in the Americas. *Prev. vet. Med., 2*: 379-388 (1984).