

Diagnóstico serológico de Lentivirus de Pequeños Rumiantes (LvPR) en rebaños caprinos del estado de Guanajuato

Serological diagnosis of Small Ruminant Lentivirus (SRLv) in goats from Guanajuato

SANTIAGO B. C. I.¹, GUTIÉRREZ H. J. L.^{2*}, HERRERA L. E.² PALOMARES R. E. G.² Y DÍAZ A. E.²

¹ Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-Universidad Nacional Autónoma de México,

² Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias - Microbiología Animal.

Carretera Federal México - Toluca km 15.5 S/N. Col. Palo Alto, Del. Cuajimalpa, Ciudad de México. México. C. P. 05010.

*Correo electrónico: gutierrez.luis@inifap.gob.mx

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue identificar la presencia de anticuerpos contra Lentivirus de Pequeños Rumiantes (LvPR) en rebaños caprinos del estado de Guanajuato, México. Se realizó un muestreo por conveniencia con productores cooperantes en 109 rebaños de la Región III Centro y Región IV Sur del Estado, obteniéndose un total de 915 muestras de suero sanguíneo. El diagnóstico serológico se realizó con una prueba comercial de ELISA de tipo competitivo, siguiendo las especificaciones del fabricante. Se observó que el 17.6% (161/915) de las muestras trabajadas presentaron anticuerpos contra LvPR. El 41.3% de los rebaños estudiados (45/109) tuvo al menos un animal seropositivo. La proporción de hembras seropositivas fue del 16.5% (128/776), mientras que la de los machos fue del 23.7% (33/139). El 24.2% (116/479) de los animales seropositivos se encontraron distribuidos principalmente en la Región III Centro, en esta región los rebaños se caracterizan por ser de tipo intensivo y semi-intensivo. La presencia de caprinos con anticuerpos contra LvPR demuestra que el virus está presente en rebaños caprinos de la Región III Centro y Región IV Sur del estado de Guanajuato. El muestreo serológico es considerado una buena herramienta para detectar la presencia de animales infectados dentro del rebaño antes de la manifestación de los signos clínicos, permitiendo establecer medidas para la prevención y el control de la enfermedad.

Palabras clave: Lentivirus de los pequeños rumiantes, caprinos, Guanajuato.

INTRODUCCIÓN

El virus de la artritis encefalitis caprina (vAEC) y el virus de Maedi-Visna (vMV) son similares genéticamente y actualmente son referidos como Lentivirus de Pequeños Rumiantes (LvPR) (Blacklaws et al., 2004). Los LvPR pertenecen a la familia Retroviridae género Lentivirus (Quérat y Vigne, 1999).

Las presentaciones clínicas causadas por LvPR se caracterizan por ser de tipo crónico progresivas, con un período de incubación que puede variar de meses a años. La infección generalmente es subclínica, aunque el porcentaje de animales infectados puede ser alto en algunos rebaños. El número de animales que manifiestan una o múltiples formas clínicas de la infección por LvPR varía de rebaño a rebaño. Se describen 4 principales manifes-

ABSTRACT

The aim of this work was to identify the presence of antibodies against small ruminant lentiviruses (SRLv) in caprine herds from Guanajuato, México. Through a convenience sampling with cooperating farmers of 109 flocks from "Region III Centro" and "Region IV Sur", a total of 915 samples of blood sera were obtained. Serological diagnosis was performed by a commercial quantitative ELISA test. The results showed that 17.6 percent (161/915) of the samples showed antibodies against SRLv; 41.3 percent (45/109) of flocks had at least one goat with antibodies against SRLv; the proportion of seropositive female goats was 16.5 percent (128/776), while for male goats it was 23.7 percent (33/139); and that 24.2 percent (116/479) of seropositive goats were mainly distributed in "Region III Centro" where the production system of the flocks is semi-intensive and intensive. The presence of goats with antibodies against SRLv shows that the virus is present in flocks from "Region III Centro" and "Region IV Sur" of Guanajuato. Serological sampling is considered a good strategy to detect the presence of infected animals within a flock before clinical manifestations occur; this allows for prevention and control measures against the disease.

Key words: Small ruminant lentiviruses, goats, Guanajuato.

taciones clínicas causadas por LvPR en los caprinos: la forma articular, la mastitis, y los cuadros respiratorios y nerviosos, las cuales varían en frecuencia dependiendo la especie afectada (Narayan y Cork, 1985).

En los caprinos, la manifestación clínica más frecuente en adultos son los problemas articulares y la mastitis, la signología nerviosa es frecuentemente asociada a los cabritos. Pueden también observarse problemas respiratorios, aunque estos últimos son frecuentemente enmascarados por infecciones parasitarias, bacterianas o virales (Crawford y Adams, 1981).

Con respecto al impacto económico, la AEC afecta principalmente a los sistemas intensivos de producción de leche, ya que causa la disminución en la tasa de nacimientos y pérdida de la condición corporal en los animales adultos, los casos asociados con mastitis provocan una

reducción del 10 al 15% en la producción de leche y la reducción de su contenido de grasa, además del incremento en el número de células somáticas (Ramírez y Martínez, 2013).

La artritis encefalitis caprina (AEC) fue reconocida desde la década de 1980 cuando Crawford, Adams, Cheevers y Cork (1980), aislaron el vAEC en Estados Unidos de América a partir de la membrana sinovial de una cabra con artritis, Narayan, Clements, Strandberg, Cork y Griffin (1980) lograron el aislamiento del virus el mismo año, a partir de una cabra con leucoencefalomielitis. Hasta la fecha solamente se ha realizado un aislamiento y una caracterización genética de LvPR en nuestro país, el primero por Daltabuit, De la Concha-Bermejillo, Espinosa, Loza y Aguilar (1999) y la segunda por Ramírez et al. (2011).

Aunque en México los LvPR han sido identificados, la información relacionada a la seroprevalencia es escasa a nivel nacional, por lo que es conveniente realizar estudios que permitan conocer el estado actual de la infección en los rebaños, y así establecer las medidas de control y prevención pertinentes en contra de ella. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la presencia de anticuerpos contra LvPR en rebaños caprinos mediante el ensayo comercial de inmunoadsorción ligado a enzimas de tipo competitivo (cELISA), en la Región III Centro y Región IV Sur del estado de Guanajuato.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

Para el presente trabajo se consideraron a 109 rebaños ubicados dentro de la Región III Centro y Región IV Sur, de Guanajuato. El estado se encuentra ubicado al centro de la República Mexicana entre los paralelos 19° 55' y 21° 52' de latitud norte. Actualmente se divide en cuatro regiones: Región I Noreste, Región II Norte, Región III Centro y Región IV Sur, debido a la diversidad que presenta sus condiciones territoriales (UPIE, 2010) (Figura 1).

Toma de muestras sanguíneas

Las muestras fueron obtenidas mediante un muestreo por conveniencia con productores co-



Figura1. División geográfica de las regiones de Guanajuato (UPIE, 2010).

operantes, se lograron obtener 915 muestras de animales mayores a un año de edad en 109 rebaños. La población caprina predominante en el muestreo fue de tipo criollo, seguida por las razas Saanem, Toggenburg, Alpino Francés, La Mancha y Boer. El muestreo sanguíneo se realizó mediante la venopunción de la vena yugular, con aguja estéril de 21G x 32 mm y tubos sellados al vacío sin anticoagulante con capacidad de 6 ml. Durante el muestreo, se realizó un cuestionario para conocer las características generales del rebaño y los posibles factores existentes dentro de ellos que predispusieran o favorecieran el contagio de la enfermedad, los resultados obtenidos en dichos cuestionarios se expresaron en porcentaje de frecuencias.

Diagnóstico serológico

Las muestras obtenidas se mantuvieron en refrigeración a 4 °C hasta su traslado al Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (CENID-Microbiología Animal - INIFAP) ubicado en el Km 15.5 de la carretera federal México-Toluca, Col. Palo Alto, Cuajimalpa, CDMX, donde se centrifugaron a 1,420 xg durante 10 minutos para la separación del suero, el cual se conservó en alícuotas identificadas y almacenadas a -20 °C hasta la realización de la prueba serológica.

La detección de anticuerpos contra LvPR se realizó por medio de la técnica de cELISA con

la prueba comercial Small Ruminant Lentivirus Antibody Test Kit cELISA (VMRD, Washington, EUA), la cual presenta una sensibilidad del 95-100% (Herrmann et al., 2003 b) y una especificidad de 98-99.6% (Herrmann, et al., 2003 a).

Se realizó la prueba serológica siguiendo las especificaciones del fabricante, la lectura de las placas de cELISA se realizaron a 650 nm de longitud de onda, en un lector de ELISA RT-2100C Microplate Reader (Rayto, Hamburgo, Alemania), las densidades ópticas registradas fueron usadas para la interpretación de los resultados calculando el porcentaje de inhibición (%I) mediante la siguiente fórmula:

$$\% I = 100 \left(1 - \left(\frac{\text{D.O. de la muestra}}{\text{D.O. del control negativo}} \right) \right)$$

Las muestras que presentaron un $\%I \geq 35\%$ fueron consideradas como positivas, mientras que aquellas que tuvieron un $\%I < 35\%$ se consideraron como negativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diagnóstico serológico de LvPR mediante cELISA

En el presente estudio se obtuvo una frecuencia de seropositividad de 17.6% (161/915) en rebaños caprinos del estado de Guanajuato, mientras que el 82.4% (754/915) de las muestras no presentaron anticuerpos contra LvPR (Figura 2).

La frecuencia general de caprinos positivos a anticuerpos contra LvPR obtenida en el presente estudio difiere a la reportada por otros autores en otros estados de la República Mexicana, mediante diferentes pruebas diagnósticas, Castro et al. (2015), reportaron

una frecuencia general de 27.14% en el estado de Sinaloa, mientras que Hernández (2011), reportó una frecuencia de 6% en el estado de Veracruz y Torres-Acosta et al. (2003), encontraron una frecuencia general de 0.4% en el estado de Yucatán.

Los 161 caprinos seropositivos se encontraron distribuidos en 45 de las 109 unidades de producción pecuaria consideradas para el estudio, demostrando que el 41.3 % de los rebaños muestreados tuvo al menos un animal positivo (Figura 3). Se observó que a pesar que la frecuencia de animales con anticuerpos contra LvPR obtenida es aparentemente baja, la frecuencia de la enfermedad en los rebaños estudiados fue mayor. Hernández, 2011, obtuvo una frecuencia de la enfermedad del 6% del total de animales estudiados, pero demostró la presencia de la enfermedad en el 22% de los rebaños en el estado de Veracruz; otros autores como Bandeira et al. (2009) reportan una frecuencia de anticuerpos de 8.2% en los animales, pero el 86.6% de los rebaños mostraron tener al menos a un animal positivo a la prueba diagnóstica. En el estado de Paraíba en Brasil, Fallas et al. (2009) reportaron un 60% de animales seropositivos, el 98% de los rebaños de donde procedían estos animales fueron positivos a la prueba usada para el diagnóstico de la enfermedad. Trezeguet, Debenedett, Suarez, Barral y Ramos (2010), encontraron anticuerpos en 1.53% de los animales y el 10.45% de estos rebaños tuvieron al menos a un animal con presencia de anticuerpos.

Se obtuvo una frecuencia de seropositividad de anticuerpos contra LvPR de 24.2% (116/479) en la Región III Centro y un 10.3%

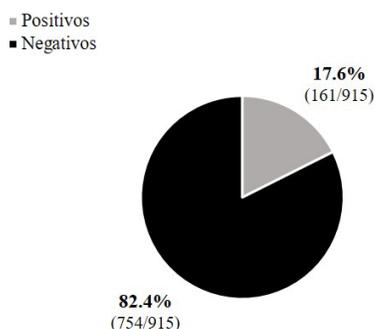


Figura 2. Proporción de muestras con presencia de anticuerpos contra LvPR.

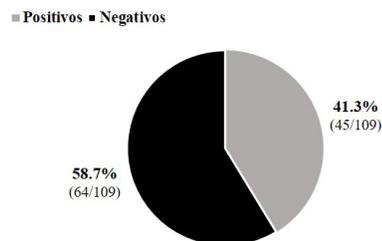


Figura 3. Proporción de rebaños caprinos con presencia de anticuerpos contra LvPR.

(45/436) en la Región IV Sur (Cuadro 1). Las diferencias en el resultado obtenido pueden deberse al tipo de sistemas de producción en los que se trabajó. Se pudo observar que los animales seropositivos se encuentran distribuidos principalmente en la Región III Centro, en esta región los rebaños se caracterizan por ser de tipo intensivo y semi-intensivo, mientras que en la Región IV Sur, los rebaños se manejan en un sistema de producción de tipo extensivo en su mayoría, en esta región hubo un menor porcentaje de animales positivos. Nazará, Trigo, Suberbie y Madrigal (1985), mencionaron que la AEC está ampliamente distribuida en rebaños lecheros estabulados, mientras que no ocurre o su prevalencia es muy baja, en rebaños criollos que pastorean en ecosistemas semiáridos o áridos, ya que al realizar el diagnóstico contra LvPR en rebaños de varios estados de la República Mexicana mediante la prueba de Inmunodifusión en gel agar, obtuvieron una frecuencia de 0% en caprinos criollos en sistema extensivo y una frecuencia de 27.1% en rebaños estabulados. Jones en el 2014, obtuvo una frecuencia de 88% en rebaños lecheros intensivos, 24% en rebaños semi-intensivos mixtos (carne y leche) y un 6% en rebaños semi-intensivos que se dedican solamente a la producción cárnica en algunos estados de E.U.A. Se considera que las condiciones de hacinamiento en que podrían encontrarse los animales en los sistemas de tipo intensivo (estabulados), permiten una mayor diseminación de la enfermedad por medio de aerosoles (East, Rowder, Dahlberg, Theilen y Pedersen, 1993).

De las 776 hembras muestreadas, 128 resultaron positivas (16.5%) y 648 fueron negativas (83.5%). Mientras que, de los 139 machos muestreados, 33 resultaron positivos (23.7%) y 106 fueron negativos (76.3%) (Figura 4). En el presente estudio se observó una mayor frecuencia de la enfermedad en los machos en comparación con las hembras, 23.7% y 16.5% respecti-

Cuadro 1. Frecuencia de anticuerpos contra LvPR en caprinos de las regiones III y IV del estado de Guanajuato.

Región	Total de muestras	% Positivos
Región III Centro	479	24.2% (116/479)
Región IV Sur	436	10.3% (45/436)
Total	915	17.6% (161/915)

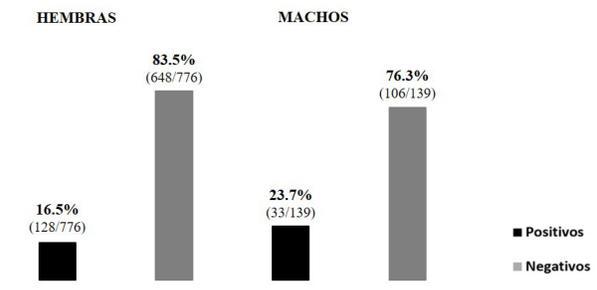


Figura 4. Frecuencia de hembras y machos con presencia de anticuerpos contra LvPR.

vamente. El hecho de utilizar machos caprinos seropositivos como reproductores implica un riesgo de diseminación de la enfermedad vía semen (Martínez et al. 2005), por lo que la detección de machos seropositivos a LvPR es una herramienta para controlar la diseminación de la enfermedad en los rebaños. En México predomina el sistema de monta directa y prácticas como el intercambio o préstamo de sementales, lo que facilita la diseminación de la enfermedad de un rebaño a otro (Martínez et al. 2005; Travassos, Benoit, Valas, da Silva y Perrin, 1999), en este estudio, 40.2% de los productores declaró que acostumbra prestar o pedir prestado el semental, por lo que se debe de concientizar al productor de lo arriesgado de estas prácticas.

CONCLUSIONES

La seropositividad del 17.6% de anticuerpos contra LvPR es una evidencia de que la enfermedad está presente en rebaños caprinos de la Región III Centro y Región IV Sur del estado de Guanajuato. Se observó que el tipo de sistema de producción juega un papel importante en la presentación de la enfermedad, siendo en este estudio los rebaños de tipo intensivo ubicadas en la Región III Centro de Guanajuato, las que presentaron mayor número de caprinos con anticuerpos contra LvPR.

La mayor frecuencia de anticuerpos contra LvPR en machos caprinos con respecto a las hembras hace considerar a estos como un riesgo potencial de diseminación de la enfermedad, por lo que detectar la presencia de animales serológicamente positivos dentro del rebaño antes de la presentación clínica de la enfermedad, permite establecer medidas de control y

prevención pertinentes, las cuales son de suma importancia al no contar aún con una vacuna para la prevención de la AEC.

AGRADECIMIENTOS

A la Fundación Guanajuato Produce, quien financió parcialmente el proyecto A.C: FGP: 604-13 “Transferencia de tecnología para la prevención y control de las principales enfermedades que afectan a los caprinos en el estado de Guanajuato”, del cual deriva este escrito.

REFERENCIAS

- Bandeira D.A., Castro R.S., Azevedo E.O., Souza S.M. & Melo C.B. (2009). Seroprevalence of caprine arthritis-encephalitis virus in goats in the Cariri region, Paraíba state, Brazil. *Veterinary Journal*, 180 (3), 399-401.
- Blacklaws B.A., Berriatua E., Torsteinsdottir S., Watt N.J., Andrés D., Klein D., & Harkiss G.D. (2004). Transmission of small ruminant lentiviruses. *Veterinary Microbiology*, 101, 199-208.
- Castro F.R., Gaxiola C.S., Díaz A.E., Enríquez V.I., Gómez N.L., & García F.M. (2015). Detección de anticuerpos de Lentivirus de Pequeños Rumiantes (LvPR) en hatos mixtos de ovinos y caprinos de Culiacán, Sinaloa. *Memorias XXXIX Congreso Nacional e Internacional de Buiatría*. 189-192.
- Crawford T.B. & Adams D.S. (1981). Caprine arthritis-encephalitis virus: clinical features and presence of antibody in selected goat populations. *American Journal of Veterinary Research*, 178, 713-719.
- Crawford T.B., Adams D.S., Cheevers W. & Cork L.C. (1980). Chronic arthritis in goats caused by a retrovirus. *Science*, 207, 997-999.
- Daltabuit T.M., De la Concha-Bermejillo A., Espinosa L.E.L., Loza R.E. & Aguilar S.A. (1999). Isolation of Caprine Arthritis Encephalitis Virus from goats in Mexico. *Canadian Journal Veterinary Research*, 63, 212-215.
- East N.E., Rowder J.D., Dahlberg J.E., Theilen G.H. & Pedersen N.C. (1993). Modes of transmission of caprine arthritis-encephalitis virus infections. *Small Ruminant Research*, 10, 251-262.
- Fallas D., Dolz G., Jiménez C., Montero D., Prendas J. & Romero J. (2009). Epidemiología de la artritis encefalitis caprina en hatos caprinos lecheros de Costa Rica. *Ciencia Veterinaria*, 27 (2), 57-70.
- Hernández R.S.G. (2011). Tesis de Maestría “Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a la presencia de artritis – encefalitis caprina en la zona centro del estado de Veracruz”. (Tesis Maestría) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana. México, 34-43.
- Herrmann L.M., Cheevers W.P., Marshall K.L., McGuire T.C., Hutton M.M., Lewis G.S. & Knowles D.P. Detection of serum antibodies to ovine progressive pneumonia virus in sheep by using a caprine arthritis-encephalitis virus competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 10, 267-271.
- Herrmann L.M., Cheevers W.P., McGuire T.C., Adams D.S., Hutton M.M., Gavin W.G. & Knowles D.P. (2003). Competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus: diagnostic tool for successful eradication. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 10, 862-865.
- Jones, B.T. (2014). (Tesis de Maestría). “The current prevalence of caprine arthritis encephalitis virus in Midwestern goat herds”. Universidad de Nebraska. EUA, 41-57.
- Martínez R.H.A., Ramírez Á.H., Tórtora P.J., Aguilar S.Á., Garrido F.G.I. & Montaraz C.J.A. (2005). Efecto del virus de artritis encefalitis caprina en el aparato reproductor de machos caprinos. *Veterinaria México*, 36 (2), 159-176.
- Narayan O. & Cork L. (1985). Caprine arthritis encephalitis virus. En Morein B. & Dinter Z. (Eds.) In: *Virus infection of ruminants* (441-452 Vol. 3). New York. USA. ELSEVIER, 441-452.
- Narayan O., Clements J.E., Strandberg J.D., Cork L.C. & Griffin DE. (1980). Biological characterization of the virus causing leukoencephalitis and arthritis in goats. *The Journal of General Virology*. 50, 69-79.
- Nazará C.S. de J., Trigo F.J., Suberbie E. & Madrigal V. (1985). Estudio clínico-patológico de la artritis-encefalitis caprina en México. *Veterinary Research*, 16, 91-100.
- Quérat G. & Vigne R. (1999). Caprine Arthritis Encephalitis Virus (Retroviridae). En In: Granoff A., Webster R.G. (Eds.) *Encyclopedia of Virology* (459-457), (2nd Ed. Vol. I). Academic Press. USA: ELSEVIER.
- Ramírez A.H. & Martínez R.H.A. (2013). Lentivirus caprinos. En *Comité Nacional Sistema Productos Caprinos* (Eds.) *Tecnologías en apoyo a la caprinocultura*. Comité Nacional Sistema Productos Caprinos, 1, (183-195). México, D. F. Comité Nacional Sistema Productos Caprinos.
- Ramírez A.H., Glaria I., De Andrés X., Martínez H.A., Hernández M.M., Reina R., Iráizoz E., Crespo H., Berriatua V.J., Amorena B. & De Andrés D. (2011). Recombinant small ruminant lentivirus subtype B1 in goats and sheep of imported breeds in Mexico. *The Veterinary Journal*, 190, 169-172.
- Torres-Acosta J.F.J., Gutierrez-Ruiz E.J., Butler V., Schmidt A., Evans J., Babington J., Bearman K., Fordham T., Brownlie T., Schroer S., Cámara G.E. & Lightsey J. (2003). Serological survey of caprine arthritis-encephalitis virus in 83 goat herds of Yucatan, Mexico. *Small Ruminant Research*, 49 (2), 207-211.
- Travassos C.E., Benoit C., Valas S., da Silva A.G. & Perrin G. (1999). Caprine arthritis-encephalitis virus in semen of naturally infected bucks. *Small Ruminant Research* 32, 101-106.
- Trezequet M.A., Debenedetti R.T., Suarez M.F., Barral L.E. & Ramos M. (2010). Detección de la artritis-encefalitis caprina en majadas generales, en Argentina. *Veterinaria Argentina*, 27 (270), 1-5.
- UPIE. Unidad de Planeación e Inversión Estratégica. (2010). Gobierno del Estado de Guanajuato. Recuperado en octubre 10, 2015, proviene de <http://www.guanajuato.gob.mx> (Consulta: 10 octubre 2015).
- VMRD. Veterinary Medical Research and Development. (2014). Ficha técnica. VMRD's Small Ruminant Lentivirus Antibody Test Kit cELISA. Washington. E.U.A, 5-28.