



EL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE LA FRONTERA EN EL REBECO PIRENAICO

Ignasi Marco^a, Rosa Rosell^{b,c}, Gregorio Mentaberre^a, Encarna Casas^a, Oscar Cabezón^a, Jorge Ramón López-Olvera^a, Roser Velarde^a, y Santiago Lavín^a

^aServei d'Ecopatologia de Fauna Salvatge, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra. www.uab.cat/sefas

^bCentre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra.

^cDepartament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural, Generalitat de Catalunya, 08007-Barcelona.

El virus de la Enfermedad de la Frontera, también conocido con el término inglés "Border Disease Virus" (BDV), es una de las cuatro principales especies reconocidas dentro del Género Pestivirus, perteneciente a la Familia Flaviviridae (Thiel et al., 2005). Aunque estos virus se han clasificado en función de la especie de la cual se han aislado, con frecuencia se produce la transmisión entre distintas especies, en particular con los virus de la Diarrea Vírica Bovina (BVDV) y BDV. De esta forma, se ha comprobado que la Enfermedad de la Frontera puede ser causada por tres de las cuatro especies del Género Pestivirus: BDV, BVDV-1 y BVDV-2.

La Enfermedad de la Frontera es un proceso que cursa principalmente con afecciones reproductivas en el ganado ovino y caprino. Se encuentra distribuido por todo el mundo y puede producir pérdidas económicas importantes. El cuadro clínico se caracteriza por infertilidad, abortos, mortalidad perinatal y nacimiento de corderos débiles y de menor tamaño, que pueden presentar sintomatología nerviosa. Los animales que se infectan después del nacimiento, pueden padecer una enfermedad leve, transitoria, después de la cual se producen anticuerpos neutralizantes detectables de por vida. Los individuos persistentemente infectados (PI), son animales que se infectan durante el periodo de gestación. Estos animales eliminan virus constantemente por sus secreciones y excreciones, y son la principal fuente de infección para otros animales (Nettleton, 2000).

Los pestivirus que afectan a los rumiantes domésticos también pueden infectar a los rumiantes salvajes. Se han aislado en especies tan diversas como el ciervo, corzo, reno, bisonte europeo y americano, llama, alpaca, jirafa, etc. (Vilcek y Nettleton, 2006). Si bien el virus de la Peste Porcina Clásica es la causa de frecuentes brotes de enfermedad en el jabalí, el BDV y el BVDV nunca habían estado relacionados con brotes importantes de enferme-



Figura 1. Restos de un rebeco muerto durante el brote de enfermedad asociado al virus de la Enfermedad de la Frontera en el Parque Natural del Cadí-Moixeró.

dad en las poblaciones de rumiantes salvajes, hasta que en los años 2001 y 2002 se produjo una epizootia en la población de rebeco (*Rupicapra pyrenaica*) del Pirineo central, afectando tanto a la parte española como a la francesa, e incluso al Principado de Andorra. Además de ser la primera vez que se describe un pestivirus

en el rebeco, es la primera vez que un BDV produce un brote de enfermedad en una especie salvaje (Hurtado et al., 2004).

El primer rebeco enfermo se detectó en el mes de febrero de 2001 en la Reserva Nacional de Caza del Alt Pallars-Arán, en el límite con el Principado de Andorra. A partir de entonces, se estudió un total de 20 rebecos afectados por el proceso en la zona. El cuadro clínico se caracterizó inicialmente por dificultad de movimiento y debilidad. Los rebecos eran observados con frecuencia en las proximidades de pueblos y carreteras, situación muy extraña para una especie como ésta. Algunos de los animales afectados presentaban un cambio de comportamiento, ya que no huían ante la presencia humana, e incluso, algunos de ellos se dejaron acercar y capturar fácilmente. Con el animal en mano, destacaba la caquexia y la parasitación abundante por garrapatas. Además, sorprendía el hecho de que el pelo, al estirar de él, se arrancaba con facilidad. Durante la primavera de ese mismo año, los rebecos encontrados enfermos presentaron de forma constante extensas zonas alopécicas, con marcada hiperpigmentación cutánea. En ocasiones, la alopecia era prácticamente total, únicamente quedaba un poco de pelo en la cola, extremidades y ciertas partes de la cabeza, principalmente las orejas.

A partir del inicio del verano, ya no se encontraron más rebecos enfermos, por lo que se pensó que la epizootia había finalizado. Sin embargo, a principios de 2002, se volvieron a observar rebecos enfermos con la misma sintomatología y tuvo lugar un rebrote de la enfermedad. Esta vez, la gravedad del proceso fue mayor, ya que se observó un número mayor de rebecos enfermos y muertos. De forma similar al año anterior, a principios del verano ya no se observaron más animales afectados, y esta vez sí que se pudo confirmar el fin de la epizootia. A pesar de que se lograron capturar numerosos rebecos enfermos, que fueron trasladados y hospitalizados en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona, ninguno logró recuperarse de la enfermedad (Marco et al., 2007a).

La valoración de la mortalidad producida por una enfermedad en animales salvajes en un medio natural como la alta montaña es muy complicada, ya que es muy difícil detectar los animales enfermos y muertos. La forma de calcular la mortalidad es indirecta, mediante los censos que periódicamente se realizan en la Reserva. Comparando los censos del periodo 2000-2002, es decir antes y después de la epizootia, se constató un descenso importante de la población. A nivel local, en los valles más afectados la disminución se situó entre el 40 y 46%, mientras que para la totalidad de la Reserva, la disminución fue de un 30%: de 3.880 rebecos censados en el 2000, se pasó a 2.670 rebecos en 2002, lo que significa que más de 1.000 rebecos pudieron ser víctimas de la enfermedad.

Durante los dos años que duró la epidemia, en 19 de los 20 rebecos estudiados se detectó la presencia de un Pestivirus, bien mediante ELISA de captura de antígeno, bien mediante técnicas moleculares de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), o bien mediante ambas. Además, se aisló el virus y se realizó la caracterización molecular, concluyendo que se trataba de una cepa no descrita previamente, con mayor similitud con el genotipo ovino del virus de la Enfermedad de la Frontera (Hurtado et al., 2004). Se trataba, por lo tanto, de una enfermedad nueva que afectaba, en principio, sólo al rebeco.

Durante los años 2003 y 2004 no se detectaron indicios de mortalidad importante y únicamente se diagnosticó un caso aislado de la enfermedad. Para conocer la situación de la enfermedad en el rebeco, realizamos un estudio serológico de la población de la zona afectada, a partir de las muestras obtenidas de los rebecos cazados durante el periodo cinegético, que eran recogidas por los guar-

das de la Reserva. Pudimos constatar una prevalencia de anticuerpos superior al 73% y la ausencia de animales enfermos. Sin embargo, durante los años 2005 y 2006 se volvieron a observar casos del mismo proceso, aunque esta vez de forma aislada. Los resultados de la serología, indicaban que la población había adquirido una inmunidad considerablemente importante, después de un brote de enfermedad tan grave (Marco et al., 2007b).

Al mismo tiempo, realizamos un estudio serológico de las poblaciones de otros ungulados salvajes de la Reserva, en particular muflón, ciervo, corzo y gamo y de ungulados domésticos asilvestrados (cabra) que compartían el mismo territorio que el rebeco. Se analizaron muestras sanguíneas de 57 muflones, 15 ciervos, 21 corzos, 3 gamos y 68 cabras asilvestradas mediante un test ELISA. Se obtu-



Figura 2. Rebeco afectado por la enfermedad asociada al virus de la Enfermedad de la Frontera, recién capturado en el Valle de Aran (Lleida). El animal presentaba un cambio de comportamiento, ya que permitió acercarse hasta él y cogerlo a mano, además de adelgazamiento y áreas de alopecia.

vieron resultados positivos en un muflón y en un 7,4% de las cabras, mientras que los resultados fueron negativos en ciervo, corzo y gamo. Mediante un test de seroneutralización (SN) se analizó el muflón y 3 de las 5 cabras seropositivas, utilizando 6 pestivirus: BDV Spain 97, BDV rebeco, BDV 137/4, BDV Moredun, Virus de la Diarrea Vírica Bovina-1 (BVDV-1) NADL y BVDV-2 atípico. En el muflón se obtuvo un título elevado frente al BDV Spain 97, mientras que en las tres cabras los resultados fueron diversos: en una se obtuvo el mismo título para la cepa BDV Spain 97 y BDV rebeco, en la segunda se obtuvo un título muy elevado para la cepa BDV Moredun y en la tercera los resultados fueron negativos. En otro estudio serológico paralelo, se realizó el mismo test en 55 ovejas y 32 vacas que comparten los pastos con el rebeco durante los meses estivales, con un resultado positivo en un 69% y un 78% de los animales, respectivamente. Los títulos de anticuerpos neu-

tralizantes fueron significativamente mayores para la cepa BDV Spain 97 en las ovejas y para la cepa BVDV-1 en las vacas. También se llevó a cabo una investigación virológica en muestras de bazo de 21 cabras asilvestradas y 39 muflones, mediante un test ELISA de captura de antígeno y/o PCR, obteniéndose resultados negativos. Estos estudios indicaban que es poco probable que la infección se haya transmitido a otras especies salvajes o domésticas, aunque el número analizado de algunas especies es reducido. Sin embargo, sí que se constató una seroprevalencia elevada en oveja frente a BDV, que indica que la infección en el ganado ovino debido a cepas ovinas es muy frecuente. La elevada prevalencia en el ganado vacuno, posiblemente se debiera a la vacunación.

De forma inesperada, a finales del mes de febrero y durante el mes de Marzo de 2005, se detecta una mortalidad masiva de rebecos en otro lugar del Pirineo catalán, concretamente en la Reserva Nacional de Caza de Cerdanya-Alt Urgell. Conseguimos capturar algunos rebecos enfermos todavía con vida. La sintomatología que presentaban era respiratoria, con disnea y presencia de sangre en las fosas nasales y la boca. En la necropsia, se observaron lesiones bronconeumónicas muy graves. A partir del mes de Abril se detectan en la misma Reserva rebecos afectados con las mismas lesiones cutáneas que las encontradas en el brote asociado al nuevo BDV que afectó durante los años 2001 y 2002. Los estudios más detallados de los rebecos afectados, detectan la presencia del mismo virus en todos ellos, por lo que se confirma la existencia de un nuevo brote de la enfermedad. En el mes de Junio del mismo año, aparece el primer rebeco enfermo en la Reserva Nacional de Caza y Parque Natural del Cadí-Moixeró, muy próximo a la Reserva anterior. Se trata de un animal con una sintomatología similar, caquexia alopecia e hiperpigmentación cutánea. A partir de entonces se produce un nuevo brote de enfermedad, que se extiende progresivamente, hasta abarcar la práctica totalidad de estas áreas protegidas y de otras áreas privadas de caza, con presencia de la especie. La comparación de los censos nos proporciona una idea del dramático descenso que se ha producido y nos aproxima a la mortalidad acaecida. En la Reserva de Cerdanya-Alt Urgell, en el año 2004, antes del brote de enfermedad, se censaron 563 rebecos. En el mes de julio de 2005 únicamente se censan 81 rebecos, lo que supone una disminución superior al 85%. En la Reserva del Cadí, en el año 2004 existía una población de más de 2300 rebecos, mientras que una vez que se dio por finalizada la epizoo-



Figura 3. Alopecia e hiperpigmentación cutánea facial en un rebeco enfermo.



Figura 4. Rebeco enfermo capturado y hospitalizado en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona.

tía, en el otoño de 2006, se censaron 704 rebecos, lo que representa una disminución superior al 70%.

Desde la aparición del primer brote, se está realizando un seguimiento exhaustivo de las poblaciones de rebeco del Pirineo. Sin duda, el aspecto más llamativo es la complejidad en la epidemiología de la infección. Mientras que unas poblaciones han sufrido una gran mortalidad, otras permanecen indemnes y en otras, incluso, hace más de un año que se ha detectado el virus, aunque hasta la fecha no se ha detectado la enfermedad. Es evidente que deben existir diversos factores que intervengan en la epidemiología del proceso que deben ser investigados, como la inmunidad a escala poblacional, procesos concomitantes, posibles reservorios, factores climáticos, comportamentales, genéticos, ... que determinen la aparición de estos brotes de enfermedad.

Una de las muchas preguntas que inevitablemente surgen es cuál puede ser el origen de este virus y por qué se está manifestando de forma tan virulenta en la actualidad. Nuestro grupo de investigación realiza estudios sobre las enfermedades de la fauna salvaje desde el año 1990 y disponemos de un banco de muestras de sueros y de tejidos de numerosas especies de la fauna autóctona desde esta fecha. Realizamos un estudio retrospectivo en busca de este virus en las muestras de rebeco conservadas desde 1990, y hemos sido capaces de aislar el mismo virus en dos animales necropsiados en 1996 y serológicamente detectar la infección mucho antes. Por lo tanto, nos hallamos ante un virus que no es realmente nuevo, que ha permanecido latente durante mucho tiempo, y que posiblemente debido a mutaciones, se haya convertido en altamente patógeno, circunstancia que debe ser investigada a fondo mediante técnicas moleculares.

El aspecto que más preocupa a los organismos responsables de la gestión de la fauna es cómo detener o controlar estos brotes de enfermedad y evitar que se extienda a otras zonas. En la práctica, esta cuestión es difícil de llevar a cabo, ya que las medidas sanitarias que se pueden aplicar en el caso de aparición de epizootias en animales domésticos, principalmente vacunaciones o sacrificio de animales, son difícilmente aplicables en animales salvajes, en especial con enfermedades víricas tan contagiosas, que afectan a una población tan grande y en un medio tan agreste como es el Pirineo. La principal medida de gestión ha sido la suspensión de la caza en la mayor parte del territorio catalán.

En la actualidad, desde el Servicio de Ecopatología de la Universidad Autónoma de Barcelona, seguimos estudiando la enfermedad, tanto en el campo como de forma experimental. Por un lado, se está llevando a cabo un estudio epidemiológico muy amplio, tanto en los ungulados salvajes como en los domésticos de toda el área afectada, para estudiar la distribución del virus y si es capaz de producir infección en otras especies. Por otro lado, se están llevando a cabo estudios de infección experimental con el virus aislado de los rebecos enfermos, en la especie porcina, ovina y en el rebeco, en las instalaciones del Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA). Recientemente, un brote de enfermedad en un rebaño de ovejas del Pirineo francés ha sido atribuido al pestivirus del rebeco (Bertin-Cavarait, 2006), por lo que no se puede descartar que se pueda producir un salto de especie y suponga en un futuro un problema para otras especies domésticas o salvajes. ■

Bibliografía:

Bertin-Cavarait, C., 2006. Un déperissement chez des agneaux coincide avec l'infection par un border virus chez l'isard, *La Semaine Veterinaire* 1222, 42.

Hurtado, A., Aduriz, G., Gomez, N., Oporto, B., Juste, R.A., Lavin, S., Lopez-Olvera, J., Marco, I., 2004. Molecular identification of a new pestivirus associated to an outbreak of disease in the Pyrenean chamois (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*) in Spain. *Journal of Wildlife Diseases* 40, 796-800.

Marco, I., Lopez-Olvera, J.R., Rosell, R., Vidal, E., Hurtado, A., Juste, R., Pumarola, M., Lavin, S., 2007a. Severe outbreak of disease in the Southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) associated with border disease virus infection. *Veterinary Microbiology* 120, 33-41.

Marco, I., Rosell, R., Cabezon, O., Mentaberre, G., Casas, E., Velarde, R., Lopez-Olvera, J.R., Hurtado, A., Lavi?n, S., 2007b. Epidemiological study of border disease virus infection in southern chamois (*rupicapra pyrenaica*) after an outbreak of disease in the pyrenees (ne spain), *Veterinary Microbiology*, doi:10.1016/j.vet-mic.2007.08.015

Nettleton, P.F., 2000. Border Disease. In: Martin, W.B, Aitken I.D. (Eds.), *Diseases of sheep*, Blackwell Science, London, pp. 95-102.

Thiel, H., Collet, M.S., Gould, E.A., Heinz, F.X., Houghton, M., Meyers, G., Purcell, R.H., Rice, C.M., 2005. Family Flaviviridae. In: Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A. (Eds), *Virus Taxonomy, Eight Report of the International Comittee on Taxonomy Viruses*, Elsevier Academic Press, New York, pp. 981-998.

Vilcek, S., Nettleton, P.F., 2006. Pestiviruses in wild animals. *Veterinary Microbiology* 116, 1-12.

Agradecimientos

Queremos agradecer a la Dirección General del Medi Natural (Departament de Medi Ambient i Habitatge de la Generalitat de Catalunya) por habernos encargado el seguimiento del proceso, así como a la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) y al Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA) por la financiación de algunos de los estudios que estamos realizando para avanzar en el conocimiento de la enfermedad.