

Detección de anticuerpos contra el virus de lengua azul en ovinos de dos localidades de Junín, Perú

Detection of antibodies against bluetongue virus in sheep from two locations in Junín, Peru

Jessica Jurado P.¹, Dennis Navarro M.¹, Mercy Ramírez V.¹, María A. Santiago C.¹, Hermelinda Rivera G.^{1,2}

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue detectar anticuerpos contra el virus de lengua azul (VLA) en una población de ovinos de raza Junín criados a 3800 msnm en la provincia de Jauja, Junín, y en ovinos de raza Blackbelly criados a 600 msnm en la provincia de Chanchamayo, Junín, Perú. Se colectaron 306 muestras de sangre de ovinos Junín, mayores a 4 meses de edad, ambos sexos y 82 muestras de ovinos Blackbelly, mayores a 4 meses, ambos sexos, de pequeños criadores de cuatro distritos (Perene, San Luis de Shauro, San Ramón y Pichanaki) de la provincia de Chanchamayo, Junín. La detección de anticuerpos contra el VLA se hizo mediante la prueba de ELISA de competición. El 100% (306/306) de las muestras de los ovinos Junín resultaron negativos a anticuerpos contra el VLA, mientras que 56.1% (46/82) de las muestras de ovinos Blackbelly tuvieron anticuerpos contra el virus. La ausencia de anticuerpos contra el VLA en ovinos criados a 3800 msnm indica que no fueron expuestos al VLA, sugiriendo que la altitud y bajas temperaturas constituyen una barrea para la biología del vector transmisor del virus, en tanto que los ovinos criados a 600 msnm estuvieron expuestos, indicando la presencia del vector o vectores competentes para la transmisión del virus de lengua azul.

Palabras clave: ovejas, virus, lengua azul, altitud, ELISA de competición, anticuerpos

¹ Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

² E-mail: hriverag@unmsm.edu.pe

Recibido: 10 de agosto de 2019

Aceptado para publicación: 8 de mayo de 2020

Publicado: 22 de junio de 2020

ABSTRACT

The aim of this study was to detect antibodies against bluetongue virus (VLA) in a population of Junín breed sheep bred at 3800 m above the sea level in the province of Jauja, Junín and in Blackbelly breed sheep raised at 600 m in the province of Chanchamayo, Junín, Peru. Blood samples (n=306) were collected from Junín sheep, older than 4 months of age, both sexes and from Blackbelly sheep (n=82) older than 4 months, both sexes, from small breeders from four districts (Perene, San Luis de Shauro, San Ramón and Pichanaki) from the province of Chanchamayo, Junín. Antibody detection against the VLA was done by competition ELISA test. All samples (306/306) of the Junín sheep were negative for antibodies against the VLA, while 56.1% (46/82) of the Blackbelly sheep samples had antibodies against the virus. The absence of antibodies against the VLA in sheep raised at 3800 m of altitude indicates that they were not exposed to the VLA, suggesting that high altitude and low temperatures constitute a barrier to the biology of the virus-transmitting vectors, whereas sheep raised at 600 m of altitude were exposed, indicating the presence of the vector or vectors competent for the transmission of bluetongue virus.

Key words: sheep, virus, bluetongue, high altitude, ELISA competition, antibodies

INTRODUCCIÓN

La población ovina en el Perú es de 9 523 200 cabezas, de las cuales el 81% son criollos y el 94.2% se crían en las zonas altoandinas, mayormente en el centro y sur del país (INEI, 2012). Los departamentos de Puno, Cusco y Junín son los mayores productores de ovinos criados en forma semiextensiva, con pasturas naturales y con escasas tecnologías de manejo y mejoramiento genético (MINAGRI, 20017).

La población ovina era cerca de 20 millones en la década del 60. La disminución de la población se ha debido a diversos factores técnicos, así como por la disminución de los precios de la lana y la presencia de enfermedades infecciosas, entre otras (MINAGRI, 2017). El calentamiento global y cambio climático podría afectar la salud de los ovinos de modo directo por la inadecuada respuesta inmunitaria frente a infecciones, debido al estrés de calor o al presentarse un incremento de patógenos y artrópodos transmisores de enfermedades virales (Bett *et al.*, 2017).

El ovino puede ser afectado por diversas enfermedades bacterianas, parasitarias y virales, entre estos últimos, por el virus de la Lengua Azul (VLA), un arbovirus perteneciente al género *Orbivirus*, familia Reoviridae (Mertens *et al.*, 2004). El VLA posee 27 serotipos con diversos grados de patogenicidad, presentes en todos los continentes excepto la Antártida (Purse *et al.*, 2005; Mann *et al.*, 2011). El VLA es transmitido a rumiantes domésticos y silvestres por especies de mosquitos del género *Culicoides*, que están expandiéndose fuera de su conocido hábitat geográfico (40° N y 35° S) a mayores altitudes y latitudes, ocasionando severas pérdidas económicas por sus efectos en la salud animal, la reproducción y por ser restrictiva para el comercio internacional de ovinos y otros rumiantes domésticos en pie y de germoplasma (Purse *et al.*, 2005; OIE, 2018).

La expansión de los *Culicoides* spp a muchos países europeos entre 2006 y 2008 permitió que el VLA ocasionara severos brotes de la enfermedad causado por un solo

serotipo donde más de 800 000 cabezas de ovinos fueron afectados. Por ejemplo, los brotes ocurridos en el 2006-2007 en Bélgica ocasionó pérdidas por 180 millones de euros (Wilson y Mellor, 2009).

En el Perú, lengua azul ha sido detectada serológicamente en ovinos (Rosadio *et al.*, 1984; Navarro *et al.*, 2019) y en huanganas (*Tayassu pecari*) en la zona tropical (Rivera *et al.*, 2013). Recientemente se ha detectado el segmento 7 del genoma del VLA en ovinos y en mosquitos del género *Culicoides insignis* en Pucallpa, Ucayali (Navarro *et al.*, 2018, 2019). El Perú es considerado uno de los países más vulnerables a los efectos del cambio climático (MINAM, 2016), condición que podría favorecer la migración de los mosquitos transmisores del virus a zonas de mayores altitudes donde se crían ovinos y otros animales.

El objetivo del presente estudio fue detectar anticuerpos contra el virus de lengua azul en ovinos de raza Junín (doble propósito) de una empresa ovejera criados a 3800 msnm en la provincia de Jauja, Junín y en ovinos de raza Blackbelly criados a 600 msnm

en la provincia de Chanchamayo, Junín, en un contexto de vigilancia epidemiológica de la enfermedad de lengua azul.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del Estudio

La obtención de las muestras sanguíneas de los ovinos se realizó en abril y mayo de 2017. Se colectaron 306 muestras de ovinos de raza Junín, mayores a 4 meses, machos y hembras, de una de las unidades de producción de una empresa ovejera localizada en el distrito de Canchayllo, provincia de Jauja, Junín, a una altitud de 3800 msnm. Además, fueron colectadas 82 muestras de ovinos de raza Blackbelly, de 4 meses a 8 años, machos y hembras, de pequeños criadores de cuatro distritos de la provincia de Chanchamayo, Junín, a 600 msnm (Cuadro 1). Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción de la vena cefálica o yugular utilizando tubos al vacío sin anticoagulante, centrifugado a 800 g por 10 minutos y los sueros resultantes fueron conservados a -20 °C hasta su procesamiento.

Cuadro 1. Tamaño de muestras de ovinos raza Junín de la provincia de Jauja, Junín y de raza Blackbelly de la provincia de Chanchamayo, Junín, de pequeños criadores (2017)

Provincia	Ovinos (n)	Distritos	Muestreados
Jauja	1500	Canchayllo	306
Chanchamayo	436	Perené	56
		San Luis de Shauro	13
		San Ramón	8
		Pichanaqui	5
Total	1936		388

Tamaño de Muestra

El tamaño de muestra fue obtenido considerando una prevalencia referencial del 50% al no existir datos previos en ovinos con intervalo de confianza de 95% y un porcentaje de error del 5%, según la fórmula descrita para poblaciones infinitas (Daniel, 1996) (Cuadro 1). El tamaño de muestra de los ovinos de la provincia de Chanchamayo (n=205) no fue completado debido a dificultades logísticas.

Anticuerpos contra VLA

La detección de anticuerpos contra el virus de Lengua azul fue realizada mediante la prueba de ELISA competitiva (Bluetongue Virus Antibody Test Kit cELISA v2) (VMRD, USA) siguiendo las especificaciones del fabricante. Las muestras fueron consideradas positivas si el porcentaje de inhibición fue igual o mayor a 60%, y negativas si fue menor a 60%. La presencia anticuerpos contra el virus de lengua azul fue estimada mediante la fórmula de Ahlbom y Norell (1990).

RESULTADOS

Todas las muestras de suero de los ovinos de raza Junín resultaron negativas a anticuerpos contra el VLA, mientras que 56.1% de las muestras de los ovinos Blackbelly tuvieron anticuerpos contra el virus (Cuadro 2). La seropositividad según sexo y edad de los animales se presenta en el Cuadro 3.

DISCUSIÓN

La seronegatividad al VLA de los ovinos de raza Junín indica que no fueron expuestos al virus. Posiblemente la altitud y temperatura constituyen barreras para la incursión de los mosquitos transmisores del VLA desde el trópico. Existen más de 1500 especies del género *Culicoides*, pero aproximadamente 30 especies son consideradas competentes

para transmitir el virus (Purse *et al.*, 2005). Son escasas las informaciones sobre seropositividad al VLA en ovino y otras especies de animales criados en la zona andina. Se tiene el estudio de Rivera *et al.* (1987), quienes reportaron 21% de seropositividad al VLA en alpacas de Puno, utilizando la prueba de inmunodifusión que detecta anticuerpos no solo contra el VLA, sino también contra el virus de Enfermedad Hemorrágica Epizoótica.

Estudios realizados en ovinos y yaks de la meseta del Tibet, donde el clima es frío y con bajo porcentaje de oxígeno, indicó que 17.3% de los ovinos y 13.3% de los yaks tuvieron anticuerpos específicos contra el VLA. Según los autores, *Culicoides* spp, vector de esta enfermedad, tiene una dinámica estacional en la zona, siendo más activos en la época cálida (Ma *et al.*, 2017). Esta situación podría darse también en el Perú ante el cambio climático, ya que los Andes limitan por el flanco oriental con las zonas subtropicales que poseen las condiciones favorables para la existencia de los mosquitos hematófagos (UNESCO, 2009).

El 56.1% (46/82) de las muestras de los ovinos Blackbelly tuvieron anticuerpos contra el VLA. Los anticuerpos detectados evidencian la exposición al virus por la picadura del mosquito transmisor, más no enfermedad clínica, indicando que esta infección es enzoótica en el trópico y subtropico con condiciones ecológicas que caracterizan al ámbito geográfico comprendido entre 40° N y 35° S y donde parte de los EEUU, América Central y parte de América del Sur están comprendidos (Purse *et al.*, 2005). La seropositividad detectada en el presente estudio fue similar al resultado obtenido por Navarro *et al.* (2019) de 50% (23/46) en ovinos de pelo clínicamente sanos en Pucallpa, Ucayali; departamento de la región tropical del país con factores favorables para la vida de los *Culicoides* spp y, por tanto, con una continua exposición de los animales al virus, como lo refiere Noaman y Arzani (2017). En un estudio en huanganas (*Tayassu pecari*) de la zona de Madre de Dios, solo el 7.5% de

Cuadro 2. Detección de anticuerpos contra el virus de lengua azul (VLA) en ovinos Blackbelly de la provincia de Chanchamayo, Junín, mediante la prueba de ELISA de competición

Provincia / Distrito		Ovinos (n)	Criadores (n)	Positivos a VLA	
				n	%
Chanchamayo	Perené	56	8	33	58.9
	San Luis de Shauro	13	2	6	46.2
	San Ramón	8	2	4	50.0
	Pichanaqui	5	1	3	60.0
Total		82	13	46	56.1

Cuadro 3. Detección de anticuerpos contra el virus de lengua azul en ovinos Blackbelly mediante la prueba de ELISA de competición según sexo y edad

		Ovinos (n)	Positivos	
			n	%
Sexo	Macho	34	15	44.1
	Hembra	48	29	60.4
Edad (años)	<1	26	14	53.8
	>1-2	16	7	43.8
	>2-3	23	15	65.2
	>3	17	8	47.1
Total		82	44	53.7

los animales muestreados tuvieron anticuerpos específicos al VLA de la zona de Madre de Dios, solo el 7.5% de los animales muestreados tuvieron anticuerpos específicos al VLA (Rivera *et al.*, 2013). Purse *et al.* (2015) mencionan que los *Culicoides* spp muestran preferencias por ciertas especies de vertebrados para alimentarse, de allí que la baja sero-positividad al VLA detectada en las huan-ganas podría deberse a la escasa preferencia de los vectores por esta especie animal.

Los estudios que se han realizados en ovinos, caprinos y bovinos en varios países de América Latina indican exposición al virus más no enfermedad clínica. Así, en Brasil encontraron frecuencias de animales seropositivos entre 0.4 y >50% (Souza *et al.*, 2010), en ovinos de la provincia de Corrientes, Argentina, hubo una seroconversión del 95% (Clavijo *et al.*, 2012; Legisa *et al.*, 2013) y en bovinos clínicamente sanos del Ecuador y en algunas áreas de Venezuela se ha detectado seroprevalencias de 98.9 y 94.7%, respectivamente (Verdezoto *et al.*, 2018).

En América Latina se han reportado la enfermedad clínica de lengua azul en dos cérvidos (*Mazama gouazoubira*) y en un venado (*Blastocerus dichotomus*) en dos zoológicos de Rio de Janeiro, y en ocho ovinos y una cabra en el estado de Paran; asimismo, en 2017 hubo severos brotes en ovinos del Estado de Rio Grande do Sul, Brasil, causado por el serotipo 17 (Bianchi *et al.*, 2017). Los países donde se ha logrado aislar al VLA son Brasil y Argentina (Lager, 2004). En Ecuador se han reportado los serotipos 9, 13 y 18 del VLA mediante pruebas moleculares (Verdezoto *et al.*, 2018), mientras que en Perú se ha detectado el segmento 7 del genoma del VLA en muestras sanguíneas de ovinos seropositivos y en un pool de *Culicoides insignis* identificados previamente (Navarro *et al.*, 2018) y capturados en las cercanías al corral de las ovejas seropositivas al VLA (Navarro *et al.*, 2019).

Recientes estudios en ovinos en el Perú indican que el VLA está presente en animales domésticos y silvestres del trópico, pero sin la ocurrencia de enfermedad clínica. Sin embargo, se considera importante realizar un muestreo en las unidades de producción de ovinos y otros rumiantes criados en diferentes altitudes a nivel nacional como una línea de base de información epidemiológica del VLA, enfermedad considerada como emergente, ante la posibilidad de migración de los mosquitos transmisores fuera de su ámbito geográfico (Brugger y Rubel, 2013; Guichard *et al.*, 2014), y más aún cuando la mayor población de ovinos, bovinos y camélidos sudamericanos en el Perú son criados en valles y zonas altoandinas.

CONCLUSIONES

No se detectaron ovinos seropositivos al virus de lengua azul criados a una altitud de 3800 msnm, mientras que ovinos situados a 600 msnm presentaron una alta frecuencia (56.1%) de anticuerpos contra este virus, sugiriendo la presencia del vector competente para su transmisión.

Agradecimiento

El presente estudio fue parcialmente financiado por el Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (código A18080434). Los autores agradecen a los MV Yonny González y Silvia Albornoz del Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA).

LITERATURA CITADA

1. **Ahlbom A, Norell S. 1990.** Introduction to modern epidemiology. Epidemiology. 2nd ed. USA: Epidemiology Resources. 102 p.
2. **Bett B, Said MY, Sang R, Bukachi S, Wanyoike S, Kifugo SC, Otieno F, et al. 2017.** Effects of flood irrigation on the risk of selected zoonotic pathogens in an arid and semi-arid area in the eastern Kenya. Plos One 12: e0172626. doi: 10.1371/journal.pone.0172626
3. **Bianchi RM, Panziera W, Faccin TC, de Almeida GL, Cargnelutti JF, Flores EF, Kommers GD, et al. 2017.** Clinical, pathological and epidemiological aspects of outbreaks of bluetongue disease in sheep in the central region of Rio Grande do Sul. Pesqui Vet Brasil 37: 1443-1452. doi: 10.1590/s0100-736x2017-001200014
4. **Brugger K, Rubel F. 2013.** Bluetongue disease risk assessment based on observed and projected *Culicoides obsoletus* spp vector densities. Plos One 8: e60330. doi: 10.1371/journal.pone.-0060330
5. **Clavijo A, Sepulveda L, Riva J, Pessoa Silva M, Tailor Ruthes A, Lopez JW. 2012.** Isolation of bluetongue virus serotype 12 from an outbreak of the disease in South America. Vet Rec 151: 201-302. doi: 10.1136/vr.151.-10.301
6. **Daniel D. 1996.** Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud. 5° ed. México: Uteha Noriega. 878 p.
7. **Guichard S, Guis H, Tran A, Garros C, Balenghien T, Kriticos DJ. 2014.** Worldwide niche and future potential

- distribution of *Culicoides imicola*, a major vector of bluetongue and African horse sickness viruses. Plos One 9: e112491. doi: 10.1371/journal.pone.-0112491
8. [INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2012. IV Censo Nacional Agropecuario 2012. [Internet]. Disponible en: <http://censos.inei.gob.pe/Cenagro/redatam/>
 9. Lager IA. 2004. Bluetongue virus in South America: overview of viruses, vectors, surveillance and unique features. Vet Ital 40: 89-93.
 10. Ma JG, Zhang XX, Zheng WB, Xu YT, Zhu XQ, Hu GX, Zhou DH. 2017. Seroprevalence and risk factors of bluetongue virus infection in Tibetan sheep and yaks in Tibetan Plateau, China. Biomed Res Int 2017: 5139703. doi: 10.1155/2017/5139703
 11. Maan S, Maan NS, Nomikou K, Veronesi E, Bachanek-Bankowska K, Belaganahalli MN, Attoui H, et al. 2011. Complete genome characterization of a novel 26th bluetongue virus serotype from Kuwait. Plos One 6: e26147. doi: 10.1371/journal.pone.-0026147
 12. Mertens PP, Diprose J, Maan S, Singh KP, Attoui H, Samuel AR. 2004. Bluetongue virus replication, molecular and structural biology Vet Ital 40: 226- 237.
 13. [MINAM] Ministerio del Ambiente. La Conservación de Bosques en el Perú. 2016. Programa Nacional de Conservación de Bosques para la Mitigación del Cambio Climático. Lima, Perú: MINAM. 29 p.
 14. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2017. Producción pecuaria y avícola 2017. [Internet]. Disponible en: http://siea.minagri.gob.pe/siea/sites/default/files/anuario-produccion-pecuaria-2017-261118_0.pdf
 15. Navarro D, Rivera H, Cáceres A, Rondón J. 2018. Identificación morfológica de *Culicoides* spp descritos como transmisores de Orbivirus capturados en granjas de ovinos en Pucallpa, Perú. Rev Inv Vet Perú 29: 302-309. doi: 10.15381/rivep.v29i1.14203
 16. Navarro D, Rojas M, Jurado J, Manchego A, Ramírez M, Castillo A, Rivera H. 2019. Detección molecular del virus de lengua azul en *Culicoides insignis* y en ovinos de Pucallpa, Perú. Rev Inv Vet Perú 30: 465-476. doi: 10.15381/rivep.v30i1.15690
 17. Noaman V, Arzani H. 2017. Environmental and host factors affecting seroprevalence of bluetongue virus infection of sheep. Comp Clin Pathol 26: 397-403. doi: 10.1007/s00580-016-2390-2
 18. [OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal. 2018. Infección por el virus de la lengua azul. [Internet]. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/chapitre_bluetongue.pdf
 19. Purse BV, Mellor PS, Rogers DJ, Samuel AR, Mertens PP, Baylis M. 2005. Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. Nat Rev Microbiol 3: 171-181. doi: 10.1038/nrmicro1090
 20. Purse BV, Carpenter S, Venter GJ, Bellis G, Mullens BA. 2015. Bionomics of temperature and tropical *Culicoides* midges: knowledge gap and consequences for transmission of *Culicoides* borne viruses. Annu Rev Entomol 60: 373- 392. Doi: 10.1146/annurev-ento-010814-020614.
 21. Rivera H, Madewell BR, Ameghino E. 1987. Serologic survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama pacos*). Am J Vet Res 48: 189-191.
 22. Rivera H, Cárdenas L, Ramírez M, Manchego A, More J, Zúñiga A, Romero M. 2013. Infección por Orbivirus en huanganas (*Tayassu pecari*) de Madre de Dios. Rev Inv Vet Perú 24: 544-550. doi: 10.15381/rivep.v24i4.2738
 23. Rosadio RH, Evermann JF, DeMartini JC. 1984. A preliminary serological survey of viral antibodies in Peruvian sheep. Vet Microbiol 10: 91-96. doi: 10.1016/0378-1135(84)90059-2

24. [UNESCO]. *United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization*. 2009. Estudios de caso: cambio climático y patrimonio mundial. Francia: UNESCO. 79 p.
25. *Legisa D, Gonzalez F, De Stefano G, Pereda A, Dus Santos MJ, 2013*. Phylogenetic analysis of bluetongue virus serotype 4 field isolates from Argentina. *J Gen Virol* 94: 652-662. doi: 10.1099/vir.0.046896-0
26. *Souza TS, Costa JN, Martinez PM, Costa Neto AO, Pinheiro RR. 2010*. Anticorpos contra o vírus da língua azul em rebanhos ovinos da micror-região de Juazeiro, Bahia. *Arq Inst Biol* 77: 419-423
27. *Verdezoto J. 2016*. Investigación de Orbivirus en ganado vacuno y sus posibles vectores. Tesis de Maestría, Quito: Univ San Francisco de Quito. 24 p.
28. *Verdezoto J, Breard E, Viarouge C, Quenault H, Lucas P, Sailleau C, Zientara S, et al. 2018*. Novel serotype of bluetongue virus in South America and first report of epizootic haemorrhagic disease virus in Ecuador. *Transbound Emerg Dis* 65: 244-247. doi: 10.1111/tbed.12625
29. *Wilson AJ, Mellor PS. 2009*. Bluetongue in Europe: past, present and future. *Philos T Roy Soc B* 364: 2669-2681. doi: 10.1098/rstb.2009.0091