

DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LENGUA AZUL EN OVINOS POR LA TECNICA DE INMUNODIFUSION

C. VILCHIS M. ¹

J. GAY G. ²

D. BATALLA C. ³

El Sector Pecuario del INIFAP y la Comisión México Americana para la prevención de la Fiebre Aftosa realizaron un estudio serológico por la técnica de inmunodifusión para determinar la prevalencia de anticuerpos específicos de la enfermedad de lengua azul en ovinos.

Fueron estudiados un total de 157 sueros de ovinos, pertenecientes a los campos experimentales del Sector Pecuario del INIFAP ubicados en: Paso del Toro, Ver.; Cozumel y Chetumal, Q. Roo; Tizimín y Mocochá, Yuc.; Tamuin, S.L.P.; Verdineño, Nay. y Margaritas, Pue.

El estudio realizado, indica que los sueros procedentes del CEP Margaritas, Pue., tuvieron el mayor porcentaje de reactores positivos del 75% y los procedentes de Tizimín, Yuc. y Verdineño, Nay. no presentaron reactores positivos.

La lengua azul es una enfermedad viral infecciosa que afecta a los

1 Proyecto Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. Centro de Investigaciones en Medicina Veterinaria, Sector Pecuario, INIFAP-SARH., Km. 15.5 Carr. México-Toluca, Palo Alto, D. F., Cuajimalpa, C.P. 05110.

2 Comisión México Americana de la Fiebre Aftosa, SARH, Hegel No. 713, Polanco, México, D. F.

3 Coordinación Investigación Pecuaria, Zona Centro, Sector Pecuario INIFAP-SARH.

rumiantes, el agente causal pertenece a la familia **Reoviridae**, género **Orbivirus** (Erasmus, 1980). Ha sido aislado de ovinos, bovinos, caprinos, venados cola blanca, venado mula, borrego cimarrón, antilope, alce, gacela de las montañas, kudu, muntjac y bisonte (Hourrijan y Klingspons, 1975; Erasmus, 1980; Callis et al., 1982).

También se le conoce como fiebre catarral ovina, fiebre catarral del carnero, úlcera del hocico, catarro epizootico, pseudo fiebre aftosa, boca dolorosa, fiebre catarral malarial y estomatitis micótica (Serguei, Meteleva y Kozlova; Snidelaer, 1980).

La enfermedad por mucho tiempo fue considerada como exclusiva de Sudáfrica, donde se le conocía con el nombre de estomatitis micótica, pero en 1940 se le reconoció en otros países como Chipre, Israel, Portugal, Pakistán, India, Palestina, Siria, Turquía, España, Japón y E.E. U.U. (Liendo y Castro, 1981).

El virus puede ser cultivado en embrión de pollo, en el cual se observan lesiones evidentes en vasos sanguíneos, hígado, riñón, cerebro y músculo. También se puede replicar en ratón lactante en el que produce síntomas y elevada mortalidad en pocas horas; los ratones adultos no

presentan signología. Con el mismo fin se ha utilizado, el hamster dorado y monoestratos celulares de células de riñón de oveja y otras (Manninger y Mócsy, 1968).

El virus de la lengua azul se puede transmitir experimentalmente, por transferencia de sangre de un animal enfermo a uno susceptible y ha sido demostrada la transmisión vertical de una vaca infectada a su becerro en el útero. En forma indirecta, la transmisión puede realizarse por intermedio del vector artrópodo **Culicoides varri-pennis**, en el cual el virus se replica en las glándulas salivales, su máximo potencial como trasmisor lo alcanza entre 10 y 14 días después de alimentarse con sangre de un animal virémico. (Jennings y Boorman, 1980; Osburn, *et al.*, 1983).

En infecciones agudas, los toros pueden presentar infertilidad temporal, que a la recuperación total, son capaces de servir como sementales nuevamente (Karbs, Gibbs y Larsen, 1980; Osburn, y Stott, 1984). Existen 23 serotipos del virus de lengua azul en el mundo, de los cuales el 10, 11, 13 y 17 han sido aislados en E.E. U.U., en Sudáfrica del 1 al 15, en Israel e India únicamente se ha notificado el serotipo 16 y en Australia los serotipos, 20, 21, 22 y 23.

En ovinos, no todas las cepas producen signos clínicos, aún cuando algunas de ellas al introducirse en poblaciones totalmente susceptibles pueden ocasionar una morbilidad de 80% a 100% y una mortalidad de 0 a 50%, con un período de incubación de 6 a 8 días en condiciones experimentales. En casos clínicos por infección con virus de campo, el período de incubación se prolonga de 7 a 10 días y va seguido por depresión, fiebre (40 a 42°C), leucopenia, ptialismo, congestión e inflamación de las mucosas, úlceras en labio y ocasio-

nalmente en lengua, coronitis, laminitis, edema, torticolis, vómito, efectos teratogénicos, hiperemia oral que varía de color rosáceo a cianótico por lo que el padecimiento se denomina lengua azul.

En bovinos no todas las cepas producen signología clínica, aún cuando algunas de ellas al introducirse en poblaciones totalmente susceptibles pueden ocasionar una morbilidad y mortalidad inferior al 5%, con un período de incubación de 6 a 8 días en forma experimental y de 60 a 80 días en condiciones de campo. Los animales enfermos, presentan fiebre (39.5 a 41°C), leucopenia, miositis, ptialismo, hiperemia, congestión e inflamación en la mucosa oral, úlceras en la cavidad oral y ocasionalmente en la lengua, coronitis, laminitis, infertilidad, abortos y efectos teratogénicos en becerros (Metcalf, 1977). En ovinos y bovinos se ha demostrado que el virus permanece en forma latente por largo tiempo (Luedke, *et al.*, 1970).

Para el establecimiento del diagnóstico de laboratorio se utilizan las siguientes muestras: sangre heparinizada o adicionada de citrato de sodio y suero sanguíneo. Los tejidos a enviar son: hígado, bazo, médula ósea y semen. En el diagnóstico diferencial se deben considerar en ovinos: ectima contagioso, fiebre aftosa, fotosensibilización, neumonía, poliartritis, pododermatitis, abscesos en patas, parasitosis y la enfermedad del músculo blanco. En bovinos: rinotraqueitis infecciosa bovina, fiebre catarral maligna, actinomicosis, actinobacilosis, estomatitis micótica, diarrea viral bovina, enfermedad de las mucosas y la enfermedad de Ibaraki (Inaba, 1975).

Las técnicas de diagnóstico en el laboratorio incluyen:

Aislamiento viral. Inoculación en ovinos (Metcalf, 1977), embrión de pollo por vía intravenosa (Gleiser, Stair y McGill; Foster y Luedke, 1969) monoestratos celulares, células Vero (Kanitz y Metcalf, 1977), BHK (Huisman y Erasmus, 1981) y LK (Bowne y Jochim, 1967).

Pruebas Serológicas. Técnicas de fijación de complemento (Bounlanger y Frank, 1975), prueba de inmunodifusión (Jochim y Chow, 1969; Metcalf y Jochim, 1970), virus neutralización (Osburn y Stott, 1984), reducción de placas (Huisman y Erasmus, 1981) e inmunofluorescencia (Margaret y Boormans, 1980). En México existen informes clínicos del padecimiento desde 1974 en el Estado de Chihuahua. En 1981 se realizó un estudio serológico para determinar la presencia de anticuerpos precipitantes contra el virus de lengua azul en 187 ovinos y 267 bovinos sacrificados en el rastro de Ferrería y fue encontrado el 8.5% de reactores positivos en los sueros de ovinos y el 3.48% en los sueros de bovinos (Moorhead y Moreno, 1981).

En 1983 se estudiaron 90 sueros de ganado productor de leche y 110 de carne por la técnica de Inmunodifusión para conocer la prevalencia de lengua azul en 19 estados del país, con lo que se obtuvo el 43.3% de reactores positivos en ganado de leche y el 45.5% en ganado de carne (Suzan, 1983). En 1984 se realizó un estudio epizootiológico de la enfermedad en ovinos procedentes del Estado de México por medio de la prueba de inmunodifusión, se trabajaron 27 sueros de ovinos de los que resultó el 70.37% de reactores positivos (Martínez, 1984). En 1984, en la Universidad de California se aisló el virus de la lengua azul en muestras de ganado bovino procedente de México. (Osburn y Stott, 1984).

Dada la presencia de anticuerpos contra la enfermedad de lengua azul

en ganado ovino y bovino de nuestro país, el Sector Pecuario del INIFAP y la Comisión México-Americana de la Fiebre Aftosa, realizaron un estudio serológico con el objeto de determinar la presencia de anticuerpos contra el virus de lengua azul en ovinos.

Se muestrearon 157 ovinos pertenecientes a los campos experimentales del Sector Pecuario del INIFAP que a continuación se citan: Paso del Toro, Ver.; Cozumel, Chetumal, Q. Roo; Tizimin, Mocochoá, Yuc.; Tamuin, S.L.P.; Verdineño, Nay. y Margaritas, Pue.

El antígeno y el suero positivo de referencia fueron proporcionados gentilmente por la National Animal Disease Laboratories Center U.S. Department of Agriculture, Ames, Iowa. Los sueros problema fueron inactivados a 56°C durante 30'. La prueba de inmunodifusión fue realizada de acuerdo a la técnica descrita por (Pearson y Jochim, 1979).

Interpretación de Resultados:

Negativos. La línea del suero control, continúa hasta el pozo del suero probado, sin doblarse o curvarse.

Positivo. La línea control, se une con la línea del suero probado y forma una línea continua.

Débil positivo. La línea control, se dobla hacia el pozo del antígeno pero no forman una línea completa entre el pozo del antígeno y el suero probado, con las formas más difíciles de detectar, se recomienda hacer una repetición para confirmar los resultados.

Líneas no específicas. Estas líneas cruzarán la línea control o no juntarán con la misma para formar una línea, son formadas por reacciones antígeno anticuerpo de tipo inespecífico. Ocasionalmente se pueden presentar ambas líneas (específicas y no específicas) en el mismo suero, (Gutekunst, Pirtle y Mengeling, 1978; Pearson y Jochim, 1979; Kanitz, 1977).

Cuadro # 1

PROCEDENCIA	RESULTADOS		TOTAL	PORCENTAJE POSITIVOS
	NEGATIVOS	POSITIVOS		
Paso del Toro, Ver.	16	4	20	20
Cozumel, Q. Roo	6	14	20	70
Tizimín, Yuc.	19	0	19	0
Mocochá, Yuc.	18	2	20	10
Chetumal, Q. Roo	14	6	20	30
Tamuín, S.L. Potosí	17	2	19	10.5
Verdineño, Nay.	19	0	19	0
Margaritas, Pue.	5	15	20	75
Total:	114	43	157	27.4

Resultados: El número de sueros procesados, así como el de aquellos que dieron lecturas positivas o negativas y sus porcentajes respectivos aparecen en el Cuadro No. 1.

Discusión y Conclusiones: Los resultados obtenidos en este estudio indican que los animales estuvieron en contacto con el virus de la lengua azul, excepto los procedentes de Tizimín y Verdineño, sin embargo, no se logró obtener en ninguno de estos campos experimentales antecedentes que hicieran sospechar la presencia de la enfermedad clínicamente. La lengua azul es considerada en México como enfermedad enzoótica de clasificación "B", en virtud de que su comportamiento epizootológico puede determinar la presencia de brotes epizooticos (Boletín, D.G.S.A., SARH, 1985).

Los resultados de este trabajo concuerdan con lo informado por Moorhead J.R. y Moreno Chan (1981); Martínez A. S. (1984) de que existe clara evidencia serológica de la pre-

sencia del virus de lengua azul en el ganado nacional.

SUMMARY

The National Institute for Livestock Research (INIFAP) and the Mexican American Commission the Foot and Mouth Disease Prevention, carried out a serologic survey to establish the presence of specific bluetongue antibodies on sheep using the immunodiffusion test.

A total of 157 ovine sera samples were tested. These sheep were located on the research farms of the INIFAP as followsz.

Paso del Toro, Ver.; Cozumel and Chetumal., Q.Roo; Tizimín and Mocochá, Yuc.; Tamuín, S.L.P.; Verdineño, Nay. and Margaritas, Pue.

The results showed that the serum samples from Margaritas, had the highest reactor rate (75%), and all the sera from Tizimín and Verdineño, were negative.

LITERATURA CITADA

BOLETIN, D.G.S.A. 1985. **Comisión México-Americana para la Prevención de la Fiebre Aftosa SARH-C.P.A.** No. 20, México, D. F.

BOULANGER, P. y FRANK, J.F. 1975. Serological Methods in the Diagnosis of Bluetongue virus, **Aust. Vet. J.** 51, 185.

BOWNE, J.G., and JOCHIM, M.M., 1967. Cytopathologic changes and Development of inclusion bodies in cultured cells infected with Bluetongue virus. **Am. J. Vet. Res.** Vol. 28, No. 125, 1091.

CALLIS, J.J., FERRIS, D.A.H., GAY, J., WILDER, F.W. y MASON, J., 1982. Manual Ilustrado para el reconocimiento y diagnóstico de ciertas enfermedades de los animales. **Comisión México-Americana para la Prevención de la Fiebre Aftosa.**

ERASMUS, B.J., 1980. The epidemiology and control of bluetongue in South Africa. **Bull Off. Epiz.** 92.

FOSTER, N.M., and LUEDKE, A.J., 1969. Direct assay for Bluetongue virus by intravascular inoculation of embryonating chicken eggs. **Am. J. Vet. Res.** Vol. 29 No. 3-749.

GLEISER, C.A., STAIR, E.L., MCGILL, L.D., 1969. Diagnosis of Bluetongue in cattle by intravascular inoculation of chicken Embryos and Immunofluorescence.

GUTEKUNST, D.F., PIRTLE, E.C. and MENGE-LING, W.L., 1978. Development and evaluation of a microimmunodiffusion test for detection of antibodies to pseudorabies virus in swine serum. **Am. J. Vet. Res.** 39:207.

HOURRIGAN, J.L. and KLINGSPORN, A.L., 1975. Epizootiology of Bluetongue the situation in the United States of America, **Australia Vet. J.** 51, 203.

HUISMANS, H. and ERASMUS, B.J., 1981. Identification of the serotypespecific antigens of Bluetongue virus. Onderstepoort. **J. Vet. Res.** 48, 51.

INABA, Y. 1975. Ibaraki disease and its relationship to Bluetongue. **Aust. Vet. J.** 178.

JENNINGS, M., and BOORMAN, J. 1980. Use of the indirect fluorescent antibody technique for the detection of Bluetongue virus antigen in tissue smears from *Culicoides varipennis*

(Diptero, *Ceratopogonidae*). **Vet. Microb.** 5, 13.

JOCHIM, M.M., and CHOW, T.L., 1969. Immunodiffusion of Bluetongue virus. **Am. J. Vet. Res.** Vol. 30, No. 1-33.

KABRS, R.F., GIBBS, E.P.J. and LARSEN, R.E. 1980. The search for virus in bovine semen, a review. **Theriogenology** 14:151.

KANITZ, CH.L., 1977. Immunodiffusion test for bluetongue and epizootic hemorrhagic disease: A. rapid, simple method for preparing soluble antigens. **Amer. Assoc. Vet. Lab. Diag.** 20th. Annual Proceedings 291.

LIENDO, G. and CASTRO, A.E., 1981. Bluetongue in cattle diagnosis and virus isolation. **The bovine practitioner.** No. 16.

LUEDKE, A.J., JOCHIM, M.M., BOWNE, J.G., and JONES, R.H., 1970. Observations on latent Bluetongue virus infection in cattle. **J. Am. Vet. Med. Ass.** Vol. 156, No. 12,1871.

MARTINEZ, A.D., 1984. Estudio epizootiológico de la enfermedad de Lengua Azul en ovinos procedentes del Estado de México. Tesis. **F.M.V.Z. UNAM**, Cuautitlán, Edo. de Méx.

METCALF, H.E., 1977. Bluetongue and related disease. *Veterinary Epidemiologist (bluetongue)* **U.S.D.A.-A.P.H.I.S., Vet. Serv.** Denver, Colorado, U.S.A.

MANNINGER, R., MOCSY, J. 1968. Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos. Hutyra Marek. 2a. Ed. **Edit. Labor.** Barcelona, España.

METCALF, H.E., and JOCHIM, M.M., 1970. Bluetongue in cattle: Efficacy of the Agar gel precipitin test. **Am. J. Vet. Res.** Vol. 31, No. 10:1743.

MOORHEAD, J.R. y MORENO, CH.R., 1981. Estudio de la presencia de anticuerpos precipitantes contra el virus de la Lengua Azul en ovinos y bovinos sacrificados en el Rastro de Ferrería de la Ciudad de México, D. F. Tesis **FMVZ-UNAM**

OSBURN, B.I., GOWAN, B., HERON, B., LOONIES, E., BUSHENELL, R., STOTT, J., UTTERSACK, W. 1983. Epizootiologic study of bluetongue: Virology and Serologic Results. **Am. J. Vet. Res.** Vol. 42, No. 5.

- OSBURN, B.I., and STOTT, J.L. 1984. Bluetongue, Epizootic hemorrhagic disease and Ibarak, foreign animal diseases. **Commette on Foreign Animal Diseases of the United States Animal Health Associates**, p.97.
- PEARSON, J.E., and JOCHIM, M.M., 1979. Protocol for the immunodiffusion test for bluetongue. **Amer. Assoc. Vet. Lab. Diagn.** 22nd. Annual Proceedings, p. 463.
- SERGUEI, V.A., METELEVA, R.I. et KOZLOVA, D.I., 1980. La fievre catarrhali du mouton (Bluetongue): Quelques aspects de l' epizootiologie, du diagnostic et des mesures de Lutle, **Bull Off Int. Epiz.** 92-7.
- SNIDELAER, H., 1980. La Lengua Azul, **Rev. Vet. Mex.** 11:75.
- SUZAN, V.M., MISAO, O., ROMERO, E.A., and YOSUKE, M. 1983. Prevalence of bovine Herpesvirus-1, Paraenfluenza-3, bovine Rotavirus, bovine Viral Diarrhoea, bovine Adenovirus-7, bovine Leukemia virus and Bluetongue virus antibodies in cattle in Mexico, **Jpn. J. Vet. Res.**, 31,125.