

## Estudio serológico para el virus de parainfluenza-3 en el Hato BON en el departamento de Antioquia

S. Molina, H. Castaño, J.J Arboleda J. F Cadavid M. O. Zapata A.

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

### Resumen

Se realizó una encuesta serológica para la determinación por I.H de los reactivos positivos a PI3 en los núcleos del ganado BON, existentes en algunas regiones de Antioquia en las cuales se encontró una prevalencia de un 50.83%, 86.36%, 52.06% , 76.34% que corresponden a los sitios geográficos de San José del Nus , Rionegro, Santa Elena y el Hatillo, respectivamente

### Introducción

El virus de PI3, Es uno de los cuatro tipos de virus de Parainfluenza clasificados dentro del género Paramyxovirus perteneciente a la familia Paramyxoviridae (7,8,15). Los viriones son pleomórficos, normalmente filamentosos o redondos, con un diámetro de 150 - 300 nm o más; el genoma esta formado por una molécula lineal de sentido (negativo) de ARN cadena sencilla (7,8). La hemoaglutinación es el marcador de virus más comúnmente empleado en el laboratorio, la prueba de inhibición de la hemoaglutinación generalmente es preferible a la prueba de neutralización con fines diagnósticos, para la identificación de cepas y la titulación de vacunas (3, 6, 13).

La infección se disemina rápidamente en los bovinos que se hallan en contacto estrecho, que son probablemente el principal reservorio y la fuente habitual de infección para otros animales. El elevado predominio de anticuerpos en los animales adultos indica la existencia de reinfecciones frecuentes (3, 8).

Como en todos los virus enzoóticos, el predominio de anticuerpos aumenta con la edad. Parece ser que no existe diferencia significativa en la susceptibilidad a la infección por razón del sexo o la raza. La mayor parte de los bovinos infectados experimentalmente dejan de eliminar virus por la secreción nasal de 8 a 10 días después de la exposición. La frecuencia con la cual se presenta el PI3, indica la existencia de infecciones persistentes o de un reservorio natural distinto a los bovinos capaces de reinfectar las poblaciones ganaderas (8, 13, 14).

El correspondiente aislamiento del virus en vacunos con enfermedad respiratoria, el hallazgo del virus PI3 en fetos abortados, las numerosas referencias de enfermedades respiratorias tras la infección experimental de terneras susceptibles indican que, bajo condiciones apropiadas, los bovinos pueden desarrollar la enfermedad cuando se infectan experimentalmente con virus PI3 (3, 8).

La infección por PI3 puede ser grave si ha existido una infección anterior con otros agentes. Frecuentemente el virus se aísla en ganado vacuno de ceba, en el cual se han realizado investigaciones sobre la fiebre de embarque, comúnmente se encuentra acompañada con los virus de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), diarrea viral bovina (BHV-1), especies bacterianas como Pasteurella, E. coli, Staphylococcus aureus, Corynebacterium, pyogenes, Klebsiella pneumoniae, Salmonella grupo D (3, 8, 9, 10, 14).

La infección experimental del tracto respiratorio de terneros susceptibles produce fiebre, tos, secreción nasal y ocular abundante y aumento de la frecuencia respiratoria. La enfermedad producida por la infección de PI3 suele ser grave cuando cursa simultáneamente con otras infecciones (3, 6, 8-10).

La inoculación experimental en 6 fetos in útero produjo aborto en dos de ellos e infección en los demás. En otro experimento se demostró que la infección fetal es improbable si la hembra gestante posee anticuerpos séricos inhibidores de la hemoaglutinación cuando tiene lugar la

exposición. Debido al gran predominio de los anticuerpos a PI3, los autores sugirieron que es improbable que se trate de una causa de aborto importante (8).

Los virus de PI3 y de IBR obstaculizan la función de los macrófagos alveolares al inhibir la fusión de los lisosomas y los fagosomas y así preparan el camino para infecciones secundarias con *Pasteurella* y otras bacterias en terneros sometidos a estrés (15).

Los síntomas y las lesiones no son lo suficientemente característicos para realizar el diagnóstico clínico de la PI3. Los brotes de infecciones respiratorias en terneros o la fiebre de embarque hacen que se considere al PI3 como un factor coadyudante o predisponente. Esta sospecha puede confirmarse mediante el aislamiento del virus o la identificación del antígeno viral por inmunofluorescencia (8, 10).

En el diagnóstico serológico, el predominio de anticuerpos es tan grande que es raro encontrar grupos de bovinos sin confirmación serológica de la infección, por lo que las muestras de suero únicas, tienen una utilidad relativa con fines diagnóstico. La seroconversión o los aumentos significativos (cuatro veces el título de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación) son indicadores de infección, pero no pueden indicar, de forma concluyente, que el PI3 haya sido la causa de los síntomas observados (7, 8, 10).

El virus PI3 puede aislarse de la secreción nasal y ocular, o de la sangre de animales vivos en las primeras fases de la infección. Si se realiza la necropsia a los pocos días después de haber tenido lugar la exposición, puede aislarse de pulmón, tráquea, laringe, cornetes y de los ganglios linfáticos del tracto respiratorio. El virus puede aislarse también a partir de homogenizados de tejidos, de líquido torácico y de pulmón de los fetos abortados (8, 10).

La inmunidad a la vacunación contra PI3 o la exposición natural es más parcial que completa, por lo que los bovinos con anticuerpos séricos pueden infectarse y enfermarse ante una posterior exposición (7, 8).

Los anticuerpos nasales pueden ser producidos localmente, lo que hace que se produzca una resistencia a la infección. Muchos terneros poseen anticuerpos adquiridos por medio de la ingestión de calostro, puede darse una variación individual y duran de 10 a 23

semanas; en algunos casos pueden durar hasta 8 meses y cuando padecen una infección es menos grave. La inmunidad pasiva puede o no interferir con la vacunación, depende del título de las inmunoglobulinas en el ternero, de la dosis de vacuna y de la vía de administración (8,9).

Cuando los animales superan la infección con virus PI3, se protegen temporalmente 6 a 12 meses contra la reinfección o bien, ésta cursa clínicamente inaparente. Los anticuerpos fijadores del complemento persisten menos tiempo que los neutralizantes e inhibidores de la hemoaglutinación (7, 14).

Existen vacunas inactivadas con formalina o con diversos adyuvantes, las cuales estimulan la producción de anticuerpos inhibidores de la hemoaglutinación en forma más eficaz que las suspensiones acuosas. Se han empleado éstas unidas a bacterias de *Pasteurella multocida* y *Pasteurella hemolytica*. La inocuidad de los productos inactivados permite su empleo en hembras bovinas gestantes y en circunstancias en las que, a juicio del clínico, están contraindicadas las vacunas de virus vivo modificado. Otras vacunas son las preparadas en cultivos de tejidos y atenuadas mediante un corto número de pases en serie de aplicación intramuscular y está contraindicada en hembras preñadas (8).

Las vacunas intranasales fueron producidas inicialmente en 1969 en los Estados Unidos a partir de una cepa del virus vivo, modificado por gran número de pases en cultivos celulares; más tarde se combinó con vacuna de IBR. La vacunación intranasal se considera más parecida a la vía natural de infección para estimular localmente los distintos componentes del sistema inmune celular y humoral (8).

El propósito de este estudio fue determinar por medio de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH) los seroreactores positivos a PI3 en el ganado BON, en el departamento de Antioquia.

## Materiales y Metodos

Se realizó un estudio descriptivo en el cual se emplearon un total de 418 muestras existentes en el banco de suero de la sección de virología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, los cuales estaban conservados a  $-70^{\circ}\text{C}$ , obtenidos en cuatro hatos diferentes, en varias áreas distribuidas como se indica en la tabla 1.

Tabla 1. Fechas y lugar de toma de muestras para el presente estudio.

| Fecha    | Lugar    | n   | Machos | Hembras |
|----------|----------|-----|--------|---------|
| 22/10/92 | U. Nal   | 49  |        | 49      |
| 24/11/92 | U. de A. | 93  | 1      | 92      |
| 23/03/93 | ICA-Nus  | 166 | 31     | 135     |
| 11/03/95 | Rionegro | 110 | 1      | 109     |

**Inhibición de la hemoaglutinación:** Se utilizó la microtécnica descrita por Rodríguez y col. (10) la cual consiste básicamente en lo siguiente: cada suero se trató con 100  $\mu$ l de glóbulos rojos de cobayo al 50%, luego se centrifugaron a 1500 r.p.m./5 min. Con el sobrenadante se prepararon diluciones dobles en la suspensión de antígeno de PI3 (facilitado por el ICA Bogotá y replicado en células MDBK en el laboratorio de virología de la Facultad de medicina de la Universidad de Antioquia), la cual tenía 10 UHA/50 ml y se empezó en 1:10 hasta 1:640; la mezcla del suero y el antígeno se incubó una hora a temperatura ambiente, al finalizar este período se adicionó a cada dilución del suero mas el antígeno 50ml de glóbulos rojos de cobayo al 0.5%. La lectura se realizó a los 30 minutos y el título de cada muestra fue la dilución mas alta donde estaban

completamente inhibidas las 10 UHA de antígeno.

### Resultados

En esta investigación se encontró una prevalencia a PI3 de 68.89% (288/418) (Figura. 1), los títulos de anticuerpos variaron desde 10 hasta 640 (tabla 2).

La tabla 3 y la figura 2 muestran la distribución de los títulos de anticuerpos contra PI3 en los núcleos de ganado BON de acuerdo con la procedencia, en los cuales los porcentajes de reactores positivos fueron de un 57.83%, 76.34%, 53.66% y 86.36% , que correspondieron a San José del Nus (ICA) , Hatillo (U de A) , Santa Helena ( U. Nal) y Rionegro, respectivamente.

Tabla 2. Distribución de los títulos de anticuerpos a PI3 en núcleos de ganado BON en el departamento de Antioquia por la prueba IH.

| Título *  | Sueros |            |
|-----------|--------|------------|
|           | n      | Porcentaje |
| $\leq 10$ | 130    | 31.10      |
| 20        | 88     | 21.05      |
| 40        | 107    | 25.39      |
| 80        | 66     | 15.78      |
| 160       | 13     | 3.11       |
| 320       | 12     | 2.87       |
| 640       | 2      | 0.47       |
| Total     | 418    | 100        |

\* Inverso de la dilución

Figura 1. Reactores positivos a PI3 en los núcleos de ganado BON en el departamento de Antioquia por la prueba de IH.

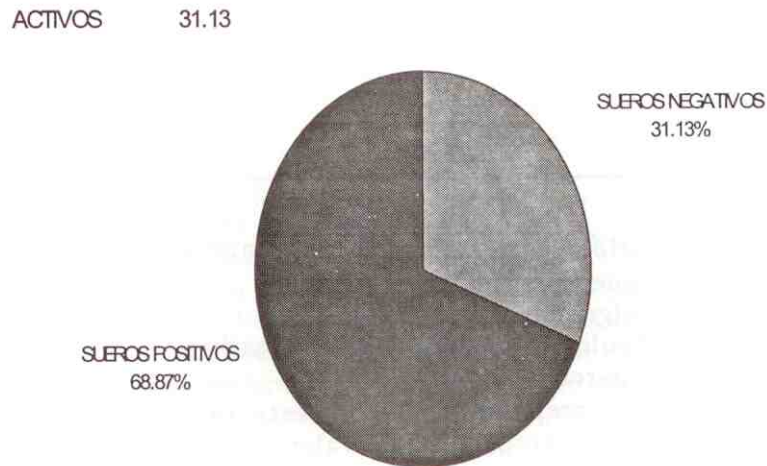


Figura 2. Reactores positivos a PI3 en el ganado BON de acuerdo a la procedencia en el departamento de Antioquia

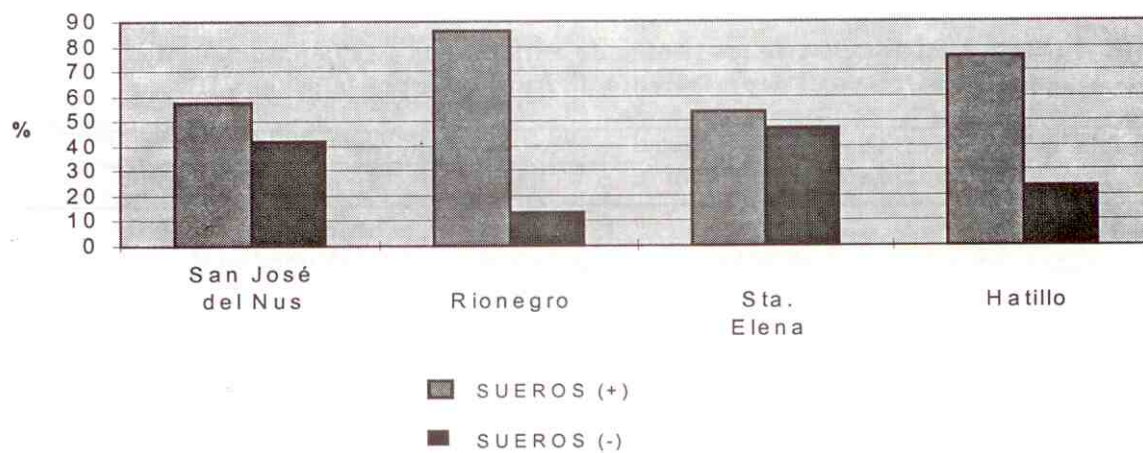


Tabla 3. Distribución de los títulos de anticuerpos contra PI3 en el ganado BON de acuerdo a la procedencia en el departamento de Antioquia.

| Titulo* | Procedencia          |       |             |       |              |       |             |       |
|---------|----------------------|-------|-------------|-------|--------------|-------|-------------|-------|
|         | San José del Nus (1) |       | Hatillo (2) |       | Sta Elena(3) |       | Rionegro(4) |       |
|         | Muestra              | %     | Muestra     | %     | Muestra      | %     | Muestra     | %     |
| ≤10     | 70                   | 42.16 | 22          | 23.65 | 23           | 46.93 | 15          | 13.63 |
| 20      | 25                   | 15.06 | 24          | 25.80 | 15           | 30.61 | 24          | 21.81 |
| 40      | 44                   | 26.50 | 34          | 36.55 | 7            | 14.28 | 22          | 20.00 |
| 80      | 22                   | 13.25 | 11          | 11.82 | 3            | 6.12  | 30          | 27.20 |
| 160     | 2                    | 1.20  | 0           | -     | 0            | -     | 11          | 10.00 |
| 320     | 3                    | 1.80  | 2           | 2.10  | 1            | 2.04  | 6           | 5.45  |
| 640     | 0                    | -     | 0           | -     | 0            | -     | 2           | 1.81  |

\* Inverso de la dilución

## Discusión

En este estudio se encontró una prevalencia de 68.89% a PI3 en núcleos de ganado BON existentes en Antioquia; lo anterior está de acuerdo con una investigación realizada por Ruiz y Carrillo en 1979, en la cual hallaron una seroreactividad a PI3 en reproductores bovinos de Urabá, del 40.5% en donde se definió que títulos de anticuerpos  $\geq 1:20$  indicaban haber padecido la infección o haber estado en contacto con el virus (13).

Los altos porcentajes de reactores positivos en los núcleos de BON existentes en Antioquia (Figura.1), se deben posiblemente a la consecución de pie de cria en la granja experimental el Nus, en donde Cataño en 1982 halló una prevalencia a PI3 del 50%. Además, debido a la evidencia serológica a PI3 hallada en esta investigación es necesario aislar y caracterizar hasta donde sea posible el virus, para establecer la causa etiológica de trastornos respiratorios y reproductivos en ganado BON. Lo anterior concuerda con lo sugerido para IBR, en donde se establece la necesidad de hacer un esfuerzo interinstitucional para crear un servicio de diagnóstico permanente y sistemático con el fin de lograr esclarecer el problema no solamente de IBR

(1) sino también a otros virus como el de la PI3.

En Colombia el virus PI3 parece estar implicado en la presentación del síndrome conocido como fiebre de embarque, en compañía de otras entidades como IBR, en donde a pesar de la alta frecuencia serológica, su evidencia clínica ha sido controvertida por la ausencia específica de la enfermedad. Por lo anterior el esclarecimiento del problema de la PI3 en nuestro país es complejo. Podría especularse que probablemente el virus de PI3 y el del IBR circulante en nuestro medio producen una infección benigna por lo cual es necesario continuar esta línea de trabajo para medir el verdadero impacto en nuestro país.

Una vez obtenido el virus en el laboratorio se podrían estandarizar nuevas técnicas de diagnóstico tales como inmunensayos, las cuales tienen mayor especificidad y sensibilidad que las pruebas de Inhibición de la hemoaglutinación y permiten realizar estudios epidemiológicos tanto en suero como en leche en poblaciones mas numerosas, como también medir la respuesta de anticuerpos post inmunización, en el supuesto que se establezca un programa de prevención y control mediante el uso de vacunas, las cuales ya están disponibles comercialmente en Colombia.

### Summary

*In a survey of 418 Bovine sera from Blanco Orejinegro (BON) cattle were tested by hemoagglutination inhibition (HI) to Parainfluenza-3 (PI3) virus. The prevalences found for different regions of Antioquía were: San José del Nus (50.83%), Rionegro (86.36%), Santa Elena (52.06%), Hatillo (76.34%). It's necessary to determine the economical impact of PI3 on Antioquía Bovine population*

### Referencias

1. Arboleda JJ, Rodas JD, Bedoya D. Estudio sobre rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) en un hato lechero del Valle del Aburra. Trabajo de Grado. U de A. 1991
2. Berrio P, Caledon O. Caracterización de dos cepas del virus PI3. Aisladas de bovinos con problemas respiratorios. Archivos de Medicina Veterinaria. Universidad Austral de Chile. 22v. N.2: 169-171.1990.
3. Blood DC, Radostits OM. Medicina Veterinaria. 7ª ed. Interamericana Mc Graw-Hill. 1992. p. 966-967
4. Cataño BA, Salazar O, Zuluaga RE. Estudios serológicos para el virus PI3 en el ganado de la estación agropecuaria del Nus. Tesis de grado U de A. 1982.
5. Engen EL. Changes in Phospholipids of Alveolar Lining Material in calves after aerosol exposure to bovine herpes viral - II or virus : Am.J. Vet. Res. 1991; 52: 675-677.
6. Fenner F, Bachmann P, Murphy F, et. al. Veterinary Virology. Orlando Academic Press, Inc 1987. p. 485-492
7. Horshc F. Inmunología de los animales domésticos. Zaragoza: Acribia. S.A. 1983. p. 256-257
8. Kahrs R. Enfermedades viricas del ganado vacuno. Zaragoza: Acribia S.A 1985. p. 213-225
9. Mazorra C, Gurierrez G. Revista de Producción animal. Estudios epizootológicos comparativos entre las unidades suministradoras de terneros y la recrias receptoras. Rev prod anim 1986; 2: 153-158.
10. Mohanty SB, Dutta SK. Virología veterinaria. México: Nueva editorial Interamericana S.A., 1983. p. 149-151.
11. Perez J, Sione D. Estudios serológicos de la infección por virus de PI3 en bovinos de Antioquia. Revista de la Escuela Nacional de Salud Publica. Medellín: 3v. N 1. Enero-Juni 1977.
12. Rodriges G. et al. Manual de técnicas en microbiología. Documento de trabajo numero 18, ICA 1983. Bogota, 1978.
13. Ruiz H, Carrillo R. Estudio serológico para brucelosis y PI3 en reproductores bovinos del Urabá Antioqueño. Trabajo de grado Facultad Medicina Veterinaria Y Zootecnia U de A. 1979.
14. Shibuta H. Encyclopedic of Virology . Edited by Robert G. Webster. Allan Granoff. Academic Press Limited. 1994. p. 1031-1036.
15. Tizard I. Inmunología veterinaria. 4ª ed. Interamericana Mc. Graw Hill. 1995 p. 281-492.