
ARTÍCULOS DE REVISIÓN

DIARRREA VIRAL BOVINA. ENFERMEDAD DE LAS MIL CARAS

BOVINE VIRAL DIARRHEA. DISEASE OF THE THOUSAND FACES

Patricio Berríos E.¹

RESUMEN

La diarrea viral bovina es una enfermedad de distribución mundial y está considerada como la más importante infección viral de los bovinos. Es causada por un virus ARN que pertenece al género pestivirus, de la familia Flaviviridae, y del cual se describen dos biotipos y dos genotipos. Este virus afecta los sistemas digestivo, respiratorio, reproductivo e inmunológico, por lo que se le ha denominado “enfermedad de las mil caras.” La enfermedad se puede presentar con infecciones inaparentes, infecciones respiratorias, infecciones del tracto digestivo, síndrome hemorrágico, enfermedad de las mucosas e infecciones del tracto reproductivo y fetal. En esta revisión se discuten, además, aspectos sobre su diagnóstico y prevención.

Palabras clave: bovinos, diarrea, virus

ABSTRACT

Bovine viral diarrhea is a worldwide disease and is considered the most important viral infection in cattle. It is caused by an RNA virus that belongs to the genus pestivirus of the Flaviviridae family; two biotypes and two genotypes

are described. This virus affects the digestive, respiratory, reproductive and immune systems, which has been called “disease of a thousand faces.” The disease can occur with unapparent infections, respiratory infections, infections of the digestive tract, hemorrhagic syndrome, mucosal disease and infections and fetal reproductive tract. In this review aspects of diagnosis and prevention are also discussed.

Key words: cattle, diarrhea, virus

INTRODUCCIÓN

La diarrea viral bovina fue descrita por primera vez en Nueva York (EE.UU.), en 1946. Siete años después, apareció la enfermedad de las mucosas (EM). En 1957 se identificó al virus causante, denominado virus de la diarrea viral bovina (VDVB). Posteriormente, se comprobó que ambos cuadros son causados por el mismo virus y se denominan complejo diarrea viral bovina/enfermedad de las mucosas (DVB/EM). Desde un punto de vista económico, esta enfermedad ha sido considerada como la más importante infección viral de los bovinos (1).

¹ MÉDICO VETERINARIO, MÁSTER OF SCIENCE, DOCTOR OF PHILOSOPHY (PH.D), PROFESOR TITULAR DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE. ESPECIALISTA EN VIROLOGÍA Y ENFERMEDADES VIRALES.

El VDVB pertenece al género pestivirus, de la familia Flaviviridae. Inicialmente, se le consideró como patógeno solo para los bovinos, aunque luego se comprobó que puede infectar a otros rumiantes. El género pestivirus incluye a los virus de la peste porcina clásica y de la enfermedad de Border, y a dos especies del VDVB: VDVB-1 (virus tipo NADL) y VDVB-2 (virus tipo 890). Todos los pestivirus tienen un cierto grado de reacción cruzada, lo que no permite diferenciarlos solamente por serología.

El VDVB es un ribovirus cuyo ARN genómico está envuelto por una membrana bilipídica en la que se insertan dos glicoproteínas que contienen los principales determinantes antigénicos del virus, las que además participan en la unión y fusión celular. Una tercera glicoproteína actúa en la inmunosupresión. Las cepas del VDVB presentan una considerable variabilidad genética. El VDVB infecta a los bovinos como una población de variantes virales, diversidad que se creía debida a su replicación en animales previamente infectados o vacunados, aunque actualmente se acepta que los cambios genéticos ocurren más rápido en hembras gestantes, en una serie de infecciones y en ausencia de una respuesta inmune. Se acepta que esta diversidad genética se debe a una falta de corrección de lectura en la enzima ARN polimerasa ARN dependiente, por lo que se incorporan nucleótidos en forma equivocada que introducen mutaciones generadoras de poblaciones diferentes de virus llamados “cuasiespecies” (2).

Existen dos genotipos del virus, VDVB1 y VDVB2, que se subclasifican a su vez en subgenotipos, basados en diferencias antigénicas y genómicas, con 12 VDVB1 (a-1) y dos VDVB2 (a y b). En EE.UU., se describen tres subtipos: VDVB-1a, 1b y 2a, y un reporte de un VDVB-2b. Otra categorización se basa en la presencia o ausencia de efecto citopático viral en

cultivos celulares, biotipos citopáticos (cp) y no citopáticos (ncp). En las infecciones naturales se verifica un 90% de cepas ncp y un 10% de cepas cp. En EE.UU., las cepas predominantes en los casos naturales son ncp (2).

El clonado y la secuenciación de la región 5' UTR de algunas muestras obtenidas de búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) reveló la presencia de coinfección natural con al menos dos subtipos diferentes de VDVB (1a y 1b) y con las especies virales BVDV-1 y BVDV-2 (3).

La DVB es una enfermedad cosmopolita. El VDVB afecta a los sistemas digestivo, respiratorio, reproductivo e inmunológico, por lo que se la ha denominado “enfermedad de las mil caras”. Generalmente, se presenta como una enfermedad sistémica. Debido a su efecto inmunodepresor, este virus está estrechamente relacionado con el complejo respiratorio del bovino. También ha sido detectado en ovinos, caprinos y porcinos, así como en rumiantes silvestres y búfalos africanos. Muchos años necesitó la medicina veterinaria para conocer en detalle la evolución del VDVB, sus implicancias patogénicas y epidemiológicas, entre ellas la recombinación del ARN viral, las consecuencias de la infección intrauterina y su efecto sobre el sistema inmunológico (1).

Esta enfermedad compleja y complicada se inicia con la presentación de cuadros agudos de diarrea, los que paulatinamente van decreciendo en intensidad. Luego, aparece la enfermedad de las mucosas, de mayor gravedad, relacionada con el biotipo ncp, que en animales inmunotolerantes, luego de la reinfección con el biotipo cp, produce una diarrea aguda con erosiones en todo el tracto digestivo. En 1992, se describió un síndrome hemorrágico que se presenta con alta mortalidad y está asociado con el biotipo ncp. El virus causante se conoce como

VDVB tipo 2. En el complejo DVB/EM se describen animales persistentemente infectados, con viremia, y que eliminan continuamente el virus. Estos animales son inmunotolerantes contra el biotipo ncp (4).

En esta actualización, que resume más de 60 años de investigación, se entrega información sobre aspectos prácticos tales como diagnóstico, vacunas e inmunología contra la infección por el VDVB, así como también sobre la biología del virus y sus interacciones con el sistema inmunológico del hospedero.

IMPACTO DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA EN LA INMUNIDAD ADAPTATIVA

Estudios recientes sobre los efectos de la infección por el VDVB en la respuesta inmune abarcan desde la presentación del antígeno hasta la apoptosis de células B. La infección por el VDVB causa inmunosupresión de la inmunidad adaptativa, efecto que es cepadependiente. Se ha enfatizado el estudio de la respuesta inmune en pulmones y tracto intestinal. Las cepas ncp activan la rama humoral del sistema inmune adaptativo en forma más rápida que las cepas cp; además, trafican más a órganos del SI asociados con la respuesta inmune de las mucosas, y persisten más tiempo en tejidos inmunológicos que las cepas cp. Las infecciones agudas con cepas cp son más bien raras, mientras que las cepas ncp son las predominantes en el terreno. En infecciones agudas o peragudas, las interacciones se dan con el sistema inmune intacto, mientras que en las infecciones persistentes el sistema inmune presenta inmunotolerancia hacia el VDVB, producida durante el desarrollo fetal. Los animales con infección persistente y que presentan EM tienen ambas cepas, la cepa ncp persistente y la cepa cp mutante, que juntas son

responsables del desarrollo de la enfermedad (5).

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LA DIARREA VIRAL BOVINA

Para el control y eventual erradicación de esta enfermedad es fundamental contar con adecuadas pruebas de diagnóstico. De hecho, estas pruebas son esenciales para realizar cualquier programa. La idea que la DVB podría ser erradicada de la población bovina comercial descansa en los progresos que se han realizado durante los últimos años para detectar con seguridad la infección por VDVB en el ganado. La biología molecular ha aportado el desarrollo de los anticuerpos monoclonales y la implementación de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa reversa. Tres acciones son importantes para intentar el control: identificación y eliminación de animales persistentemente infectados, aumento de la respuesta inmune posvacunación e implementación de medidas de bioseguridad (6).

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

Aislamiento viral. Para el VDVB, se utiliza una línea celular de riñón fetal bovina (MDBK). Es importante esta tecnología porque, además, puede detectar otros virus presentes en la muestra e incluso revelar la presencia de virus DVB como contaminante del suero fetal bovino utilizando anticuerpos monoclonales.

Inmunofluorescencia e inmunohistoquímica. La detección directa del VDVB en tejidos de animales sospechosos ha sido de gran ayuda en el diagnóstico, especialmente en la detección y eliminación de animales persistentemente infectados.

Elisa (captura de antígeno). Utiliza el antígeno NS3 (P 80), que se encuentra muy conservado en la mayoría de las cepas del VDVB. Esta prueba es útil para detectar el antígeno viral en sueros de animales persistentemente infectados, biopsias de piel y en muestras individuales de leche. Las muestras de elección para estas pruebas son suero (plasma), y tejidos, como biopsias de piel (orejas). La utilización de esta técnica ha permitido realizar planes de control económicamente factibles.

Pruebas de detección de ácidos nucleicos. La amplificación de ácidos nucleicos ha sido facilitada por el rápido progreso en su secuenciación. La comercialización de la reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa reversa y su alta sensibilidad permiten trabajar con “*pooles*” de muestras de rebaños para detectar animales infectados en forma aguda, animales persistentemente infectados y animales inmunizados con vacunas preparadas con virus vivo modificado. Cabe señalar que estas técnicas no están disponibles rutinariamente por su alto costo.

Pruebas serológicas. Las más utilizadas son seroneutralización viral y Elisa. Estas pruebas son empleadas para determinar si un animal ha estado infectado por el VDVB, si un ternero posee anticuerpos calostrales específicos, si están inmunizados apropiadamente, si están infectados en forma aguda y si un ternero ha sido infectado *in utero* (4 y 5).

Pruebas diagnósticas de apoyo en programas de control. Las pruebas diagnósticas antes señaladas son capaces de apoyar los programas de control de la DVB. A pesar de detectar infecciones por el VDVB, animales persistentemente infectados siguen existiendo debido a la carencia de efectivos programas de manejo. Tres métodos de diagnóstico se

utilizan actualmente para detectar animales persistentemente infectados: pruebas de inmunofluorescencia e inmunohistoquímicas en trozos de piel de orejas; pruebas de Elisa en sueros, piel y muestras de leche individuales; y pruebas PCR-TR en sangre, leche y piel de orejas. Las pruebas serológicas se recomiendan para pesquisar animales persistentemente infectados en rebaños en que no se vacuna contra la DVB (3).

RESPUESTA DEL HOSPEDERO AL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA E INTERACCIÓN CON AGENTES INFECCIOSOS EN EL *FEEDLOT* Y EN GANADO DE REPRODUCCIÓN

La infección por el VDVB puede afectar varios órganos del hospedero y actuar en concomitancia con otros agentes infecciosos. El virus tiene un tropismo por varios órganos. Es muy específico en el caso de los terneros persistentemente infectados que se han contagiado durante la preñez, y en el caso de que estos animales se sobreinfectan con una cepa cp y se produce la enfermedad de las mucosas. El papel del VDVB en las infecciones mixtas o sinérgicas se debe a su capacidad inmunosupresora. La inmunosupresión, a nivel de inmunidad innata (vías respiratorias) y adquirida, condiciona la producción de infecciones secundarias o coinfecciones (7).

La DVB se puede presentar en diferentes formas asociadas a la inmunosupresión viral:

Infecciones inaparentes. Como muchas infecciones postnatales, pueden pasar desapercibidas en forma inaparente, aunque afectan al feto y no presentan síntomas en la madre. Los jóvenes terneros se infectan con más facilidad debido a la pérdida de la inmunidad materna. La vida media de los anticuerpos maternos es de unos 23 días. El período

de incubación en el ternero va entre 5 y 7 días, y la viremia no dura más de 15 días. Se describe la presencia de anticuerpos específicos en animales no vacunados.

Infección respiratoria. Se ha demostrado la enfermedad respiratoria por infección experimental. La infección sinérgica, viral-bacteriana, debido al compromiso de sistema inmune por daño en el epitelio nasal y traqueal, y la consecuente alteración del aparato mucociliar de limpieza, permite la colonización bacteriana. Se suma la alteración de la inmunidad innata, macrófagos, células fagocíticas y neutrófilos, junto a la supresión de linfocitos B y T. En casos de infecciones respiratorias con neumonías fatales, se han aislado junto al VDVB otros agentes que incluyen virus herpes bovino, virus parainfluenza tipo 3, coronavirus bovino, *M. haemolytica*, *P. multocida*, *Histophilus somni* y varios tipos de mycoplasmas. En un brote de neumonías en un *feedlot* en Oklahoma se aislaron el VDVB-1a, VDVB-1b y el VDVB-2a. Incluso, en un caso semejante se aisló el virus vacunal VDVB-1a cp NADL.

Infecciones en el tracto digestivo. Estas infecciones pueden ocurrir a cualquier edad, desde neonatos hasta adultos. La presentación primaria generalmente ocurre entre los seis y 24 meses de edad, y se manifiesta con fiebre, anorexia, depresión y, a veces, con diarrea, úlceras y erosiones en la mucosa oral y lingual. Debido al efecto inmunosupresor del VDVB, en algunos casos se encuentran infecciones concurrentes con *E. coli*, *Salmonella spp.*, cryptosporidiosis, rotavirus o coronavirus bovino.

Presentación trombocitopenia hemorrágica. El síndrome hemorrágico se caracteriza por trombocitopenia, diarrea sanguinolenta, hemorragias en las mucosas y muerte. El biotipo viral es la cepa

ncp. La enfermedad es generalmente fatal.

Enfermedad de las mucosas. Es de baja morbilidad y alta mortalidad. La EM resulta de la infección de un ternero persistentemente infectado con una cepa cp, la que probablemente ha evolucionado o mutado de la cepa ncp. La enfermedad se caracteriza por una grave patología digestiva con úlceras y erosiones por todo el tracto digestivo, lesiones en la piel y espacios interdigitales. En la EM se pueden aislar ambas cepas.

Infecciones del tracto reproductivo y fetal. Estas infecciones se presentan según el tiempo de gestación. Si la infección ocurre en los primeros días, hay efectos negativos en la concepción e implantación del huevo, que dan como resultado menores tiempos de la concepción y repetidos ciclos. El aborto puede ocurrir debido a la infección viral entre los días 45 y 175, con cepas cp y ncp. Las vacunas preparadas con VDVB vivo modificado no deben emplearse en vacas gestantes. Defectos congénitos y malformaciones pueden ocurrir como resultado de la infección viral entre los días 10 y 150. Los posibles defectos son: hipoplasia cerebelar, microencefalia, hidrocefalia, hidroencefalia, poroencefalia, hipomielinización, cataratas, microoftalmia, degeneración retinal, neuritis óptica, hipoplasia tímica, hipotricosis, osteogénesis alterada y retardo en el crecimiento (8).

Terneros persistentemente infectados. Fetos infectados con cepas ncp entre los días 42 y 125 pueden sobrevivir, portar el virus y diseminarlo de por vida, siendo los principales reservorios del VDVB. Estos animales son inmunotolerantes a la cepa ncp infectante, aunque pueden responder con producción de anticuerpos contra cepas heterólogas o cepas vacunales. Las infecciones que ocurren en el último trimestre de la gestación dan lugar a terneros con anticuerpos

específicos pero sin virus. El término “infectados congénitamente” se refiere a estos animales con anticuerpos al nacer, pero sin virus detectable (7).

RESPUESTA INMUNOLÓGICA CONTRA LAS VACUNAS DIARREA VIRAL BOVINA

Las vacunas contra la DVB están disponibles desde 1960. Estas son preparadas con cepas cp. Vacunas inactivadas o preparadas con virus vivo modificado han demostrado ser eficaces bajo condiciones controladas. Tanto la inmunidad humoral como la celular son protectoras. La respuesta de los linfocitos B está dirigida preferentemente contra las proteínas virales E2 y NS2/3, y en menor grado contra las proteínas Erns y E1. El mayor epítipo neutralizante se ubica en la mitad N-terminal de la proteína E2. Las vacunas son efectivas a nivel de rebaño. La vacunación contra la DVB/EM presenta difíciles desafíos debido a que el VDVB carece de lectura de pruebas, lo que causa la gran heterogeneidad entre los genomas de las diferentes generaciones del virus. Por otra parte, la presencia de animales persistentemente infectados por toda la vida del animal afecta el control de la enfermedad. El uso de la vacunación para el control de la DVB se justifica porque limita la diseminación del

virus, además de reducir la extensión de la enfermedad en animales infectados.

Con respecto a la RI, la vacunación induce una respuesta por LC-B y T contra el VDVB, que reduce la incidencia de la presentación aguda y la presencia de animales persistentemente infectados en un rebaño, aunque no previene la infección de todos los animales debido a la heterogeneidad de las poblaciones virales. Incluso el uso de vacunas preparadas con VVM puede producir un cierto grado de inmunosupresión. Se acepta que, para que la vacunación sea efectiva, se deben eliminar previamente todos los animales persistentemente infectados (9).

En 2015, para mejorar su inmunogenicidad, una versión truncada de la E2 (tE2) se fusionó a un anticuerpo de cadena simple (APCH). Se expresaron las proteínas APCH-tE2 y tE2 en el sistema de baculovirus y su inmunogenicidad fue evaluada y comparada en cobayos. La proteína APCH-tE2 fue la que indujo la mejor respuesta humoral. Por dicha razón, se la evaluó en bovinos utilizando 1,5 µg de antígeno. Los animales presentaron altos títulos de anticuerpos neutralizantes contra el VDVB hasta un año luego de la inmunización (10).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moennig V. Foreword. *Biologicals* 2013; 41: 1.
2. Neill JD. Molecular biology of bovine viral diarrhoea virus. *Biologicals* 2013; 41: 2-7.
3. Craig M, König G, Benítez D, Draghi M. Detección molecular de coinfección con los virus de la diarrea viral bovina (BVDV) en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) serológicamente negativos. *Revista Argentina de Microbiología* 2015; 47 (2): 148-51.
4. Eschbaumer M, Law S, Solís C, Chernick A, Van der Meer F, Czub M. Rapid detection of neutralizing antibodies against bovine viral diarrhoea virus using quantitative high-content screening. *J. Virological Methods* 2014; 198: 56-63.
5. Dubovi EJ. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus. *Biologicals* 2013; 41: 8-13.
6. Chase C. The impact of BVDV infection on adaptive immunity. *Biologicals* 2013; 41: 52-60.
7. Fulton RW. Host response to bovine viral diarrhoea virus and interactions with infectious agents in the feedlot and breeding herd. *Biologicals* 2013; 41: 31-8.
8. Lanyon R, Hill FI, Reichel MP, Brownlie J. Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. *Vet J.* 2014; 199: 201-9.
9. Ridpath J. Immunology of BVDV vaccines. *Biologicals* 2013; 41: 14-9.
10. Pecora A, Malacari D, Pérez M, Bellido D, Escribano J, Dus Santos M, Wigdorovitz A. Desarrollo de una vacuna de subunidad BVDV mejorada basada en la glucoproteína E2 fusionada a un anticuerpo de cadena simple que se dirige a células presentadoras de antígeno *Revista Argentina de Microbiología* 2015; 47 (1): 4-8.

RECIBIDO: 10/12/2015
ACEPTADO: 19/12/2015

AUTOR: PATRICIO BERRÍOS E.
CORRESPONDENCIA: pbetch19@gmail.com