

INFORME BREVE

## Relevamiento serológico de anticuerpos contra enfermedades virales de interés sanitario en llamas (*Lama glama*) de la provincia de Jujuy, Argentina

Elena S. Barbieri<sup>a,d</sup>, Daniela V. Rodríguez<sup>a</sup>, Raúl E. Marin<sup>b</sup>, Walter Setti<sup>c</sup>, Sandra Romero<sup>c</sup>, María Barranteguy<sup>a,e</sup> y Viviana Parreño<sup>a,d,\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Virología. CICVyA, INTA-Castelar, Buenos Aires, Argentina

<sup>b</sup> Ministerio de Producción, Jujuy, Argentina

<sup>c</sup> EEA INTA Abrapampa, Jujuy, Argentina

<sup>d</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

<sup>e</sup> Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Medicina Veterinaria, Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

Recibido el 29 de abril de 2013; aceptado el 5 de septiembre de 2013

### PALABRAS CLAVE

Llamas;  
Rotavirus;  
Pestivirus;  
Herpesvirus;  
Inf uenza;  
Parainf uenza

### Resumen

Las poblaciones de llamas de Argentina se concentran principalmente en la provincia de Jujuy; su explotación representa un importante recurso económico de las comunidades altoandinas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la seroprevalencia de anticuerpos contra algunos agentes virales asociados a enfermedades de impacto productivo en rebaños de llamas de Jujuy. Se analizaron 349 sueros de llamas adultas de 6 departamentos de la puna jujeña ubicados por encima de los 3300 msnm. Se obtuvo una prevalencia del 100 % para rotavirus grupo A y del 70 % para el virus parainfluenza-3 bovino, mientras que no se detectaron reactores para herpesvirus bovino 1, virus de la diarrea viral bovina, influenza A humana (H1N1) e influenza equina (H3N8). Los resultados obtenidos confirman la amplia distribución de rotavirus y virus parainfluenza y la baja susceptibilidad a herpesvirus y pestivirus en las tropas de llamas de la puna jujeña.

© 2013 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: vparreno@cni.inta.gov.ar (V. Parreño).

**KEYWORDS**

Llamas;  
 Rotavirus;  
 Pestivirus;  
 Herpesvirus;  
 Inf uenza;  
 Parainf uenza

## Serological survey of antibodies against viral diseases of public health interest in llamas (*Lama glama*) from Jujuy province, Argentina

**Abstract**

Llama population from Argentina is mainly concentrated in the Andean Puna, Jujuy. Llamas represent an important economic resource for the Andean communities. The aim of this study was to investigate the prevalence of antibodies against viral antigens associated to viral diseases of economic impact (neonatal diarrhea, reproductive and respiratory syndromes). A total of 349 serum samples from adult llamas were analyzed. The obtained antibody prevalence was 100 % for *Rotavirus A* and 70 % for *Bovine parainfluenza virus 3*. In contrast, no reactors were detected to *Bovine herpesvirus 1*, *Bovine viral diarrhea virus 1*, *Human influenza A virus (H1N1)* and *Equine influenza virus (H3N8)*. These results confirm the wide circulation of rotavirus and parainfluenza virus in Argentinean llamas and suggest that susceptibility to infection with bovine herpesvirus, pestivirus and influenza A viruses is low. This serologic survey provides novel information regarding the epidemiology of viral diseases affecting llamas from the Argentinean Andean Puna.

© 2013 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Los camélidos sudamericanos (CSA) representan una fuente de riqueza pecuaria y genética de los países altoandinos, y son fuente de fibra, carne y productos indispensables para la subsistencia de los pobladores de la Puna<sup>10</sup>. Dentro de este grupo se incluyen dos especies domésticas, alpaca (*Lama pacos*) y llama (*Lama glama*), y dos silvestres, vicuña (*Lama vicugna*) y guanaco (*Lama guanicoe*).

En Argentina, la población de llamas se estima en 200 000 individuos según el censo del año 2002<sup>10</sup>, localizándose principalmente en la provincia de Jujuy (67,8 %). En los últimos cuatro años se ha observado un aumento de la población en relación con ciertos factores, como el incremento del valor de la fibra y la carne y la implementación de estímulos económicos regionales por parte del Gobierno.

Las enfermedades infecciosas y parasitarias constituyen un factor limitante en la producción de camélidos domésticos debido a la alta mortalidad y morbilidad de crías y adultos, lo que genera graves pérdidas económicas y afecta al bienestar social<sup>10</sup>. Existen datos de enfermedades virales provenientes de relevamientos en llamas de las provincias de Buenos Aires, Córdoba y Jujuy; de otro estudio sobre guanacos, llamas y vicuñas de Salta, Catamarca y Jujuy; y de otros estudios realizados en poblaciones silvestres de guanacos y vicuñas<sup>3,7,9</sup>. Sin embargo, son pocos los informes de casos clínicos de enfermedad, de aislamientos o de caracterización de agentes virales en CSA.

En general, la infección de camélidos se describe como resultado de un contagio interespecie, y solo algunos estudios sugieren la existencia de virus propios de camélidos<sup>5,7</sup>. Se han descrito tumores en llamas producidos por un papilomavirus característico, también se documentó la presencia de rotavirus grupo A (*Rotavirus A*: RVA) en guanacos de la Patagonia argentina<sup>7</sup> y en vicuñas de la Puna<sup>1</sup>.

Se ha caracterizado la secuencia completa del genoma viral de cepas de RVA detectadas en muestras de crías de guanacos con diarrea grave en Río Negro y Chubut<sup>5,7</sup> y en muestras de materia fecal de crías sanas de vicuñas de la puna jujeña<sup>1</sup>. Se ha informado que las alpacas pueden ser infectadas por varios agentes virales: virus parainfluenza-3 bovina (*Bovine parainfluenza virus 3*: PI-3), virus sincial

respiratorio bovino (*Bovine respiratory syncytial virus*: BRSV), herpesvirus bovino 1 (*Bovine herpesvirus 1*: BoHV-1), virus de la lengua azul, virus de la enfermedad de la frontera, virus influenza A, RVA, virus de rabia, de la estomatitis vesicular, virus de la fiebre aftosa y ectima contagioso<sup>12</sup>. Asimismo, Rivera *et al.* encontraron prevalencias de anticuerpos (Ac) contra PI-3, BRSV e influenza A del 35,34 %, 16,52 % y 4 %, respectivamente, en alpacas de Puno, Perú<sup>12</sup>. Por su parte, Victorio *et al.* detectaron seroprevalencias elevadas en un relevamiento de alpacas efectuado en 2002<sup>14</sup>. Por otro lado, Riveros *et al.* informaron la circulación de influenza A humana H1N1 en pequeños rumiantes del zoológico de Santiago de Chile<sup>13</sup>, dos llamas seropositivas frente a influenza humana A/Santiago/743/83 (H1N1).

En la provincia de Jujuy, entre el 80 y el 90 % de los criadores de llamas son pequeños productores con no más de 80 animales, que también crían con ovejas, y, en algunos casos, vacas, cabras y caballos, entre otros. El programa oficial de fomento de la sistematización productiva de dicha especie tiene como objetivo establecer las variables sanitarias e identificar las enfermedades de potencial impacto productivo para su estudio y caracterización, y para la aplicación de posibles medidas de control<sup>4</sup>.

En virtud de la simpatria entre llamas y otras especies de ganado exótico introducido en la Puna, y dada la escasez de datos epidemiológicos acerca de patógenos virales que los afectan, el objetivo de este trabajo fue investigar la circulación de agentes virales de impacto productivo y de interés en salud pública en tropas de llamas de la provincia de Jujuy. En particular, se evaluó la seroprevalencia de los siguientes agentes virales: BoHV-1, virus de la diarrea viral bovina (*Bovine viral diarrhea virus*: BVDV), PI-3, de la influenza A humana (H1N1), de la influenza A equina (H3N8) y RVA.

El estudio incluyó muestras de sueros obtenidos en las campañas realizadas entre los años 2007 y 2008, de 349 llamas pertenecientes a hatos de pequeños productores distribuidos en 27 localidades de 6 departamentos de Jujuy todos ubicados por encima de los 3300 msnm (Fig. 1). Las muestras fueron procesadas para la detección de Ac contra BoHV-1 (cepas Los Ángeles) y BVDV (cepa Singer, 1a) [ori-



**Figura 1** Mapa representativo de la distribución geográfica de los productores ganaderos en la provincia de Jujuy ( $24^{\circ} 01' S - 65^{\circ} 25' O$ ). Cada punto numerado se corresponde con una localidad citada al margen. (Autorizada su reproducción por Marín R.E. "Prevalencia sanitaria en llamas de la provincia de Jujuy". Gacetilla de Divulgación técnica, Ministerio de Producción de Jujuy, 2006).

gen: *American Tissue Culture Collection*] por seroneutralización viral. Los 349 sueros fueron analizados en diluciones seriadas base 2 a partir de una dilución inicial de 1/4. El título de Ac neutralizantes fue determinado por el método de Reed y Muench<sup>11</sup>. Para el virus de influenza A humana (H1N1) y equina (H3N8) se analizaron solo los sueros obtenidos en 2008 ( $n = 71$ ) mediante la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (IHA). Los sueros fueron previamente tratados con diferentes agentes: 1) metaperyodato 0,016 M (Merck) con adsorción con 10  $\mu$ l de glóbulos rojos de cobayo (GRC) a  $37^{\circ} C$  y agitación, 2) metaperyodato (igual concentración y marca) pero sin adsorción de GRC, y 3) Kaolín al 5 % en PBS (Sigma-Aldrich) con adsorción de GRC. Las muestras se analizaron en diluciones seriadas base 2 y se enfrentaron a 8 unidades hemoaglutinantes (UHA) en 25  $\mu$ l. El ensayo se reveló por el agregado de una suspensión de GRC al 75 %<sup>15</sup>. Se utilizaron controles positivos de llama y conejo hiperinmunizados con vacunas humanas monovalente y bivalente (Novartis®). Para PI-3, los 349 sueros se analizaron por IHA según los procedimientos previamente descritos<sup>3</sup>. La detección de Ac contra RVA se realizó con un ELISA doble sándwich con la cepa de referencia RVA bovina I801 G8P[1] (cedida por la Dra. Linda J. Saif, OSU, EE.UU.). Parte de los sueros (184) se analizaron por ensayo de reducción de focos fluorescentes frente a la cepa de RVA bovina I801 G8P[1] correspondiente al serotipo detectado en guanacos y vicuñas<sup>1,3,7</sup>, para evaluar el nivel de Ac neutralizantes.

Del total de tropas de llamas, 14 se encuentran en rodeos mixtos que incluyen ganado ovino y caprino, y eventualmente bovino: con ovinos 57 %, con caprinos 33,8 %, con bovinos 18,46 %, y las 4 especies juntas el 3%. De los análisis efectuados surge que el 100 % de los sueros analizados pre-

sentó Ac contra RVA, con altos títulos neutralizantes frente a la cepa G8P[1], antigénicamente similar a la cepa detectada en guanacos y vicuñas. La prevalencia de Ac productores de IHA contra PI-3 fue del 70 %, y no se detectaron reactivos al evaluar BoHV -1, BVDV, y virus de influenza humana (H1N1) y equina (H3N8).

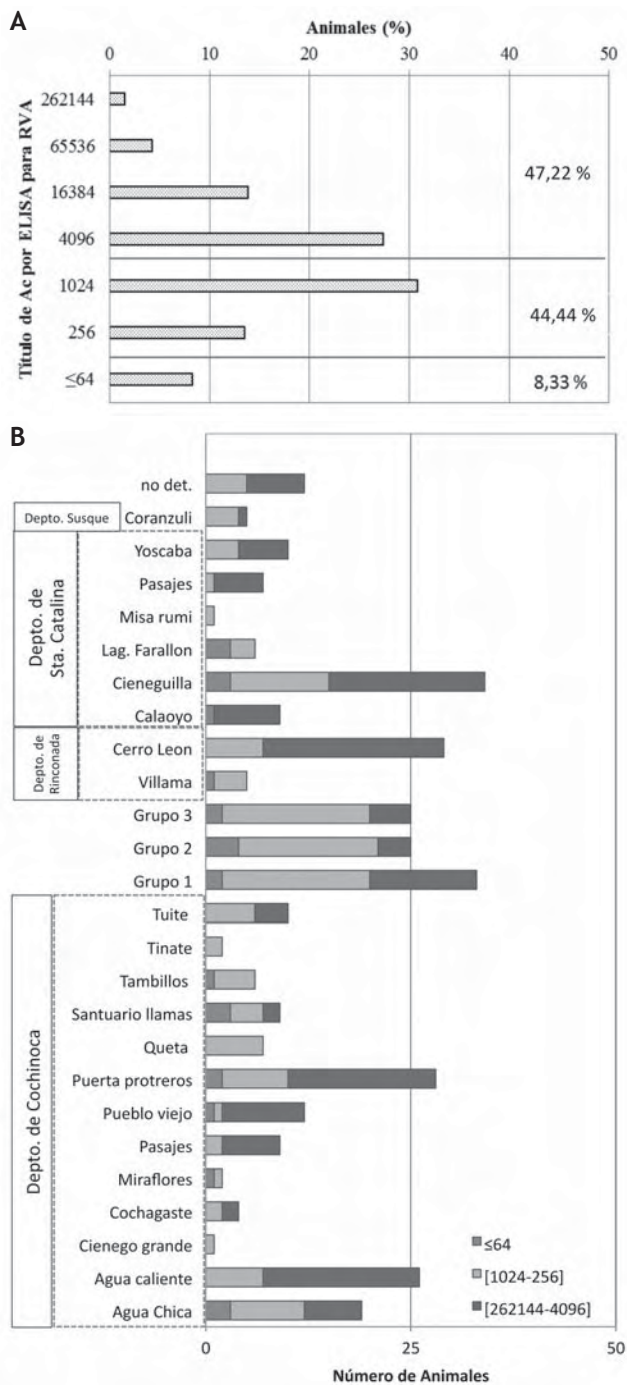
Los sueros positivos se agruparon en intervalos según el título de Ac obtenido en cada caso. De este modo, se observó que el 47,22 % de los animales presentaron títulos superiores o iguales a 4096 para RVA (f g. 2A). Los resultados distribuidos por departamento y localidad se muestran en la figura 2B, en la que se puede advertir una distribución diferencial entre algunas localidades.

Para el caso específico de PI-3, se observó que el 48 % de los animales presentaron un título mayor o igual a 320 (f g. 3A). También en este caso los datos obtenidos fueron analizados por localidad (f g. 3B) y se observó la existencia de altos títulos de Ac en algunos departamentos.

No se detectaron sueros positivos contra las cepas virales de influenza A estudiadas. El tratamiento previo de los sueros con Kaolín fue el que permitió obtener los resultados más precisos. Por último, no se encontraron sueros positivos contra los agentes virales BoHV-1 y BVDV.

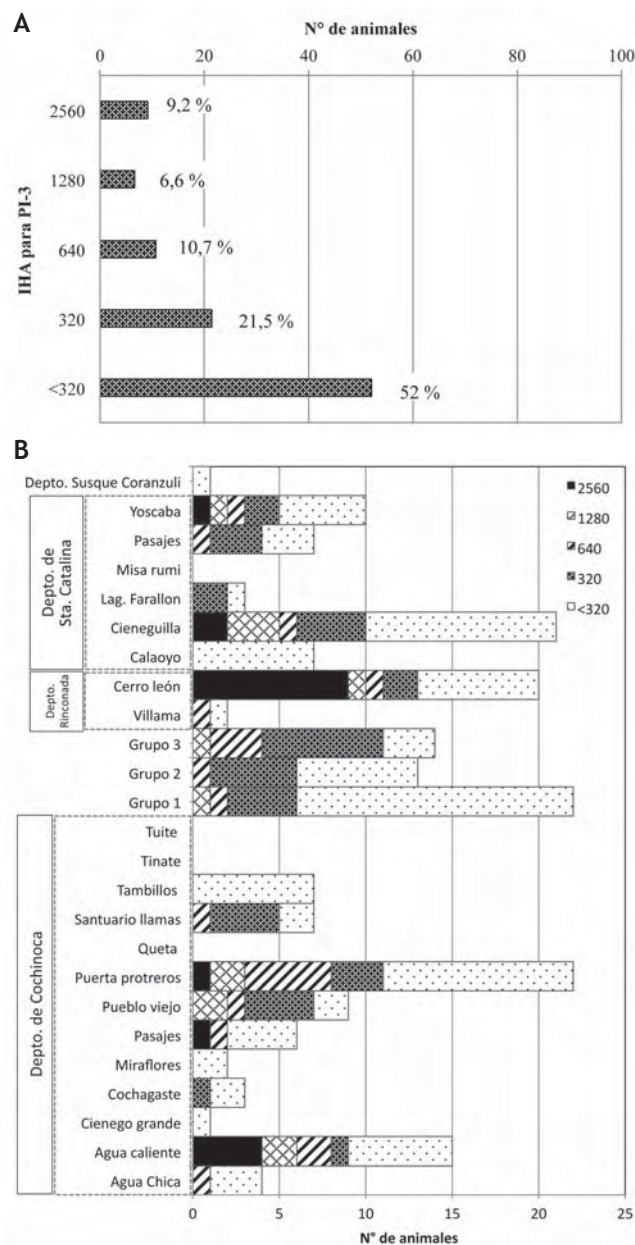
Los resultados de este trabajo demuestran que el 100 % de los animales evaluados presentaban Ac contra RVA, y un 70 % también tenían Ac contra PI-3. En relación con la circulación de RVA, los resultados se ajustan a lo que informan relevamientos previos<sup>7,9</sup> y sustentan la hipótesis de que los rotavirus son agentes virales de amplia circulación en las diferentes especies de CSA de nuestro país. Se ha detectado RVA caracterizado como G8P[14] y G8P[1] en crías de guanacos con diarrea severa en Chubut y Río Negro, mientras que recientemente se identificó una cepa RVA G8P[14] en teques asintomáticos de vicuñas de Abrapampa, Jujuy<sup>1,7</sup>. También se han detectado rotavirus G8 en dos estudios independientes en crías de alpacas con diarrea de las regiones de Puno y Cuzco, en Perú<sup>8</sup>. El análisis de otros segmentos del genoma de las cepas de RVA halladas en guanacos, vicuñas y alpacas indicó que los rotavirus poseen una constelación genómica similar a la encontrada en otras especies del orden *Artiodactyla*, y en particular con RVA-bovino, con el que llegan a compartir la secuencia de hasta 8 de las 11 proteínas virales, entre ellas VP7 y VP4, que inducen respuesta de Ac neutralizantes en los individuos infectados, que se asocian con protección. Las cepas de RVA de guanacos, vicuñas y alpacas pertenecen al serotipo G8 asociado a los P-tipos P[1] o P[14]<sup>1,5</sup>. Esto sugiere que los brotes severos de diarrea por rotavirus en camélidos podrían prevenirse mediante una vacunación que contemple los genotipos circulantes. Del total de muestras de este relevamiento, el 62,5 % (115/184) presentaron elevados títulos de Ac neutralizantes contra el serotipo G8, lo que sugiere la circulación de este serotipo. Sobre la base de esto se puede estimar que las llamas de la Puna, al igual que los guanacos y las vicuñas, poseen un rotavirus propio de la especie. La caracterización molecular de las cepas de RVA circulantes en CSA contribuirá en el diseño de vacunas, así como en estudios evolutivos de RVA en camélidos y en especies del orden *Artiodactyla* en general.

En cuanto a los agentes respiratorios, se halló una elevada prevalencia serológica de PI-3 (70 %), circunstancia que



**Figura 2** A) Distribución de los títulos de Ac contra rotavirus grupo A en los sueros de llamas analizados (n = 349). Se indican con distintos tonos de gris los diferentes intervalos de títulos considerados: [262144-4096], [1024-256] y [≤ 64]. B) Distribución de los títulos de Ac (determinados por ELISA) contra rotavirus grupo A por localidades y departamentos.

sugiere la circulación de un virus propio de la especie. Este resultado se corresponde con las prevalencias encontradas en llamas (47 %) y vicuñas silvestres (37 %) de la localidad de Cieneguillas, Jujuy, y en vicuñas en cautiverio de la EEA INTA-Abrapampa, Jujuy<sup>5</sup>; también se relaciona con algunas prevalencias comunicadas en alpacas de Perú<sup>12,14</sup> y con el



**Figura 3** A) Distribución de los títulos de Ac contra PI-3 en los sueros de llamas analizados (n = 349). Se detalla el porcentaje de animales que se corresponden con cada título. B) Distribución de los títulos de Ac contra PI-3 (determinados por IHA) por localidades y departamentos.

reconocimiento de este agente viral en neumonías que afectan también a alpacas de Perú<sup>2</sup>.

En este relevamiento no se encontraron reactivos para las cepas de inf uenza A utilizadas. Este resultado negativo es importante desde el punto de vista epidemiológico, dado que este relevamiento se efectuó antes de la pandemia de la cepa H1N1 en la población humana. La evidencia de que las llamas pueden ser infectadas con inf uenza A data de estudios realizados en la década de los 80 en Santiago de Chile, donde se encontraron dos llamas seropositivas que estaban en contacto con personas en el zoológico de Santiago de Chile<sup>13</sup>.



Por otro lado, con respecto a BoHV1 y BVDV, la ausencia de Ac en las poblaciones de llamas muestreadas indica que la tasa de infección con estos agentes virales es prácticamente nula. Este dato es relevante dado que ambos agentes virales se han informado como causales de enfermedad en llamas y alpacas de EE.UU., Perú y Chile. En Argentina, Morán *et al.* han determinado circulación de BVDV y BoHV 1 en dos rebaños de la ciudad de Tandil<sup>6</sup>. A pesar de que las llamas se encontraban en hatos libres de bovinos, era de esperar la posible circulación de BoHV -1 y BVDV, ya que estos agentes virales son endémicos en la región pampeana. Comparando estos resultados con los informados por Marcoppido *et al.* en la zona del altiplano<sup>3</sup>, se podría sugerir que la epidemiología en la Puna es diferente a la encontrada en la región pampeana. Es por ello que se destaca la necesidad de preservar el estatus sanitario de la región altoandina debido al fuerte impacto negativo que podría tener el ingreso de estos agentes virales en una población sin inmunidad.

Esta investigación aporta datos sobre la epidemiología de agentes virales circulantes en las poblaciones de llamas de la provincia de Jujuy y confirma la amplia incidencia de RVA y del virus de PI-3. La vasta cobertura de este muestreo sobre llamas de la puna jujeña enfatiza la importancia de los datos hallados, los que resultan de gran utilidad en el diseño de planes sanitarios específicos para camélidos.

## Agradecimientos

Se agradece al Dr. Fernando Fernández, a Nancy Suarez Pérez y a la Dra. Elsa Baumeister quien cedió amablemente la cepa H1N1 como inóculo inicial. Este proyecto fue financiado con fondos del Programa de la Ley Ovina de la provincia de Jujuy y fondos del Servicio de Diagnóstico del Laboratorio de Virus Diarreicos del IV-CICVYA.

## Bibliografía

1. Badaracco A, Matthijnsens J, Romero S, Heylen E, Zeller M, Garaicoechea L, Van Ranst M, Parreño V. Discovery and molecular characterization of a group A rotavirus strain detected in an Argentinean vicuña (*Vicugna vicugna*). *V et Microbiol.* 2012;161:247-54.
2. Manchego A, Rivera H, Rosadio R. Seroprevalencia de agentes virales en rebaño mixto de una comunidad andina peruana. *Rev Inv Pec IVITA.* 1998;9:1-10.
3. Marcoppido G, Parreño V, Vilá B. Antibodies to pathogenic livestock viruses in a wild vicuña (*Vicugna vicugna*) population in the Argentinean Andean altiplano. *J Wildl Dis.* 2010;46:608-14.
4. Marín R. 2009. Prevalencia sanitaria en llamas (*Lama glama*) de la provincia de Jujuy, Argentina. Proyecto FRAO N° 2552/07. Gobierno de la Provincia de Jujuy. Ministerio de Producción. Ley Ovina N° 25422 [On-line]. Disponible en: [http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/enfermedades\\_camelidos/02-Prevalencia\\_Sanitaria.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_camelidos/02-Prevalencia_Sanitaria.pdf)
5. Matthijnsens J, Potgieter C, Ciarlet M, Parreño V, Martella V, Banyai K, Garaicoechea L, Palombo E, Novo L, Zeller M, Arista S, Gerna G, Rahman M, Van Ranst M. Are human P[14] rotavirus strains the result of interspecies transmissions from sheep or other ungulates that belong to the mammalian order *Artiodactyla*? *J Virol.* 2009;83:2917-29.
6. Morán P, Di Santo M, Becaluba H, Gogorza L. Detección de anticuerpos para BVDV y BoHV -1 en llamas de la región de Tandil - Provincia de Buenos Aires. *In Vet.* 2010;12:131-7.
7. Parreño V, Constantini V, Cheetham S, Blanco Viera J, Saif L, Fernandez F, Leoni L, Schudel A. First isolation of rotavirus associated with neonatal diarrhoea in guanacos (*Lama guanicoe*) in the Argentinean Patagonia region. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2001;48:713-20.
8. Parreño V, Marcoppido G. Estudio de la sanidad en camélidos: Avances a partir de la obtención de muestras de camélidos silvestres. En: Vilá B, editora. Investigación, conservación y manejo de vicuñas. Proyecto MACS, 2006. p. 147-64.
9. Puntel M. Seroprevalence of viral infections in llamas (*Lama glama*) in the Republic of Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 1997;29:38-46.
10. Scherf B, editor. 1997. Lista mundial de vigilancia para la diversidad de los animales domésticos. 2da. Edición, 3.5. Camélidos: Situación actual de los camélidos sudamericanos en Argentina [On-line]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/V8300S/v8300s18.htm#3.5.Camelidos>
11. Reed L, Muench H. A simple method of estimating percentage endpoints. *Am J Hygiene.* 1938;27:493-7.
12. Rivera H, Madewell B, Ameghino E. Serologic survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama pacos*). *Am J Vet Res.* 1987;48:189-91.
13. Riveros V, Moreira R, Celedón V, Berríos P. Estudio serológico de virus influenza y parainfluenza-3 en pequeños rumiantes del zoológico nacional de Santiago. *Avances en Ciencias Veterinarias.* 1987;2:33-6.
14. Victorio C, Rosadio A, Rivera G, Manchego S. Seroprevalencia de virus neumatógenos en alpacas adultas de la provincia de Cuzco, Cusco. *Rev Inv Vet Perú.* 2004;15:127-31.
15. World Health Organization. Part 2.6 Serological diagnosis of influenza by haemagglutination inhibition testing. En: *Manual on Animal Influenza: Diagnosis and Surveillance.* WHO Press, Switzerland, 2002, p. 63-78 [On-line]. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/68026/1/WHO\\_CDS\\_CSR\\_NCS\\_2002.5.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/68026/1/WHO_CDS_CSR_NCS_2002.5.pdf)