

centro panamericano de fiebre aftosa

ISSN 0101-4897

SERIE DE MONOGRAFIAS CIENTIFICAS Y TECNICAS

Nº 16

**LENGUA AZUL.
UNA REVISION DE LA
ENFERMEDAD**



organización panamericana de la salud
oficina sanitaria panamericana, oficina regional de la
organización mundial de la salud

**Editado e impreso en los talleres del
CENTRO PANAMERICANO DE FIEBRE AFTOSA
Diciembre 1994**

**LENGUA AZUL.
UNA REVISION DE LA ENFERMEDAD¹**

I. MARISA OBDEYN²

¹ Traducido del original en inglés.

² Ex-Consultora, Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (OPS/OMS).

CONTENIDO

	Pág.
1. DEFINICION DE LA ENFERMEDAD	7
2. CARACTERISTICAS DEL VIRUS	7
2.1 Características físicas	7
2.2 Serotipos	7
2.3 Estabilidad	9
3. GAMA DE HUESPEDES. SUSCEPTIBILIDAD	9
4. EPIZOOTIOLOGIA	11
4.1 Transmisión	11
4.2 <u>Culicoides</u> spp.	12
4.3 Reservorios de virus	12
4.4 Portadores de virus	15
5. DISTRIBUCION MUNDIAL	15
5.1 Historia	15
5.2 Situación actual	18
6. ESTACIONALIDAD E INICIO DE LA ENFERMEDAD	21
7. COMPORTAMIENTO EPIDEMICO Y ENDEMICO EN LAS AMERICAS. EFECTOS ESTACIONALES	22
7.1 Areas endémicas	22
7.2 Areas epidémicas	22
8. SINTOMAS CLINICOS	23
8.1 Caracterización de la enfermedad .	23
8.2 Síntomas en ovinos completamente susceptibles	23
8.3 Síntomas clínicos relacionados con LA aguda	26
8.4 Síntomas en ovinos locales o en ovinos vacunados importados	26
8.5 Síntomas en un área endémica	26
8.6 Mortalidad	26
8.7 Pronóstico	28

	Pág.
8.8 Orden de importancia y frecuencia de los síntomas clínicos registrados en un brote entre bovinos en Mississippi	27
8.9 Comparación de LA clínica y fiebre aftosa en bovinos	28
8.10 ¿Reacción alérgica en bovinos? ...	29
8.11 LA subaguda o crónica en bovinos .	29
8.12 Morbilidad y mortalidad	29
8.13 Efectos en el aparato genital de bovinos	30
9. IMPORTANCIA ECONOMICA	30
9.1 Pérdida de producción	30
9.2 Restricciones a la exportación ...	31
10. PATOGENESIS	31
11. PATOLOGIA	33
12. DIAGNOSTICO	34
12.1 Diagnóstico de campo	34
12.2 Diagnóstico de laboratorio	35
13. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL	48
14. TERAPIA	50
15. CONTROL Y PREVENCIÓN	51
15.1 Normas importantes para animales vivos y productos de origen animal	51
15.2 Erradicación	53
15.3 Control en áreas endémicas	54
15.4 Vacunación	54
15.5 Control de insectos	58
15.6 Medidas de prevención por manejo .	59
16. INVESTIGACIONES ADICIONALES RECOMENDADAS/INFORMACION REQUERIDA DE LA ENFERMEDAD	60
17. REFERENCIAS	61
18. ABREVIATURAS	71

1. DEFINICION DE LA ENFERMEDAD

La lengua azul (LA) es una enfermedad viral transmitida por insectos y afecta a los ovinos y otros rumiantes (14).

2. CARACTERISTICAS DEL VIRUS

2.1 Características físicas

El virus de la LA (VLA) pertenece a la familia Reoviridae y al género Orbivirus (31). Posee un ácido ribonucleico (ARN) de cadena doble. La partícula viral es esférica y tiene un diámetro de aproximadamente 69 nm. El ARN de cadena doble tiene 10 segmentos en el genoma (31). Los determinantes antigénicos probablemente están localizados en una proteína para la cual solo uno de los segmentos provee el código (31).

La partícula del núcleo del VLA contiene dos polipéptidos principales, P₃ y P₇, y está rodeada por una membrana exterior del cápside que está compuesta por dos polipéptidos principales, P₂ y P₅. La proteína P₂ produce anticuerpos tipo-específicos (48, 50) y el segmento 8 del gene del VLA tipo 17 codifica para el polipéptido de especificidad intergrupo (36) (ver además 2.2).

La especificidad de grupo del VLA medida por la prueba de fijación del complemento (FC) o por la prueba de inmunodifusión en gel de agar (IDGA) es determinada por el núcleo proteico (48, 54).

2.2 Serotipos

Hay 23 o más serotipos (26, 92). Se desconoce cómo aparecieron los diferentes serotipos, pero probablemente aparecieron por un cambio antigénico. También ha ocurrido un reagrupamiento (54). Durante este siglo, por lo menos, algunas cepas mostraron ser inmunológicamente estables.

Los orbivirus se caracterizan por interrelaciones serológicas complejas (Cuadro 1) (26, 92).

El grupo de IA está formado por el antígeno común del grupo que puede ser demostrado por pruebas serológicas, tales como: FC, IDGA, y pruebas de anticuerpos fluorescentes. La especificidad entre o dentro de los grupos se comprueba por la prueba de neutralización.

CUADRO 1. Orbivirus relacionados dentro de la familia Reoviridae (78). El grupo de lengua azul (=Orbivirus grupo B)

Virus	Tipo	Distribución
Lengua azul	1-23 +? sin tipificar	Mundial
Enfermedad hemorrágica epizootica del ciervo (EHD)	New Jersey EHDV ₁ EHDV ₂ Alberta (=Ibaraki) Aislamientos en Australia y Nigeria	América del Norte Gran parte del Caribe Trinidad, Tobago, Guyana (37) Africa Occidental Asia Australia (54)
Ibaraki	=EHD Alberta	Japón Sudeste de Asia
Eubenangee		Australia
Pata		Africa Central
Tilligerry		Australia

2.3 Estabilidad

El VLA es muy estable y extraordinariamente resistente a las influencias que destruyen rápidamente la mayoría de los otros virus. Por ejemplo, soporta un considerable grado de putrefacción. Se ha recuperado virus sin modificación por filtración de sangre muy descompuesta (29). La sangre y la carne pueden permanecer infecciosas durante meses. La sangre seca también es infecciosa (38). La sangre fresca, conservada en glicerina y mantenida a temperatura ambiente, era todavía infectante después de 25 años! (96).

En eritrocitos lavados y almacenados a 4°C durante 14 meses, el virus aún causa una respuesta clínica retardada pero típica a la LA en ovinos autoinyectados o reinoculados (59).

El virus es comparativamente resistente al hidróxido de sodio, carbonato de sodio, etilalcohol (29), éter y cloroformo (13), y es sensible a los ácidos. Es inactivado a un pH 6,4 durante 10 minutos (13). Cuando el pH en la carne está por encima de 6,4, el virus permanecerá infeccioso por largos periodos. El virus es inactivado cuando mantenido a 60°C durante 30 minutos (18). La partícula viral es estable a 4°C y -70°C pero pierde infecciosidad rápidamente cuando es congelada a -20°C (78).

Los álcalis, ácidos y yodóforos se incluyen entre los desinfectantes efectivos.

3. GAMA DE HUESPEDES. SUSCEPTIBILIDAD

La LA es una enfermedad que ocurre principalmente en ovinos, y todas las razas de esa especie son susceptibles, aunque en diversos grados (14). Las razas europeas de carneros son las más susceptibles, seguidas de los Merinos. El Dorset Horn, por ejemplo, es más susceptible que el Merino. Las razas indígenas son las menos susceptibles. La mayoría, sino todos, de los ovinos africanos indígenas son resistentes a la LA (42). Sin embargo, en Chipre las razas locales

fueron muy afectadas (80). Se pueden esperar epizootias en razas europeas.

En infecciones experimentales en caprinos y ovinos, se comprobó que el título de virus en la sangre de caprinos fue 100 veces más bajo que el de ovinos (15). Komarov y Haig (1952) informaron infección natural en caprinos Saanen en Israel, y Botija (1958) observó LA benigna, pero sin mortalidad en España (mencionado en: 42).

El virus no produce enfermedad clínica manifiesta en bovinos en Africa del Sur.

Sin embargo, en comunicaciones de epizootias fuera de Africa, se observaron signos clínicos en bovinos en Israel, Palestina, Siria, Portugal y España. En los Estados Unidos, en algunos rebaños infectados, aproximadamente cinco por ciento de los bovinos presentaron la enfermedad entre benigna y severa (41). En áreas recientemente infectadas, los síntomas clínicos en bovinos son similares a los de ovinos susceptibles (49).

Entre los animales salvajes, el ciervo de cola blanca Odocoileus virginianus es el más afectado (78). Varias especies de antílopes son susceptibles. La infección en antílopes africanos ocurre normalmente sin signos clínicos, aunque en 1962 ocurrieron muertes causadas por VLA entre los antílopes Topi (38). También se describe un caso fatal de LA en novillos en búfalos infectados experimentalmente (15). En la India, la tasa de prevalencia infección de búfalos por VLA en India es similar a la prevalencia en bovinos (94). Se encontraron anticuerpos en cerdos y camellos (1).

La enfermedad no es transmisible al hombre. Los perros, gatos, conejos, comadrejas, cobayos y los uni-ungulados no son susceptibles a la LA.

4. EPIZOOTIOLOGIA

4.1 Transmisión

El VLA se transmite por mosquitos pertenecientes al género Culicoides. En este vector el virus desarrolla su ciclo biológico (49). Se tiene conocimiento de cambios patológicos en las glándulas salivares de Culicoides (42).

En América del Norte, la principal especie vector Culicoides es el Culicoides variipennis, que puede transmitir el VLA de bovino a bovino, bovino a ovino, ovino a bovino, y de ovino a ovino (14).

En el área del Caribe hay cierta especulación con referencia al papel del Culicoides insignis (53).

En Africa y Oriente Medio el principal vector del VLA es el Culicoides imicola (=pallidipennis) (61).

En Australia los vectores son: Culicoides fulvus, C. wadai, C. actoni y C. brevitarsis (86).

Diferentes poblaciones geográficas de la misma especie de vector difieren en su competencia para actuar como vectores (25).

El VLA también ha sido encontrado en los siguientes insectos chupadores, que solo transmiten el virus mecánicamente: piojos de bovinos y ovinos, moscas picadoras, garrapatas y "sheep keds".

La infección oral o por contacto no ocurre y la infección experimental se realiza principalmente por inoculación parenteral de sangre infecciosa o suspensiones de tejidos.

No ha sido posible determinar los factores que controlan la difusión del VLA en el Caribe (26, 92), pero es importante destacar que los mismos tipos de virus se diseminaron en toda el área solo en el período de un año. Aún no se

conoce el tiempo de inicio del virus en cada área (26, 92).

4.2 Culicoides spp.

El mosquito hembra ataca al ganado, y necesita por lo menos una alimentación de sangre para completar el ciclo ovariano (67). Numerosos factores determinan la intensidad de sus picadas, pero generalmente se alimentan una vez cada 3-4 días (78). Sin embargo, cuando el mosquito chupa sangre infectada, permanece infectado durante toda la vida, la que puede prolongarse hasta 70 días.

Las condiciones ambientales óptimas para su actividad están entre 13-35°C. El Culicoides es activo desde poco antes del anochecer hasta poco después del amanecer (67), y es transportado por el viento. Los insectos pueden recorrer distancias de 40-700 km en periodos de hasta 20 hs, y pueden ser transportados hasta 1500 metros de altura. El mosquito se alimenta con 10^{-4} - 10^{-5} ml de sangre (78). También es necesario un título elevado de virus para la transmisión. El virus se multiplica en el mosquito y después de ésta, cada mosquito puede contener de 10^5 - 10^6 partículas infecciosas (31). De siete a diez días después de alimentarse está capacitado para transmitir el virus (22, 78).

La transmisión transovariana de la LA en Culicoides es poco probable (15).

4.3 Reservorios de virus

Los datos disponibles sobre la persistencia del virus en el huésped no son claros: periodos de persistencia de solo 10 días en ovinos, (variable para cada cepa) (38), hasta 50 días en esta especie y 100 días o más en bovinos. Para esta determinación, el método de aislamiento parece ser muy importante y métodos más apropiados o sofisticados producen recuperación de virus por periodos más prolongados.

En la literatura se mencionan diferentes posibilidades de localización de virus en la sangre. De acuerdo con algunos autores, el virus está libre en la sangre (18), mientras que otros autores encontraron que el virus persiste en los glóbulos rojos o blancos. Parece ser que el virus está muy relacionado con los eritrocitos y/o glóbulos blancos en base a las siguientes pruebas: huevos embrionados pueden ser infectados por vía intravenosa, tanto con sangre completa, plasma y glóbulos blancos (33), y los eritrocitos lavados y almacenados a 4°C permanecen infecciosos durante 14 meses (59) (ver 10. Patogenesis).

En los Estados Unidos se considera que los bovinos son los huéspedes más importantes del VLA, pudiendo actuar como reservorios de invierno (64). También es posible que mosquitos adultos puedan sobrevivir durante el invierno en algunas áreas.

Se presume que el ciervo de cola blanca (EUA) sea huésped del VLA por un corto periodo de tiempo. Generalmente la enfermedad se presenta en su forma aguda en esta especie y los animales afectados muestran un periodo virémico corto. Recientemente se observó que en esta especie también puede ocurrir una forma inaparente de LA. Surge la duda de si el ciervo también sirve como huésped por largo tiempo, como ocurre con el bovino, o si una cepa avirulenta de LA circula entre los ciervos (55).

En Africa del Sur se ha postulado que los ovinos no son imprescindibles para la sobrevivencia del VLA, sino que actúan simplemente como huéspedes accidentales o indicadores (15).

La sobrevivencia del VLA en una población también es posible por transmisión a través del semen o por infección transplacentaria del feto (58, 88). Toros infectados pueden albergar el VLA en su semen, y se ha encontrado virus a los nueve días posinfección en semen de animales infectados por primera vez. En la literatura se ha mencionado que el periodo de detección del virus

en el semen varía entre siete y 106 días posinfección. Aunque se ha demostrado la ocurrencia de VLA en semen, parece ser una situación ocasional (34). Se cree que el VLA se encuentra en el semen como consecuencia de infiltración de glóbulos de sangre infectados dentro de las secreciones genitales. En ciertos casos se puede encontrar en células germinativas o espermatozoides. Se han descrito anormalidades y partículas similares al virus en espermatozoides de toros infectados latentemente con VLA. Se ha demostrado la transmisión del virus a través del semen por servicio natural o por inseminación artificial (8, 63, 79). En los Estados Unidos se ha desarrollado un protocolo de certificación de germoplasma libre de VLA (69).

El VLA puede atravesar el endometrio, así como también se demostró que el virus puede ser aislado de sangre de novillas infectadas experimentalmente por vía uterina (34). Además es posible la transmisión de virus por vía transplacentaria "en la otra dirección". La infección fetal aparentemente ocurre poco después del apareamiento de viremia aguda en la hembra (57). Se tiene poco conocimiento sobre la localización del virus en los embriones (43), pero posiblemente puede ser aislado de la sangre del feto (18). Se ha demostrado que el VLA infecta fácilmente embriones de bovinos tras su exposición in vitro (27). Sin embargo, la transferencia de embriones de vacas con viremia tiene un bajo riesgo de transmitir el VLA. No es posible la transmisión vertical del virus durante los primeros ocho días de gestación por transferencia embrionaria, debido a que la zona pelúcida de los embriones previene su infección.

La recuperación de embriones por medio de métodos no quirúrgicos casi siempre está acompañada de algún grado de contaminación de la sangre, y si la vaca tiene viremia se puede aislar virus del flujo. Sin embargo, los procedimientos de lavado de rutina de los embriones antes de su transferencia eliminan la transmisión del virus (27).

En experimentos con transferencia de embriones de donantes virémicas para vacas negativas a LA, ninguna de la 40 receptoras fue positiva a la prueba IDGA ni se recuperó virus (7, 27). Además, otros autores concluyeron que la transferencia de embriones no está asociada a la transmisión del VLA (75) y que la transmisión congénita no es importante pues el virus generalmente se comporta como un arbovirus clásico (93).

4.4 Portadores de virus

El estado de portador no ha sido completamente definido y portadores latentes no siempre tienen anticuerpos detectables (33).

Los bovinos que albergan virus deben ser serológicamente negativos a las pruebas estándar (33). Esta falta de anticuerpos y la presencia de VLA puede ser una característica de infección latente en ciertos bovinos, comparable con la enfermedad de la mucosa donde frecuentemente no se forman anticuerpos seroneutralizantes (60) (ver también 12. Diagnóstico).

No se tiene conocimiento del sitio de replicación de VLA latente en bovinos infectados o en qué forma el virus se encuentra en el animal, a no ser que está en estrecha asociación con los eritrocitos (58). En bovinos infectados de forma latente, con frecuencia es difícil aislar virus del torrente sanguíneo, pero cerca de una hora después de exposición experimental al Culicoides los animales desarrollarán una viremia detectable. Aún no se conoce el mecanismo de esta estimulación del virus (100).

5. DISTRIBUCION MUNDIAL

5.1 Historia

La primera información de LA proviene de Africa del Sur, en 1876 (14), y la primera descripción de la enfermedad fue hecha por Hutcheon, en 1881 (mencionado en la ref. 31).

En 1907 la enfermedad fue diagnosticada en Egipto (en la raza Merino), en 1909 en Kenia (principalmente en ovinos de las tierras altas), y en 1927 en Africa Occidental (en razas europeas importadas o Merino).

La enfermedad no fue identificada fuera de Africa hasta 1943, cuando el virus fue aislado en Chipre, aunque había sido observada en esa isla desde 1924 (77). En 1977 ocurrió en Chipre otro brote severo (VLA tipo 4), y razas locales así como animales importados de Awassi y Chios fueron igualmente afectados.

En el período 1943-1949 el VLA estuvo activo en Palestina, Turquía y Siria.

En Iraq se observaron razas locales con LA.

En Turquía e Israel la enfermedad fue observada en razas Merino y europeas. En 1950 ocurrió en Israel un extenso brote en bovinos y ovinos.

En 1956, ovinos Merino locales fueron afectados en Marruecos, y en ese mismo año en España y Portugal ocurrió una severa epidemia causada por el virus tipo 10 (25); 81.000 animales (bovinos y ovinos Merino) enfermaron con una mortalidad de 6,3 por ciento. La enfermedad desapareció después de algunos años. Culicoides imicola, el principal vector del VLA en Africa, fue identificado por primera vez en mayo de 1982 en España. Podría ser el vector que trajo el virus de Africa (Marruecos) a la península ibérica en 1956 (61).

Egipto tuvo otros brotes en 1963-66 y 1969-70 (el primer brote fue en 1907) (77).

La enfermedad fue diagnosticada en los Estados Unidos en 1907 (Texas), pero el primer aislamiento del virus solo se hizo en 1952. El virus se difundió de Texas a California y de allí en dirección al este (62).

En 1979 Brasil informó por primera vez evidencia serológica de infección en ganado (4, 26, 27, 92).

En Chile, el primer informe de anticuerpos de VLA data de 1982. La prueba de IDGA indicó una prevalencia de 20 por ciento de anticuerpos entre los bovinos de la Región de los Lagos (91).

En Australia, los primeros aislamientos de virus fueron hechos en insectos en octubre de 1977 (23, 52, 95) (serotipo 20), durante un estudio de rutina de virus transmitidos por insectos. Los bovinos en esa región (noroeste de Australia) presentaron anticuerpos contra el VLA, pero nunca se reconoció la enfermedad clínica (3). Los ovinos fueron infectados experimentalmente con esta cepa y mostraron síntomas clínicos leves (10). Se presume que el virus entró al país atravesando el mar entre Papua, Nueva Guinea y Australia, cuya distancia es de solo 160 km.

Durante un estudio en todo el país, en diciembre de 1978, se recolectaron 200.000 muestras de sangre de ovinos, bovinos y otros rumiantes. Los primeros resultados fueron negativos. Sin embargo, en los primeros siete meses de 1981, cuando siete rebaños sentinelas en diferentes localidades del norte del territorio fueron examinados para detectar arbovirus, se encontraron anticuerpos de VLA en seis rebaños. Posteriormente se hicieron cuatro aislamientos de virus de muestras de sangre de bovinos sanos en monocapas de células BHK-21 (21). Publicaciones posteriores mencionan seroconversión al VLA en la mayoría de los estados de Australia (12).

En Turquía, después de un período libre de nueve meses, se informaron nuevos casos en octubre y noviembre de 1978. En cuatro provincias, 606 ovinos fueron afectados de los cuales 148 murieron. Después de los primeros brotes, la enfermedad se diseminó de forma más benigna. El agente causal fue identificado como VLA tipo 4. Desde noviembre de 1978 la enfermedad fue controlada y como medida de prevención todos los ovinos en esas áreas fueron vacunados en el verano de 1979 (3).

En 1979, 482 ovejas fueron infectadas y 100 murieron. En 1980 solo ocurrió un brote de LA sin muertes y 40 ovejas fueron afectadas (68).

Lenqua azul en bovinos: En 1934 por primera vez fue reconocida en Africa del Sur como una enfermedad en bovinos (39, 52) y posteriormente es informada en Israel, España, Portugal, Estados Unidos y probablemente en Chipre.

5.2 Situación actual

Puesto que el vector y los huéspedes vertebrados existen prácticamente en todo el mundo, el virus es capaz de establecerse al norte y al sur del ecuador, solo circunscrito por algunos climas temperados, tal vez debido a algunas limitaciones climáticas cuantitativas en los vectores (93). Es hipotético que el virus no se replique en insectos donde la tasa metabólica es reducida por debajo de un cierto nivel al cual el insecto puede sobrevivir, pero no es capaz de producir VLA viable (64).

Es importante distinguir entre solo prevalencia de virus confirmada serológicamente (anticuerpos) o el diagnóstico de la enfermedad clínica seguido de aislamiento de virus.

AFRICA - Virus y anticuerpos en la mayoría de los países: Marruecos, Sudán (5), Chad, Nigeria, República Centroafricana, Kenia, Tanzania, Africa del Sur, Zimbabwe. En Africa del Sur se encuentran casi todos los serotipos; lo mismo ocurre en Africa Occidental. Por ejemplo, Nigeria: 1-16, 18, 19, 20 y 22 (40).

EUROPA - Al final de 1979 ocurrió un brote en la Isla de Lesbos, Grecia (tipo 4). Esta isla está situada a 10 km de la costa de Turquía (97). En mayo de 1982, por primera vez se identificó C. imicola en España, y su presencia puede ser informada actualmente en otros países de la Comunidad Económica Europea (CEE), por lo menos más allá de los 40°N, por ejemplo, Cerdeña, Sicilia, sur de Italia y Grecia (ver ref. 56 para la distribución en Europa).

Si mosquitos infectados llegasen a estos países transportados por el viento del norte de Africa, ellos podrían establecer ciclos de infección en las poblaciones locales de

mosquitos. Entonces podrían ocurrir epidemias similares a las de España y Portugal (61).

ASIA OCCIDENTAL - Virus y anticuerpos en Turquía, Siria, Líbano, Chipre, Jordania, Iraq, Irán, Israel, Yemen, Omán. Tipos 1, 3, 4, 10, 12 y 16 (40).

RUSIA - El país parece estar libre de la enfermedad, pero se ha desarrollado una vacuna inactivada. Regularmente se realizan exámenes de sueros para anticuerpos de LA a lo largo de las fronteras del país. Está prohibida la importación de animales susceptibles de países afectados (83).

INDIA SUBCONTINENTAL - Virus y anticuerpos en India (1961) y Pakistán (1959). La enfermedad es endémica en animales locales, y solo ha sido identificada en ovinos importados de razas americanas y australianas.

LAS AMERICAS:

ESTADOS UNIDOS - Los tipos de virus diagnosticados son 2, 10, 11, 13 y 17. El 25 de mayo de 1983 se aisló el serotipo 2 de sangre recolectada de un rebaño bovino en Flórida en septiembre-octubre de 1982 (Callis, J.J., comunicación personal, y 28). Solo cinco de los 23 serotipos infectan la ganadería rumiante (26, 92). En el país, todas las razas de ovinos parecen igualmente susceptibles. El virus frecuentemente es aislado y se han encontrado anticuerpos en la mayoría de los estados. En California y Mississippi 31 por ciento de los ovinos y bovinos son serológicamente positivos para anticuerpos (62). En 2,8 por ciento de caprinos de Louisiana se encontró anticuerpos de LA (20).

CANADA - En el país no existen las circunstancias ecológicas apropiadas. Sin embargo, en 1976 se destruyeron 220 bovinos contactos de importaciones de 1975 de los Estados Unidos. En los tres años siguientes no se encontraron más animales seropositivos a pesar de las pruebas realizadas en gran número de animales (44).

AMERICA CENTRAL, CARIBE, AMERICA DEL SUR -
La enfermedad en sí nunca ha sido detectada o
confirmada por aislamiento de virus de rumiantes
ni de artrópodos.

Un elevado porcentaje de ovinos, bovinos y
caprinos tienen anticuerpos precipitantes contra
la LA. En el área del Caribe, cerca del 70 por
ciento de los animales de estas tres especies son
positivos a la prueba de IDGA (26, 92).

Serotipos: 1, 2, 4, 14 y 15 en San Vicente;
1, 2, 5, 6, 7 y 10 en Barbados.

En 1981 o en el primer semestre de 1982, los
tipos 6, 14 y 17 prevalectan en el Caribe (26,
53, 92).

Se encontraron anticuerpos en bovinos en
Puerto Rico y en las Islas Vírgenes de los EUA
(26, 92).

En México, Colombia, Venezuela, Ecuador,
Brasil, Perú, Paraguay, Guyana, Suriname y
Guayana Francesa ya se han encontrado anticuerpos
en las especies indicadas.

El primer informe de anticuerpos de LA en
Chile data de 1982, y en Brasil la primera
evidencia serológica para el virus fue encontrada
en 1979 (tipo 4). Durante un estudio en el estado
de Río de Janeiro, Brasil, 40 por ciento de 500
sueros de bovinos fueron positivos a la prueba de
IDGA. Además se encontraron anticuerpos en
especies susceptibles de los estados de Amazonas,
Pará, Minas Gerais y Sao Paulo, y en los
Territorios de Roraima y Amapá (4, 11).

Durante una encuesta serológica en Argentina
(principalmente en la parte norte del país), no
se encontraron muestras positivas. Se sabe que la
Argentina está dentro de una zona ecológica donde
el ciclo de la enfermedad puede existir (Schudel,
A.A., INTA-Buenos Aires, 1984, comunicación
personal).

SUDESTE DE ASIA Y AUSTRALIA - Virus tipos 20, 21, 1 y CSIRO 154, =relacionado al serotipo 6 (24) aislado (34, 95).

Anticuerpos: Australia, Papua Nueva Guinea, Indonesia y Malasia.

En Australia el VLA causa poca preocupación (26, 91), (ver 5.1 Historia).

JAPON - Se encuentran los virus 4, 12 y 20 (66).

6. ESTACIONALIDAD E INICIO DE LA ENFERMEDAD (78)

AFRICA DEL SUR - enero, marzo.

EGIPTO - abril, junio, julio.

ISRAEL, CHIPRE y TURQUIA - julio a diciembre.

ESTADOS UNIDOS - junio en Texas; al final del año en otras partes del país. Aborto e infecciones enmascaradas durante el invierno y primavera (41).

PORTUGAL y ESPAÑA - La primera vez ocurrió en 1956 de junio a noviembre. Los años siguientes, de abril en adelante.

PAISES PROXIMOS AL ECUADOR - La mayor parte de los meses del año. En Brasil se observó seroconversión en un rebaño lechero en el estado de Sao Paulo durante los primeros meses del año (Sutmoller, P. & Alonso Fernández, A., comunicaciones personales).

Picos de la enfermedad en:

- Kenia - febrero, junio, julio, octubre.
- Africa Occidental - septiembre, octubre.
- India - septiembre, octubre.

7. COMPORTAMIENTO EPIDEMICO Y ENDEMICO EN LAS AMERICAS (78). EFECTOS ESTACIONALES

7.1 Areas endémicas

En la región amazónica y en las florestas tropicales de América Central el vector se encuentra presente durante todo el año y se puede mantener un ciclo continuo de infección por VLA en Culicoides y en rumiantes locales. Después de la pérdida de los anticuerpos maternos los animales jóvenes son infectados, pero los animales locales no muestran signos de la enfermedad.

En otras regiones de América Central hay una estación húmeda y una seca. Durante la estación seca el número de Culicoides disminuye pero aún restan insectos para mantener el virus durante este período. Los animales locales no muestran la enfermedad clínica, pero sí los ovinos introducidos.

En California, durante los inviernos fríos, el VLA sobrevive en los meses de invierno en los mosquitos adultos o en bovinos, ovinos o caprinos. La enfermedad puede presentarse de acuerdo con la raza del ovino.

7.2 Areas epidémicas

En las áreas de los Estados Unidos donde el invierno es frío, el virus puede ser introducido por moscas transportadas por el viento o por el movimiento de animales. Puede persistir durante uno o dos años, desaparecer y ser reintroducido nuevamente. La enfermedad generalmente se presenta en ovinos.

En Canadá la LA raramente es introducida. La enfermedad ocurre en ovinos y desaparece cuando los vectores disminuyen debido al invierno prolongado.

NOTA: Infecciones con serotipos diversos son posibles en bovinos y ovinos (74).

8. SINTOMAS CLINICOS

Los síntomas clínicos en ovinos varían de benignos a severos, dependiendo de la cepa del virus, la raza, el medio ambiente y la epidemiología de la enfermedad en el país (78).

La patogenicidad de las cepas de virus difiere mucho (14) pero no se puede predecir la severidad de la enfermedad por los diferentes tipos de virus (30). Es posible que la LA ocurra en ovinos sin ocasionar síntomas clínicos (76, EUA).

Los ovinos son afectadas en todas las edades, excepto los corderos de ovejas inmunes. En las áreas endémicas, la mayor mortalidad ocurre entre las ovejas de un año de edad (38).

8.1 Caracterización de la enfermedad

Se presenta estacional en los ovinos, con congestión de las mucosas oral y nasal y la banda coronaria de las pezuñas y rigidez por degeneración muscular.

8.2 Síntomas en ovinos completamente susceptibles

Período de incubación - Cerca de una semana (38). En Australia, 1-7 días (3).

El período de incubación seguido a la infección artificial de ovejas puede variar de 2-15 días, con una media de aproximadamente 4-6 días.

Primero - Ocurre un aumento de la tasa de respiración poco antes o al inicio de la fiebre el cual está generalmente asociado con el pico de la viremia. El nivel más alto de la temperatura generalmente se presenta un día después del inicio del problema respiratorio (63). La temperatura corporal llega generalmente entre 40,6-41,7°C. El grado de la fiebre no es un signo de la severidad de los síntomas (18). Durante cerca de 48 horas la temperatura se mantiene a ese nivel y después fluctúa entre 39-40°C durante 6-8 días (49). El animal recusa

alimentarse, se lame los labios y hace extraños movimientos con la lengua.

Después de 24-48 horas: Aparece descarga nasal y salivación. El fluido nasal no contiene virus (96). Al principio el fluido es aguado, después mucoso y más seco, y forma costras en la nariz. La mucosa nasal está congestionada con posible ulceración. En ese caso la descarga nasal se torna sanguinolenta. Los labios sangran fácilmente cuando son tocados.

Después de 3-5 días: Aparecen lesiones en la boca, la mucosa se congestiona y frecuentemente se torna cianótica. Rápidamente se forman úlceras superficiales. El animal puede morir durante la fase aguda de la enfermedad, con hemorragias masivas en el corazón (63).

Después de 5-8 días: La necrosis se presenta con úlceras (excoriaciones blanquecinas), ocasionando un olor fétido en la boca. La saliva se pone sanguinolenta. Las úlceras tienen formas irregulares, con un diámetro de 2-4 cm y con la base hemorrágica. La recuperación de estas úlceras es lenta y ocurre bajo una membrana diftérica. Esta necrosis diftérica es ocasionada por infección bacteriana secundaria (49).

Solo en un reducido número de ovejas se puede observar la coloración púrpura-azulada característica de la lengua (18). Sin embargo, la literatura en Australia informa que frecuentemente se puede observar una lengua tumefacta azulada (3).

Las úlceras necróticas lenticulares que se pueden desarrollar en las superficies laterales de la lengua son patognómicas para LA. Estas lesiones provocan la tumefacción y el color púrpura de la lengua, y son distintas a las presentadas por cualquier otra enfermedad de los ovinos. A veces aparece edema en la cabeza, orejas o mandíbula, así como debajo del abdomen.

Al final de la reacción febril: Generalmente puede ocurrir cojera o rigidez. En los brotes benignos, estas condiciones a veces se presentan

solo como síntomas. La cojera es causada por una inflamación de la banda coronaria que aparece como una cinta rojiza o púrpura, especialmente pronunciada en los bulbos y observada con mayor frecuencia en la parte posterior de la pata. Esta banda se desarrollará a lo largo del borde de la pezuña. Después de 10-12 semanas la banda desaparece.

El dolor en las pezuñas es muy grande. Los animales no se mueven, caen de rodillas o permanecen quietos con cifosis. La rigidez es ocasionada por una degeneración de los músculos del esqueleto (63). A veces un animal presentará sintomatología solo después que la fiebre haya desaparecido (rigidez, curvado hacia atrás, apatía).

Cuando el sol es muy fuerte pueden ocurrir excoriaciones en las piernas, no hay pigmentación y la lana es escasa. Ocurre un cierto grado de hipersensibilidad a la luz solar. Por lo tanto, la enfermedad es más severa en ovejas esquiladas que en animales con largos vellones (14). Como resultado de la hiperemia de la piel, se afecta el crecimiento de la lana (14). Poco después del desarrollo de las lesiones en la boca, frecuentemente ocurre una neumonía de aspiración secundaria causada por paresia esofágica y vómitos (14).

A veces los signos clínicos incluyen diarrea, que puede ser teñida de sangre.

Cerca de 12 días después del apareamiento de la enfermedad frecuentemente ocurre un tortícolis.

Defectos congénitos en las crías de ovejas afectadas: corderos recién nacidos; corderos vivos con espasticidad y edema en los miembros, síndrome de tontera; cerebros hipoplásticos; cavidad craneana agrandada llena de fluido.

8.3 Síntomas clínicos relacionados con la IA aguda (62)

El siguiente listado se inicia con los síntomas más característicos:

- edema
- labios, lengua u hocico rojos o púrpura
- hocico inflamado o con costra
- heridas o úlceras en la boca
- escaras en las pezuñas
- lengua tumefacta
- cojera
- patas hinchadas
- patas rojas
- tetas rojas
- piel pelada
- baboseo excesivo
- úlceras en las patas
- costras en las tetas
- pérdida del pelo o lana
- disminución repentina de producción de leche
- fiebre
- ojos lagrimosos
- párpados rojos o inflamados
- piel seca, escamosa
- ojos turbios o ulcerados.

8.4 Síntomas en ovinos locales o en ovinos vacunados importados

Respuesta febril corta con hiperemia pasajera de la mucosa oral.

8.5 Síntomas en un área endémica

Para ovinos, ver punto 4.

En bovinos la infección es asintomática pero puede ocurrir viremia (49).

8.6 Mortalidad

0-90 por ciento, de acuerdo con la cepa de virus, raza del ovino, medio ambiente, inmunidad de los animales.

En las áreas endémicas se ha informado de una mortalidad de más de 20 por ciento, pero puede llegar a 90 por ciento si una cepa virulenta aparece e infecta ovinos susceptibles.

Informes de Australia indican las mayores pérdidas entre los corderos (esta es también un área no endémica) (3).

Durante una respuesta febril aguda raramente ocurren muertes. Las ovejas solo mueren 6-10 días después del apareamiento de la enfermedad debido a agotamiento. Probablemente la causa más común de muerte es la bronconeumonía, frecuentemente como resultado de aspiración de ingestiones del rumen.

8.7 Pronóstico

Es difícil predecir el curso de la enfermedad en ovejas individuales pues un caso aparentemente grave puede recuperarse, mientras que animales con síntomas benignos pueden morir en la fase de recuperación. Generalmente la recuperación es con frecuencia muy lenta y rara dentro de 10-15 días.

El pronóstico de sobrevivencia para ovejas con diarrea es reducido, especialmente cuando las heces tienen sangre.

Después de 3-4 semanas gran parte de los animales en recuperación pierden los vellones.

8.8 Orden de importancia y frecuencia de los síntomas clínicos registrados en un brote en bovinos en Mississippi

1979: 13.000 bovinos incluidos en un estudio; morbilidad uno por ciento (62).

- cojera
- fiebre
- hocico inflamado o con costra
- baboseo excesivo
- labios, lengua u hocico rojos o púrpura
- disminución repentina de producción de leche

- ojos lagrimosos
- patas rojas
- patas hinchadas
- úlceras en las patas
- piel seca, escamosa
- pérdida de pelo o lana
- costras en las tetas
- ojos rojos o inflamados
- tetas rojas
- heridas o úlceras en la boca
- piel pelada
- ojos turbios o ulcerados
- lengua tumefacta
- escaras en las pezuñas.

8.9 Comparación de LA clínica y fiebre aftosa en bovinos

Los síntomas clínicos agudos en bovinos en Africa del Sur (87) pueden ser muy similares a fiebre aftosa:

- respuesta febril transitoria,
- salivación excesiva,
- descarga nasal,
- dermatitis - pitiriasis y necrosis de la piel con escaras y crecimiento de nuevo epitelio subyacente,
- inflamación localizada con necrosis en la mucosa bucal, olor fétido,
- lesiones ulcerosas en la lengua, nariz y hocico,
- edema de los labios,
- lesiones en la piel y ubre,
- excoriación de la epidermis en el espacio interdigital, rigidez al andar, laminitis generalmente en las cuatro patas,
- coronitis - con desprendimiento de la lámina córnea,
- cojera,
- erosión y úlceras en las encías,
- pérdida de condición física.

Al contrario de lo que ocurre en los ovinos, la distribución de las lesiones de LA en la mucosa de bovinos NO PUEDE SER USADA PARA DIFERENCIARLA DE LA FIEBRE AFTOSA.

Los picos de fiebre en bovinos generalmente ocurren a la misma hora así como la hiperemia de las membranas de la mucosa, y pueden alcanzar a 41°C, pero la fiebre entre 39,5-40,5°C es más común. La lesión más frecuente es una úlcera superficial en el rodete dental.

Los síntomas clínicos de LA en bovinos pueden ser el resultado de una reacción hipersensible inducida por exposición previa a otros serotipos de la enfermedad u otros virus relacionados (62) (ver 8.10).

8.10 Reacción alérgica en bovinos? (62).

En ovinos sin inmunizar no existe una edad determinada en la susceptibilidad. En los bovinos la morbilidad es más elevada entre los animales más viejos. Se ha sugerido que la LA clínica en bovinos es una reacción hipersensible y que la exposición previa al virus de un tipo diferente u otros virus relacionados predispone el desarrollo de LA clínica en esa especie. No hay una correlación entre la edad de los bovinos afectados y la severidad de los síntomas clínicos.

La intensificación de la respuesta clínica por administración oral previa no ha sido explicada (60).

8.11 LA subaguda o crónica en bovinos

Los síntomas que muestran los bovinos afectados pueden ser agudos, subagudos o crónicos (14). Los síntomas clínicos de la enfermedad crónica (57) son:

- diarrea crónica,
- aborto,
- crecimiento excesivo de las pezuñas.

8.12 Morbilidad y mortalidad

En muchos casos, los bovinos con viremia no muestran síntomas clínicos de la enfermedad. La morbilidad en rebaños infectados en Estados Unidos varía mucho, pero típicamente cerca de cinco por ciento de los bovinos aparecen

visiblemente enfermos (41). La mortalidad en bovinos es baja, generalmente superior a cinco por ciento (9).

8.13 Efectos en el aparato genital de bovinos

El VLA es abortogénico y teratogénico en las vacas preñadas expuestas en el primero o inicio del segundo trimestre de gestación (57).

En los bovinos, los fetos infectados entre 80-125 días de preñez son muertos por el serotipo 11 (y el virus de la enfermedad hemorrágica epizoótica), mientras que los serotipos 10, 13 y 17 ocasionan hidroencefalia (76).

Los efectos en novillas son abortos y anomalías congénitas (exceso de tejido en las encías, raquitismo, artrogriposis e hidroencefalia).

9. IMPORTANCIA ECONOMICA

Las pérdidas directas debidas a la mortalidad pueden ser altas, pero las pérdidas indirectas pueden ser aún más importantes (14).

9.1 Pérdida de producción debido a:

- pérdida de condición (debido a mortalidad o degeneración muscular),
- recuperación muy lenta (semanas, meses),
- pérdida de vellones,
- reducción de producción de leche en ovejas y vacas,
- aborto, producción de corderos y novillos débiles o malformados,
- los animales afectados se vuelven más susceptibles a infecciones secundarias,
- la eficiencia de reproducción de ovejas infectadas es afectada. Ovejas infecundas generalmente entran en anestro y pueden perder por lo menos un período fértil (14).

En los bovinos, las pérdidas más importantes frecuentemente están relacionadas con

infertilidad, abortos, novillos deformados o débiles en rebaños infectados crónicamente. Los síntomas clínicos agudos de estomatitis y laminitis raramente son encontrados en estos rebaños (63).

9.2 Restricciones a la exportación

Algunos ejemplos:

Barbados tuvo repetidas dificultades en exportar ovinos pedigri de vientre negro debido a los anticuerpos de VLA (26, 92).

En Trinidad, la exportación de búfalos fue retrasada debido a que 95 por ciento de los animales estaban con anticuerpos de VLA.

El germoplasma no puede ser comercializado libremente. La exportación de ganado reproductor y de germoplasma de los Estados Unidos para Australia y Europa es muy difícil debido a la prevalencia de anticuerpos de LA entre los bovinos y ovinos.

10. PATOGENESIS

La primera multiplicación del virus ocurre en el sitio donde el mosquito ataca. Después de una infección experimental subcutánea el bazo, amígdalas y ciertos nódulos linfáticos son los sitios de reproducción antes del apareamiento de una viremia detectable. La multiplicación del VLA también ocurre en otros tejidos linfoides.

En ovinos, el aumento del título en la sangre se inicia a las 36 horas antes del apareamiento de los síntomas clínicos o lesiones (22).

La distribución del virus en la sangre durante la viremia es la siguiente: se encontró que eritrocitos lavados contenían 10-100 veces más virus que la fracción de los glóbulos blancos y 10^3 - 10^6 x la concentración en las fracciones del plasma. Estos valores son correctos para los estados temprano, agudo y convaleciente de infección de ovinos, bovinos y caprinos con LA (41) (ver también 4.3).

Después de la viremia el virus se multiplica en los llamados sitios de predilección. El virus tiene una afinidad por las células endoteliales, periendoteliales y pericitos de los capilares, arteriolas precapilares y vénulas.

Se puede encontrar concentraciones máximas de virus en los pequeños vasos subyacentes del epitelio de las membranas de la mucosa oral, piel, banda coronaria de la pezuña (14). Además, las células retículoendoteliales de los nódulos linfáticos que drenan los tejidos de la cabeza contienen el virus.

Los músculos estriados también son considerados como sitios de predilección, así como las membranas mucosas del intestino (49).

Lesiones desarrolladas en ciertos tejidos sujetos a la mayor tensión mecánica (14):

- labios inferiores y debajo de los incisivos,
- dorso - partes laterales de la lengua opuestas a molares prominentes,
- ciertas partes del estómago anterior (pilares musculares y surcos esofágicos),
- píloro.

La tumefacción, necrosis y consecuente hiperplasia e hipertrofia de las células endoteliales resulta en oclusión vascular. El epitelio de revestimiento desarrolla lesiones por la falta de oxígeno.

Se sugiere que puede haber una correlación entre la distribución de las lesiones y la temperatura del tejido huésped, debido a que las lesiones más severas son invariablemente observadas en tejidos expuestos al medio.

También la enfermedad es más severa en los ovinos esquilados que en los sin esquilar, tal vez debido a la hipersensibilidad a la luz solar (ver 8.2).

11. PATOLOGIA

Las lesiones más importantes del aparato digestivo son generalmente encontradas dentro y alrededor de la boca. Se puede encontrar ulceraciones en la nariz y ocurre hiperemia del esófago. Comúnmente se observa hiperemia de las papilas del rumen y de las dobladuras reticulares. En la mucosa del abomaso se presentan hemorragias petequiales y la subserosa que circunda el píloro con frecuencia está difusamente hiperémica (14).

Hemorragias nítidas, con un tamaño entre 2-15 mm se encuentran consistentemente en la túnica media en la base de la arteria pulmonar y generalmente son consideradas como patognómicas de LA (14). En los Estados Unidos, la necrosis del músculo papilar del ventrículo izquierdo del corazón es considerada como uno de los datos más importantes para el diagnóstico. En el examen para necrosis es necesario hacer una incisión transversal de ese músculo porque el área necrótica está localizada en su centro (44).

Los ganglios linfáticos, especialmente los que drenan tejidos de la cabeza, comúnmente están agrandados, edematosos y hemorrágicos.

El bazo puede estar ligeramente agrandado.

Las áreas rojizo-oscuro y gelatinosas pueden extenderse desde la subepidermis hacia el tejido conjuntivo intermuscular en toda la carcasa. Las lesiones en los músculos del esqueleto consisten de petequias o equimosis hemorrágicas (1-2 mm de diámetro). Es importante examinar cuidadosamente los músculos para no perder estas hemorragias. La mejor manera de observar estas hemorragias es sostener un corte fino de músculo contra la luz. La degeneración hialina causa un aspecto manchado de los músculos del esqueleto y se encuentra principalmente en los músculos del fémur, hombros, espalda y pescuezo (14).

También ocurre degeneración del músculo cardíaco, lo que probablemente explicaría la muerte repentina de animales poco afectados clínicamente (96).

Patología del feto

Se pueden encontrar los siguientes signos: edema y hemorragias del hígado, la médula suprarrenal y del corazón; una meningitis cerebral y en la médula.

12. DIAGNOSTICO

12.1 Diagnóstico de campo

- a) Anamnesia: ¿cómo ha sido el desarrollo de la enfermedad?
- b) Epidemiología.
- c) El área donde la enfermedad aparece.
- d) La estación del año.
- e) Síntomas clínicos: los más importantes son la totalidad de los que aparecen en un rebaño bovino u ovino (mala condición, pérdida de lana, lesiones características en las patas), o en un estado más agudo en un hato ovino (fiebre, edema de la cabeza y pescuezo, y membranas mucosas congestionadas tumefactas con ulceraciones). En bovinos la baja morbilidad característica hace que la enfermedad sea más difícil de diagnosticar (63). Generalmente, cuando la mayoría de los animales ya muestran lesiones en la boca, la leve elevación de la temperatura del cuerpo que puede ocurrir no es más importante para el diagnóstico.
- f) Necropsia: para el diagnóstico de campo es importante el descubrimiento de petequias en los músculos de la espalda (38).

Además, no se ven hemorragias en la base de la arteria pulmonar.

En los Estados Unidos es importante la necrosis del músculo papilar del ventrículo izquierdo del corazón.

12.2 Diagnóstico de laboratorio

Para confirmar el diagnóstico se debe aislar e identificar el virus, o demostrar la elevación de los títulos de anticuerpos del estado agudo al convaleciente de la infección.

Los resultados seropositivos o seronegativos de una única prueba de anticuerpos del VLA infieren poco sobre lo reciente de la infección o sobre el estado virológico actual en el animal (98). Debido a estas dos razones, no es posible usar los resultados de animales individuales para indicar la prevalencia del virus (37).

Los anticuerpos neutralizantes cruzados producidos después de la infección con un determinado tipo de virus en un grupo de animales serán variables. Eso dependerá de la responsividad de los animales individuales. La elevada frecuencia de "grupos" encontrados contra uno o solo algunos tipos puede indicar infección real o que todas las respuestas de anticuerpos restantes son reacciones cruzadas (37).

La sangre fresca completa es la mejor muestra para aislamiento de VLA. La sangre debe ser recolectada de animales con fiebre pero aún libres de los síntomas típicos. Se debe recolectar 10-50 ml de sangre en heparina u otro anticoagulante como citrato de sodio. La sangre debe ser transportada al laboratorio en hielo seco. Si el embarque demora más de 48 horas, las muestras deben ser centrifugadas y los glóbulos rojos lavados pueden ser enviados al laboratorio en hielo seco.

El procedimiento de lavado es el siguiente:

- remover el plasma después de centrifugar,
- resuspender los glóbulos rojos y la capa de glóbulos blancos en solución salina normal con uno por ciento de fenol y centrifugar,
- descartar el sobrenadante y resuspender los glóbulos rojos en solución salina fenolizada para obtener su volumen original.

El uso de una mezcla preservativa de glicerol oxalato fenol (OPG = oxalato de potasio 5 g, fenol 5 g, glicerina 500 ml, agua destilada 500 ml) es un excelente estabilizador para el virus y facilita su aislamiento (29, 42).

Si se usan glóbulos rojos, la cuantificación del virus depende de la ruptura de las muestras de sangre por ultrasonido (29).

Después de la fase aguda de la enfermedad es posible retirar el bazo o la médula ósea de un animal muerto. Para recolectar muestras de médula ósea, se puede enviar al laboratorio en hielo seco todo el femur de un novillo, o el esternón de un animal maduro (63).

12.2.1 Pruebas de laboratorio para identificación de virus

a) Prueba de neutralización

Con una prueba de neutralización de virus se puede identificar los anticuerpos específicos al serotipo. Bovinos, ovinos y caprinos muestran esta respuesta neutralizante tipo-específica.

Sueros pareados son ideales para identificar el tipo de virus infectante. A veces se pueden encontrar niveles bajos de anticuerpos neutralizantes cruzados para otros tipos diferentes al agente causante, aun después de la primera infección. Estos títulos serán bajos y no invalidarán el valor de la prueba de diagnóstico de anticuerpo neutralizante. Solo en bovinos se presentan algunas dificultades con respecto a esta prueba de diagnóstico:

- los bovinos producen con mayor frecuencia anticuerpos neutralizantes cruzados que los ovinos o caprinos,
- algunos animales pueden desarrollar niveles de anticuerpos que solo tienen valor para el diagnóstico durante un mes o dos después de la infección.

La exposición continua de animales al VLA en general aumenta el nivel, valencia y duración de

anticuerpos neutralizantes cruzados. Finalmente, por esta prueba será imposible diagnosticar los tipos de virus existentes en una determinada área. En un área no conocida, el mejor método para un estudio de virus es recolectar suero solo de animales jóvenes (hasta de 18 meses de edad) que no hayan tenido más de una o dos infecciones (26, 92).

Modificaciones de la prueba: estimativa de títulos de anticuerpos en grupos (26, 92). Con esta técnica de cálculo se analizan los títulos de anticuerpos neutralizantes de un grupo de animales. Se estima que los títulos de anticuerpos neutralizantes cruzados ocurren en bajos niveles y al azar. De esta forma es posible diferenciar títulos de anticuerpos neutralizantes cruzados de títulos de anticuerpos de tipo(s) de virus infeccioso.

Prueba de neutralización por reducción de placa: Cuando se usan células L-929, las placas de LA aparecen en 48 horas y después de cuatro días posinoculación el número de ellas se estabiliza (6). En el momento es la prueba serológica más sensible para detectar reaccionantes (29).

Los novillos de vacas infectadas durante la preñez demostraron anticuerpos seroneutralizantes en sus sueros después de tomar el calostro. Los anticuerpos de VLA adquiridos por vía materna solo son detectados durante 60 días, lo cual sin duda es una función de la sensibilidad de la prueba usada (40).

Los anticuerpos neutralizantes son frecuentemente detectados tempranamente en el curso de la infección y por un período más largo que los anticuerpos de FC (98). Los anticuerpos neutralizantes pueden ser detectados entre 14-30 días después de la infección natural y persistirán por más de 12 meses, o tal vez durante toda la vida.

b) Prueba de inmunodifusión en gel de agar (IDGA)

Con la prueba de IDGA se puede determinar la

prevalencia de anticuerpos para el antígeno común de grupo del VLA (26, 92). Estos anticuerpos generalmente pueden ser detectados entre 14-28 días posinfección y persistir por cerca de tres años (26, 92). Los novillos de vacas infectadas durante la preñez presentan anticuerpos por IDGA en sus sueros después de tomar el calostro. No se encontraron anticuerpos en IDGA después de los 50 días de vida (57). Sin embargo, otros autores informan que anticuerpos de grupo específico de calostro en novillos desaparecen en algunas semanas y hasta en cuatro meses (40) (IDGA).

La prueba de IDGA ha sido ampliamente usada para estudios serológicos en muchas partes del mundo. Se ha descrito un estudio serológico de 6.274 sueros usando esta prueba (26, 92). La prueba (Ouchterlony modificada) también fue usada en un estudio en Irán en 1974 (1).

Desventajas de la prueba de IDGA:

- La prueba IDGA detecta anticuerpos de reacción cruzada para otros orbivirus además del VLA debido a interrelaciones serológicas complejas de los orbivirus. Aun con esta limitación, la prueba de IDGA fue usada con mucho éxito en Australia a pesar de la existencia de muchos orbivirus (26, 92).
- La prueba de inmunodifusión (ID) de LA usada en los Estados Unidos frecuentemente es negativa en el momento de recuperación del virus (76). En un estudio epidemiológico en California, 43 por ciento de los bovinos y 23 por ciento de los ovinos de los cuales se aisló VLA fueron negativos a la prueba de IDGA (74).
- La prueba no da información sobre el título del suero (90).

La prueba de ID es más confiable, fácil y reproducible que la prueba de FC modificada directa (FCMD) (62, 98), pero menos sensible

que el ensayo de inmunoabsorción ligada con enzimas (ELISA) (26, 92).

El antígeno usado para la prueba puede ser un antígeno de cultivo celular (ver cromatoenfocado) o -cuando el laboratorio no está equipado para cultivo celular- un antígeno de cerebro de ratón recién nacido infectado con VLA.

NOTA: El antígeno por ID en cerebro de ratón es altamente eficiente en detectar anticuerpos de VLA en sueros ovinos, pero no tan eficaz como el antígeno de cultivo celular para examinar sueros bovinos (32).

La prueba da resultados generalmente dentro de las 18 horas, y no después de las 48 horas (32).

IgG es la principal reaccionante en la prueba de IDGA.

Prueba de microprecipitación en gel de agar (IDGA) (6): Los resultados son muy semejantes a la prueba de FCMD cuando se usa un antígeno de cultivo de tejido preparado por diálisis a presión. La cantidad relativamente grande de este antígeno que hay que preparar especialmente para la prueba es desventajosa. La prueba no se adapta para la titulación de anticuerpos en sueros. Esta prueba puede servir como un control adicional en un número limitado de muestras.

Cromatoenfocado (46) e isoelectroenfocado (36): El Instituto de Investigación de Tubingen, Alemania Occidental, desarrolló una técnica para aislar antígeno grupo-específico de LA por medio de cromatoenfocado. Mediante esta técnica la proteína inducida del VLA (=proteína 7 = P7) es purificada a partir del sobrenadante de cultivos celulares. En las pruebas de ID esta P7 purificada siempre muestra solo una línea clara de precipitación. El antígeno P7 no infeccioso del antígeno de grupo de LA también puede ser obtenido por cromatografía de exclusión y dos ciclos de isoelectroenfocado (36).

Este antígeno purificado puede ser usado como reactivo para diagnóstico.

c) Prueba de ELISA

La prueba de ELISA (47) es más sensible que la prueba de IDGA (26, 92). El antígeno P7 preparado de acuerdo con la técnica de cromatofocado (ver prueba IDGA) es adecuado para ser usado en esta prueba. Anticuerpos grupo-específicos pueden ser detectados tan eficientemente por la prueba de ELISA como por la FCMD (90).

d) Prueba de fijación de complemento modificada directa (FCMD)

Esta prueba no puede ser usada para serotipificar cepas de LA pues solo muestra la reacción del serogrupo.

Los anticuerpos de FC aparecen 10 días después del inicio de la fiebre.

Los niveles de anticuerpos circulantes permanecen detectables durante 1-3 años después de la prueba original en áreas endémicas (6).

La prueba de FCMD es menos sensible que la prueba de ID, y es válida para el diagnóstico de LA (98).

La prueba de FCMD ha sido aceptada como un requerimiento estándar por los países que solicitan pruebas serológicas de LA en bovinos (43). El suero para esta prueba es de preferencia recolectado de sangre fresco en vez de sangre completa en OPG (43).

Algunas desventajas de esta prueba son:

- a veces es difícil estimar los títulos de los sueros debido a la cantidad de variables de la prueba,
- frecuentemente es difícil obtener el factor modificante de novillos donantes adecuados,

- sueros de algunos bovinos y ovinos tienden a actuar anticomplementariamente (90).

En esta prueba reacciona principalmente la IgM.

e) Prueba de inhibición por hemaglutinación (IH)

Esta prueba es recomendada como un nuevo método para identificar los diversos serotipos de VLA (45). El suero debe ser tratado para remover los inhibidores no específicos antes de ser usado en la prueba. Una gran variedad de eritrocitos puede ser usada para esta prueba, incluyendo los de ovinos, aves, cobayos, ratones.

f) Técnica de anticuerpo fluorescente

Por este método no es posible diferenciar las cepas del VLA, como con las pruebas de FCMD e IDGA. Es una buena prueba para diferenciar LA de la enfermedad epizootica hemorrágica (6).

g) Prueba serológica de hemólisis en gel

Esta prueba ha sido desarrollada en los Estados Unidos, es sensible y se distinguen rápidamente los anticuerpos de VLA de los de la enfermedad epizootica hemorrágica (75).

h) Anticuerpos monoclonales

El uso de anticuerpos monoclonales es actualmente importante para el diagnóstico (Callis, J.J., comunicación personal, noviembre 1983).

i) Pruebas serológicas usadas en los Estados Unidos

Las pruebas para anticuerpos usadas desde 1969 en los Estados Unidos son (65): IDGA, FCMD e ID (62).

j) Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE)/fingerprinting/desviación genética

El VLA aislado de muestras no puede ser identificado con referencia a su serotipo en base a su patrón de migración por electroforesis. Dentro de un serotipo existe una gran variación en algunos segmentos del genoma, revelada por PAGE (diferencias en electroferotipo).

La variación genética no parece estar relacionada con la localización geográfica del virus aislado, el año en que se hizo el aislamiento o la especie del animal del cual se obtuvo el aislamiento, y sugiere que esa variación del VLA se manifiesta constantemente (85).

Además, fingerprintings de oligonucleótidos probaron que una cepa aislada de una y la misma área pasan tanto por una recombinación de segmentos de ARN como por una desviación genética (90). Estas investigaciones se extendieron por un período de 12 años. Los subtipos recolectados en diferentes regiones, pero en el mismo año, también muestran diferencia en el fingerprinting.

k) Laboratorios mundiales de referencia

- Africa del Sur: Laboratorio Mundial de Referencia para Lengua Azul, Onderstepoort.
- Reino Unido: Instituto de Investigación de Virus Animales (AVRI), Pirbright.
- EUA: Plum Island Animal Disease Center, Nueva York.
- Canadá: Instituto de Investigaciones de Enfermedades Animales, Ottawa (70).

12.2.2 Aislamiento de virus

a) Portadores

Un fenómeno interesante es la aparición muy temprana de anticuerpos neutralizantes en ovinos

infectados con LA y la coexistencia de títulos de virus y anticuerpos neutralizantes elevados. Esto parece indicar una firme adsorción del virus a la membrana del eritrocito o localización dentro o fuera de la membrana para proteger el virus del efecto neutralizante de los anticuerpos (19). Es de gran importancia práctica que el virus pueda frecuentemente ser aislado de eritrocitos lavados, cuando la sangre completa da resultados negativos (14).

Se desconoce acerca de los sitios de multiplicación del VLA en bovinos infectados latentemente o en qué forma el virus se encuentra en el animal (58). Sin embargo, el virus está en estrecha asociación con los eritrocitos en presencia de anticuerpos virus específicos del suero (57). Subinoculación de sangre de casi todos los bovinos clínicamente sanos durante los últimos meses de verano en Africa del Sur produjo LA en ovinos susceptibles, aunque en la misma muestra de sangre se encontraron anticuerpos neutralizantes específicos al virus (41).

El período de portador parece depender del tipo de virus.

En la literatura se registra un estado de portador de 16 semanas en bovinos (41), pero en muchos animales el virus persiste por un periodo más corto. Un toro, nacido de una vaca infectada, tuvo viremia durante tres años cuando fue mantenido en un área protegida de insectos (41). Novillos nacidos de vacas infectadas, en ciertos períodos de la gestación, pueden permanecer constantemente infectados con VLA. Este tipo de viremia puede existir con o sin anticuerpos neutralizantes específicos de LA (41, 58).

Se sabe que en los ovinos circula virus en altas concentraciones y por un periodo de 31 días (15).

Sueros recolectados de caprinos en el 14^o día después de la infección experimental contenían un elevado nivel de anticuerpos neutralizantes aunque el virus pudo aún ser aislado de sangre recolectada algunos días más

tarde. Los caprinos pueden albergar el virus por periodos aún mayores que los ovinos (15).

La técnica de aislamiento es importante para obtener un resultado positivo de un portador.

b) Aislamiento de virus de portadores por inoculación de ovinos, huevos embrionados o cultivos celulares

De acuerdo con la literatura, no es fácil concluir cuál es el método más sensible para aislar el VLA de portadores.

La mayoría de los autores opinan que la inoculación de eritrocitos lavados en ovinos susceptibles da la mayor tasa de VLA de los rumiantes domésticos sospechosos de estar infectados (59). Para detectar la viremia crónica de LA el método de eritrocitos lavados/ovino parece más adecuado que la inoculación de embriones de pollo (42), puesto que el VLA presumiblemente está primero asociado con la sangre (ver además 10. Patogenesis: distribución del virus en la sangre). Por ejemplo, cuando el virus no pudo ser demostrado por más de 28 días usando huevos embrionados, fue posible aislarlo por el método de eritrocitos lavados/ovino por más de 100 días! (41).

Esta mayor sensibilidad podría ser explicada por el volumen más grande del inóculo usado en ovinos que en huevos y una mayor patogenicidad de cepas especiales para ovinos que para huevos embrionados (57).

En contradicción con lo anterior están las siguientes observaciones:

- Algunos autores informaron que la inoculación en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados con incubación a 33,5°C fue un sistema más susceptible que los cultivos celulares u ovinos (59).
- Otros autores encontraron que huevos embrionados inoculados por vía intravenosa son tan sensibles como los

ovinos para el primer aislamiento del VLA. Sin embargo, en un estudio de aislamiento solo un embrión en diez inoculados produjo virus detectable (33).

Conclusión (43, 62): La combinación de los sistemas, huevos embrionados y ovinos, parece ser lo más adecuado debido a que tanto los huevos como los ovinos fallaron en demostrar virus en algunas ocasiones. Esta combinación de sistemas de prueba sería el método preferido para certificar animales destinados a exportación.

c) Método de eritrocitos lavados

Eritrocitos lavados tres veces deben ser usados de inmediato para inocular huevos embrionados u ovinos o ser almacenados a 4°C. Luedke y col. (57) describieron una modificación de esta técnica por la cual el coágulo buffer no es removido porque contiene LA solo durante el estado agudo de la infección y la concentración del virus nunca es tan elevada como en la fracción del eritrocito. Solo un lavado de los eritrocitos es suficiente para remover el plasma.

d) Técnica de sangre autoinyectada en ovinos

Cuando se utilizan ovinos como método de ensayo de VLA se inoculan eritrocitos lavados. En este procedimiento se utiliza sangre autoinyectada en lugar de pasajes seriados en ovinos.

A los 5, 6, 7 y 8 días posinoculación la sangre de cada oveja inoculada es recolectada e inmediatamente se inyecta 10 ml por vía subcutánea en la misma oveja. La temperatura del cuerpo de los animales de prueba es registrada dos veces al día hasta el 28^o día posinoculación. A partir del 28^o día, cada animal es sometido a la prueba de FCMD. Se desconoce todavía el mecanismo del procedimiento de autoinyección de sangre.

e) Inoculación en huevos

Se realiza la inoculación de la membrana corioalantoidea o del saco vitelino. Después de

2-4 días el embrión morirá con una apariencia rojiza debido a hiperemia y hemorragias en las membranas. Frecuentemente son necesarios varios pasajes hasta que la muerte del embrión ocurra a los 2-4 días.

Se demostró que los embriones de pollo de 10-11 días de edad eran 100-1000 veces más sensibles a la LA cuando inoculados por vía intravenosa que los embriones de ocho días inoculados en el saco vitelino (30). Por ejemplo, cuando se realizaron 28 aislamientos primarios exitosos del tipo 16 del VLA por inoculación intravenosa de huevos embrionados, solo un 70 por ciento fue positivo a la inoculación en el saco vitelino.

f) Cultivo de tejido

Se pueden usar varias líneas celulares. Con frecuencia se usan cultivos en monocamadas de riñón de cordero, pero estos son infectados con menor rapidez y el efecto citopático es menos extenso (después de 1-8 días) que en otras líneas celulares (78).

El VLA también se desarrolla en células de riñón de feto bovino. Después de uno o más pasajes en huevos, el VLA se desarrolla en células BHK-21, VERO y cultivos celulares L-929 (78). Otras células usadas para cultivo del virus son: células fibroblásticas de ratón (88), células de médula ósea de feto bovino, cultivos macrofágicos de bovino, cultivos orgánicos de anillos de la tráquea (29), testículo de novillo, C 6/36 (=línea celular de insecto) (28, 54), IB-RS-2 (células cultivables en suspensión en tubos rolantes) (82), cultivos celulares estables de células de riñón de mono, línea celular de pulmón de feto ovino (73).

Las diferentes cepas de LA no crecen con la misma eficiencia.

Cuando el virus se multiplica, aparecen estructuras tubulares características de los orbivirus en el citoplasma de la célula.

g) Aislamiento primario de cepas de campo de VLA

Los aislamientos primarios de cepas de campo de VLA en cultivos de tejidos no son satisfactorios. El mejor método es hacer un pasaje del material de campo en huevos embrionados antes de introducirlo en el cultivo celular (30).

Un hato con frecuencia puede estar infectado por más de una cepa del VLA. Más de un serotipo ha sido aislado de un único animal, aunque normalmente existen anticuerpos neutralizantes cruzados después de la primera infección (40, 89). También ha sido posible demostrar experimentalmente la circulación simultánea de una cepa o más del VLA en animales infectados por inoculación intravenosa con vacuna polivalente (31).

El aislamiento y tipificación de cepas de VLA se puede obtener en 10 días (30).

h) Aislamiento de virus de semen

Durante la viremia, el VLA puede ser encontrado en el semen de toros. El semen puede ser examinado por inoculación intravenosa tanto de huevos embrionados como de ovinos (72).

12.2.3 Producción de antígeno viral

Para obtener el antígeno del virus se infectan por vía intracerebral ratones recién nacidos con cepas adaptadas en huevos. El material de campo no es adecuado para este propósito (44).

Ratones lactantes de 1-4 días de edad son susceptibles cuando inoculados por vía intracerebral. Los ratones adultos producen cantidades menores de virus (ver también Prueba IDGA: cromatoenfocado).

13. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

- Fiebre aftosa: La LA y la fiebre aftosa son difíciles de diferenciar entre sí. En ovinos, algunos estados avanzados de la fiebre aftosa son semejantes a LA. Esta es una enfermedad "necrótica" mientras que la fiebre aftosa es una enfermedad vesicular, pero después que las vesículas se rompen la apariencia de la mucosa en ambas enfermedades puede ser igual.

La distribución de las lesiones de LA en la mucosa en bovinos no tiene valor diagnóstico. En ovinos las úlceras lenticulares necróticas, que a veces se desarrollan en los lados laterales de la lengua, son patognómicas para LA (ver 8.2).

Debido a que los signos clínicos no son muy diferentes entre fiebre aftosa y LA, el diagnóstico diferencial final solo puede realizarse en un laboratorio (ver 8.9).

- Estomatitis vesicular: ver fiebre aftosa.

- Peste bovina: Las lesiones en la boca son parecidas a la LA. Las diferencias son: en la peste bovina el período de incubación y duración de la enfermedad es menor, puede ocurrir durante todo el año y, al contrario de la LA, su transmisión es fácil de ovino a bovino.

- Dermatitis pustular contagiosa: ver ectima contagioso.

Dos enfermedades con una rápida elevación de la temperatura

- Hidropericardio (a veces se presenta junto con la LA), el período febril es menor, hay síntomas nerviosos, el frotis del cerebro es positivo, y la enfermedad responde a las tetraciclinas.

- Encefalitis transmitida por artrópodos (Fiebre del Valle del Rift y virus Wessels-Bron): Sin necrosis focales o inclusión de cuerpos acidofílicos en el hígado. En caso de duda será necesaria la confirmación de laboratorio.

Enfermedades fáciles de confundir con estomatitis ulcerativa o infecciones secundarias

- Viruela ovina: La enfermedad no causa lesiones en las patas y las pústulas no se restringen solo a la boca.

- Ectima contagioso: En esta enfermedad se presentan pápulas y pústulas en vez de hiperemia, edema y ulceración como en la LA (ver Dermatitis pustular contagiosa).

Enfermedades del bovino

- Mal del sudor: Tiene la misma ocurrencia estacional que la LA. Las diferencias son: afecta especialmente a bovinos jóvenes, ocurre solo en regiones más cálidas, en contraste con la LA el epitelio de la piel presenta excoiaciones mayores, y no es transmisible por la sangre.

- Fiebre efímera o de los tres días: Rigidez y parálisis se presentan en forma más notable. No hay hiperemia o necrosis de la mucosa de la boca; no ocurre en ovinos bajo condiciones normales y no es transmisible a ovinos susceptibles a la LA.

- Difteria en novillos: Presenta lesiones bien definidas y más severas en la boca y laringe. Se restringe a novillos y no es transmisible por la sangre.

- Diarrea viral bovina (DVB).

- Rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB).

- Fiebre catarral maligna.

- Enfermedad de las mucosas.

- Fotosensibilidad (41).

- Y lógicamente, fiebre aftosa y estomatitis vesicular.

Se debe prestar especial atención a la estación.

Otras enfermedades

- Avitaminosis E en ovinos: Falta de vitamina E.
- Disturbio de la circulación sanguínea en las patas debido a fallas en el metabolismo.
- Enfermedad Ibaraki: En bovinos causa una severa enfermedad similar a LA pero no afecta los ovinos (99). Solo ha sido diagnosticada en el Japón.
- Enfermedad hemorrágica epizootica del ciervo: La enfermedad es clínicamente idéntica en bovinos y ciervos. Se encuentra en Canadá, Estados Unidos (19, 78), gran parte del área del Caribe (37), Australia y Africa Occidental.
- Neumonía: Cuando al final del verano o principio de otoño ocurre una elevada mortalidad debida a neumonía se debe considerar la LA.

14. TERAPIA

La terapia consiste solo en tratamiento sintomático. Debido a las lesiones en la boca solamente se recomiendan alimentos verdes suaves. La boca y la nariz deben ser rociadas varias veces con una solución a baja concentración de un desinfectante no irritante, como el permanganato de potasio, o líquidos con alum y glicerina.

Es muy importante examinar regularmente la motilidad del rumen de los animales en recuperación. En esta fase es imprescindible una alimentación de buena calidad.

Los animales infectados deben ser mantenidos a la sombra debido a que la luz solar deteriora los síntomas cuando hay lesiones en la piel. Las lesiones superficiales de la piel deben ser tratadas con soluciones que prevengan infecciones secundarias.

Se recomienda pequeñas cantidades de un laxante, por ejemplo azúcar.

15. CONTROL Y PREVENCIÓN

15.1 Normas importantes para animales vivos y productos de origen animal

Debido al hecho de que es casi imposible erradicar la infección una vez que se ha establecido, los países libres de la enfermedad deben tomar todas las precauciones posibles para prevenir su introducción a través de la entrada de animales de pezuña hendida o insectos vectores (14).

Antiguamente en los Estados Unidos todos los rumiantes, incluyendo aquellos para los zoológicos -excepto los provenientes de México u otros países libres de la infección- eran examinados para detectar evidencias de VLA antes de la importación (26, 92).

Una decisión reciente del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) para permitir la importación de rumiantes con evidencia serológica de infección previa con tipos desconocidos de VLA ha ocasionado una gran preocupación entre los criadores de ovinos y bovinos, y los protectores de animales salvajes. La decisión fue tomada a pesar del hecho que solo cinco de los 23 tipos de VLA habían sido aislados en los Estados Unidos, y de la poca sensibilidad de las técnicas de diagnóstico conocidas para certificar que un rebaño está libre de la enfermedad. La decisión ha sido rebatida por la Asociación de Salud Animal de los Estados Unidos (25).

Los reglamentos anteriores de los Estados Unidos con referencia a la importación de rumiantes con relación al VLA eran los siguientes (25, 75): de los animales seropositivos a la prueba de ID se recolectaban muestras de sangre para aislamiento de VLA. Si se aislaba virus de cualquier animal del grupo, todo el grupo era prohibido de entrar en los Estados Unidos. Si no se aislaba VLA en ninguno de los animales, todo el grupo podía entrar (25, 75). Se debe notar que siempre existe el riesgo de importar portadores que son serológicamente negativos (ver 4.4). Esto

fue evidente cuando en febrero de 1980, 60 bovinos cebú provenientes de Brasil fueron admitidos en el Centro de Importación de Animales Harry S. Truman, en Flórida, Estados Unidos (Flemming Key, Key West, Fla.). Estos bovinos fueron examinados exhaustivamente para varias enfermedades durante el período de cuarentena en Brasil y los animales positivos fueron desclasificados. Sin embargo, a la llegada al Centro de Cuarentena en Flórida, cuatro animales presentaron anticuerpos positivos al VLA durante los 30 días después de la última prueba en Brasil. Durante el período de 150 días de cuarentena en los Estados Unidos, otros cuatro animales desarrollaron anticuerpos al VLA. De uno de los ocho animales positivos en las pruebas serológicas se aisló VLA tipo 4, exótico en los Estados Unidos (25, 33).

La prueba oficial para exportar de Canadá para los Estados Unidos es la ID para LA. Además se debe consultar la literatura sobre esta prueba (JOCHIM, M.M. Improvements in the AGP-test for BT. Proc. Ann. Meet. Am. Assoc. Vet. Lab. Diag. 19: 361-376, 1976; PEARSON, J.E., JOCHIM, M.M. Protocol for the immunodiffusion test for bluetongue. Proc. Ann. Meet. Am. Assoc. Vet. Lab. Diag. 22: 463-471, 1980).

No hay justificación para restringir el movimiento de animales en el área del Caribe (26, 92).

El virus también puede ser transportado en el semen y óvulos y se debe evitar esas importaciones de áreas infectadas (78), aunque en la literatura se menciona que la transferencia de embriones no está asociada con la transmisión del VLA (75).

En los Estados Unidos (69) se describe un procedimiento para certificar que los toros con anticuerpos de VLA están libres de infección viral activa. El protocolo incluye la inoculación de sangre de toros en huevos embrionados y en ovinos susceptibles, así como inoculación de semen en ovejas.

El semen es almacenado en cuarentena durante doce meses antes de entrar en Australia. Este período permite comprobar cualquier enfermedad importante en los animales del país exportador. Entre estas enfermedades, el toro debe ser negativo a la prueba de FCMD durante el primer día de recolección del semen y cada 60 días de ahí en adelante durante el período de recolección, con una prueba final a los 30 días después de la última recolección (43). No se permiten las importaciones de países donde la enfermedad es endémica. Los aviones de estos países deben ser rociados por dentro con un insecticida después del despegue. Las importaciones deben realizarse durante los meses de invierno y los animales deben ser examinados para la presencia de virus durante más de 30 días. Es importante evitar la importación de animales preñados (40). La carne, lana y cuero no transmiten la enfermedad y pueden ser importados sin ninguna restricción. Sin embargo, después que se descubrió el VLA en Australia, el país tuvo numerosos problemas para la exportación de los productos arriba mencionados (100).

15.2 Erradicación

Después que la LA aparece, se deben hacer esfuerzos para minimizar las pérdidas lo máximo posible (16). España y Portugal son los únicos países donde el VLA fue erradicado con éxito. El brote se inició en 1956 en Portugal y se difundió por España en el período de un mes. La epizootia fue muy severa, con una mortalidad de 75 por ciento en los rebaños ovinos afectados. Las medidas tomadas para erradicar la enfermedad fueron: cuarentena, sacrificio de ovejas infectadas, y vacunación anual obligatoria de todos los ovinos. El último brote ocurrió en 1960. La vacunación cesó y la enfermedad clínica no ha ocurrido más en ninguno de los dos países (22).

NOTA: El vector Culicoides no fue erradicado en esta campaña!

Las medidas de erradicación dependen de la situación económica del país y de la extensión del área donde el virus es activo.

Los planes de erradicación en Australia son los siguientes: sacrificio de todos los rumiantes en el área infectada, desinfección del área infectada, mantenimiento de una zona de cuarentena mayor en la cual se confinan los animales.

Se define como área infectada a la superficie dentro de un radio de cinco millas (ocho km) de los rebaños infectados.

Una zona de cuarentena se puede extender por cerca de 50 millas (80 km) dentro del área infectada, dependiendo de los vientos prevaletientes, topografía, localización del ganado, etc. Estas medidas deben continuar hasta los ocho meses después del último caso clínico de la enfermedad (22).

En realidad, cuando se encontraron vacas serológicamente positivas, el gobierno solo declaró el confinamiento de bovinos en ciertas áreas durante tres meses. Se estimó que ese período era suficiente debido a la ausencia de casos clínicos (52).

15.3 Control en áreas endémicas

Poco se puede hacer en las áreas endémicas, excepto restringir la importación de razas de ovinos exóticas o vacunar los animales que serán introducidos (81).

15.4 Vacunación

La vacunación es el principal método de prevención.

Vacuna de virus vivo atenuado: Esta vacuna empíricamente es atenuada por una serie de pasajes en huevos y producida en cultivos de tejidos (16). Los pasajes seriados en huevos embrionados rápidamente reducen la virulencia del virus (29).

La vacuna monovalente da una buena protección. La administración de una única cepa potente es seguida por una inmunidad de larga duración (16). Con las vacunas polivalentes pueden

ocurrir interferencias (78), y parece difícil obtener una inmunidad efectiva (16).

Los problemas ocurridos en Africa con la vacuna polivalente son (44): interferencia entre las cepas, diferencia en la capacidad inmunizadora, diferencias de la velocidad de crecimiento entre cepas modificadas, y respuesta inmunitaria diferente en cada animal.

En Africa del Sur, donde existen por lo menos 17 cepas, la vacuna viva es aplicada en tres inyecciones con tres cepas diferentes (78). La vacunación debe ser repetida anualmente (16). Investigadores en Africa del Sur también experimentaron con vacuna pentavalente aplicada a intervalos de por lo menos tres semanas. Ovinos vacunados de acuerdo con este protocolo desarrollan anticuerpos en una media de aproximadamente ocho de los serotipos (17).

Otros han informado sobre el uso de una vacuna polivalente que incluye los 16 serotipos principales y que da una protección de cerca de un año (38).

Experimentos con una vacuna producida en cultivos de células de riñón de mono estables que contenían los serotipos 1-16 resultaron solo en títulos positivos para 3-8 de los serotipos (2).

Debido a que cada año en los Estados Unidos hay cinco tipos activos sería necesaria una vacuna que incluya los cinco serotipos del VLA en actividad (88). Sin embargo, la vacuna americana es una vacuna viva modificada con 10 serotipos de VLA producida en células de feto bovino, solo está autorizada para ser usada en ovinos, no siendo aprobada para bovinos (98).

En España y Portugal se utiliza con éxito una vacuna con cuatro tipos (cepas atenuadas en huevos) contra la quinta cepa heteróloga (44).

Experimentalmente, la administración de dos tipos de VLA protege contra el desarrollo de viremia seguida a la inoculación de un tercer tipo de VLA; por ejemplo, la inoculación del tipo 4

resultó en anticuerpo neutralizante homólogo, y la inoculación siguiente del tipo 3 causó una amplia respuesta heterotípica. Sin embargo, en un experimento se observó que la administración en serie de dos o más VLA indujo anticuerpos heterólogos, pero no ocurrió lo mismo con la inoculación simultánea de los mismos tipos de virus (51). Se cuestiona si es posible producir vacunas mezcladas que consistan de un número pequeño de VLA, pero que den una amplia cobertura heterotípica.

La prevención de viremia cuando un tercer tipo de VLA es inoculado podría explicarse por el desarrollo de células con memoria, que bajo estimulación rápidamente desarrollan anticuerpos, seguido por la anulación de la viremia (50).

La importancia funcional de la respuesta inmunitaria humoral y celular en la protección y recuperación debe ser estudiada antes que una vacuna modificada pueda ser preparada con algunos tipos de VLA que puedan dar una amplia protección heterotípica.

Aún continúan los trabajos con vacunas inactivadas (35, 71).

Fingerprinting del VLA reveló que el desvío antigénico ocurre con mucha frecuencia (75). Los determinantes antigénicos posiblemente se encuentran en una proteína, para los cuales solo uno de los segmentos provee el código (31).

Se está realizando un trabajo de investigación sobre el desarrollo de una vacuna LA inactivada potente para uso en ovejas preñadas, corderos jóvenes que aún poseen inmunidad pasiva residual, y en países no enzoóticos.

La inoculación del VLA inactivado parece dar alguna protección tras una prueba de desafío subsecuente, en vez de causar una condición sensible que provoque la enfermedad clínica (ver además 8.10). Sin embargo, después de dos inoculaciones con VLA inactivado, asociado con drogas inmunomoduladoras, la enfermedad provocada por desafío se asemeja mucho a LA

clínica en bovinos. En este experimento, los animales control que solo recibieron la dosis de desafío no mostraron signos clínicos (87). Algunos investigadores informaron que la vacuna monovalente da una inmunidad en ovinos y bovinos por un año o por toda la vida, pero el animal puede estar sensible y desarrollar una respuesta más severa si es afectado con virus de otro tipo (63).

La vacuna inactivada induce en ovinos la producción de anticuerpos FC, precipitantes y una estimulación positiva de linfocitos pero no de anticuerpos neutralizantes. Esta reacción de estimulación linfocitaria así como la falta de anticuerpos neutralizantes puede diferenciar los ovinos vacunados de los no vacunados después de una infección natural (98).

El análisis de la importancia inmunogénica relativa de las proteínas virales de LA debe esperar a la purificación del virus (50). La inmunidad después de la infección natural parece ser por lo menos por un año (contra la cepa homóloga) (38).

El desarrollo de una vacuna para bovinos es importante en vista del papel que juega esta especie en la epizootiología de la LA (16). Aunque las pérdidas económicas que la enfermedad ocasiona en los bovinos son insignificantes comparadas con las de los ovinos, es posible que sean aún más importantes en un programa de erradicación para prevenir la diseminación de la infección en bovinos de lo que son en ovinos (22). La creación de una población bovina inmune sería de mucha importancia para el control de la enfermedad (16).

Esquema de vacunación para un área endémica

Vacunación temprana de todos los ovinos con una vacuna viva modificada polivalente, por lo menos un mes antes del inicio de la estación de lluvias. Las ovejas no preñadas deben ser vacunadas por lo menos tres semanas antes del inicio del período de cruzamiento pues la vacunación puede influir en el estro. Las ovejas

preñadas no deben ser vacunadas en el inicio de la preñez debido al efecto teratogénico de la vacuna. La administración de vacuna viva atenuada anti-LA a ovejas al inicio de la preñez (5-10 semanas) puede provocar la muerte del feto con reabsorción y desarrollo de anomalías congénitas tales como encefalopatía y deformidades del sistema óseo (16).

En investigaciones efectuadas, la revacunación de ovejas durante el sexto mes de preñez no causó daños al feto (84). Después de la primera vacunación el ovino macho puede quedar temporalmente estéril.

Los animales deben ser vacunados por primera vez después de trasquilados debido a que pueden ocurrir reacciones después de la vacunación (generalmente no son usuales) que dañen la lana.

Los anticuerpos maternos de corderos pueden neutralizar el virus vacunal hasta los seis meses. Los animales recién nacidos son susceptibles a la infección natural aunque la infección generalmente no ocurre hasta que los anticuerpos precipitantes y neutralizantes derivados del virus de origen materno han desaparecido completamente. Entonces, anticuerpos precipitantes (IDGA) y niveles elevados de anticuerpos neutralizantes de virus contra un único tipo de VLA pueden ser encontrados después de un período variable, normalmente 1-2 meses. En un área endémica esto no excede seis meses (40).

15.5 Control de insectos

La eliminación de focos de cría o rociando mosquitos adultos solo interrumpe el ciclo por 1-2 semanas. Rociar o sumergir los animales puede ser más efectivo.

Se debe notar que en la campaña de erradicación de España y Portugal no se tomaron medidas contra los insectos.

Los controles biológicos parecen ser un enfoque interesante.

La susceptibilidad oral de mosquitos hembras C. variipennis a la infección de VLA puede ser controlada genéticamente. Además, diferentes poblaciones de campo de C. variipennis parecen tener susceptibilidades variables a los diferentes serotipos de VLA. Si una colonia de Culicoides pudiese ser desarrollada para ser resistente a la infección oral con serotipos de VLA, entonces la liberación de mosquitos resistentes al VLA podría ser usada para interrumpir el ciclo de transmisión de la enfermedad sin destruir la ecología de un área (98).

15.6 Medidas de prevención por manejo

- Transferir el hato para áreas altas y secas donde el Culicoides no existe. La altura arriba del nivel del mar no es importante pero sí lo es la altura local de la pradera en relación con el valle.

- Mantener las ovejas en un establo sin luz durante la noche.

- Alejar los Culicoides durante la noche por medio de humo de hogueras.

- Sumergir las ovejas para eliminar el vector.

- Aplicar repelentes, especialmente en las razas de pelo corto.

- Las ovejas en las regiones enzoóticas deben ser esquiladas al inicio del verano para permitir el crecimiento de la lana antes del inicio de la época de apareamiento de la LA, al final del verano. Las ovejas recién esquiladas se infectan más rápidamente y generalmente desarrollan una forma más severa de la enfermedad que las ovejas cubiertas con abundante lana (16).

- Una medida de control que parece ser muy eficaz, por lo menos en Africa del Sur, es colocar bovinos próximos a los ovinos pues el vector Culicoides imicola prefiere al bovino como huésped (16).

- Los corderos de otoño son los mejores. Los nacidos en primavera pierden su inmunidad en el otoño, durante los meses pico de infección de LA. La inmunización es difícil debido a los anticuerpos maternos persistentes (16).

- En un país libre de LA se deben mantener hatos de ovejas sentinelas en puntos estratégicos para detectar la diseminación subclínica entre bovinos antes que afecte grandes áreas sin descubrir la enfermedad.

16. INVESTIGACIONES ADICIONALES RECOMENDADAS/
INFORMACION REQUERIDA DE LA ENFERMEDAD

- Sitios de invernadero del virus.
- El papel de los animales no rumiantes.
- Vectores potenciales.
- Patogenesis.
- Distribución del virus en los tejidos animales infectados.
- Inmunidad.
- Distribución mundial.
- Determinación del papel de los bovinos infectados latentes en la epizootiología de la LA.
- Desarrollo de una vacuna para bovinos.
- Desarrollo adicional de una vacuna polivalente inactivada.
- Sería muy importante tener una prueba rápida, simple y confiable para viremia que pudiera ser aplicada en gran cantidad de muestras de sangre de bovinos. La prueba serológica tradicional no detecta los anticuerpos hasta 3-6 semanas después de la infección. En este período la enfermedad puede diseminarse asintóticamente (22).

- Estandarización internacional de técnicas de serotipificación.
- Establecimiento de un nuevo sistema de índice de patogenicidad para aislamientos de VLA basado en características bioquímicas y genéticas.

17. REFERENCIAS

1. AFSHAR, A. & KAYVANFAR, H. Occurrence of precipitating antibodies to bluetongue virus in sera of farm animals in Iran. *Vet.Rec.* 94 (11): 233-235, 1974.
2. AWAD, F.I. *et al.* Neutralizing antibody response of sheep inoculated with bluetongue vaccines produced in monkey kidney stable (MS) cell cultures. *Egyptian J.Vet.Sci.* 15 (1/2): 67-75, 1978.
3. BLUETONGUE. *Tijdschr. Diergeneesk.* 104 (3): 145-146, 1979.
4. BLUETONGUE. *Tijdschr. Diergenessk.* 104 (14): 599, 1979.
5. BOORMAN, J.P.T. & MELLOR, P. Notes on *Culicoides* from the Sudan in relation to the epidemiology of BTV disease. *Rev.Elev.Med.Vet. Pays trop.* 35 (2):173-178, 1982.
6. BOULANGER, P. & FRANK, J.F. Serological methods in the diagnosis of bluetongue. *Australian Vet.J.* 51: 165-189, April 1975.
7. BOWEN, R.A., HOWARD, T.H., ELSDEN, R.P., SEIDEL, G.E. Embryo transfer from cattle infected with bluetongue virus. *Am.J.Vet.Res.* 44 (9): 1625-1628, 1983.
8. BOWEN, R.A. & HOWARD, T.H. Transmission of bluetongue virus by intrauterine inoculation or insemination of virus-containing bovine semen. *Am.J.Vet.Res.* 45 (7): 1386-1388, 1984.

9. CALLIS, J.J., DARDIRI, A.H. *et al.* Illustrated manual for the recognition and diagnosis of certain animal diseases. 5th ed., Greenport, The Plum Island Animal Disease Center, U.S. Department of Agriculture, 1981, p.56-61.
10. CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization). Australia. 1977/1978.
11. CUNHA, R.G., De SOUZA, D.M., TEIXEIRA, A.C. Anticorpos precipitantes para o vírus da língua azul em soros de bovinos do estado do Rio de Janeiro. *Biológico*, S.Paulo, 48(4):99-103, 1982. *Informativo LANARA*, IV (21): 29-33, 1983.
12. DELLA-PORTA, A.J., SELLERS, R.F., HERNIMAN, K.A.J. *et al.* Serological studies of Australian and Papua New Guinean cattle and Australian sheep for the presence of antibodies against bluetongue group viruses. *Vet.Microbiol.* 8 (2): 147-162, 1983.
13. EPIZOOTIOLOGY, diagnosis and control of bluetongue in Turkey. *Bull.Off.Int.Epiz.* 92 (7/8): 567-574, 1980.
14. ERASMUS, B.J. Bluetongue in sheep and goats. *Australian Vet.J.* 51: 165-170, April 1975.
15. ERASMUS, B.J. The epizootiology of bluetongue: the African situation. *Australian Vet.J.* 51: 196-198, April 1975.
16. ERASMUS, B.J. The control of bluetongue in an enzootic situation. *Australian Vet.J.* 51: 209-210, April, 1975.
17. ERASMUS, B.J. The epidemiology and control of bluetongue in South Africa. *Bull.Off.Int.Epiz.* 92 (7/8): 461-467, 1980.
18. FAO, publication, 1968.
19. FRANK, J.F. & WILLIS, N.G. Bluetongue-like disease of deer. *Australian Vet.J.* 51: 174-177, April 1975.

20. FULTON, R.W. a.o. Prevalence of bluetongue viral antibodies in Louisiana goats. *Am.J.Vet.Res.* 42 (11): 1985-1986, 1981.
21. GARD, G.P. & BAINBRIDGE, M.H. Arbovirus serology and isolations from sentinel cattle in the Northern Territory of Australia, 1981. In *Proc. 3rd Symp.: Arbovirus Research in Australia*. Brisbane, St. George, T.D. & Kay, B.H., CSIRO, 1982, p.183-188.
22. GEERING, W.A. Control of bluetongue in an epizootic situation: Australian plans. *Australian Vet.J.* 51: 220-224, April 1975.
23. GEERING, W.A. Bluetongue-related viruses in Australia. *Bull.Off.Int.Epiz.* 92 (7/8): 537-546, 1980.
24. St.GEORGE, T.D., CYBINSKI, D.H., DELLA-PORTA, A.J. *et al.* The isolation of two bluetongue viruses from healthy cattle in Australia. *Australian Vet.J.* 56 (11): 562-563, 1980.
25. GIBBS, E.P.J. Bluetongue - An analysis of current problems with particular reference to importation of ruminants to the United States. *JAVMA* 182 (11): 1190-1194, 1983.
26. GIBBS, E.P.J. A serological survey of ruminant livestock in the Caribbean Region and South America for antibody to bluetongue virus. IICA publication, 1983. 20p.
27. GIBBS, E.P.J., GREINER, E.C., ALEXANDER, F.C.M., KING, T.H., ROACH, C.J. Serological survey of ruminant livestock in some countries of the Caribbean Region and South America for antibody to BTV. *Vet.Rec.* 113: 446-448, 1983.
28. GIBBS, E.P.J., GREINER, E.C., TAYLOR, W.P., BARBER, T.L., HOUSE, J.A., PEARSON, J.E. Isolation of BTV serotype 2 from cattle in Florida: Serotype of BTV hitherto unrecognized in the Western Hemisphere. *Am.J.Vet.Res.* 44 (12): 2226-2228, 1983.

29. GILLESPIE, J.H. & TIMONEY, J.F. Hagan and Bruner's infectious diseases of domestic animals. Seventh Ed., Ithaca, 1981, cap. 47, p.653-660.
30. GOLDSMIT, L., BARZILAI, E., TADMOR, A. The comparative sensitivity of sheep and chicken embryos to bluetongue virus and observations on viraemia in experimentally infected sheep. Australian Vet.J. 51: 190-196, April 1975.
31. GORMAN, B.M. Variation in Orbiviruses. J.Gen.Virol. 44 (1): 1-15, 1979.
32. GRIMES, J.E., McCONNELL, S., LIVINGSTON, Ch.W., UNGER, C.L. Immunodiffusion test antigen from BTV-infected newborn mouse brains. Vet.Microbiol. 8: 363-372, 1983.
33. GROOOCK, C.M. & CAMPBELL, C.H. Isolation of an exotic serotype of bluetongue virus from imported cattle in quarantine. Can.J.Comp.Med. 46: 160-164, 1982.
34. GROOOCK, C.M., PARSONSON, I.M., CAMPBELL, C.H. Bluetongue virus serotype 20 infections in cattle of breeding age. Am.J.Vet.Res. 44 (9): 1765-1768, 1983.
35. GRUBMAN, M.J., APPLETON, J.A., LETCHWORTH, G.H. III. Identification of bluetongue virus type 17 genome segments coding for polypeptides associated with virus neutralization and intergroup reactivity. Virology 131: 355-366, 1983.
36. GUMM, I.D. & NEWMAN, J.F.E. The preparation of purified bluetongue virus group antigen for use as a diagnostic reagent. Arch.Virol. 72: 83-93, 1982.
37. GUMM, I.D., TAYLOR, W.P., ROACH, C.J., ALEXANDER, F. C.M., GREINER, E.C., GIBBS, E.P.J. Serological survey of ruminants in some Caribbean and South American countries for type-specific antibody to bluetongue and epizootic haemorrhagic disease viruses. Vet. Rec. 114: 635-638, 1984.
38. HANDBOOK on animal diseases in the tropics. 3rd. ed., London, British Vet. Assoc., 1976, p.5-7.
39. HENNING. M.W. Animal diseases in South Africa. 3rd. ed., Onderstepoort, 1956, p.809-827.

40. HERNIMAN, K.A.J., BOORMAN, J.P.T., TAYLOR, W.P. Bluetongue virus in a Nigerian dairy cattle herd. 1. Serological studies and correlation of virus activity to vector population. *J.Hyg.* 90 (2): 177-193, 1983.
41. HOURRIGAN, J.L. & KLINGSPORN, A.L. Bluetongue: the disease in cattle. *Australian Vet. J.* 51: 170-174, April 1975.
42. HOURRIGAN, J.K. & KLINGSPORN, A.L. Epizootiology of bluetongue: the situation in the U.S.A. *Australian Vet. J.* 51: 203-208, April 1975.
43. HOURRIGAN, J.L. & KLINGSPORN, A.L. Certification of ruminants, semen and ova for freedom from bluetongue virus. *Australian Vet. J.* 51: 211-212, April 1975.
44. HOWELL, P.O. & VERWOERD, D.W. Bluetongue virus. *Virology monograph No. 9*: Ed. Springer-Verlag, New York 1971, p.35-74.
45. HUBSCHLE, O.J.B. Bluetongue virus hemagglutination and its inhibition by specific sera. *Arch. Virol.* 64 (2): 133-140, 1980.
46. HUBSCHLE, O.J.B. & CHENCYN YANG. Immunodiffusion studies with bluetongue virus using an isolated core protein. In: *Proc. of the Third Intern.Symp. of the World Vet. Lab. Diagnost. V.2*, Ames, 1983, p.725-729.
47. HUBSCHLE, O.J.B., LORENZ, R.J., MATHEKA, H.D. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of bluetongue virus antibodies. *Am.J.Vet.Res.* 42 (1): 61-65, 1981.
48. HUISMANS, H. & ERASMUS, B.J. Identification of the serotype-specific and group-specific antigens of bluetongue virus. *Onderstepoort J.Vet.Res.* 48 (2): 51-58, 1981.
49. INSTIT. v. VIROLOGIE. De belangrijkste Virusziekten bij Zoogdieren en Pluimvee (lecture manual). *Vet. Faculty, Utrecht*, 1976.

50. JEGGO, M.H., WARDLEY, R.C., TAYLOR, W.P. Host response to bluetongue virus. "Double stranded RNA viruses", Elsevier Science Publishing Co., 1983.
51. JEGGO, M.H., WARDLEY, R.C., TAYLOR, W.P. Clinical and serological outcome following the simultaneous inoculation of three bluetongue virus types into sheep. *Res.Vet.Sci.* 37 (3): 368-370, 1984.
52. JOHNSTON, J.H. Exotic animal disease emergencies in the Australian Grazing Sector - An economic study - Appendix E: Some observations on the effects of discovering virus serotype 20 in northern Australia. p.111-123, 1982.
53. KING, T.H. Bluetongue studies in the Caribbean, Guyana and Suriname. In: Proc. First Meeting of the Interamerican Commission on Animal Health, Mexico, 19-23 Sep., 1983, doc.24, 8p.
54. KNUDSON, D.L. & SHOPE, R.E. Overview of the Orbiviruses. In: Bluetongue and Related Orbiviruses. Proc. of an International Symp. Monterey, 16-20 Jan., Alan R. Liss Inc., New York, 1984.
55. KOCAN, A., CASTRO, A.E., ESPE, B., DOYLE, R.T., OLSEN, S.K. Inapparent bluetongue in free-ranging white-tailed deer. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 181 (11): 1415-1416, 1982.
56. LEFEVRE, P.C. Current epidemiological situation of bluetongue and risks of its occurrence in Europe. *Rec.Med.Vet.* 158 (6): 537-542, 1982.
57. LUEDKE, A.J., JOCHIM, M.M., JONES, R.H. Bluetongue in cattle: effects of *Culicoides variipennis*-transmitted bluetongue virus on pregnant heifers and their calves. *Am.J.Vet.Res.* 38 (11): 1687-1695, 1977.
58. LUEDKE, A.J., JOCHIM, M.M., JONES, R.H. Bluetongue in cattle: effects of vector-transmitted bluetongue virus on calves previously infected in utero. *Am.J.Vet.Res.* 38 (11): 1697-1700, 1977.

59. LUEDKE, A.J., WALTON, T.E., BRECKON, R.D. Blood autograft in sheep for isolation of bluetongue virus from latently infected cattle. Proc. U.S. Animal Health Assoc. 84, 1980, p.203-214.
60. LUEDKE, A.J. *et al.* Observations on latent bluetongue virus infection in cattle. JAVMA 156: 1871-1879, 1970.
61. MELLOR, P.S., BOORMAN, J.P.T., WILKINSON, P.J., MARTINEZ-GOMEZ, F. Potential vectors of bluetongue and African horse sickness viruses in Spain. Vet.Rec. 112: 229-230, 1983.
62. METCALF, H.E., LOMME, J., BEAL Jr., V.C. Estimate of incidence and direct economic losses due to bluetongue in Mississippi cattle during 1979. Proc. U.S. Animal Health Assoc. 84, 1980, p.186-202.
63. METCALF, H.E. & LUEDKE, A.J. Bluetongue and related diseases. Proc. of the Vet.Prev.Med. and Epidem. World Conf., National Animal Disease Center, Ames, Iowa, June 27-29, 1978.
64. METCALF, H.E. & LUEDKE, A.J. Epizootiology of bluetongue in the United States of America. Bull.Off. Int.Epiz. 92 (7/8): 507-513, 1980.
65. METCALF, H.E., PEARSON, J.E., KLINGSPORN, A.L. Bluetongue in cattle: A serologic survey of slaughter cattle in the United States. Am.J.Vet.Res 42 (6): 1057-1061, 1981.
66. MIURA, Y. *et al.* Seroepizootiological survey on bluetongue virus infection in cattle in Japan. National Institute of Animal Health Quarterly, Japan, 22 (4): 154-158, 1982.
67. MURRAY, M.D. Potential vectors of bluetongue in Australia. Australian Vet.J. 51: 216-220, April 1975.
68. NAZLIOGLU, M. Distribution, diagnosis and control of bluetongue in Turkey. Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Enstitüsü Dergisi 13 (1): 46-52, 1981.

69. OSBURN, B.I., STOTT, J.L., BOSWELL, E.J. A procedure for certifying germplasm and animals free of bluetongue virus infection. Proc.U.S. Animal Health Assoc. 87, 1983, p.105-110.
70. OZAWA, Y. & GRIFFITHS, R.B. Bluetongue - A silently spreading disease. Bull.Off.Int.Epiz. 92 (7/8): 593-600, 1980.
71. PARKER, J., HERNIMAN, K.A.J., GIBBS, E.P.S., SELLERS, R.F. An experimental inactivated vaccine against bluetongue. Vet.Rec. 96: 284-287, 1975.
72. PARSONSON, I.M., DELLA-PORTA, A.J. McPHEE, D.A., CYBINSKI, D.H. *et al.* Isolation of bluetongue virus serotype 20 from the semen of an experimentally-infected bull. Australian Vet.J. 57 (5): 252-253, 1981.
73. McPHEE, D.A., PARSONSON, I.M., DELLA-PORTA, A.J. Comparative studies on the growth of Australian bluetongue virus serotypes in continuous cell lines and embryonated chicken eggs. Vet.Microbiol. 7 (5): 401-410, 1982.
74. PROCEEDINGS of the United States Animal Health Association 84, 1980: Report of Bluetongue-Bovine Leukosis Committee. p.215-219.
75. PROCEEDINGS of the United States Animal Health Association 85, 1981: Report of the Committee on Bluetongue-Bovine Leukosis. p.181-187.
76. PROCEEDINGS of the United States Animal Health Association 86, 1982: Report of the Committee on Bluetongue-Bovine Leukosis. p.132-135.
77. SELLERS, R.F. Bluetongue in Cyprus. Australian Vet. J. 51: 198-203, April 1975.
78. SELLERS, R.F. Bluetongue and related Diseases. In: Gibbs, E.P.J.: Virus diseases of Food Animals, V.II, London, 1981, p.567-582.
79. SELLERS, R.F. Transmission of viruses by artificial breeding techniques: A review. J. Royal Society Medicine, 76 (9): 772-775, 1983.

80. SELLERS, R.F. Bluetongue in Africa, the Mediterranean region and Near East-disease, virus and vectors. *Prev.Vet.Med.* 2: 371-378, 1984.
81. SELLERS, R.F. & TAYLOR, W.P. Epidemiology of bluetongue and the import and export of livestock, semen and embryos. *Bull.Off.Int.Epiz.* 92 (7/8): 587-592, 1980.
82. SERGUÉIEV, V.A. Cell culture of bluetongue virus. *Veterinariya, Moscow*, 5: 26-27, 1981.
83. SERGUÉIEV, V.A., MÉTELEVA, R.I., KOZLOVA, D.I. La fièvre catarrhale du mouton (bluetongue): quelques aspects de l'epizootiologie du diagnostic et des mesures de lutte. *Bull.Off.Int.Epiz.* 92 (7/8): 575-580, 1980.
84. SHIMSHONY, A., GOLDSMIT, L., BARZILAI, E. Bluetongue in Israel. *Bull.Off.Int.Epiz.* 92 (7/8): 525-534, 1980.
85. SQUIRE, K.R.E., OSBURN, B.I., CHUANG, R.Y., DOI, R.H. A survey of electropherotype relationships of bluetongue virus isolates from the Western United States. *J.gen.Virol.* 64: 2103-2115, 1983.
86. STANDFAST, H.A., DYCE, A.L., MULLER, M.J. Vectors of bluetongue virus in Australia. In: Bluetongue and Related Orbiviruses. Proc. of an International Symp. Monterey, 16-20 Jan., Alan R. Liss Inc., New York, 1984.
87. STOTT, J.L., ANDERSON, O.A., JOCHIM, M.M., BARBER, T.L., OSBURN, B.I. Clinical expression of bluetongue disease in cattle. *Proc. U.S. Animal Health Assoc.* 86, 1982, p.126-131.
88. STOTT, J.L., ELSE, K.C., MCGOWAN, B., WILSON, L.K., OSBURN, B.I. Epizootiology of bluetongue virus in western United States. *Proc. U.S. Animal Health Assoc.* 85, 1981, p.170-180.
89. STOTT, J.L., OSBURN, B.I., BARBER, T.L. Recovery of dual serotypes of bluetongue virus from infected sheep and cattle. *Vet.Microbiol.* 7 (3): 197-207, 1982.

90. SUGIYAMA, K., BISHOP, D.H.L., ROY, P. Analysis of the genomes of bluetongue viruses recovered from different states of the United States and at different times (1953-1975). *Am.J.Epidem.* 115 (3): 332-347, 1982.
91. TAMAYO, R., ALONSO, O., SCHOEBITZ, R. Anticuerpos de lengua azul (Bluetongue) en bovinos: primer informe en Chile. *Arch.Med.Vet.* 15 (1): 49, 1983.
92. TAYLOR, W.P. & GUMM, I.D. Bluetongue studies in the Caribbean: neutralizing antibody studies at AVRI, Pirbright, England, 1983, 4p.
93. THOMAS, F.C., SKINNER, D.J., SAMAGH, B.S. Evidence for bluetongue virus in Canada: 1976-1979. *Canadian J.Comp.Med.* 46 (4): 350-353, 1982.
94. TONGAONKAR, S.S. *et al.* Seroprevalence of bluetongue virus in Indian buffalo. *Vet.Rec.* 112 (14): 326, 1983.
95. TOT dusver onbekende stam van Bluetongue virus in Australië. *Tijdschr. Diergeneesk.* 103 (1): 73-74, 1978.
96. VAKGROEP Tropische Diergeneesk. en Protozoölogie: Tropical and Protozoal Diseases, (lecture manual, Dutch), Vet.Faculty, Utrecht, 1977, p.228-231.
97. VASSALOS, M. Cas de fièvre catarrhale du mouton dans l'Ile de Lesbos (Grèce). *Bull.Off.Int.Epiz.* 92 (7/8): 547-555, 1980.
98. WALTON, T.E. The diagnosis and control of bluetongue. *Bull.Off.Int.Epiz.* 92 (7/8): 515-523, 1980.
99. YUJI INABA. Ibaraki disease and its relationships to bluetongue. *Australian Vet.J.* 51: 178-185, April 1975.
100. ZWART, D. Enkele epidemiologische aspecten van Bluetongue. *Tijdschr. Diergeneesk.* 108 (24): 970-971, 979, 1983.

18. ABREVIATURAS

ARN	Acido ribonucleico.
CEE	Comunidad Económica Europea.
DVB	Diarrea viral bovina.
EHD	Enfermedad hemorrágica epizoótica.
ELISA	Ensayo de inmunoabsorción ligada con enzimas.
FC	Fijación del complemento.
FCMD	Prueba de fijación del complemento modificada directa.
ID	Prueba de inmunodifusión.
IDGA	Prueba de inmunodifusión en gel de agar.
LA	Lengua azul.
OPG	Glicerol-oxalato de potasio-fenol.
PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida.
RIB	Rinotraqueitis infecciosa bovina.
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.
VLA	Virus de la lengua azul.

* * *