

INFECCIÓN POR HERPESVIRUS EQUINO

TIPO 1 Y TIPO 4: REVISIÓN Y ACTUALIZACIÓN

INFECTION FOR EQUINE HERPESVIRUS

TYPE 1 AND TYPE 4: REVIEW AND UPDATE

Christian Tuemmers*, Angélica Saldivia, Oscar Venegas, Carolina Otárola.

Departamento de Ciencias Veterinarias, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Casilla 15-D, Temuco, Chile.

* Autor para correspondencia, email: ctuemmers@uct.cl

RESUMEN

Los Herpesvirus Equino tipo 1 (VHE-1) y Herpesvirus Equino tipo 4 (VHE-4) son patógenos que están ampliamente distribuidos en las poblaciones de equinos de todo el mundo, considerándose dentro de los agentes más importantes debido a las consecuencias devastadoras que producen a la industria equina. Las enfermedades producidas por estos virus se denominan comúnmente como Rinoneumonitis Equina (RNE) ya que ambos tienen la capacidad de producir enfermedad respiratoria, sin embargo, el VHE-1 también puede causar abortos en los últimos meses de gestación, muerte en neonatos o disfunción neurológica; por otra parte, el VHE-4 raramente puede ocasionar abortos.

Luego de la infección primaria por VHE-1 o VHE-4, estos tienden a entrar en un estado de latencia viral, en la cual los animales infectados se encuentran aparentemente sanos, pudiendo posteriormente reactivarse frente a situaciones de estrés. Dichos mecanismos permiten la supervivencia y propagación de estos virus a otros caballos susceptibles.

VHE-1 y VHE-4 son enzoóticos en muchos países del mundo, en especial en los que se mantienen grandes poblaciones de caballos, por lo que es primordial realizar un diagnóstico oportuno y certero, además de conocer las estrategias de prevención y control que existen a escala mundial y nacional. La presente revisión bibliográfica busca otorgar información actualizada referente a la infección por VHE-1 y VHE-4 y dar a conocer la importancia de la prevención de la infección por estos patógenos.

Palabras clave: Infección, Herpesvirus Equino tipo 1, Herpesvirus Equino tipo 4.

ABSTRACT

Equine Herpesvirus type 1 (EHV-1) and Equine Herpesvirus type 4 (EHV-4) are pathogens that are widely distributed in equine populations around the world, being considered among the most important agents due to the devastating consequences they produce to the equine industry. Diseases caused by these viruses are commonly referred to as Equine Rhinoneumonitis (ERN) as both have the capacity to produce respiratory disease, however, EHV-1 can also cause miscarriages in late gestation, neonatal death or neurological dysfunction; on the other hand, EHV-4 can rarely cause miscarriages.

After primary infection with EHV-1 or EHV-4, they tend to enter into a viral latency state in which the infected animals are apparently healthy and can subsequently be reactivated in the event of stress. These mechanisms allow the survival and propagation of these viruses to other susceptible horses.

EHV-1 and EHV-4 are enzootic in many countries of the world, especially in which that have large populations of horses, so it is essential to make a timely and accurate diagnosis, as well as to know the strategies of prevention and control that exist at the global and national levels. The present literature review aims to provide updated information regarding infection by EHV-1 and HEV-4 and to inform the importance of prevention of infection by these pathogens.

Key words: Infection, Equine Herpesvirus type 1, Equine Herpesvirus type 4.

INTRODUCCION

Los equinos (*Equus ferus*, Linnaeus 1758), durante su vida son susceptibles a numerosos agentes infecciosos. Entre estos agentes se encuentran los Herpesvirus Equinos (VHE), los cuales pueden afectar a miembros de la familia *Equidae* de todo el mundo (Stasiak et al 2017). Dentro de los más importantes que afectan a los equinos domésticos están los Herpesvirus Equino tipo 1 (VHE-1) y Herpesvirus Equino tipo 4 (VHE-4). Los cuales producen importantes pérdidas a la industria equina (Maxwell 2017).

La primera vez que se observó un cuadro clínico compatible con la enfermedad causada por uno de estos virus fue el año 1932 en Kentucky (USA), durante un gran brote de abortos. En ese entonces, el agente causal se denominó como virus del aborto equino

(Ruíz-Sáenz et al 2008a). Posteriormente, durante la segunda guerra mundial hubo un gran número de muertes de caballos de remonta debido a complicaciones neumónicas, lo cual también se atribuyó a la presencia de uno de estos patógenos (Berríos 2005).

Al comienzo, estos virus eran considerados como subtipos de un mismo virus y se le denominaban comúnmente como virus del aborto equino para el VHE-1 subtipo 1 y virus de la rinoneumonitis equina para el VHE-1 subtipo 2, sin embargo, estudios moleculares posteriores demostraron diferencias genéticas y antigénicas entre ambos agentes, por lo que el año 1981 se denominaron como VHE-1 y VHE-4 (Dunowska 2014). En la literatura se designan como Rinoneumonitis Equina (RNE) a todas las enfermedades causadas por ambos agentes (Davis 2015). Esto se explicaría porque tanto VHE-1 como VHE-4 tienen la facultad de causar enfermedades respiratorias en los equinos, sin embargo, el VHE-1 también puede ser causante de abortos, muertes neonatales y muy esporádicamente de trastornos neurológicos (Balasuriya et al 2017); por el contrario, el VHE-4 rara vez produce abortos (Góngora et al 2014).

En Chile la RNE se presentó por primera vez como un gran brote de abortos, ocurrido entre 1969 y 1976, causando incalculables pérdidas económicas a la hípica nacional (Retamales 1989). Luego de éste suceso, la RNE se ha presentado esporádicamente en el país y en muchos de estos episodios el diagnóstico sólo ha sido realizado a través de métodos anatomopatológicos, sin poder aislar el virus (Berríos 2005). Actualmente, la RNE está incluida en la lista de Enfermedades de Denuncia Obligatoria (EDO) establecida en el Decreto Exento N°389, por lo que se exige que todos los casos sospechosos o confirmados de la enfermedad sean debidamente notificados al Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), permitiendo de esta manera disponer de datos actualizados con respecto al estado sanitario de la RNE en Chile (SAG 2015).

A continuación se describen aspectos relevantes de los VHE-1 y VHE-4, como son la etiología, epidemiología, mecanismo de transmisión, signología clínica, métodos de diagnóstico, medidas de prevención y control, y la situación de la Rinoneumonitis Equina en Chile. Para su elaboración se recopiló información de publicaciones de artículos científicos nacionales e internacionales comprendidas entre los años 1969 a 2017, libros actualizados y bases de datos científicas proporcionadas por el acceso digital que provee la Universidad Católica de Temuco. Las bases de datos online de las cuales se obtuvieron los artículos científicos en texto completo fueron: Science Direct, Web of Science y Scielo (Scientific Electronic Library Online).

Etiología

El Comité Internacional Taxonomía Virus (ICTV, acrónimo inglés International Comité on Taxonomy of Virus) clasificó los Herpesvirus Equino tipo 1 (VHE-1) y Herpesvirus Equino tipo 4 (VHE-4) dentro del orden *Herpesvirales*, familia *Herpesviridae*, subfamilia *Alfaherpesvirinae* y género *Varicellovirus* (Gulati et al 2016).

Estos virus constan de una cadena doble de ADN envuelta en una cápside proteica icosaédrica, protegida por una fina envoltura lipídica con glicoproteínas y miden de 130 a 200 nm de diámetro (Slater 2014). En cuanto al genoma son muy similares, el VHE-1 posee 150 kb de tamaño y codifica para 76 genes; y el VHE-4 es un poco más pequeño, de 145 kb de tamaño, pero igualmente codifica para 76 genes (Góngora et al 2014). A pesar de que ambos virus tienen un alto grado de similitud, son genética y fenotípicamente diferentes, esto se refleja en los distintos perfiles de la enfermedad y gama de huéspedes de cada virus (Dunowska 2014).

Mientras el VHE-1 es capaz de infectar varios tipos de células, tales como las epiteliales del tracto respiratorio, endoteliales, neuronales y linfoides; el VHE-4 tiene un tropismo restringido a células epiteliales del tracto respiratorio y linfoides, y un potencial muy limitado para infectar células endoteliales y neuronales (Slater 2014).

La gama de huéspedes que pueden infectar, el VHE-1 es un patógeno que afecta principalmente a los équidos, sin embargo, se ha aislado en otras especies como llamas (*Lama glama*), alpacas (*Vicugna pacos*), antílopes negros (*Antelopa cervicapra*), gacelas de Thomson (*Eudorcas thomsoni*) y osos negros (*Ursus americanus*). Por el contrario, el EHV-4 es un patógeno que afecta únicamente al caballo doméstico (Ma et al 2013).

EPIDEMIOLOGÍA

Se describe que los VHE-1 y VHE-4 están presentes en poblaciones de equinos de todo el mundo (Stasiak et al 2017). Adicionalmente, la OIE señala que estos virus son enzoóticos en los países en que se mantienen grandes poblaciones de caballos (OIE 2015), como son Chile, Argentina, Nueva Zelanda, Canadá, Estados Unidos, Australia, y Japón (Galindo 2015). La presencia de estos virus también ha sido reportada en países como Brasil, México, Perú, Paraguay, Uruguay; y países con fuerte influencia en la industria equina como Dinamarca, Alemania, Irlanda, Italia, Holanda, España, Suiza, entre otros (Ruíz-Sáenz et al 2008a).

Los estudios serológicos realizados en diversos países han demostrado que VHE-4 tiene una prevalencia considerablemente más alta que VHE-1 (Ma et al 2013), incluso se describe que el VHE-4 puede ser hasta siete veces más frecuente que el VHE-1 en muestras

nasofaríngeas de caballos con enfermedad respiratoria (Laabassi et al 2017). Es así, que en países como Turquía se detectó una prevalencia del 23,2% y 78% para VHE-1 y VHE-4 respectivamente; en USA un 26,2% a VHE-1 y 99% a VHE-4; en Polonia un 13,5% a VHE-1 y 91,8% a VHE-4 (Góngora et al 2014). Estos resultados se pueden atribuir a que la infección por VHE-4 puede ocurrir en cualquier época del año, en cambio la infección por VHE-1 se produce principalmente en invierno, coincidentemente con la época de preñez (Gilkerson et al 2015).

La primera infección por estos agentes se produce normalmente al momento del destete, no obstante, se ha reportado que VHE-1 también puede adquirirse a las semanas de edad, esto indicaría que la fuente primaria de infección en estos casos son las mismas madres de los potrillos (las cuales pueden diseminar el virus de forma subclínica), y los potrillos al mismo tiempo pueden diseminar el virus a otros potrillos y yeguas susceptibles (McFadden et al 2015). Si bien no hay datos epidemiológicos similares para el VHE-4, su alta prevalencia en la población de caballos jóvenes sugiere que la infección por este virus también comienza a corta edad (Laabassi et al 2017).

Ambos virus son considerados los principales causantes de enfermedades respiratorias de origen viral (Soboll y Landolt 2015), sin embargo, el VHE-1 también es causante de abortos, muerte neonatal y en menor frecuencia de enfermedades neurológicas (Balasuriya et al 2017); por el contrario, el VHE-4 rara vez puede causar abortos (Góngora et al 2014). En cuanto a las infecciones respiratorias causadas por estos virus, éstas afectan mayormente a los neonatos y animales jóvenes, en cambio los abortos y afecciones neurológicas son de mayor importancia en los caballos de mediana edad o mayores (Pusterla y Soboll 2014).

Entre las características más importantes de interés epidemiológico que aseguran la supervivencia de VHE-1 y VHE-4 en las poblaciones de caballos se encuentran: la alta incidencia de infecciones del tracto respiratorio a edades tempranas (Laabassi et al 2017); el establecimiento de latencia de por vida en un alto porcentaje de los caballos infectados (Vissani et al 2016); y la frecuente reactivación del virus latente lo que conlleva a la transmisión del virus a otros caballos susceptibles (Stasiak et al 2017).

Una característica en común de todos los herpesvirus, es que una vez terminada una infección primaria estos pueden establecer latencia de por vida en el huésped (Vissani et al 2016). Sin embargo, a diferencia de los otros herpesvirus, los VHE-1 y VHE-4 entran en latencia en el sistema linforreticular (linfocitos T CD8+ y linfonódulos) y en las neuronas del ganglio trigémino (Balasuriya et al 2017). Los caballos que presentan una infección latente pueden experimentar frecuentemente periodos de reactivación del virus, generalmente frente a situaciones de estrés, tales como condiciones ambientales adversas,

desnutrición, hacinamiento, transportes prolongados (Balasuriya et al 2017), tratamiento con elevadas dosis de glucocorticoides (Maxwell 2017), entre otros.

MECANISMO DE TRANSMISIÓN

Ambos virus se pueden transmitir por contacto directo con secreciones o aerosoles provenientes de la cavidad nasal de equinos con afección respiratoria; o por contacto con las grandes cargas de virus presentes en fetos abortados, fluidos y membranas fetales infectadas, las cuales constituyen la principal fuente de infección (OIE 2015). Así mismo, los equinos también pueden adquirir éstos patógenos de forma indirecta, mediante el contacto con ambientes u objetos contaminados (Soboll y Landolt 2015). Por otra parte, se ha detectado la presencia de VHE-1 en semen de equinos infectados, sin embargo, ningún estudio ha podido comprobar que éste virus pueda transmitirse por vía venérea (Ma et al 2013).

PATOGENIA

Tracto respiratorio: Ocurrida la infección por VHE-1 o VHE4, este se replica en las células epiteliales del tracto respiratorio superior provocando la erosión de su mucosa, lo cual conlleva a la excreción del virus mediante las secreciones nasales al medio ambiente (McFadden et al 2015). Posteriormente el virus invade las células de la lámina propia y tejidos subyacentes, infectando de esta forma las células endoteliales de los vasos sanguíneos y linfáticos, lo cual permite detectar Células Mononucleares de Sangre Periférica (CMSP) en los linfonódulos asociados al tracto respiratorio dentro de las 24 a 48 horas post-infección (Dunowska 2014). Desde estos sitios, las CMSP infectadas con el virus se liberan al torrente sanguíneo entre los días 4 a 10 post-infección, dando como resultado una viremia asociada a células (a linfocitos T CD8+ particularmente) la cual se describe que puede persistir hasta 21 días (Stasiak et al 2017). Ésta viremia permite la propagación del virus a sitios de infección secundaria, tales como el endotelio vascular del útero y Sistema Nervioso Central (SNC) (Johnstone et al 2016)

La infección por VHE-4 generalmente se limita al tracto respiratorio superior y linfonódulos locales (Pusterla y Soboll 2014), raramente se acompaña de viremia asociada a células, esto se puede atribuir a su reducido tropismo celular, aunque su patogénesis aún no está dilucidada del todo (Ma et al 2013). Muy al contrario de la infección por VHE-1, la cual sí puede establecer viremia e invadir sitios de infección secundaria (Gilkerson et al 2015).

La viremia asociada a leucocitos con la posterior infección de las células endoteliales del útero y el SNC son requisitos clave para la patogenicidad de VHE-1 (Goehring 2015), sin embargo, no todas las yeguas preñadas con viremia abortan, y sólo un pequeño porcentaje de caballos virémicos desarrollan la enfermedad neurológica. En los casos en que no se presenta una viremia detectable, se puede atribuir a la reactivación de un virus latente (Slater 2014).

Útero: Luego de establecida la viremia, el VHE-1 puede infectar las células endoteliales del útero gestante, lo cual puede conducir a una vasculitis, trombosis e isquemia de los microcotiledones, con la posterior propagación transplacentaria del virus en los sitios de lesiones vasculares (Gardiner et al 2012).

Una trombosis generalizada y severa, puede dar como resultado un aborto de un feto virológicamente negativo. Por otra parte, una trombosis menos extensa puede permitir la transferencia del virus en los sitios de infarto microcotiledonarios, resultando en un aborto de un feto infectado con el virus. También puede que una infección transplacentaria a corto plazo de como resultado el nacimiento de crías vivas infectadas, que por lo general mueren a los pocos días, lo cual se conoce como enfermedad neonatal (Dunowska 2014).

Sistema nervioso central: La infección del endotelio cerebral se produce a través de la transferencia directa del virus desde el leucocito infectado hacia la célula endotelial del cerebro (Johnstone et al 2016). Esto también conduce a una vasculitis, trombosis e isquemia del endotelio, por lo tanto, los signos neurológicos producidos por VHE-1 son el resultado de la muerte isquémica del tejido nervioso (Maxwell 2017). Según la región del SNC que se haya afectado, va a depender si se produce una mielopatía, encefalopatía o mieloencefalopatía (Goehring 2015), independiente de aquello, a este cuadro neurológico se le denomina comúnmente Mieloencefalopatía por Herpesvirus Equino (MHE) (McFadden et al 2015). Sólo algunas cepas de VHE-1 poseen la capacidad de producir enfermedad neurológica, lo cual se asocia en gran parte al dimorfismo en la secuencia del gen 30 (que codifica la ADN polimerasa) dónde se sustituye el nucleótido adenina por guanina en la posición 2254, a partir de esto, se sustituye el aminoácido asparagina por aspartato en la posición 752, otorgándole así el potencial paralítico a la cepa viral (Balasuriya et al 2017). Según Johnstone et al (2016) las cepas neuropatógenas de VHE-1 tienen la capacidad de replicarse más eficientemente y alcanzar niveles 10 veces más altos de viremia asociada a leucocitos que las cepas no neuropatógenas de VHE-1.

SIGNOS CLÍNICOS

Ambos virus son capaces de producir la enfermedad del tracto respiratorio, su periodo de incubación varía de 1 a 10 días post-infección. Por lo general, el cuadro respiratorio afecta a los potrillos recién destetados y menores de un año (Goehring 2015), contrario de los animales adultos, que cursan la infección de forma subclínica habitualmente, debido que han desarrollado una adecuada respuesta inmune por infecciones repetidas, diseminando el virus sin presentar signos clínicos (Stasiak et al 2017).

La enfermedad afecta inicialmente las vías respiratorias superiores, generando un cuadro caracterizado por pirexia, depresión, anorexia, tos, secreción ocular y descarga nasal serosa (MacLachla y Dubovi 2017). También se desarrolla una adenopatía, de los ganglios submandibulares y retrofaríngeos principalmente (Laabassi et al 2017). Se describe que este cuadro es autolimitante generalmente y puede durar hasta 7 días (Johnstone et al 2016), sin embargo, cuando existen complicaciones por infecciones bacterianas secundarias, el virus puede extenderse hasta las vías respiratorias inferiores, produciendo signos como pirexia, secreción nasal mucopurulenta, taquipnea y disnea, desarrollando la comúnmente llamada "rinoneumonía" que puede ser mortal si no se trata oportunamente (Gilkerson et al 2015).

El VHE-1 puede causar abortos tardíos o partos prematuros con crías que mueren a los pocos días de nacidas, lo cual puede ocurrir desde las 2 semanas hasta los 4 meses de adquirida la infección (MacLachlan y Dubovi 2017). Normalmente el aborto se produce entre los 6 y 11 meses de gestación sin la manifestación de signos previos en la yegua, pudiendo presentarse de forma esporádica en yeguas aisladas o como brotes, más bien conocidos como "tormenta de abortos" (Vissani et al 2016). Las yeguas que han abortado por la infección de VHE-1 no presentan secuelas, por lo que sus siguientes gestaciones y pariciones pueden desarrollare con normalidad (Dunowska 2014).

La enfermedad neonatal es causada principalmente por VHE-1 y ocasionalmente por VHE-4, y es adquirida por el neonato previo a su nacimiento, durante el último periodo de gestación de la madre. Luego de la parición, los potrillos afectados pueden nacer vivos pero enfermos o sanos y enfermar dentro de 1 a 2 días posterior a su nacimiento. Esta enfermedad afecta el tracto respiratorio inferior, por lo que el potrillo va a manifestar signos clínicos como disnea y taquipnea inicialmente, adquiriendo rápidamente una neumonía viral primaria que es la que ocasiona la muerte del animal. No obstante, si el neonato sobrevive a los 2 ó 3 días, la enfermedad evoluciona a una bronconeumonía bacteriana secundaria, la cual se acompaña de una serie de complicaciones como depleción linfoide generalizada y una severa leucopenia, que finalmente igual llevan a la muerte al animal (MacLachlan y Dubovi 2017).

La enfermedad neurológica (MHE) es una enfermedad poco común y se presenta de forma esporádica, sin embargo, existen registros de brotes que han afectado hasta un 40% de la población equina de un recinto (Goehring 2015). Además, la aparición de casos con este cuadro ha ido en aumento en los últimos años, lo cual se explicaría por una mayor circulación de cepas neuropatógenas (Stasiak et al 2017).

El periodo de incubación de esta enfermedad es de 6 a 10 días habitualmente, pero también se ha descrito que puede ser tan corto como de 1 día (Gulati et al 2016), va a depender de la duración de la viremia, ya que se señala que luego de transcurrida ésta, se manifiestan los signos clínicos de la enfermedad neurológica (Dunowska 2014).

Las manifestaciones clínicas de la MHE aparecen sin signos respiratorios previos, y su presentación y gravedad va a depender de la localización de las lesiones neurológicas (Goehring 2015). Por lo general, el virus afecta la porción caudal de la médula espinal por lo que se manifiestan signos como debilidad de las extremidades posteriores, disfunción de la vejiga (produciendo incontinencia o retención urinaria) y pérdida sensorial del área perineal (McFadden et al 2015). En los casos más severos puede presentarse paresia o incluso tetraplejia (Maxwell 2017). También se puede desarrollar enfermedad vestibular que se caracteriza por depresión, decúbito, inclinación de la cabeza y ataxia, es la presentación menos frecuente (Pusterla y Soboll 2014).

Diagnóstico

a) Aislamiento viral: Este se considera el método de primera elección para el diagnóstico de la infección por VHE y debe ser seguido de inmunoensayos o ensayos PCR para confirmar la identidad del virus aislado (OIE 2015). Para el aislamiento del virus se utilizan muestras nasofaríngeas, sangre, tejidos fetales (hígado, pulmón, timo o bazo), tejidos placentarios o del SNC (Soboll y Landolt 2015). La técnica consiste en demostrar el efecto citopático típico en cultivos celulares susceptibles, los cuales son inoculados con el sobrenadante de la muestra, este efecto es detectable a los 5 a 7 días de cultivo. La desventaja de esta técnica es que se pueden producir falsos negativos debido a que se requiere la presencia del virus infeccioso, sin embargo, esta técnica tiene mayor sensibilidad que IF y ensayos PCR (Slater 2014)

b) Inmunofluorescencia directa: Método muy rápido, de sensibilidad y especificidad aceptables, acercándose bastante a la efectividad diagnóstica del aislamiento viral (OIE 2015). Esta prueba utiliza anticuerpos marcados con fluorocromos para detectar el antígeno viral en muestras de secreciones respiratorias, tejidos de fetos abortados (de pulmón, hígado, timo y bazo) o de placenta (Soboll y Landolt 2015).

c) Tinción con inmunoperoxidasa: Este método utiliza marcadores enzimáticos (como la peroxidasa) para detectar la presencia de antígenos de VHE en tejidos fijados de fetos abortados, placenta o de caballos con afección neurológica. Al igual que las técnicas de aislamiento viral e inmunofluorescencia directa, este método no puede discriminar entre infecciones por VHE-1 o VHE4, por lo que también debe combinarse con PCR u otra técnica para tipificar el virus. No obstante, es un método útil para el diagnóstico rápido del aborto inducido por VHE (OIE 2015).

d) Reacción en Cadena de Polimerasa (*PCR*): es una técnica rápida, sensible y no requiere la presencia de virus infeccioso en la muestra clínica (Gulati et al 2016). Para el análisis se requieren tejidos equinos post-mortem de neonatos, adultos o fetos abortados (de pulmón, hígado, bazo o timo), también sirven tejidos de glándula suprarrenal, placenta y frotis nasofaríngeos. Este método utiliza primeros específicos que permiten la detección de ácidos nucleicos del VHE-1 y VHE-4 y posteriormente determinar un diagnóstico diferenciado entre ambos virus (Balasuriya et al 2017).

e). Serología: Las pruebas serológicas consisten en el análisis de muestras pareadas de suero de animales afectados, se obtienen durante la fase aguda y de convalecencia de la enfermedad. Para diagnosticar una infección reciente se debe demostrar un aumento de por lo menos cuatro veces en el título de anticuerpos entre éstas muestras, por lo tanto, se determina un diagnóstico retrospectivo (Gulati et al 2016).

Entre las técnicas que existen actualmente para determinar la concentración sérica de anticuerpos contra el VHE-1 y VHE-4, están la pruebas de Fijación del Complemento (FC), las pruebas de Neutralización Viral (NV) y el Ensayo de Inmunoabsorbancia Ligado a Enzima (ELISA) (OIE 2015). Las pruebas de FC y NV miden concentraciones séricas de anticuerpos IgM e IgG respectivamente, lo cual es una desventaja ya que estos anticuerpos se generan contra epítomos comunes a ambos virus, por lo tanto, estas pruebas pueden confirmar la RNE pero no permiten detectar el virus específico causante de la enfermedad. Por el contrario, ELISA mide anticuerpos específicos de tipo, por lo que si permite diferenciar entre infecciones producidas por VHE-1 o VHE-4 (MacLachlan y Dubovi 2017).

f) Histopatología: Este examen se realiza a partir de cortes de tejidos de fetos abortados (hígado, pulmón, glándulas suprarrenales, y timo) y de cerebro y médula espinal en el caso de equinos con afección neurológica (OIE 2015). Los hallazgos que son compatibles con un diagnóstico de infección por VHE son los cuerpos de inclusión intranucleares eosinofílicos en el epitelio bronquiolar o en las células de la periferia de zonas de necrosis hepática en el caso de las muestras de fetos abortados (MacLachlan y Dubovi 2017); o vasculitis y trombosis degenerativa de los pequeños vasos sanguíneos de

la medula espinal y cerebro en el caso de las muestras provenientes de animales con neuropatía (Goehring 2015).

TRATAMIENTO

El tratamiento del cuadro respiratorio está enfocado a disminuir los signos clínicos de la enfermedad, para lograr esto se pueden administrar antiinflamatorios no esteroideos (AINES) como Fenilbutazona (en dosis de 4 mg/kg, vía endovenosa (EV) cada 24 horas) o Flunixin meglumine (en dosis de 1.1 mg/kg, vía intramuscular (IM) cada 12 a 24 horas) (Dunowska 2014). Cuando el cuadro evoluciona a una infección bacteriana secundaria se recomienda una terapia antibiótica de amplio espectro, por lo cual es bastante útil la administración de la solución Trimetoprim/Sulfa (en dosis de 30 mg/kg, vía oral (PO) cada 24 horas) durante 7 a 10 días (Soboll y Landolt 2015).

Los potrillos o neonatos que presentan grave disfunción respiratoria requieren oxigenoterapia, además, cuando se acompaña de una infección bacteriana secundaria se indica el tratamiento con antibióticos como Penicilina G procaínica (20.000 UI/kg, IM cada 12 horas) o Ceftiofur (2.2 mg/kg, IM cada 12 horas) (Slater 2014).

En los casos de mieloencefalitis se suele administrar Dimetil Sulfóxido (3 ml/kg, vía nasogástrica cada 24 horas) junto con la administración parenteral de un corticoide como Dexametasona (0.1 mg/kg, EV cada 24 horas) (Gulati et al 2016).

Situación del VHE-1 y VHE-4 en Chile

En Chile, la RNE se presentó por primera vez en un gran brote de abortos ocurridos entre 1969 y 1976 aproximadamente. Este produjo grandes pérdidas económicas en muchos criaderos del país. Solo unos pocos importaron vacunas desde Estados Unidos e implementaron las medidas de prevención recomendadas por la Sociedad de Criadores y sus asociados (Retamales, 1989).

A fines de 1974 se autorizó la importación de una vacuna preparada con virus vivo modificado con el objetivo de ser aplicada con carácter experimental, en un haras donde ya se había diagnosticado la RNE mediante hallazgos anatomopatológicos. A partir de los resultados obtenidos, Retamales (1989) concluye que la RNE se puede controlar con buenas prácticas de manejo y prevención, incluyendo la vacunación. Ese mismo año Planas (1974) realizó la prueba de Fijación del Complemento a partir de 104 muestras de sangre

provenientes de caballos Fina Sangre de Carrera del Club Hípico de Santiago del Hipódromo Chile y de 5 haras más. Los resultados de este trabajo arrojaron un 55% de positividad.

En 1976 se aisló el virus de la RNE en un 10% de 50 muestras de secreción nasal y ocular de equinos que presentaban cuadros respiratorios; y en un 50% de 2 muestras de fetos abortados entre el 7º y 11º mes de gestación. Dichas muestras pertenecían a equinos del Hipódromo Chile y de tres haras de la Zona Central del país (Riveros et al 1978). Ese mismo año, se presentó una epizootia de aborto equino en la Zona Central del país, desde el cual se tipificaron 9 aislados virales como VHE-1 (Berríos et al 1979). Durante el mismo año, se realizó un estudio de seroprevalencia en 183 sueros de hembras adultas provenientes de 10 haras de crianza de equinos Fina Sangre de Carrera, donde se detectó un 99,45% de positividad en los sueros estudiados.

En 1985, Berríos et al aislaron el VHE-1 en muestras de hígado y pulmón de fetos abortados, provenientes de un predio ubicado en Victoria (IX Región). Dicho predio tenía un total de 173 hembras preñadas, las cuales no estaban vacunadas contra la RNE, presentándose aborto en 87 de ellas. Aproximadamente 2 meses después del brote de abortos, se estudiaron 40 muestras séricas de hembras que habían abortado en el mismo predio, detectando 17 animales (42,5%) positivos al VHE-1. Este hallazgo constituyó el primer aislamiento del VHE-1 descrito en la zona sur de Chile, confirmando su diseminación desde la zona central del país.

En 2004 mediante la prueba de ID y PCR se analizaron 20 muestras nasofaríngeas de equinos con signología respiratoria, de las cuales 3 (15%) resultaron positivas a VHE-1.

En 2009 el SAG notifica a la OIE de 2 equinos afectados con RNE, de un total de 180 animales provenientes de la Región del Bío Bío (SAG n.d). Desde el 2012 al 2015, el SAG ha notificado a la OIE de 173 casos de equinos afectados con RNE, de un total de 4228 animales susceptibles. La mayor cantidad de casos notificados durante este periodo se dio en la zona central, mayoritariamente en la Región Metropolitana (SAG n.d).

Los últimos casos reportados por el SAG a la OIE, fueron en 2016, donde se informan de 2 equinos con RNE de un total de 120 animales (SAG n.d.).

PREVENCIÓN Y CONTROL

Una de las estrategias más importantes para prevenir y controlar las enfermedades causadas por VHE-1 y VHE-4 es estimular regularmente el sistema inmune de los animales, lo cual se logra mediante la vacunación (Davis 2015). A pesar de que se ha demostrado

que ninguna vacuna proporciona una protección total contra estos virus, se ha comprobado que si reducen la frecuencia y severidad de la enfermedad, disminuyendo la aparición de los casos de aborto por ejemplo (MacLachlan y Dubovi 2017), sin embargo, ninguna vacuna puede prevenir la aparición de la enfermedad neurológica por VHE-1 (Maxwell 2017).

La inmunidad humoral inducida por las vacunas es potente pero poco duradera, ya que generalmente persiste durante 2 a 4 meses, es por esto que se deben establecer protocolos de vacunación de forma permanente (Vissani et al 2016). Se recomienda iniciar la vacunación en los potrillos a la edad de 5 a 6 meses (post-destete), seguido de una segunda dosis 3 a 4 semanas después, y una tercera dosis 6 semanas después de la segunda, se recomienda revacunar cada 6 meses. En yeguas se recomienda vacunar a los 5, 7 y 9 meses de gestación, siempre con una vacuna con virus inactivado (Davis 2015).

Actualmente, en el país se comercializan vacunas preparadas con virus vivo modificado como Rhinomune® y Prevaccinol®; y vacunas inactivadas como Resequin® y Pneumoabort® (Berríos 2005). Las primeras contienen altas concentraciones del antígeno y protegen fundamentalmente contra la enfermedad respiratoria, en cambio, las segundas contienen concentraciones de antígeno mucho menores que las anteriores y protegen principalmente contra el aborto que produce el virus (Ma et al 2013).

Para prevenir la entrada de estos virus en un recinto, se recomienda aislar durante 28 días a todos los caballos nuevos que se quieran introducir al grupo previamente establecido, así también se debe exigir que estos estén debidamente vacunados contra la enfermedad (McLachlan y Dubovi 2017). Además se deben evitar los manejos que puedan generar estrés, con el fin de reducir la frecuencia de reactivación de virus latente en los animales (Balasuriya et al 2017).

Durante los brotes de la enfermedad, el factor de mayor relevancia es la posible transmisión ambiental del virus, sobre todo en las poblaciones de caballos que se mantienen en estrecho confinamiento (Pusterla y Soboll 2014), es por esto que una buena estrategia previo a la aparición de un brote, es subdividir lo mayor posible la población de caballos del recinto, intentando segregar los animales en grupos semejantes en edad y estado fisiológico (Slater 2014).

Ante la aparición de un caso sospechoso, el animal debe ser inmediatamente aislado del resto de la población y deben enviar las muestras clínicas pertinentes a un laboratorio lo antes posible. Cualquier caballo que haya estado en contacto con el sospechoso debe ser aislado y observar si presenta signos clínicos de la enfermedad (Gulati et al 2016).

Una vez confirmada la aparición de la enfermedad en un recinto, la Asociación Americana de Veterinarios Equinos recomienda que los caballos afectados queden en

cuarentena durante 28 días (Pusterla y Soboll 2014). Se considera necesario este periodo de tiempo debido a que los animales pueden excretar el virus hasta los 21 días post-infección (MacFadden et al 2015), y además, se describe que el virus puede persistir en el medio ambiente hasta 7 días en la mayoría de las condiciones (Slater 2014).

Durante y luego de la ocurrencia de los brotes, todas las descargas de los animales infectados deben ser eliminadas. Posteriormente se debe desinfectar con compuestos de tipo fenólicos o yodóforos todos los sitios, equipos e implementos que fueron contaminados con el virus (Goehring et al 2015).

MEDIDAS ADOPTADAS EN CHILE:

1.- Resolución Exenta N°3176/2015: Esta establece exigencias sanitarias para la internación de equinos en forma definitiva al país. En ella se exige que en el plantel de procedencia de los animales se haya mantenido un programa de control sanitario, debiendo ser respaldado con un certificado sanitario oficial donde se detallen todas las vacunaciones y tratamientos realizados, siendo fundamental que la última vacunación contra la RNE haya sido en un periodo máximo de 6 meses y mínimo de 30 días previo al embarque. Igualmente en el predio de procedencia, no se deben haber presentado signos clínicos de RNE durante los 90 días previos al embarque y tampoco deben haberse instaurado medidas de cuarentena durante los últimos 12 meses. Además se establece que los animales deben ser sometidos a un periodo de observación (bajo control oficial) durante 30 días previo al embarque, con el objetivo de verificar que no presenten signos de la enfermedad. Una vez en el país, los animales nuevamente deben ser sometidos a una cuarentena de internación de mínimo 10 días en la Estación Cuarentenaria Pecuaria del SAG hasta que reciban conforme la certificación zoosanitaria y los animales sigan sin manifestar signos clínicos (BCN 2015).

2.- Resolución Exenta N°8577/2013: Esta establece exigencias sanitarias para la internación de equinos en forma temporal (menos de 6 meses) al país para la participación en competencias o exhibiciones. Aquí se exige que los animales que fueron vacunados contra la RNE haya sido en un periodo máximo de 12 meses y mínimo de 30 días previo al embarque; y que los animales no vacunados hayan sido sometidos a una prueba de Seroneutralización con resultado menor o igual a 1:8. De igual forma, los animales deben venir amparados con un certificado sanitario oficial que acredite el cumplimiento de las exigencias sanitarias. Además los animales no deben presentar signos clínicos de RNE durante los 90 días previos al embarque. Una vez en el país, serán sometidos a una cuarentena de internación de mínimo 3 días (BCN 2013).

3.- Decreto Exento N°389/2014: Este establece la lista de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO) donde se encuentra incluida la RNE. En dicho decreto se exige que los propietarios de animales, Médicos Veterinarios y en general cualquier personal de trabajo que tenga contacto con equinos, deben denunciar al SAG los casos sospechosos de RNE (SAG 2015). Esto permite en primera instancia confirmar o desestimar las sospechas de la enfermedad, y en el caso de estar frente a un brote de RNE, permite contener y mitigar los impactos que se pudieran provocar, resguardando de este modo la situación sanitaria del país.

Por otro lado, la infección por VHE-1 específicamente, está incluida en la "Lista única de enfermedades de declaración obligatoria" de la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal), por lo tanto, es obligación del SAG notificar los casos confirmados con VHE-1 a esta entidad mundial. La denuncia de estos casos, además de permitir tomar las medidas sanitarias oportunas otorga datos actualizados referentes al estado sanitario de la enfermedad a nivel nacional e internacional (SAG 2015).

CONCLUSIONES

La presencia de Rinoneumonitis Equina puede significar importantes pérdidas económicas a consecuencia de tratamientos, asistencia veterinaria requerida y disminución en su rendimiento deportivo; también pérdida de animales a causa de los abortos, de enfermedad neonatal o por rinoneumonitis en potrillos, lo que afecta en mayor magnitud en brotes de esta patología en sistemas con gran densidad animal.

Ante la sospecha de una infección por VHE-1 o VHE-4, es fundamental seleccionar pruebas de diagnóstico rápidas, sensibles y específicas para poder implementar rápidamente las medidas de bioseguridad adecuadas y así evitar la propagación del virus.

La vacunación no previene la aparición de la RNE, sin embargo, sigue siendo el mayor componente de defensa contra la enfermedad ya que disminuye la frecuencia y gravedad de los casos. Es fundamental implementar y mantener protocolos de vacunación.

Referente a la situación actual de los VHE-1 y VHE-4 a nivel nacional, los datos indican que la RNE es enzoótica en la población de caballos del país.

La amplia distribución de la RNE en los caballos del país se atribuye a las deficientes medidas de prevención y control de la enfermedad, a la falta de rigurosos protocolos de vacunación e implementación de medidas de cuarentena. Además, la legislación del país permite el libre movimiento interno de caballos, lo cual también puede contribuir a la diseminación de los virus causantes de la RNE.

Pese a que existen diversos reportes que indican la presencia de RNE desde el año 1969 en Chile, se desconoce la incidencia y prevalencia de los casos de abortos, cuadros respiratorios y neurológicos a causa de la RNE en la población de caballos del país, por lo que no existe una situación epidemiológica real de la enfermedad, debido a la escasa notificación de casos sospechosos al SAG.

La capacidad de los herpesvirus para entrar en latencia en el organismo del huésped, y posteriormente reactivarse frente a situaciones adversas, son características que permiten la supervivencia y diseminación de los virus de la RNE en los equinos.

REFERENCIAS

- Capítulo 1 Balasuriya U, P Lee, Y Tsai, C Tsai, Y Shen, H Chang, A Skillman, H Wang, S Pronost, Y Zhang. 2017. Translation of a laboratory-validated equine herpesvirus-1 specific real-time PCR assay into an insulated isothermal polymerase chain reaction (iiPCR) assay for point-of-need diagnosis using POKKIT™ nucleic acid analyzer. *Journal of Virological Methods*, Volume 241, March 2017, Pp: 58 – 63.
- BCN, Biblioteca del Congreso Nacional. 2015. Resolución Exenta 3176. Establece exigencias sanitarias para la internación de equinos a Chile bajo el régimen de internación definitiva y doble hemisferio. Disponible en: <https://www.leychile.cl/N?i=1077218&f=2015-05-13&p=>
- Berríos P, V Viveros, A Phillips, N Cruz, M Luengo. 1979. Aislamiento del virus de la rinoneumonitis equina en cultivos celulares desde casos naturales de aborto. *Arch. Med. Vet*, 11, Pp: 109 - 112.
- Berríos P, R Maldonado, M Celedón, F Cortés. 1985. Rinoneumonitis equina. Aislamiento del virus herpes equino tipo 1 en un brote de aborto en la IX Región de Chile. *Arch. Med. Vet*, 17, Pp: 121 - 123.
- Berríos P. 2005. Actualización sobre enfermedades virales de los equinos. Monografías Electrónicas de Patología Veterinaria. 2005; 2(1), Pp: 34-59.

- Dunowska M. 2014. A review of equid herpesvirus 1 for the veterinary practitioner. Part B: pathogenesis and epidemiology. *New Zealand Veterinary Journal*, 62:4, Pp: 179 - 188.
- Gardiner D, D Lunn, L Goehring, Y Chiang, C Cook, N Osterrieder, P Mccue, F Del Piero, S Hussey, G Hussey. 2012. Strain impact on equine herpesvirus type 1 (EHV-1) abortion models: Viral loads in fetal and placental tissues and foals. *Vaccine* Volume 30, Issue 46, 12 October 2012, Pp: 6564 – 6572.
- Gilkerson J, K Bailey, A Diaz-Méndez, C Hartley. 2015. Update on viral diseases of the equine respiratory tract. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. Volume 31, Issue 1, April 2015, Pp 91 - 104.
- Goehring L. 2015. Equid Herpesvirus – Associated Myeloencephalopathy. *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine*. Pp: 387 - 390. Elsevier Inc, Saunders.
- Góngora A, J Parra, K Ciuoderis. 2014. Presencia de anticuerpos a los herpesvirus equino 1 y 4 en la Orinoquia Colombiana. *Revista Orinoquia*. ISSN: 0121 – 3709. Pp: 79 – 85.
- Gulati B, G Anagha, T Riyesh, S Kumar. 2016. Emergence of equine herpes virus 1 myeloencephalopathy: A brief review. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, December 2016, Volume 4, Pp: 133 – 138.
- Johnstone S, J Barsova, I Campos, A Frampton. 2016. Equine herpesvirus type 1 modulates inflammatory host immune response genes in equine endothelial cells. *Veterinary Microbiology* 192, Pp: 52 – 59.
- Laabassi F, E Hue, C Fortier, E Morilland, L Legrand, A Hans, S Pronost. 2017. Epidemiology and molecular detection of equine herpesviruses in western Algeria in 2011. *Veterinary Microbiology* 207, Pp: 205 – 209.
- Ma G, W Azab, N Osterrieder. 2013. Equine herpesviruses type 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4)- Masters of co-evolution and a constant threat to equids and beyond. *Veterinary Microbiology* 167 (2013), Pp: 123 – 134.
- MacLachlan N, E Dubovi. 2017. Herpevirales. *Fenner's Veterinary Virology*. Pp: 202 – 204. Elsevier Inc, Saunders.
- Maxwell L. 2017. Antiherpetic Drugs in Equine Medicine. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, Volume 33, Issue 1, April 2017, Pp: 99 – 125.
- McFadden A, D Hanlon, R McKenzie, I Gibson, I Bueno, D Pulford, D Orr, M Dunowska, W Stanislawek, R Spence, W McDonald, G Munro, IG Mayhew. 2015.

The first reported outbreak of equine herpesvirus myeloencephalopathy in New Zealand, *New Zealand Veterinary Journal*.

- Pusterla N, G Soboll. 2014. Equine Herpesvirus 1 Myeloencephalopathy. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, Volume 30, Issue 3, December 2014, Pp: 489 – 506.
- Retamales R. 1989. Reproducción, crianza, manejo de un haras F.S. de carrera. Ediciones Mar del Plata, Santiago, Chile.
- Riveros V, P Berríos, L Zurita, N Arata, H Gaona. 1978. Estudio de la etiología viral en afecciones del aparato respiratorio de equinos fina sangre de carrera. *Arch. Med. Vet.* 10, Pp: 136 - 140.
- Ruíz A, M Quezada, J Gomez-Villamandos, P Berríos, A Sierra. 1998. Aborto viral equino. Descripción anatomopatológica de dos casos ocurridos en la VIII Región. *Arch Med Vet*, 30, Pp: 161 - 168.
- Ruíz-Sáenz J, J Góez, S Urcuqui-Inchima, A Góngora, A López. 2008a. Evidencia serológica de la infección por Herpesvirus Equino tipos 1 y 4 en dos regiones de Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 2008, volumen 21, Pp: 251 - 258.
- Ruíz-Sáenz J, Y Góez, A López. 2008b. Detección de DNA de herpesvirus equino tipos 1 y 4 en mononucleares de sangre periférica y ganglio trigémino de equinos. Infección, latencia y una aproximación a la neuropatogénesis de la cepa circulante. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 2008, volumen 21, Pp: 372 - 386.
- SAG, Servicio Agrícola y Ganadero, Chile. n.d. Sanidad Animal. Disponible en: [http://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/sanidad-animal/107/publicaciones?field_tema_otros_documentos_tid=2180&field_tipo_de_publicacion_tid=247&title=Notificaci%C3%B3n+de+ausencia%2Fpresencia+de+enfermedades+de+la+lista+OIE&field_fecha_otros_value\[value\]\[year\]=&items_per_page=All](http://www.sag.gob.cl/ambitos-de-accion/sanidad-animal/107/publicaciones?field_tema_otros_documentos_tid=2180&field_tipo_de_publicacion_tid=247&title=Notificaci%C3%B3n+de+ausencia%2Fpresencia+de+enfermedades+de+la+lista+OIE&field_fecha_otros_value[value][year]=&items_per_page=All)
- Slater J. 2014. Equine Herpesviruses. *Equine Infectious Diseases*. Pp: 151 – 168. Elsevier Inc, Saunders.
- Soboll G, G Landolt. 2015. Equine Alphaherpesviruses. *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine*. Pp: 158 - 161. Elsevier Inc, Saunders.
- Stasiak K, M Dunowska, S Hills, J Rola. 2017. Genetic characterization of equid herpesvirus type 1 from cases of abortion in Poland. *Archives of Virology*, April 2017.

Slater J. 2014. Equine Herpesviruses. *Equine Infectious Diseases*. Pp: 151 – 168. Elsevier Inc, Saunders.

Vissani M, E Thiry, F Dal Pozzo, M Barrandeguy. 2016. Antiviral agents against equid alphaherpesviruses: Current status and perspectives. *The Veterinary Journal*, Volume 207, Pp: 38 – 44.