

Libros de **Cátedra**

Patogenicidad microbiana en Medicina Veterinaria

Volumen: Virología

Fabiana A. Moredo, Alejandra E. Larsen,
Nestor O. Stanchi (Coordinadores)

n
naturales

FACULTAD DE
CIENCIAS VETERINARIAS



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

PATOGENICIDAD MICROBIANA EN MEDICINA VETERINARIA

VOLUMEN: VIROLOGÍA

Fabiana A. Moredo
Alejandra E. Larsen
Nestor O. Stanchi
(Coordinadores)

Facultad de Ciencias Veterinarias



A nuestras familias

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a todos los colegas docentes de la Facultad de Ciencias Veterinarias y en especial a la Universidad Nacional de La Plata por darnos esta oportunidad.

Índice

VOLUMEN 2

Virología

Capítulo 1

Características generales de los virus

Cecilia M. Galosi, Nadia A. Fuentealba _____ 6

Capítulo 2

Arterivirus

Germán E. Metz y María M. Abeyá _____ 28

Capítulo 3

Herpesvirus

Cecilia M. Galosi, María E. Bravi, Mariela R. Scrochi _____ 37

Capítulo 4

Orthomixovirus

Guillermo H. Sguazza y María E. Bravi _____ 49

Capítulo 5

Paramixovirus

Marco A. Tizzano _____ 61

Capítulo 6

Parvovirus

Nadia A Fuentealba, María S. Serena _____ 71

Capítulo 7

Retrovirus

Carlos J. Panei, Viviana Cid de la Paz _____ 81

Capítulo 8

Rhabdovirus

Marcelo R. Pecoraro, Leandro Picotto _____ 92

Capítulo 9

Togavirus

María G. Echeverría, María Laura Susevich _____ 104

Capítulo 10

Virus que afectan a las abejas (*Apis mellifera*)

Francisco J. Reynaldi, Alejandra E. Larsen, Guillermo H. Sguazza _____ 113

CAPÍTULO 6

Parvovirus

Nadia A. Fuentealba, María S. Serena

Los miembros de la familia *Parvoviridae* infectan a una gran variedad de especies animales y son agentes causales de enfermedades de suma importancia en veterinaria. Afectan tanto a vertebrados como a invertebrados y todos sus miembros están filogenéticamente relacionados, ya que poseen propiedades biológicas en común como la resistencia a la desecación en el ambiente y el requerimiento, para poder replicarse, de células en fase S del ciclo celular.

La familia *Parvoviridae* se divide en dos subfamilias según la especificidad ligada al hospedador: *Parvovirinae* y *Densovirinae*, que afectan a vertebrados e invertebrados respectivamente. La subfamilia *Parvovirinae* se divide de acuerdo al rango de hospedador, patogénesis, signos clínicos y propiedades moleculares, en 8 géneros diferentes: *Amdoparvovirus*, *Aveparvovirus*, *Bocaparvovirus*, *Copiparvovirus*, *Dependoparvovirus*, *Erythroparvovirus*, *Protoparvovirus* y *Tetraparvovirus*. La subfamilia *Densovirinae* se divide en 5 géneros denominados: *Ambidensovirus*, *Iteradensovirus*, *Hepandensovirus*, *Penstyldensovirus* y *Brevidensovirus*. Este capítulo se referirá a aquellos géneros que afectan a vertebrados y que causan enfermedades de interés veterinario. En la Tabla 1 se citan los principales parvovirus que afectan a las especies domésticas, denominados según las reglas taxonómicas actuales (<http://ictvonline.org>).

Tabla 1. Algunos parvovirus de importancia en medicina veterinaria

Género	Especie	Virus	Signos Clínicos
<i>Protoparvovirus</i>	<i>Protoparvovirus carnívoro 1</i>	Parvovirus felino	Panleucopenia, enteritis e hipoplasia cerebelar.
		Parvovirus canino	Enteritis, miocarditis y linfopenia.
		Virus de la enteritis del Visón	Leucopenia y enteritis
		Parvovirus del pato	Hepatitis, miocarditis y miositis.
<i>Protoparvovirus Ungulado 1</i>		Parvovirus porcino Kresse Parvovirus porcino NADL-2	Nacidos muertos, momias, abortos, muerte neonatal, infertilidad.

Características estructurales

Los parvovirus son los virus más pequeños que se describieron, con un tamaño que ronda entre 18 y 25 nm. El genoma viral es de ADN monocatenario lineal, de aproximadamente 4,5-5,5 kb y generalmente de polaridad negativa. Contiene dos marcos abiertos de lectura (ORFs) que codifican para dos proteínas de la cápside denominadas VP1 y VP2, y para dos proteínas no estructurales denominadas NS1 y NS2. La cápside es de simetría icosaédrica, presenta protuberancias superficiales con un poro central en cada uno de los vértices del icosaedro (Figura 1) y está compuesta por aproximadamente 90 % de VP2 y sólo 10 % de VP1. En algunos parvovirus, se encuentra una tercera proteína estructural denominada VP3. Esta estructura de la cápside y la ausencia de envoltura hacen que los parvovirus sean altamente resistentes a las condiciones del medio ambiente, cambios de temperatura, pH y desinfectantes. Algunos miembros de esta familia son capaces de aglutinar eritrocitos de diferentes especies de mamíferos y aves, propiedad que es aprovechada para el diagnóstico.

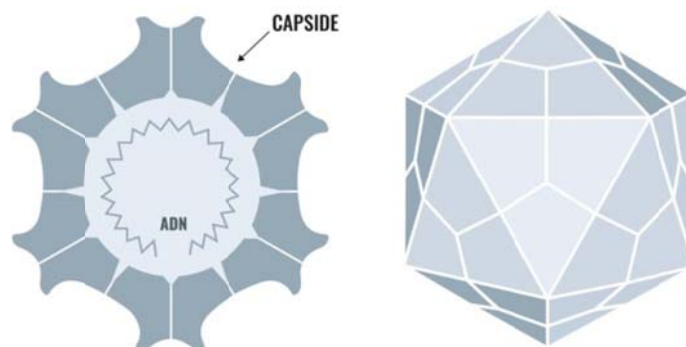


Figura 1. Representación esquemática de un parvovirus (G. Fuentealba 2016)

Replicación viral

La infección viral se inicia con la unión del virus a los receptores celulares ubicados en la superficie de las células del hospedador y penetran por el mecanismo de endocitosis mediado por receptores. Las partículas virales se mantienen dentro de endosomas en distintos estadios (endosoma temprano y endosoma tardío) y posteriormente se transforman en lisosoma. La proteína VP1 posee actividad de fosfolipasa en su extremo N-terminal, la cual modifica la membrana del lisosoma facilitando la salida de las partículas virales al citosol. En algunos casos, puede ocurrir que las cápsides libres en el citoplasma sean conjugadas con ubiquitina y degradadas por el proteosoma de la célula hospedadora. Si esto no ocurre, la partícula viral se asocia a los microtúbulos y es transportada hacia el poro nuclear, por donde ingresa al núcleo y se produce la replicación propiamente dicha. Debido a que los parvovirus poseen un genoma pequeño y una limitada capacidad de codificación, requieren células en fase S del ciclo celular, que le aporten las enzimas necesarias para la replicación de su propio ADN.

El mecanismo de replicación es bastante complejo y se lo describe como “circulo rodante” (*rolling-hairpin replication*). El genoma viral posee secuencias palindrómicas terminales, lo que permite que se formen estructuras de doble hebra en los extremos y a partir de uno de ellos la ADN polimerasa celular genera un ADN de doble cadena. Dicho ADN, se utiliza como molde para la transcripción de los ARNm y para la replicación del ADN. Posteriormente, el ARNm sufre el mecanismo de *splicing* y se traduce en cuatro proteínas principales y en pequeñas proteínas adicionales. Dentro de las proteínas principales se encuentran las no estructurales, como NS1, que juega un rol importante en la regulación de la replicación, y NS2 que participa en el ensamblaje del virus en la célula hospedadora y en el transporte nuclear. Las proteínas estructurales forman las procápsides que se ensamblan con una copia del genoma del virus, constituyéndose así las partículas virales maduras.

Patogenia

La característica patogénica de los parvovirus relacionada con el requerimiento de células en fase S del ciclo celular para llevar a cabo su replicación, hace que, los fetos sean potencialmente susceptibles a la infección por estos virus ya que las células se encuentran en división activa. La patogenia de la enfermedad depende de la cepa del virus, de la edad del animal y de la constitución genética del hospedador. Cuando se ven afectados fetos en desarrollo, donde normalmente ocurre la organogénesis con división celular, el virus produce un daño tisular generalizado que se caracteriza por diferentes defectos en el desarrollo posterior. En animales recién nacidos, la replicación del virus está restringida a las células que se encuentran en constante división tales como precursores hematopoyéticos, linfocitos y células progenitoras de la mucosa intestinal. La replicación es generalmente lítica y la enfermedad se manifiesta de acuerdo al daño de los tejidos afectados.

La ruta natural de infección puede variar dependiendo del virus, pero en general se produce por vía aérea, venérea, transplacentaria y fecal-oral. En especies en las cuales la enteritis es una consecuencia común de la infección por parvovirus, son excretadas grandes cantidades de partículas virales en las heces, lo que resulta una manera muy eficiente de transmisión. Un ejemplo de ello es el Parvovirus canino, el cual es altamente contagioso, muy estable en el medio ambiente y la mayoría de las infecciones se deben a la exposición de perros susceptibles a heces contaminadas. El virus reconoce como tejidos blanco para su replicación a las criptas intestinales y los órganos linfoides, pero puede propagarse a todos los tejidos, incluso al cerebro. Luego de la penetración a través de la ruta oro-nasal, el virus replica en el tejido linfóideo gastrointestinal y es diseminado por los leucocitos infectados al epitelio germinal de las criptas del intestino delgado, causando diarrea sanguinolenta por la destrucción de la mucosa. Los signos clínicos se presentan luego de un periodo de incubación de 3-7 días.

En el caso del parvovirus felino, el contagio se produce por contacto directo con gatos infectados o a través de fómites, complementariamente, pulgas y humanos pueden actuar como vectores mecánicos. El virus se elimina por heces, vómito, orina y saliva.

Otro virus de importancia es el parvovirus porcino, endémico en la mayoría de los países. Replica fácilmente en cerdos susceptibles y sólo se observan signos clínicos asociados a fallas reproductivas en hembras preñadas. El virus se mantiene viable en heces y en otras secreciones de animales infectados, como así también en corrales, ropa o instrumentos de los operadores, siendo esto una nueva fuente de infección para otros animales. Asimismo, se reportó la transmisión por vía venérea pudiéndose identificar el virus en el semen de cerdos infectados. El virus es capaz de replicar aún en animales vacunados y tiene la capacidad de llegar a los fetos a través de células del sistema inmune como macrófagos o linfocitos. Debido a la composición histológica de la placenta epitelio-corial de la cerda no es posible el pasaje de anticuerpos maternos que puedan proteger al feto. Asimismo, ya que las células de la placenta no son susceptibles al virus, se descarta la posibilidad de que atraviese la misma mediante una replicación progresiva.

Luego de la infección materna, el virus demora aproximadamente 15 días para llegar al feto y la gravedad de los síntomas producidos depende del momento de gestación en el que se produce la infección.

Respuesta inmune

El sistema inmune innato proporciona el mecanismo de defensa inmediato e inespecífico contra la infección viral. Se produce el reconocimiento de los antígenos a través de los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) presentes en las células ubicadas en la puerta de entrada del virus y se induce la transcripción de genes relacionados con la respuesta antiviral. Uno de los mecanismos más importantes es el sistema del interferón tipo I (IFN), donde los IFN- α e IFN- β juegan un papel crítico en la modulación de la respuesta inmune

adaptativa. Por otro lado, las células "*natural killer*" (NK) participan en la activación de la respuesta humoral antiviral, mediada principalmente por la síntesis de INF gamma.

Los virus desarrollaron una amplia variedad de mecanismos para superar la inmunidad innata del hospedador y así evitar o retardar la activación completa de la inmunidad adaptativa.

La inmunidad innata no es totalmente suprimida por los mecanismos de evasión del virus por lo tanto se desencadena una respuesta adaptativa tanto humoral como celular. Los anticuerpos se detectan a partir de la 2-3 semanas luego de la infección, aunque en algunos casos pueden detectarse rápidamente a los 3-5 días. Las inmunoglobulinas detectadas son de isotipos IgM, IgA e IgG. La VP2 es la proteína predominante de la cápside y contiene la región inmunodominante involucrada en el reconocimiento por anticuerpos neutralizantes.

Algunos parvovirus causan infecciones que sólo duran unos pocos días, mientras otros pueden persistir por períodos prolongados frente a una robusta respuesta inmune del hospedador. Aún no se sabe con precisión cuáles son los mecanismos exactos que permite dicha situación, debido a que la mayoría de los virus parecen ser susceptibles al mecanismo de neutralización mediada por anticuerpo. Por ejemplo, en el caso del Virus de la enfermedad Aleutiana del visón, se determinó que replica persistentemente en algunos animales debido a que los fosfolípidos asociados a la cápside reducen la unión de los anticuerpos o la neutralización por parte de los anticuerpos neutralizante. La enfermedad se desarrolla como resultado de un alto nivel de complejos antígeno-anticuerpo circulando, que luego se depositan en los tejidos generando una reacción de hipersensibilidad de tipo III que desencadena la destrucción del tejido afectado.

Aún hay pocos estudios referidos a cómo actúa la inmunidad celular pero se ha demostrado en trabajos experimentales con parvovirus de ratas, la inducción de una respuesta inmune específica contra el virus, caracterizada por un alto nivel de IgG a los 14 días post-infección como así también la inducción de una respuesta específica proliferativa de VP2 que incluye una alta producción de IFN- γ . Estudios similares se obtuvieron cuando se analizó la respuesta inmune durante la infección con parvovirus humano B19, donde se determinó una respuesta proliferativa Th1 con alta producción de IFN- γ dirigida contra las proteínas VP1 y VP2.

En general, la presencia de un alto título de anticuerpos luego de la infección natural o de la vacunación con vacunas vivas modificadas se correlaciona con la protección contra la re-infección y la inmunidad adquirida.

Tanto para el Parvovirus canino, como para el felino, se utilizan vacunas a virus atenuado que proporciona una protección completa y de larga duración en animales seronegativos. La principal causa de fracaso de la vacunación es la interferencia por neutralización de los anticuerpos maternos, que se transmiten de las madres al cachorro a través del calostro. Dichos anticuerpos disminuyen a un ritmo regular y cuando caen por debajo de un determinado nivel, que generalmente se da entre las semanas 7 y 12 de edad, los animales se vuelven susceptibles a la infección con el virus y en ese momento deberían ser administradas las vacunas. La duración de la inmunidad pasiva está relacionada con el nivel de inmunidad de la madre, como también de la eficiencia de la transferencia a las crías. El grupo de guía de

vacunación de la Asociación Mundial Veterinaria de Pequeños Animales recomienda retrasar el primer ciclo de vacunación a las 14-16 semanas de edad para asegurar la protección de los cachorros. En el caso del parvovirus canino hay preocupación con respecto a la completa eficacia de las vacunas contra las variantes antigénicas del virus.

En el caso del Parvovirus porcino la inmunidad pasiva se da por el pasaje de anticuerpos maternos a través del calostro consumido en las primeras horas de vida y van disminuyendo hasta no ser detectados a las 20 semanas de vida. En algunos casos, pueden durar hasta 9 meses e interferir con la respuesta ante la vacunación. La inmunidad activa, ya sea por infección natural o por vacunación induce la producción de anticuerpos detectables a partir de los 6 días post-infección mediante pruebas inmunoserológicas convencionales y permanecen entre 4 meses y 4 años. Los anticuerpos son capaces de prevenir la enfermedad clínica pero no así la infección viral. En relación a la respuesta inmune celular, se describió la generación y proliferación de LT CD4 y CD8 citotóxicos específicos contra el virus. Las vacunas disponibles son a virus inactivado, las cuales deben ser aplicadas cada 4-6 meses en las hembras para mantener una buena inmunidad protectora. También existen vacunas a virus vivo modificado y recombinantes, que están compuestas por la proteína VP2 expresada en el sistema baculoviral.

Parvovirus felino o Virus de la Panleucopenia Felina

El Parvovirus felino se encuentra mundialmente distribuido y probablemente todos los miembros de la familia *Felidae* son susceptibles a la infección. Algunos miembros de otras familias como el mapache, el visón y el coatí también son susceptibles. Es más frecuente en gatos infectados al momento del destete, cuando disminuye la concentración de los anticuerpos maternos, aunque puede afectar a animales de todas las edades. El período de incubación es de aproximadamente 5 días (rango 2-10 días) y en el inicio de los signos clínicos existe una profunda leucopenia. El pronóstico es grave si el recuento de glóbulos blancos es inferior a 1000 células por ml de sangre. Los signos clínicos incluyen fiebre (mayor de 40 °C), que puede persistir durante 24 horas o más, lasitud, inapetencia, pelaje áspero, vómitos y diarrea abundante, persistente y con frecuencia sanguinolenta. La enfermedad es de alta mortalidad.

Los gatos infectados entre las dos semanas antes del parto y las dos semanas después del nacimiento pueden tener un desarrollo anormal del cerebelo (síndrome hipoplasia/atrofia cerebelosa) manifestando ataxia cuando se convierten en ambulatorios (síndrome del gato tambaleante).

Parvovirus Canino

La parvovirus canina fue descrita por primera vez como una nueva enfermedad en 1978 y actualmente es endémica en todo el mundo. Todos los miembros de la familia *Canidae* (perros, lobos, zorros, coyotes) son susceptibles a la infección. Las características epidemiológicas son similares a las del parvovirus felino. Dependiendo de la edad del cachorro al ser infectado, se pueden observar dos cuadros clínicos de la enfermedad causada por este virus. La severa es la más frecuente en los cachorros de entre 6 semanas y 6 meses de edad y generalmente es mortal, sobre todo en aquellos animales que carecen de anticuerpos transmitidos por la madre. Los signos clínicos se presentan luego de un periodo de incubación de 3-7 días y consisten en anorexia, letargo, linfopenia aguda, vómitos y hemorragia intestinal con diarrea severa. La infección de animales seronegativos en la primera semana de vida, también puede causar el síndrome de miocarditis, que se manifiesta como insuficiencia cardíaca aguda y muerte súbita. Los cachorros que sobreviven pueden desarrollar cardiomiopatía a las 4-8 semanas de edad. Este síndrome era relativamente común, pero actualmente es poco frecuente ya que la inmunización generalizada en las hembras reproductoras protege a la mayoría de los cachorros durante el período de mayor susceptibilidad.

Parvovirus Porcino

La infección ocasionada por el Parvovirus porcino (PPV por su sigla en inglés) causa pérdidas reproductivas en cerdas caracterizada por muerte fetal intrauterina, momificación, muerte embrionaria e infertilidad. Las cerdas afectadas no suelen mostrar signos clínicos y la transmisión del virus a los fetos se produce sólo si son seronegativas. El PPV es probablemente la causa más importante de trastornos reproductivos en cerdos en todo el mundo. Recientemente, se identificaron nuevos parvovirus que afectan a cerdos como son el Parvovirus porcino 2, el Hokovirus porcino y el Parvovirus porcino 4. El análisis de secuencia de los nuevos aislamientos sugiere una activa evolución del PPV, con cambios específicamente a nivel de la proteína de la cápside VP1 que influye en las propiedades antigénicas del virión.

Si bien las fallas reproductivas son el principal signo clínico causado por el PPV, también se reportaron diarreas y lesiones vesiculares en piel de animales adultos. Cuando el virus llega al feto, alrededor del día 35 de gestación, se produce la muerte embrionaria y reabsorción fetal. Luego de esta etapa, donde el feto completó su organogénesis, la infección con PPV resulta en muerte fetal manifestada como momificación. Alrededor del día 70, el feto ya es capaz de responder mediante su sistema inmune eliminando el virus, mientras que luego de este periodo, la infección fetal se hace subclínica y los animales nacen con anticuerpos contra PPV.

La prevención y control de la enfermedad se centra en mantener las hembras de la granja con una elevada inmunidad frente al PPV. Lo ideal es lograr un buen estado inmunitario de los animales mediante la utilización de vacunas contra el virus.

Diagnóstico

El diagnóstico generalmente es clínico, teniendo en cuenta los signos característicos y los valores hematológicos, pero la confirmación de la etiología se realiza por medio de pruebas confirmatorias. Las pruebas habituales incluyen:

- para detección de antígenos en tejido y/o líquidos corporales: aislamiento viral, inmunofluorescencia (IF), ensayo de hemaglutinación (HA) y ELISA de captura.
- para detección de ADN viral en materia fecal y/o tejidos: reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- para diagnóstico serológico: inhibición de la hemaglutinación (HI), ELISA o inmunofluorescencia indirecta (IFI).

El aislamiento viral para parvovirus canino se realiza en células de líneas caninas y felinas. A las 12-24 horas post-infección se detecta alta concentración de antígenos virales en el núcleo celular por IFI o pruebas inmunoenzimáticas sobre células infectadas. El virus produce cuerpos de inclusión intranucleares y se libera de la célula produciendo un efecto citopático lítico.

El aislamiento viral del parvovirus porcino se realiza a partir de muestras de tejido fetal, en células de línea de origen porcino o en cultivos primarios de células de cerdo. El efecto citopático que se observa es la forma redondeada que adopta la célula, picnosis y lisis, generando cuerpos de inclusión.

Referencias

- Astell CR. Parvoviruses (Parvoviridae), General Features and Molecular Biology. En: Granoff A, Webster RG, 1999. Encyclopedia of Virology, 2nd edition. California, Academic Press, pp. 1151-59.
- Ball-Goodrich LJ, Paturzo FX, Johnson EA, Steger K, Jacoby RO. Immune Responses to the Major Capsid Protein during Parvovirus Infection of Rats. *J Virol.* 2002; 76(19):10044-9.
- Carballal G, Oubiña JR. Parvovirus. En: *Virología Médica*, 3^{ra} edición, 1998. El Ateneo, Buenos Aires (Argentina), pp. 439-44.
- Carter JB, Saunders VA. Parvoviruses (and other ssDNA viruses). En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, 2007. *Virology: Principles and Applications*, 5th edition. West Sussex, England; John Wiley & Sons Ltd, pp. 137-46.
- Cotmore SF, Agbandje-McKenna M, Chiorini JA, Mukha DV, Pintel DJ, Qiu J, Soderlund-Venermo M, Tattersall P, Tijssen P, Gatherer D, Davison AJ. The family Parvoviridae. *ArchVirol.* 2014; 159(5):1239-47.
- MacLachlan NJ, Dubovi EJ. Parvoviridae. En: Fenner's *Veterinary Virology*, 4th ed., 2011. New York, USA, Elsevier, pp.225-35.
- Decaro N, Buonavoglia C. Canine parvovirus - A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet Microbiol.* 2012; 155: 1-12.
- Parrish CR. Parvoviruses (Parvoviridae), Cats, Dogs and Mink. En: Granoff A, Webster RG, 1999. Encyclopedia of Virology, 2nd edition, California; Academic Press, pp. 1159-67.
- Streck A, Wageck Canal C, Truyen U. Molecular epidemiology and evolution of porcine parvoviruses. *Infect Genet Evol.* 2015; 36:300-6.
- Stuetzer B, Hartmann K. Feline parvovirus infection and associated diseases. *Vet J.* 2014; 201(2):150-5.
- Truyen U, Streck AF. Porcine Parvovirus. En: Zimmerman J, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, 2012. *Diseases of swine*, 10th edition. Iowa; Wiley-Blackwell, pp.447-55
- Tu M, Liu F, Chen S, Wang M, Cheng A. Role of capsid proteins in parvoviruses infection. *Virology.* 2015; 12:114.
- Uwe Truyen, Colin R. Parrish. Feline panleukopenia virus: Its interesting evolution and current problems in immunoprophylaxis against a serious pathogen. *Vet Microbiol.* 2013; 165(1-2):29-32.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de La Plata, al CONICET por la formación brindada y el apoyo recibido. Al Sr. Gustavo Fuentealba por el diseño de la imagen.