



Análisis de la evolución de la arteritis viral equina (AVE) en Haras Llavaneras

El presente informe sintetiza las actuaciones realizadas por el SENASA hasta la fecha -26 de abril- con motivo de la aparición de serología positiva en AVE que se dio en este establecimiento en enero de 2016.

En 2015 se realizó un trabajo de vigilancia activa de arteritis viral equina (AVE), mediante un muestreo enfocado en equinos machos enteros mayores de 2 años.

Dentro de los resultados obtenidos se detectaron 34 equinos con serología positiva a AVE, de los cuales 33 correspondían a animales con antecedentes de vacunación, tanto en Argentina (31 equinos), como en el exterior "importados" (2 equinos). Un equino no vacunado, y nacido y criado en el país resultó positivo; se encontraba ubicado en el establecimiento "Haras Llavaneras" en la localidad de Chascomús, provincia de Buenos Aires.

Análisis de situación

Teniendo en cuenta los datos disponibles hasta la fecha y según el informe parcial -al 26 de abril de 2016- del Programa de enfermedades de los equinos - DEyAR, se podría inferir que, a pesar del hallazgo de una alta prevalencia serológica en el Haras Llavaneras, no se encontraron hasta el momento evidencias de difusión de la enfermedad en los establecimientos identificados como nexos epidemiológicos (egresos).

Del estudio realizado se ha encontrado que todos los machos enteros (los egresados en el haras y los identificados en los muestreos complementarios), resultaron negativos al diagnóstico de AVE.

Se concluye también la ausencia de actividad viral en Llavaneras luego de haber realizado los muestreos pareados correspondientes.

Respecto a la utilización de material reproductivo en el establecimiento es importante destacar que el semen empleado no presentaría riesgo para AVE, según los datos aportados y analizados.

Por último y si bien se recabaron datos acerca de la ubicación real de los equinos egresados de este establecimiento durante abril y diciembre de 2015, es relevante indicar que el 29% no pudieron ser localizados.

Esto evidencia claramente la problemática actual, basada en la dificultad de la trazabilidad de los movimientos equinos, perjudicando el rastreo, monitoreo, seguimiento

epidemiológico y la gestión sanitaria ante la aparición de diferentes eventos sanitarios.

Investigación epidemiológica

A partir de los resultados indicados, el Programa de Equinos y la Dirección de Epidemiología y Análisis de Riesgo del SENASA -autor del presente informe- realizaron una visita al establecimiento Llavaneras para inspeccionar las instalaciones y recabar información para establecer la posible cronología, origen y consecuencias del brote.

De los datos recabados no fue posible establecer un origen temporal claro; la única sintomatología compatible reconocida fueron tres casos de abortos sin diagnóstico en la temporada 2014. Asimismo, se pudo establecer que el equino Churchill realizó servicios en el establecimiento en cuestión en las temporadas 2013 - 2014 y 2014 - 2015 a una yegua de trabajo que en la actualidad se encuentra con serología positiva a AVE. A fin de identificar posibles fuentes de infección, se analizaron los ingresos y el material reproductivo utilizados en el último tiempo.

Movimientos de ingreso

Se evaluaron los movimientos de ingreso al haras, de los cuales surge que los únicos registrados fueron 17 yeguas que procedían de Mar del Plata, en el periodo 2013-2014. Los resultados de serología indican que 10 de ellas son seropositivas actualmente, pero no presentaban registro de análisis de AVE al momento del ingreso.

Reproductores utilizados en Llavaneras: se identificaron 18 padrillos utilizados en el haras durante el periodo comprendido entre los años 2012-2015, y se recabaron los siguientes datos:

- Fecha y resultado de serologías.
- Aislamiento en semen.
- Fecha de los servicios (Temporadas: 2012/2013 - 2013/2014 - 2014/2015).
- Fecha y utilización de pajuelas.
- Localización actual de los reproductores.

Los equinos son: Epir; Balou de Rouet; Cassano; Cruseo; Chester; Conthargos; Castor Cooper; Carpediem;

Situación de la Arteritis Viral Equina en Argentina

Por la Dra. María Gabriela Echeverría y el Dr. Germán Ernesto Metz.

Una de las características más importantes de la AVE es que entre un 30 y 60% de los padrillos infectados pueden transformarse en portadores crónicos y, de esa manera, diseminar el virus mediante el servicio natural o la inseminación artificial.

Durante el año 1953 en la costa este de los Estados Unidos en la ciudad de Bucyrus, Ohio, se desató una epizootia en equinos que presentaron signología respiratoria, pero las lesiones histopatológicas no eran compatibles con las ocasionadas por herpesvirus. Este nuevo agente se denominó virus de Arteritis Equina (VAE) debido a la vasculitis de las pequeñas arterias halladas en los equinos infectados.

Desde ese año se han informado varios reportes de la enfermedad de Arteritis Viral Equina (AVE) en todo el mundo principalmente en Estados Unidos y en algunos países europeos como Suiza, Inglaterra, Austria, Francia, entre otros y Argentina. Por otro lado, Japón e Islandia no han reportado presencia de la enfermedad en sus territorios.

El VAE es un virus con genoma ARN de simple cadena perteneciente a la familia *Arteriviridae* que infecta principalmente a los caballos aunque puede afectar a todos los miembros de la familia *Equidae*. Debido a la composición lipoproteica de su envoltura, los arterivirus son sensibles a solventes orgánicos como el éter, cloroformo, y a detergentes no iónicos. Dicha envoltura viral está conformada por varias proteínas de las cuales las proteínas M y GP5 se asocian para formar un dímero y son las de mayor importancia para la infectividad y la expresión de determinantes antigénicos de la partícula viral madura.

En los animales susceptibles, la puerta de entrada del virus es respiratoria o venérea y su diseminación se produce a través de los leucocitos sanguíneos. Luego del tercer día posinfección todos los tejidos y fluidos contienen virus, alcanzando su máxima concentración en los ganglios linfáticos bronquiales y mesentéricos, pulmón, bazo, hígado, riñones y glándulas adrenales. El virus se detecta en sangre entre el día 2° y 7-9° posinfección, desapareciendo abruptamente coincidiendo con la aparición de anticuerpos neutralizantes.

Los signos clínicos asociados a la infección con el VAE varían ampliamente entre los equinos infectados, pudiendo observarse desde signos graves hasta signos inaparentes de la enfermedad. La gran variedad de signos manifestados depende de varios factores tales como condición física del equino, edad, dosis, vía de infección, cepa del virus y condiciones ambientales. Si bien se conoce un solo serotipo, las cepas de campo difieren en su virulencia y su fenotipo neutralizante.

Los signos clínicos comienzan 3-14 días luego de la exposición al virus y, en general, persisten por cinco a nueve días.

Los signos más frecuentes son: fiebre que oscila entre los 39 a 41 °C, anorexia, epifora, edema palpebral, conjuntivitis, flujo nasal seroso, congestión y hemorragias petequiales y/o equimóticas de la mucosa nasal, inflamación catarral de las mucosas del tracto respiratorio y edema abdominal y de los miembros. En algunos casos se observa queratitis que se manifiesta por opalescencia blanquecina-azulada de la córnea, junto con edema palpebral. En la mayoría de los casos se observa disnea que aumenta con el ejercicio. Junto con el cuadro febril se observa disminución del sensorio, apatía e indiferencia. Hay debilidad muscular generalizada e incoordinación cerca del fin del período febril. Además de la anorexia de aparición variable, pueden presentarse cólicos y diarreas. La recuperación en los casos agudos ocurre entre los 8 y 12 días en la mayoría de los casos, pudiendo los edemas persistir por unos días más.

En general los animales se recuperan sin complicaciones posteriores, sin embargo las mayores pérdidas son producidas por abortos. La tasa de abortos varía entre el 10% y el 70% y pueden ocurrir entre el tercer y décimo mes de gestación, sin mostrar signos clínicos previos, como resultado de la vasculitis que produce compresión de vasos y disminución del flujo sanguíneo hacia el feto y necrosis del miometrio que conduce al desprendimiento de la placenta y muerte fetal. Los potrillos nacidos de madres seropositivas adquieren anticuerpos neutralizantes a través del calostro. Estos anticuerpos pueden persistir por unos meses. Sin embargo, en potrillos neonatos o infectados congénitamente el virus puede ocasionar neumonía intersticial fulminante o síndrome neuromentérico con enteritis fibrinonecrotica, en ambos casos con desenlace fatal.

Una de las características más importantes de la enfermedad es que entre un 10-70 % de los padrillos infectados pueden permanecer como portadores crónicos y de esta manera diseminar el virus mediante el servicio natural o la inseminación artificial. El virus infecta el aparato genital de los machos y persiste en vesículas seminales, próstata, glándulas bulbouretrales y principalmente en ampollas del conducto deferente y se elimina por líquido seminal. La persistencia viral es dependiente de la testosterona y de esta manera los machos excretan el virus en semen por períodos variables de tiempo, aun en presencia de altos títulos de anticuerpos neutralizantes, lo que indica que la inmunidad

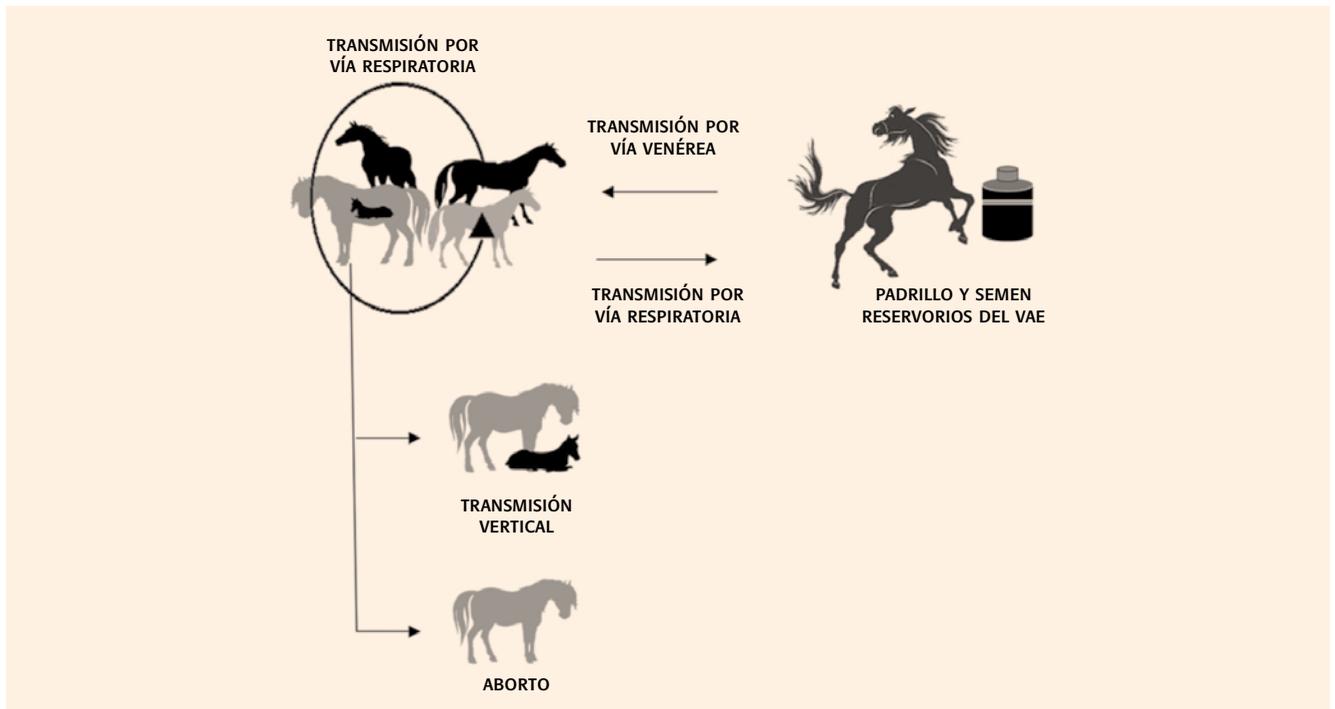


Figura 1. Mecanismos de transmisión de la Arteritis Viral Equina

humoral per se no previene la replicación viral en el aparato genital masculino.

Durante la fase aguda de la enfermedad el contagio se produce por vía respiratoria principalmente por aerosolización de secreciones respiratorias de animales infectados, y venérea a través de semen infectado. Otras secreciones genitales de la hembra, orina, o membranas o tejidos fetales o fomites son otras formas de transmisión. Durante la fase crónica el contagio ocurre solamente por vía venérea. Entre un 85 a 100 % de las yeguas servidas por padrillos portadores pueden infectarse, desarrollando o no enfermedad respiratoria aunque no presentan problemas posteriores de fertilidad y no se transforman en portadoras crónicas. Si las hembras se infectan durante la gestación avanzada, el virus puede pasar al feto y estos pueden nacer débiles o normales, o manifestar síndrome neuromentérico poco después de nacer, que puede ser letal (Figura 1).

Los padrillos portadores asintomáticos son los principales reservorios de VAE y los responsables de generar heterogeneidad de cepas. Durante los brotes de AVE emergen variantes virales de las cuales solo algunas son capaces de transmitirse por aerosoles a otros equinos. Esto se debe principalmente a que en el curso de la infección persistente ocurre una significativa variación genética, del tipo de sustituciones aminoacídicas no sinónimas en regiones variables de la proteína GP5.

Existen 2 tipos de vacunas comerciales desarrolladas ambas de manera tradicional: a virus vivo modificado que se utiliza en Estados Unidos y a virus inactivado (en Europa y Japón). Si bien las primeras protegen de la infección clínica y otorgan mayor duración en la inmunidad, no previenen la reinfección. Ambos tipos de vacunas previenen a los machos de transformarse en portadores crónicos y a las hembras preñadas del aborto. Si bien hoy en día se discuten y comparan las

ventajas y desventajas de ambos tipos de vacunas, en nuestro país solo se utilizó la vacunación luego del brote del 2010, que no alcanzó para inmunizar a toda la población. Como desventaja de ambas es que no permiten la discriminación entre animales vacunados de aquellos infectados naturalmente.

Como otras enfermedades de origen viral presentan un cuadro clínico similar al descrito, es imprescindible la confirmación del laboratorio. El diagnóstico se realiza, en casos de enfermedad respiratoria, remitiendo al laboratorio, hisopados nasales, nasofaríngeos y conjuntivales y, sangre con anticoagulante para aislamiento viral. Las muestras deben ser tomadas poco después de la aparición de los signos. Para determinar seroconversión se utilizan dos muestras de suero tomadas en la fase aguda y convaleciente de la enfermedad y se utiliza la técnica de Seroneutralización Viral (SV). En casos de abortos, el virus puede ser aislado de placentas y tejidos fetales. Para comprobar el estado de portador-transmisor de un padrillo seropositivo (persistentemente infectado), primero se realiza la detección de anticuerpos por SV, si es positivo (título mayor de 1:4) se debe realizar el aislamiento viral o la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) a partir del semen y en el caso de resultados no concluyentes, realizar una prueba de servicio. Esta consiste en servir a dos yeguas seronegativas y comprobar si existe seroconversión en el período comprendido entre el servicio y los treinta días posteriores al mismo (*test mating*). Para enviar al laboratorio las muestras deben tomarse en forma estéril, la sangre en tubos de vacío o en jeringas y la extracción de semen se realiza con vagina artificial. Las muestras deben remitirse al laboratorio refrigeradas y en el caso del semen se debe conservar a 4 °C en las primeras 24 horas de extracción o a -20 °C por dos días. En necesario enviar al laboratorio dos muestras obtenidas

de 2 eyaculados consecutivos, del mismo día separadas por algunas horas o del día siguiente.

El primer informe de evidencia serológica fue realizado en el laboratorio de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata en 1984 donde se encontró una prevalencia del 9,2 % en la población de caballos analizada. El VAE fue aislado por primera vez (cepa LP01) en 2001. Además, se aisló a partir del testículo de un semental seropositivo que había sido importado a la Argentina en 1998 (cepa LT-LP-ARG). En 1998, se detectaron varios animales seropositivos en dos granjas de cría de caballos de deporte que inseminaba con semen importado. Un estudio de seguimiento entre julio de 2001 y diciembre de 2003 reveló una prevalencia de 45,8 % en una de esas granjas y se aislaron tres nuevas cepas denominadas LP02/R, LP02/C y LP02/P.

En el año 2010 se registró un brote con enfermedad respiratoria, aborto, muerte de potrillos e infección en machos enteros originado por el uso de pajuelas importadas infectadas. La prevalencia se restringió a las razas de caballos de deporte. De uno de estos animales se logró aislar una nueva cepa del virus denominada GLD-LP-ARG. Este acontecimiento hizo que cambiara el estado sanitario de la enfermedad en el país, y del mismo modo se autorizó la vacunación, que hasta el momento estaba restringida por no permitir la distinción serológica entre animales vacunados y naturalmente infectados. Como consecuencia del brote 22 padrillos persistentemente infectados fueron castrados.

A comienzos del 2015 SENASA realizó una vigilancia epidemiológica en 47 establecimientos con antecedentes sanitarios de AVE y en función a su actividad reproductiva, se encontraron 34 animales positivos de los cuales 33 correspondían a animales vacunados pero uno de ellos, nacido y criado en el país, no había recibido vacunación alguna. En el haras del cual provenía este animal se analizaron todos los animales susceptibles al VAE no registrando signos clínicos pero si una prevalencia serológica cercana al 60 %, lo que conllevó a la interdicción del establecimiento.

Un estudio posterior de seguimiento de ingreso y egreso de todos los animales del haras interdictado entre abril y diciembre de 2015, reveló que el 29 % de los animales no pudieron ser localizados lo que perjudica el seguimiento epidemiológico y gestión sanitaria frente a este evento. Como medida preventiva SENASA procedió a la castración de todos los machos menores de dos años (20).

Los padrillos y su semen criopreservado constituyen el reservorio del VAE, lo que asegura su persistencia en la población de caballos en todo el mundo, provocando nuevos

brotes como el que ocurrió en Argentina en el año 2010. Estos resultados refuerzan la importancia de vigilar cuidadosamente los padrillos persistentemente infectados, así como las pajuelas de semen, por aislamiento viral, RT-PCR o el test *mating*, de acuerdo con las regulaciones nacionales.

El laboratorio de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata es uno de los 4 laboratorios habilitados en Argentina por el SENASA para el diagnóstico de AVE, no sólo por serología sino también para el procesamiento de las muestras para aislamiento viral, técnicas de RT-PCR y caracterización genética. Las consecuencias económicas directas atribuibles a esta virosis son debido a abortos o muerte perinatal, cierre de mercados por infección persistente de animales en pie o semen y disminución del valor comercial del portador persistente. Por lo cual, es indispensable el envío de muestras a los laboratorios acreditados y el control pertinente de las autoridades sanitarias. Para eso se recomienda realizar serología anual de los padrillos, inseminar con material certificado libre de virus, mantener aislados animales con signología respiratoria y/o abortos y comunicar a la autoridad de SENASA regional.

Dra. María Gabriela Echeverría

*Médica Veterinaria (UNLP).
Dra. en Ciencias Veterinarias (UNLP).
Magister en Microbiología Molecular (UNSAM).
Investigadora independiente del CONICET.
Profesora Asociada de Virología
Laboratorio de Virología (LAVIR)
Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional de La Plata
60 y 118, CC 296, 1900 La Plata, Argentina.*

E - mail: gecheverria@fcv.unlp.edu.ar



Dr. Germán Ernesto Metz

*Licenciado en Biotecnología (UNL).
Dr. en Ciencias Veterinarias (UNLP).
Investigador Asistente del CONICET.
JTP de Genética Microbiana
Laboratorio de Virología (LAVIR).
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 118, CC 296, 1900 La Plata, Argentina.*

E - mail: germanmetz@fcv.unlp.edu.ar



Bibliografía consultada

- Balasuriya UB, MacLachlan NJ. The immune response to equine arteritis virus: potential lessons for other arteriviruses. *Vet Immunol Immunopathol.* 102:107-129, 2004.
- Balasuriya UB, Go YY, MacLachlan NJ. Equine arteritis virus. *Vet Microbiol.* 167: 93-122, 2013.
- Echeverría MG, Díaz S, Metz GE, Serena MS, Panei CJ, Nosetto E. Evaluation of neu-

- tralization patterns of the five unique Argentine equine arteritis virus field strains reported. *Rev Argent Microbiol.* 42: 11-17, 2010.
- Holyoak GR1, Balasuriya UB, Broadus CC, Timoney PJ. Equine viral arteritis: current status and prevention. *Theriogenology* 70: 403-414, 2008.
- Metz GE, Serena MS, Ocampos GM, Panei CJ, Fernandez VL, Echeverría MG.

- Equine arteritis virus: a new isolate from the presumable first carrier stallion in Argentina and its genetic relationships among the four reported unique Argentinean strains. *Arch Virol.* 153: 2111-2115, 2008.
- Metz GE, Serena MS, Panei CJ, Nosetto EO, Echeverría MG. The equine arteritis virus isolate from the 2010 Argentinian outbreak. *Rev Sci Tech.* 33: 937-946, 2014.