DIVISION DE PROTECCION PECUARIA
BVO BOLETIN VETERINARIO OFICIAL
N° 1 NOVIEMBRE DE 2004
volver a portada contácto imprimir
SALUD ANIMAL E INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS

IDENTIFICACION DEL HERPESVIRUS EQUINO EN FINA SANGRE DE CARRERA.

IDENTIFICATION OF THE EQUINE HERPESVIRUS IN THOROUGHBRED.

Julissa Jeria L. [1] Alfonso García P. [2]. Felipe Andaeta T. [2] Christian Mathieu B.[2] julissaj@vtr.net [1] Unidad de Virología, Subdepartamento de Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias Pecuarias del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG), Complejo Lo Aguirre, julissaj@vtr.net , virologia.pecuaria@sag.gob.cl [2]

INTRODUCCION: La Rinoneumonitis equina (RNE) es una enfermedad infectocontagiosa, producida por los Herpes virus equino1 y 4 (EHV-1 y EHV-4). Afecta principalmente a caballos jóvenes provocándoles una alteración en su sistema respiratorio. En el caso de los equinos fina sangre de carrera (f.s.c.) esta alteración provoca la inhabilidad de participar en las competencias con las consiguientes mermas económicas para el propietario.

El último aislamiento publicado en Chile fue en 1985 desde un feto abortado.

El objetivo de la realización de este estudio fue aislar e identificar al Herpesvirus equino utilizando 20 muestras provenientes del aparato respiratorio superior de equinos que presentaban sintomatología respiratoria en sus inicios. El diagnóstico se realizó utilizando 3 técnicas de laboratorio, para el aislamiento se utilizó el cultivo celular y se identificó por medio de la inmunofluorescencia directa (IFD) y la Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR).

MATERIALES Y METODOS: Este estudio fue realizado en el Laboratorio de la Unidad de Virología del S.A.G. durante el año 2002. Las 20 muestras se extrajeron en Marzo del año 2001 por medio de tórulas nasofaríngeas de equinos f.s.c del Hipódromo Chile con sintomatología respiratoria en sus inicios. El aislamiento se realizó con 3 tipos de cultivos celulares: cultivo primario de riñón fetal bovino (RFB), línea celular de riñón fetal de conejo (RK-13) y la línea celular de riñón fetal de ternera (MDBK).

Para el desarrollo de la IFD se utilizó la línea celular RK-13 y el conjugado 640 OE DV 9101 para EHV-1 de NVSL, Ames, Iowa, USA.

Para la extracción del ADN viral se realizó con el protocolo del kit comercial Wizard Genomic DNA purification®, de Promega. Y para la PCR se utilizó un protocolo basado en estudios efectuados por Rimstad y Hyllseth, en 1994 y Godoy en el 2002, con partidores localizados en el gen gp13 del EHV-1. El segmento de ADN a amplificar es de 370 pares de bases (pb).

En las 3 técnicas se utilizó como control positivo la cepa de referencia internacional para EHV-1, obtenido de USDA, NVSL, Ames, Iowa, USA.

RESULTADOS Y DISCUSION: De las 20 muestras analizadas se obtuvo 3 resultados positivos los que fueron confirmados por las 3 técnicas oficiales para la RNE, por la OIE.

En el aislamiento por cultivo celular se observó diferencias entre las líneas celulares y el cultivo primario, visualizándose un mejor y más claro efecto citopático específico (e.c.e) en las líneas celulares. Esta diferencia en el resultado de los cultivos celulares puede deberse a que como primera opción se utilizan los cultivos provenientes de equino, por ser mas sensibles al igual que las líneas celulares RK-13, MDBK y BHK-21 (OIE Manual, 2000).

El resultado de las 3 muestras positivas analizadas por IFD se observaron con una fluorescencia verde manzana, en donde se vio más intensa a nivel de citoplasma y membrana nuclear delimitando al núcleo. Cortés (1982) señala que el primer lugar donde aparece la fluorescencia específica es a nivel del núcleo y a medida que pasan las horas aparecería a nivel de citoplasma.

El resultado de la amplificación en la PCR se realizó por medio de electrofóresis con gel de agarosa al 2%, y los resultados obtenidos en las muestras positivas fue el fragmento esperado de 370 pb, y no se observaron amplificaciones inespecíficas en las reacciones de las muestras y en la de los controles. Los partidores utilizados en esta técnica son específicos para ambas cepas ya que comparten antigenicidad y presentan una homología del 76% (Rimstad y Hyllseth, 1994) La PCR es una de las técnica mas sensibles, sin embargo es trascendental seguir los procedimientos de forma rigurosa para evitar contaminaciones cruzadas.

Berríos en el 2002 señala que “debido a la situación epidemiológica silente de la enfermedad cabe pensar seriamente en la inutilidad de vacunar en Chile contra la RNE. Debido a que desde 1985 no se han detectado caso de aborto viral herpético”. Sin embargo en un Haras de la región metropolitana el año 2003 se observaron abortos 2 años consecutivos con un porcentaje de un 80 y 60% respectivamente. A pesar de las vacunaciones se observaron abortos y el diagnóstico se confirmó por serología y aislamiento en cultivo celular.

CONCLUSIONES: De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se concluye que la RNE es una enfermedad que se encuentra prevalente en lugares donde se concentra la masa equina, y al ser una infección latente se debe prevenir por medio de la vacunación en conjunto con las prácticas adecuadas de manejo.

Por la rapidez con que se disemina y la importancia que presenta la RNE tanto en hipódromos como en Harás, es necesario tomar las muestras en forma adecuada y realizar un diagnóstico rápido y seguro para prevenir la propagación de la enfermedad.

REFERENCIAS:

O.I.E. MANUAL, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL. 2000. Manual of Standards for Diagnostic test and Vaccines. 4ª Edición. Equine Rhinopneumonitis. cap.: 2.5.7. pp.: 565-575

CORTÉS, F. 1982. Aplicación de la técnica de inmunofluorescencia directa al estudio del virus de la Rinoneumonitis equina (EHV-1) (Tesis Med. Vet.) .Santiago, Chile, Universidad de Chile. Facultad de Medicina Veterinaria.

GODOY, C. 2003. Identificación del Virus Herpes Equino 1 y el Virus Herpes Equino 4 en Chile, por la implementación de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y por Análisis de Enzimas de Restricción (PCR-RFLP), utilizando cepas de referencia internacional. (Tesis Med. Vet.) Santiago, Chile, Universidad Mayor. Facultad de Ciencias Silvoagropecuarias.

Portada/ Indice Posters/ Contacto/ Imprimir

SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO / DIVISION DE PROTECCION PECUARIA / BOLETIN VETERINARIO OFICIAL / SALUD E INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS