



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES DEL
VIRUS HERPES EQUINO-1 EN VICUÑAS, LLAMAS Y
ALPACAS DEL ALTIPLANO DE LA REGIÓN DE
TARAPACÁ**

PRISCILA BELÉN ESCOBAR GIMPEL

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina
Preventiva Animal.

PROFESORA GUÍA: MARÍA O. CELEDÓN V.

SANTIAGO-CHILE
2007

ÍNDICE

| | PÁGINA |
|---|--------|
| RESUMEN | 2 |
| SUMMARY | 3 |
| INTRODUCCIÓN..... | 4 |
| REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 6 |
| 1. Camélidos sudamericanos (CS)..... | 6 |
| 2. Enfermedades en camélidos sudamericanos..... | 9 |
| 3. Enfermedades virales en camélidos sudamericanos..... | 10 |
| 4. Herpesvirus..... | 19 |
| HIPÓTESIS Y OBJETIVOS | 31 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 32 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 37 |
| CONCLUSIÓN | 40 |
| BIBLIOGRAFÍA | 41 |

RESUMEN

Considerando el impacto productivo y reproductivo que causa la enfermedad producida por el virus herpes equino 1 (VHE-1) dentro de la población equina, el conocimiento de la susceptibilidad de los camélidos sudamericanos (CS) a la infección y a la enfermedad producida por un virus similar al VHE-1, el antecedente de la presencia de anticuerpos neutralizantes para el VHE-1 en CS de diferentes regiones del país, el desconocimiento de la situación de infección por el VHE-1 en alpacas y llamas de la Región de Tarapacá y la importancia de estas especies para la población aymara; el objetivo de este estudio es detectar, indirectamente, la existencia de infección por VHE-1, o por un virus antigénicamente relacionado, en camélidos sudamericanos (CS) de la Región de Tarapacá, a través de la pesquisa de animales que han respondido inmunológicamente al agente viral.

Asumiendo que el 1% de los CS poseen anticuerpos que reaccionan con el VHE-1, se analizó un total de 192 muestras (75 de vicuñas, 75 de llamas y 42 de alpacas) las cuales se obtuvieron, entre los meses de febrero y abril del año 2006, de diferentes localidades de la Provincia de Parinacota (Caquena, Cruzani/Parinacota, Surire, Guallancallan/Gral Lagos, Guallatire, Visviri, Chuslluta/Gral Lagos, Humaquenque, Chislluma/Ankara, Caquena Culicculine, Putre, Visluvia, Colchane) en la Región de Tarapacá, excepto 18 muestras de alpacas que fueron obtenidas el año 1987 y no se registró la localidad de origen. La presencia de anticuerpos se determinó mediante la prueba de seroneutralización dilución punto final (SNDPF), enfrentando diluciones en base dos del suero del animal, a 100 dosis infectantes cultivo de tejido 50% (DICT₅₀) del VHE-1.

Del total de muestras analizadas, ninguna presentó anticuerpos neutralizantes para el VHE-1 o para algún otro virus antigénicamente relacionado.

Se concluye que menos del 1% de los CS ubicados en la localidades de Caquena, Cruzani/Parinacota, Surire, Guallancallan/Gral Lagos, Guallatire, Visviri, Chuslluta/Gral Lagos, Humaquenque, Chislluma/Ankara, Caquena Culicculine, Putre, Visluvia, Colchane, de la Provincia de Parinacota, en la Región de Tarapacá podrían estar infectados con VHE-1 o en su defecto con un virus herpes que comparte antígenos con el VHE-1.

SUMMARY

Considering the productive and reproductive impact caused for the equine herpes virus 1 (EHV-1) inside the equine population, in foundation to the knowledge about the susceptibility of the South American Camelids (SC) to the infection and to the productive disease caused for a virus similar to EHV-1, in base also to the antecedent of the presence of antibodies to EHV-1 in SC from different regions of the country, to the unknown situation of EHV-1 infection in alpacas (*Lama pacos*) and llamas (*Lama glama*) from the “Región de Tarapacá”, and to the importance of this species for the aymara population. The objective of this study was to detect, indirectly, the EHV-1 infection rate, or any virus with antigenic relationships to EHV-1, in SC from the “Región de Tarapacá”, through the survey for animal who had been response immunologically to the viral agent.

Assuming that 1 % of the SC have antibodies that reaction with the EHV-1, 192 serum samples were analyzed: 75 from vicuñas (*Vicugna vicugna*), 75 from llamas and 42 from alpacas. These were collected from different locations from the province of Parinacota (Caquena, Cruzani/Parinacota, Surire, Guallancallan/Gral Lagos, Guallatire, Visviri, Chuslluta/Gral Lagos, Humaquenque, Chislluma/Ankara, Caquena Culicculine, Putre, Visluvia, Colchane) from the “Región de Tarapacá”. Eighteen of the alpacas samples were collected in the 1987 but their location in the “Región de Tarapacá” was not recorded. For antibodies detection, seroneutralization test was carried out, each serum sample was tested against 100 tissue culture infected doses 50% (TCID₅₀) of EHV-1.

From the total samples analyzed, none of them were positive for EHV-1 neutralizing antibodies or any other antigenic similar virus.

Based on these results, it is concluded that less of 1% of the SC from the locations of Caquena, Cruzani/Parinacota, Surire, Guallancallan/Gral Lagos, Guallatire, Visviri, Chuslluta/Gral Lagos, Humaquenque, Chislluma/Ankara, Caquena Culicculine, Putre, Visluvia, Colchane, from the Parinacota Province, from the “Región de Tarapacá” could be infected with EHV-1 or a herpes virus who share antigens with EHV-1.

INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos (CS) están representados por los camélidos silvestres: vicuña (*Vicugna vicugna*) y guanaco (*Lama guanicoe*); y los domésticos: llama (*Lama glama*) y alpaca (*Lama pacos*).

La participación porcentual de los CS domésticos en la masa total de ganado existente en Chile es de un 1%. A pesar de este bajo porcentaje, estos animales constituyen el principal recurso para las familias aymara que habitan en el altiplano de la Región de Tarapacá, ya que representan el sustento económico de las poblaciones asentadas en las zonas alto-andinas. Los principales productos que se derivan de estas especies son: la fibra, cuyas características singulares, principalmente en el caso de la alpaca, hacen que tenga una alta cotización en el mercado internacional; la carne como fuente de proteína; las pieles y cueros, con múltiples usos industriales y artesanales; el estiércol, que se utiliza como fertilizante o combustible; y la llama, por su mayor tamaño y fortaleza, es útil también como animal de carga y cumple un papel relevante en el transporte en las áreas rurales carentes de vías de comunicación; y por último, se destaca la importancia de los CS por contribuir a enriquecer el patrimonio turístico del país (Fernández-Baca, 1991; FAO, 2005).

Debido a que la producción y aprovechamiento de los camélidos constituyen grandes posibilidades para el desarrollo socioeconómico de las comunidades que habitan el altiplano, se hace indispensable contar con individuos sanos que logren desarrollar su potencial productivo, para ello se debe tener conocimiento de los agentes infecciosos que los afectan y así poder contar con medidas sanitarias para controlar las patologías que se presenten. Entre ellas, las de origen infeccioso ocupan un lugar importante, destacándose los virus herpes que son capaces de afectar a una gran variedad de especies animales con pérdidas productivas y reproductivas.

El virus herpes equino 1 (VHE-1) es el agente causal de la rionumonitis equina (RNE), enfermedad que puede ser de presentación subclínica a grave y puede dejar secuelas, tales como aborto en el equino. Para los CS este virus adquiere relevancia, debido a que existen informes de ceguera y encefalitis asociados a un herpesvirus indistinguible del VHE-1, en alpacas chilenas exportadas a EUA, donde estuvieron en contacto con llamas,

camellos, cebras y antílopes (Rebhun *et al.*, 1988). En estudios posteriores, se confirmó experimentalmente el neurotropismo natural del virus (Mattson, 1994).

En Chile, se tienen antecedentes de la presencia de anticuerpos neutralizantes para el VHE-1 en alpacas y llamas de la Región Metropolitana, guanacos de la Región de Magallanes y en un escaso número de vicuñas de la Región de Tarapacá, lo que lleva a suponer que han hecho infección con un VHE-1 o con algún virus que comparte antígenos con el VHE-1 (Vergara, 2004).

En base al conocimiento de la susceptibilidad de los CS a la infección y a la enfermedad producida por un virus similar al VHE-1, al antecedente de la presencia de anticuerpos neutralizantes para el VHE-1 en CS de diferentes regiones del país, al desconocimiento de la situación de infección por el VHE-1 en alpacas y llamas de la región de Tarapacá y a la importancia de estas especies para la población aymara, se hace necesario conocer si los camélidos del altiplano chileno están infectados con un VHE-1 u otro similar.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Camélidos sudamericanos (CS)

Los CS, así como los del viejo mundo, se clasifican en el orden *Artiodactyla*, suborden *Tylopoda*, familia *Camelidae* (Fernández-Baca, 1991). Incluyen cuatro especies, dos de ellas domésticas y dos silvestres. Los camélidos domésticos son la alpaca (*Lama pacos*) y la llama (*Lama glama*), y los silvestres son la vicuña (*Vicugna vicugna*) y el guanaco (*Lama guanicoe*).

Diversas investigaciones arqueológicas señalan con certeza que los CS viven en su actual hábitat desde 10.000 años atrás (FIA, 2000).

La llama y la alpaca fueron domesticadas hace unos 6.000 años, mientras que el guanaco y la vicuña se consideran como los antecesores silvestres de las dos especies anteriores (Fernández-Baca, 1991).

Los camélidos exhiben procesos básicos de rumia, pero se diferencian de los rumiantes, de los que se separaron hace 30 a 40 millones de años, por la morfología del estómago. Otras características diferenciales y únicas son: ausencia de cuernos o astas, presencia de verdaderos caninos separados de los premolares por diastema, anatomía de las extremidades traseras que les permite descansar sobre el vientre con las rodillas dobladas y los garrones hacia atrás, y presencia de una almohadilla digital en lugar de cascos (Fernández-Baca, 1991).

Al migrar sus antecesores desde América del Norte a América Latina, hace unos 3 millones de años, se adaptaron a zonas áridas y semiáridas utilizando funciones anatómo-fisiológicas especializadas para adaptarse al estrés termal, deshidratación e hipoxia producida por la altura (Fernández-Baca, 1991).

El número de camélidos en América Latina, después de haber llegado a su máxima expansión y desarrollo durante la vigencia del Imperio Inca, declinó hasta llegar a menos de 500.000 alpacas y 1.000.000 de llamas en Perú y poblaciones aún más bajas en Bolivia, Chile y Argentina, habiendo desaparecido, por un período, de Ecuador (FAO, 2005).

La población actual de CS en los países latino americanos, que incluyen Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Ecuador, Paraguay y Perú es de 6.935.441, de los cuales 229.038 ejemplares pertenecen a Chile. De este total las llamas alcanzan a 79.294; las alpacas a

45.244; las vicuñas a 25.000; y una población de guanacos que oscila entre 73.000 a 86.000 (FAO, 2005).

Con respecto a la distribución poblacional de estas especies en la actualidad, la llama se distribuye desde la Zona de Pasto, Colombia (1° latitud norte) y Riobamba, Ecuador (2° latitud sur). Al sur, se extiende hasta aproximadamente 27° en el centro de Chile, pero la zona de mayor productividad está ubicada entre 11° y 21° latitud sur entre elevaciones de 3.800 a 5.000 metros sobre el nivel del mar. La alpaca se encuentra desde Cajamarca y el norte del Departamento de Ancash, hasta el lago Poopo, en Bolivia, con un número muy reducido de animales en el norte de Chile y el noroeste de Argentina. Por su parte, el guanaco se distribuye en poblaciones dispersas a lo largo de los Andes, desde aproximadamente 8° latitud sur, hasta la isla Navarino, Chile, a 55° latitud sur en Tierra del Fuego. En el caso de la vicuña, ésta se encuentra en las punas altoandinas a partir de los 3.800 y hasta los 5.000 metros sobre el nivel del mar cubriendo menos territorio y diversidad ecológica que el guanaco (Fernández-Baca, 1991).

Si bien actualmente la mayoría de las explotaciones de CS se encuentran por encima de los 3.500 metros sobre el nivel del mar, hay evidencias históricas de que antes de la conquista española su distribución era más amplia y abarcaba tanto la sierra como la costa. Una prueba de esta amplia adaptación es el reciente incremento de su crianza en otros países, tales como Australia, Estados Unidos y Nueva Zelanda (Fernández-Baca, 1991).

Respecto a la distribución de los CS domésticos en Chile, el mayor número de animales se concentra en la Región de Tarapacá, con un 89,2 % del total de alpacas y un 90 % de las llamas. En el resto de las regiones los porcentajes, en todos los casos no superan el 2% de la participación total, excepto la Región de Antofagasta, que posee un 6,86 % de las llamas. De la misma forma, la totalidad de la población de vicuñas se distribuye en el ecosistema de la puna, compitiendo con alpacas y llamas en la obtención de recursos nutricionales; sólo el guanaco se muestra como una especie más cosmopolita, distribuyéndose naturalmente a lo largo de todo el territorio nacional, aún cuando la mayor parte de los individuos se concentra significativamente en la Región de Magallanes (FAO, 2005).

Del total de la masa ganadera de nuestro país, los CS domésticos representan el 1% (INE, 1997). Sin embargo, en las zonas altas, donde los cultivos no son viables, la crianza

de estos animales constituye el único medio de subsistencia de las familias campesinas, debido a que difícilmente podrán ser reemplazados por otras especies domésticas, las que habitualmente no se aclimatan, ni se adaptan a las extremas condiciones de esta zona (FIA, 2000).

Los criadores de camélidos en Chile son, en su mayoría, indígenas del altiplano, adaptados a las duras condiciones de vida que les impone dicho ecosistema. Se estima que la totalidad de las llamas y no menos del 90% de las alpacas pertenecen a pequeños productores, generalmente pobres y carentes de recursos (Fernández-Baca, 1991). La mayor parte de las explotaciones de camélidos son unidades familiares. La tenencia de CS en regiones donde ellos han sido introducidos, corresponde a campesinos que se han dedicado a la ganadería de pequeños rumiantes o tradicionalmente han subsistido como pequeños agricultores (FAO, 2005).

Al considerar el porcentaje de animales faenados, los CS alcanzan solamente el 0,15% del total nacional, el cual a pesar de ser bajo, supera al beneficio de ganado caprino (0,08%). Sin embargo, al analizar sólo las cifras de animales beneficiados en los mataderos de Arica y sin considerar el beneficio informal de ninguna especie, los CS alcanzan un 60,78%, superando incluso a la suma de bovinos, ovinos y porcinos (FIA, 2000). Por el contrario, la carne tanto de llama como de alpaca, posee un consumo bajísimo en los medios urbanos, pese a sus extraordinarias cualidades nutritivas, como lo son el bajo porcentaje de grasa y un nivel de proteína más alto en relación a otras especies. El mayor problema que limita la aceptación de la carne de camélidos para el consumo humano, es la sarcocistosis, enfermedad parasitaria que no afecta al hombre pero altera su aceptabilidad al generar un aspecto desagradable al producto, y ser confundida, erróneamente, con otra parasitosis de alto potencial zoonótico, la cysticercosis, la cual adquiere importancia por ser transmitida al ser humano a través del consumo de carne de cerdo principalmente y en menor medida por consumo de carne de vacuno, pero en ningún caso por consumo de camélidos. Además, debido a la idiosincrasia entre las personas, la carne de camélidos se considera como alimento sólo para campesinos y no para las poblaciones urbanas (FAO, 2005).

La producción de fibra, fundamentalmente la de alpaca, posee una alta valoración en los mercados internacionales por su fina textura, sin embargo, representa sólo el 2,5% del total mundial de exportación de fibras de origen animal. En Chile, la obtención de vellón se

realiza cada dos y hasta tres años con el uso de herramientas muy rudimentarias, y su exportación no ascendería a niveles superiores a las 30 toneladas anuales, que están constituidas por materias primas sucias, donde se encuentran mezcladas las fibras de llamas y alpacas, separadas solamente por sus colores (FIA, 2000). El mercado de la fibra siempre ha sido inestable con amplias fluctuaciones de precio y volúmenes de producción. Muy poco se ha hecho en relación a las tecnologías de producción y al mejoramiento del pelo. La mayor parte de los avances se han realizado en el procesamiento textil y en las tecnologías de tratamiento del pelo (FAO, 2005).

La vicuña ha sido cazada para obtener su fino pelo y en Chile se convirtió en una especie en peligro de extinción, sin embargo, en 1970 se inició un efectivo programa de protección. Actualmente son capturadas y esquiladas para obtener su fino pelo, y posteriormente son liberadas. Desde 1995, el sistema de captura y esquila se ha estudiado y usado en Chile, desarrollándose diversos módulos de crianza en semicautiverio (FAO, 2005).

Las pieles y cueros de CS se comercializan en forma fresca o salada, siendo muy apreciadas en algunos mercados a nivel internacional las pieles de crías neonatas de madres que abortan en los últimos meses de gestación y de crías post natales que mueren por alguna razón y que son conocidos como “baby-alpaca”. Artesanalmente se confeccionan juguetes, tapices y artículos de vestuario. Las pieles de mejor calidad se usan para prendas de vestir, colchas y cameros o sobrecamas (FIA, 2000).

La comercialización y exportación de productos de artesanía obtenidos de los CS constituyen grandes posibilidades de desarrollo socioeconómico de las comunidades altoandinas, a la vez que forman parte del patrimonio nacional. Debido a esto, es trascendental considerar la sanidad animal, siendo necesario conocer las enfermedades que los afectan y los agentes con el potencial de provocar alguna enfermedad en estas especies.

2. Enfermedades en camélidos sudamericanos

Los CS son animales más bien saludables y deben confluír notables condiciones de infección para producir un cuadro clínico en estas especies (Theford y Jhonson, 1989).

Los camélidos poseen una relación filogenética con los rumiantes. Sin embargo, no son afectados por todas las enfermedades que ellos presentan. De hecho dentro de los

propios rumiantes las especies no comparten, en su totalidad, las mismas enfermedades. No obstante, se asume que los CS son susceptibles al común de las enfermedades padecidas por rumiantes (Rivera *et al.*, 1987).

Las enfermedades bacterianas más comunes que afectan a los CS son la enterotoxemia causada por *Clostridium perfringens* tipo A, C y D, la tuberculosis, la enfermedad de Johnes, el ántrax, el edema maligno, la actinomicosis, el tétano y la fiebre de la alpaca. Entre las infecciones fúngicas están las causadas principalmente por *Trichophyton spp* y casos de coccidiomicosis. Dentro de las infecciones virales más importantes se describe la rabia, el ectima contagioso, la recientemente descrita ceguera neuropática asociada con el virus herpes equino tipo 1, la fiebre aftosa y la estomatitis vesicular. Existen evidencias serológicas de exposición a variados agentes virales, incluyendo los virus de la lengua azul, parainfluenza 3, respiratorio sincicial bovino, herpes bovino 1, diarrea viral bovina, influenza A y rotavirus (Theford y Jhonson, 1989).

3. Enfermedades virales en camélidos sudamericanos

Se asume que las alpacas y las llamas son igualmente susceptibles a la mayoría de los virus que las afectan. Ambas especies poseen múltiples similitudes fisiológicas y anatómicas y no habría razón para suponer que difieren en susceptibilidad ante los mismos agentes virales. Una excepción a esta generalidad es atribuida a la enfermedad de las llamas conocida como Síndrome de Inmunodeficiencia. Las llamas con esta enfermedad presentan bajos niveles de inmunoglobulina gamma (IgG), en asociación a una deficiencia de linfocitos B y T. Por consecuencia, las llamas con Síndrome de Inmunodeficiencia, son mucho más susceptibles a todas las enfermedades infecciosas (Hutchison *et al.*, 1992).

Adenovirus

Este virus ha sido aislado desde cinco llamas y una alpaca con diarrea en Oregon, EEUU. La diarrea presentada por los animales fue de corta duración, excepto en dos casos. El primero, la alpaca se recuperó en 14 días, mientras que el segundo caso, la llama desarrolló una diarrea aguda progresiva y fue eutanasiada. El examen histopatológico mostró una severa enteritis necrotizante y colitis, como también, presencia de numerosos cuerpos de inclusión en células epiteliales del tracto intestinal. El diagnóstico de esta llama

fue una infección por adenovirus secundaria al Síndrome de Inmunodeficiencia (Mattson, 1994).

En Michigan, EEUU, también se aisló adenovirus desde el pulmón de una llama que cursaba con pneumonia y hepatitis. En el examen histopatológico se observaron áreas de consolidación en los pulmones, el hígado contenía granulomas multifocales y en ambos órganos se encontraron cuerpos de inclusión intranuclear característicos de una infección por adenovirus (Galbreath *et al.*, 1994).

En un estudio serológico que involucró a 270 llamas de ranchos de Oregon, la prevalencia de anticuerpos para una especie de adenovirus fue de 93% (Picton, 1993).

En Argentina, en un estudio serológico de distintos virus, se detectó una seroprevalencia en llamas para el adenovirus bovino III de un 5,13% (Puntel *et al.*, 1999).

La mayoría de las infecciones por este virus son subclínicas, pero en ocasiones pueden dar origen a enfermedad del tracto entérico o respiratorio (Mattson, 1994).

Virus de la lengua azul (VLA)

En un estudio de seroprevalencia en Perú se determinó que de 114 alpacas estudiadas, el 21% de ellas poseían anticuerpos contra el virus de la lengua azul (Rivera *et al.*, 1987). Otro estudio de seroprevalencia realizado en Oregon, determinó que de 270 llamas estudiadas el 1,5% tenía anticuerpos contra este virus. Muchas de las llamas involucradas en este estudio eran de áreas donde el VLA no es enzoótico en el ganado (Picton, 1993). No se ha informado que este virus induzca signos clínicos de la enfermedad en alpacas o llamas adultas, y su rol en casos de aborto y defectos teratogénicos no ha sido aún adecuadamente explorado (Mattson, 1994).

Virus del ectima contagioso ovino (VEC)

Los CS son susceptibles al virus responsable del ectima contagioso (Moro, 1971a; Ramírez, 1971). Los animales afectados desarrollan las típicas lesiones proliferativas en la epidermis de las comisuras de la boca, que pueden extenderse al resto de la cara y periné (Mattson, 1994). La enfermedad puede presentarse de curso más crónico que en el ganado ovino y afectar áreas de la piel de manera semejante a la infestación por sarcóptes (Fowler,

1989). En un estudio serológico realizado en Perú se detectó seropositividad para VEC en alpacas (Rivera *et al.*, 1987).

La transmisión del virus, generalmente, es por contacto directo, aunque el virus puede permanecer viable en el ambiente por meses. Se recomienda mantener separados a los CS de ovinos y caprinos infectados, así como de los lugares donde han habitado (Mattson, 1994).

Paramixovirus

Resultados de estudios de seroprevalencia realizados en Perú indican que los CS pueden infectarse con virus parainfluenza-3 (VPI-3) y virus respiratorio sincicial (Picton, 1993; Rivera, 1987). Ambos virus son agentes causales de enfermedad respiratoria en bovinos. Sin embargo, no existen informes en relación a que este virus cause enfermedad con signos clínicos respiratorios (Mattson, 1994).

El laboratorio de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, cuenta entre sus registros con un caso de VPI-3 aislado de un guanaco de 8 meses muerto con enfermedad respiratoria aguda (Celedón, 2003; comunicación personal). En este mismo laboratorio, se realizó un estudio para detectar anticuerpos neutralizantes de VPI-3 en vicuñas de la Región de Tarapacá, para lo cual se tomaron muestras de suero desde 92 ejemplares. Del total de muestras tomadas, un 27% de los individuos evidenciaron anticuerpos neutralizantes contra el virus, lo que muestra que estas vicuñas han estado infectadas con un VPI-3 o algún otro virus con el cual comparte antígenos (Aguirre *et al.*, 2006).

Coronavirus (CV) y Rotavirus (RV)

Estos agentes son los causantes de la diarrea neonatal en numerosas especies, pudiendo afectar también a CS, pero con una incidencia más baja que en bovinos y ovinos, lo cual se puede deber al bajo número de recién nacidos susceptibles de infectarse durante el período neonatal.

El CV ha sido detectado en heces de llamas con diarrea, mediante microscopía electrónica (Mattson, 1994). Se investigó la presencia de CV y RV en dos poblaciones de guanacos con diarrea severa, capturados en la Patagonia Argentina. Se aisló RV de dos

guanacos recién nacidos con diarrea, uno de cada población, y se detectó un 95% de animales seropositivos a RV, siendo éste el primer informe de detección y aislamiento de RV asociado a diarrea neonatal en guanacos. Por otro lado, no se encontraron evidencias antigénicas ni serológicas de CV (Parreño *et al.*, 2001). En Perú se detectó seropositividad para coronavirus y rotavirus en alpacas (Rivera *et al.*, 1987).

En Argentina, en un estudio serológico de distintos virus, se detectó una seroprevalencia en llamas para el RV bovino de un 87,69% (Puntel *et al.*, 1999).

Virus de la Influenza A

En Perú se detectó seropositividad para virus de la influenza A en alpacas (Rivera *et al.*, 1987).

Virus de la de neumonía progresiva ovina (VNPO)

En un estudio serológico realizado en Perú, donde existían antecedentes de ovejas infectadas con este retrovirus y que además pastaban junto con alpacas, no se detectó seropositividad contra el VNPO (Rivera *et al.*, 1987).

En Oregon, se realizó un estudio de seroprevalencia que involucró 270 llamas, de las cuales ninguna presentó anticuerpos para el VNPO, en este estudio también existían ovinos infectados con el virus en la región de estudio (Picton, 1993).

Estos estudios sugieren que los CS no son susceptibles a infectarse con el VNPO, sin embargo, se debe tener en cuenta que el virus es transmitido a través de contacto muy cercano entre los animales (Cross *et al.*, 1975; Gates *et al.*, 1978), situación que no se da con frecuencia entre los CS.

Virus estomatitis vesicular (VSV)

Existe un número limitado de estudios acerca de la susceptibilidad de los CS al VSV. No se ha observado que estos animales desarrollen la enfermedad naturalmente. Existe un informe, donde dos llamas estuvieron en contacto con ganado bovino y experimentaron naturalmente la enfermedad provocada por el VSV, lo que lleva a suponer su infección con el virus (Thedford y Jhonson, 1989).

Las alpacas han mostrado susceptibilidad a la infección con VSV a través de inoculaciones experimentales. En esta experiencia se observaron signos clínicos, tales como pirexia transitoria y anorexia, así como aparición de vesículas en el sitio de inoculación, correspondiente al dorso de la lengua (Gómez, 1964). En Perú se detectó seropositividad para virus estomatitis vesicular en alpacas (Rivera *et al.*, 1987).

Virus de la fiebre aftosa

La fiebre aftosa es considerada una de las enfermedades más contagiosas, especialmente para porcinos, bovinos, ovinos y caprinos. Los signos clínicos incluyen pirexia, laminitis, sialorrea y descargas nasales. Las lesiones generalmente consisten en áreas de inflamación, con presencia de vesículas y úlceras en la mucosa oral, nasal y en la banda coronaria (Callis y Craig, 1992).

La enfermedad ha sido descrita en alpacas en contacto con bovinos afectados en un brote epizoótico en Perú. Las lesiones vesiculares observadas se presentaron, principalmente, en la lengua (Moro, 1971b). Los signos clínicos de la enfermedad, la distribución de las lesiones y los cambios patológicos fueron similares a los observados en otras especies de animales domésticos (Lubroth y Yedloutscing, 1987; Mancini, 1952). Sin embargo, algunas llamas y alpacas en las cuales se pudo demostrar la presencia del virus en sus secreciones orales, no presentaron signos clínicos de enfermedad. De los estudios se concluye que los CS son más resistentes a la infección viral que otras especies (Mattson, 1994).

En 1987, se detectó seropositividad para el virus de la fiebre aftosa en alpacas del Perú, sin embargo, no se evidenciaron signos clínicos de enfermedad (Rivera *et al.*, 1987).

Un estudio realizado en Argentina para evaluar la susceptibilidad de las llamas a la infección por el virus de la fiebre aftosa, reveló que de 30 llamas expuestas directamente a ganado afectado por la enfermedad, sólo tres mostraron evidencias de infección, y de éstas sólo dos manifestaron signos clínicos suaves. No se aisló virus de ningún fluido esofágico o faríngeo, ni de muestras de sangre de llamas infectadas, después de 14 días de la exposición. No hubo evidencia de transmisión viral entre las llamas directamente expuestas y las indirectamente expuestas, y entre los dos grupos de llamas y ganado doméstico susceptible. Estos resultados proveen evidencia de que las llamas serían resistentes a la infección por

este virus, y que juegan un rol menor en la transmisión del virus al ganado doméstico (Fondevila, 1995).

Virus del Oriente del Nilo (VON)

El primer informe de enfermedad debido al VON en camélidos surgió en el año 2002 en los estados de Ohio y Iowa, EEUU, donde se confirmó la infección por el virus en casos de camélidos con signos neurológicos, para lo cual se realizaron pruebas inmunohistoquímicas y de PCR desde muestras postmortem. Otros casos que evidenciaron la patogenicidad del VON en camélidos se informaron en agosto y septiembre del 2003, cuando más de una docena de alpacas en Colorado, Nuevo México y Texas murieron de la enfermedad confirmada a través de pruebas de PCR (Kutzler y Mattson, 2004).

Los signos clínicos más comúnmente observados incluyen temblor corporal, temblor de la cabeza, balbuceo, con un rápido progreso a postración y muerte (Kutzler y Mattson, 2004). Estos antecedentes sugieren que los CS son muy susceptibles a enfermarse cuando se infectan con el VON.

Virus diarrea viral bovina (VDVB)

Estudios serológicos indican que los CS son susceptibles a la infección con VDVB (Doyle y Heuschele, 1983; Motha y Tham, 1992). En un estudio serológico realizado en Perú, de 117 alpacas que pastaban con ovinos y bovinos, el 11% presentó anticuerpos para el VDVB (Rivera *et al.*, 1987). En Argentina se han detectado seroprevalencias de un 2,05% en llamas (Puntel *et al.*, 1999). Mientras que en otro estudio de seroprevalencia en Oregon, de 271 llamas procedentes de 21 rebaños, se evidenció la presencia de anticuerpos en un 4,4% de los animales (Picton, 1993).

Existen informes de aislamiento del virus desde llamas con excesiva descarga nasal (Mattson, 1994) y desde llamas con diarrea (Evermann *et al.*, 1993; Mattson, 1994).

En estudios serológicos realizados en Chile, se analizaron muestras de suero de 74 alpacas y 43 llamas procedentes de distintos rebaños ubicados en la Región Metropolitana, en los cuales se detectaron anticuerpos neutralizantes en el 10,8% de las alpacas y 14% de las llamas. Por otro lado, no se detectó seropositividad para el virus en 48 guanacos de la Región de Magallanes, ni en 34 vicuñas del altiplano de la Región de Tarapacá (Celedón *et al.*, 2001); en la mayoría de los casos, la infección podría atribuirse al contacto con el

ganado bovino ya que existe una alta prevalencia serológica en bovinos de diferentes regiones del país (Reinhardt *et al.*, 1990; Celedón *et al.*, 1996; 1997a), a la vez que en varias ocasiones se ha aislado el virus desde bovinos naturalmente infectados (Reinhardt *et al.*, 1986; Reinhardt, 1992; Celedón, 1993; Meléndez y Celedón, 1995; Celedón *et al.*, 1997b; Galletti-Vernazzani, 1997; Celedón *et al.*, 1998).

En Chile, también se ha detectado la presencia de alpacas portadoras e inmunotolerantes al VDVB en un rebaño que sufrió un brote de abortos (Arce, 2001). No obstante, Wentz *et al* (2003) a través de la infección experimental de CS con VDVB, observó que las llamas se infectaron, pero manifestaron escasos signos clínicos. La inoculación de llamas durante la gestación no generó infección fetal o infección persistente en la crías, además, señala que la seroprevalencia para el virus es aparentemente baja en CS, contrario a lo que sucede con el ganado bovino donde generalmente es alta. Por otro lado, Mattson (1994) señala que las alpacas y las llamas serían relativamente resistentes a la infección y/o el virus sería producido en baja concentración, haciendo ineficiente el proceso de transmisión viral en esta especie.

Virus herpes bovino tipo 1 (VHB-1)

El VHB-1, es agente causal de la rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB), vulvovaginitis pustular infecciosa al ingresar vía genital, y enfermedad neurológica en el bovino. Sin embargo, su rol como agente causal de enfermedad en CS no está bien establecido. Sólo se ha detectado su presencia en tres casos independientes de bronconeumonía en llamas y en un caso de enfermedad neurológica aguda con una marcada acumulación perivascular de linfocitos en el tejido cerebral, que fue consistente con el diagnóstico de encefalitis difusa no supurativa (Mattson, 1994). En Perú, un estudio serológico realizado en alpacas que vivían en contacto cercano con ganado bovino, logró detectar un 5 % de seroprevalencia en estos camélidos (Rivera *et al.*, 1987). En Oregon, sólo 2 de 270 llamas resultaron seropositivas a la detección de anticuerpos para el VHB-1 (Picton, 1993). En Argentina, en un estudio serológico de distintos virus, se detectó una seroprevalencia en llamas para el VHB-1 de un 0,77% (Puntel *et al.*, 1999). En Chile, el análisis de 199 sueros de CS que incluyeron 74 alpacas, 43 llamas, 48 guanacos y 34 vicuñas, no logró resultados de seropositividad para el VHB-1 (Celedón *et al.*, 2001).

Virus herpes equino tipo 1 (VHE-1)

Existen informes de casos de ceguera y encefalitis asociados a herpesvirus indistinguible del VHE-1, cuando en 1984 aproximadamente 100 alpacas fueron importadas por EEUU desde Chile. Luego de estar en cuarentena por 6 meses, fueron llevadas a una granja de exportación e importación de animales exóticos en Nueva York, donde estuvieron en contacto con llamas, camellos, ñus, cebras y antílopes. Al cabo de 30 días, 21 alpacas y una llama desarrollaron ceguera. Cuatro de los animales ciegos mostraron, además, otros signos de disfunción neurológica (nistagmo, inclinación de la cabeza y/o parálisis). Dos de estos animales murieron (Rebhun *et al.*, 1988).

Los hallazgos oftalmológicos encontrados por el Dr. William C. Rebhun variaron desde lesiones no detectables hasta severas corioretinitis hemorrágicas y vitritis. Las alpacas más afectadas evidenciaron vitritis, retinitis y neuritis óptica durante la fase aguda. Otros afectados mostraron neuritis óptica retrobulbar, la cual les causaba ceguera y pupilas dilatadas sin lesiones oftalmológicas (Rebhun *et al.*, 1988).

No fue posible reestablecer la visión en ninguno de los animales afectados, a pesar de su tratamiento con una variedad de antibióticos, corticoides, antiinflamatorios no esteroideos, diuréticos y vitaminas. Se realizó aislamiento viral y bacteriano, al igual que exámenes toxicológicos de muestras de tejidos, alimento y agua, sin encontrar hallazgos importantes (Rebhun *et al.*, 1988).

Se tomaron innumerables muestras de sangre desde las alpacas afectadas, durante el periodo agudo de la enfermedad y después de la convalecencia, para evaluar los títulos de anticuerpos contra todos los agentes infecciosos que pueden causar enfermedad ocular o neurológica en rumiantes, incluyendo pseudorrabia, fiebre catarral maligna, lengua azul, hemorragia epizootica, diarrea viral bovina, rinotraqueitis infecciosa bovina, artritis/encefalitis caprina, y clamidiosis. Todos los resultados fueron negativos (Rebhun *et al.*, 1988).

Al encontrar cuerpos de inclusión intranucleares en muestras histológicas del cerebro de alpacas muertas naturalmente y eutanasiadas, en adición con una encefalitis no supurativa y meningitis con agregaciones linfocíticas perivasculares, se sospechó de un herpesvirus, diagnóstico que fue confirmado al aislar desde tres alpacas y una llama un herpesvirus indistinguible serológicamente de VHE-1. Muchas de las alpacas y llamas no

mostraron signos clínicos, pero desarrollaron crecientes títulos de anticuerpos contra VHE-1 (Rebhun *et al.*, 1988).

El origen exacto de la infección de las alpacas y la llama con el VHE-1 no fue nunca confirmado, siendo el origen más probable las cebras que habitaban la granja (Rebhun *et al.*, 1988).

En un estudio posterior, tres llamas fueron experimentalmente infectadas intranasalmente con el VHE-1 aislado desde el cerebro de una alpaca que había cursado con severos signos neurológicos. Dos de las llamas desarrollaron severos desórdenes neurológicos, una de ellas murió en forma aguda sin una producción detectable de anticuerpos contra el virus, mientras que la otra fue eutanasiada. La llama que sobrevivió, sólo mostró suaves signos neurológicos y un desarrollo de anticuerpos propia de una respuesta inmune primaria. El VHE-1 fue aislado sólo de una muestra del tálamo de la llama que murió en forma aguda. Exámenes histopatológicos mostraron lesiones en el cerebro y retina de las dos llamas muertas (House *et al.*, 1991).

Esta investigación confirmó el neurotropismo natural del virus, pero fue incapaz de reproducir todos los signos clínicos de la enfermedad original descrita por el Dr. William C. Rebhun. Aún más importante, estos estudios demostraron la diferencia entre la infección de equinos y CS, pues en estos últimos, el virus replica en células de la mucosa nasal, donde adquiere acceso, vía nerviosa, hacia el sistema nervioso central; mientras que en equinos, la replicación viral inicial es seguida de la distribución del virus a través de viremia o por macrófagos infectados. En relación a la enfermedad neurológica, ésta se desarrolla en algunos de los equinos infectados debido a la vasculitis del cordón espinal, siendo los signos más comunes la paresis, paraplegia y la incontinencia fecal o urinaria (Mattson, 1994).

A diferencia de lo que sucede con los equinos, no existen informes acerca del significado etiológico del VHE-1 en la inducción de enfermedad fetal y aborto en CS (Mattson, 1994). En el informe del Dr. William C. Rebhun, se hace mención a una alpaca afectada por el VHE-1 que dio a luz a una cría clínicamente normal, lo que sugiere que el virus no realizó infección intrauterina.

Un estudio serológico realizado en Oregon, que buscaba detectar la presencia de anticuerpos para varios virus que afectan al ganado ovino, bovino y de equinos, detectó anticuerpos contra VHE-1 sólo en 1 del las 270 llamas estudiadas (Picton, 1993).

En Chile, se realizó un estudio en CS para detectar la presencia de anticuerpos neutralizantes de VHE-1 en 204 sueros: 98 de alpacas y 44 de llamas procedentes de rebaños de la Región Metropolitana; 37 de guanacos procedentes de la Región de Magallanes; y 25 de vicuñas procedentes de la Región de Tarapacá. De las muestras de CS analizadas, 52 presentaron anticuerpos neutralizantes para el VHE-1. Con este resultado se puede asumir que el 25,5% de los CS estudiados han hecho infección con el VHE-1 o el VHE-4 (antigénicamente relacionado), o ambos. También se da la posibilidad que estén infectados con otro virus herpes que comparte antígenos neutralizables con el VHE-1. (Vergara, 2004).

4. Herpesvirus

Los herpesvirus, ampliamente diseminados en la naturaleza, han sido encontrados en insectos, reptiles, anfibios y moluscos, así como también en cada especie de ave y mamífero que ha sido investigado. Al menos una enfermedad de cada animal doméstico, excepto la oveja, es causada por un herpesvirus (Murphy *et al.*, 1999).

Cerca de 100 especies de herpesvirus han sido caracterizados, al menos parcialmente, entre ellos siete han sido aislados desde humanos, cinco desde caballos, al menos cuatro desde bovinos, dos desde cerdos y tres desde pollos (Roizman, 1996).

Componentes estructurales

Los herpesvirus poseen ácido desoxirribonucleico (ADN), el que al unirse a proteínas constituye el cuerpo central (core) del virión, el cual se rodea por una cápside de simetría icosaédrica, la que posee un diámetro aproximado de 100-110 nm y está compuesta por 162 capsómeros parcialmente perforados, de los cuales 150 son de sección hexagonal y 12, ubicados en los vértices, son pentagonales (Murphy *et al.*, 1999). En la cápside de estos virus, se encuentra una fosfoproteína denominada VP9 que se repite 800 veces, representando el 65% de la masa de proteínas de esta estructura viral. Alrededor de la cápside se encuentra una estructura amorfa constituida por 6 a 8 proteínas, llamada tegumento, cuyo grosor puede variar, dependiendo de su localización dentro de la célula infectada, y su distribución es frecuentemente asimétrica (Roizman, 1996).

Estudios de microscopía electrónica, han mostrado que la envoltura de los herpesvirus posee una típica apariencia trilaminar, al parecer derivadas de reparaciones de membranas celulares alteradas. La presencia de lípidos ha sido demostrada por análisis de sensibilidad de los viriones a solventes lipídicos y detergentes. La envoltura contiene numerosas glicoproteínas a modo de protrusiones espinosas, las cuales son más numerosas y cortas que las encontradas en la superficie de muchas otras envolturas virales. El número de glicoproteínas puede variar entre un virus y otro, es así como el virus herpes simplex (VHS) específica para al menos 11 de ellas (Roizman, 1996).

Es en las proteínas de la envoltura donde radica la capacidad de adsorción y penetración del virus a la célula, la especificidad de subtipo y la variación antigénica (Allen y Bryans, 1986).

Se ha encontrado que el tamaño del virión de herpesvirus puede variar desde 120 hasta cerca de los 300 nm de diámetro. Esta variación es, en parte, debido a la variabilidad del grosor del tegumento, y en mayor medida al estado de la envoltura. Las envolturas intactas son impermeables y generalmente retienen la forma quasi-esférica del virión, por el contrario, envolturas dañadas son permeables a tintes negativos y adquieren una forma más ovalada y con un diámetro mucho mayor que un virión intacto (Roizman, 1996).

No se conoce el número exacto de polipéptidos que contienen los viriones, además que pueden variar de un virus a otro. El rango estimado va desde los 30 a los 35 polipéptidos (Roizman, 1996), con pesos moleculares entre 16 y 276 Kd.

ADN de los Herpesvirus

El genoma de los herpesvirus corresponde a una doble hebra lineal de ADN, la cual adquiere una forma circular una vez que se libera desde la cápside dentro del núcleo de la célula infectada. El peso molecular del ADN varía aproximadamente desde 120 hasta 230 kpb. La composición de bases (guanidina + citosina) del ADN de diferentes especies de virus herpes varía de 31 a 75% (Roizman, 1996).

En términos generales, los genes de herpesvirus pueden clasificarse dentro de tres categorías: (1) aquellos que codifican proteínas involucradas en la replicación viral (genes tempranos e inmediatos), (2) aquellos que codifican proteínas estructurales (genes tardíos), y (3) un conjunto de genes opcionales, en el sentido de que no se encuentran en todos los

herpesvirus y no son esenciales para la replicación en cultivos celulares (Murphy *et al.*, 1999).

En cuanto a la replicación viral, ésta ha sido estudiada más extensamente en el herpesvirus humano 1 (virus herpes simplex 1). Luego de la adsorción del virus a los receptores de las células del hospedador por medio de los peplómeros de glicoproteína de la envoltura, la nucleocápside penetra en el citoplasma mediante la fusión de la envoltura a la membrana celular o a través de endofagocitosis. En ese momento se libera desde la nucleocápside un complejo ADN – proteína, y entra al núcleo de la célula infectada (Murphy *et al.*, 1999).

La ARN polimerasa II transcribe para tres clases de ARNm: alpha, beta y gamma. De esta forma, cuando el ARN alpha (inmediato) es procesado adecuadamente a ARNm, se traduce en la formación de alpha proteínas que inician la transcripción del ARNm beta (temprano) que determinan la generación de proteínas beta y se suprime la transcripción del ARNm alpha. Entonces comienza la replicación del ADN viral, utilizando algunas proteínas alphas y betas, así como proteínas propias de la célula hospedadora. De esta manera, el programa de transcripción se pone en marcha de nuevo y el resultante ARNm gamma (tardío), transcrito a partir de secuencias distribuidas por todo el genoma, se traduce en proteínas gamma. Durante este ciclo, se producen más de setenta proteínas codificadas por el virus, muchas de las proteínas alpha y beta serán enzimas y proteínas del ADN, mientras que muchas de las gamma serán proteínas estructurales (Murphy *et al.*, 1999).

El ADN viral se replica en el núcleo, y el ADN recién sintetizado es introducido dentro de cápsides inmaduras preformadas. La maduración involucra la encapsidación del ADN en nucleocápsides, así como la asociación de éstas con zonas alteradas de la capa interna de la membrana nuclear. Los viriones maduros se acumulan dentro de vacuolas citoplasmáticas y son liberadas a través de exocitosis o bien mediante la lisis de la célula (Murphy *et al.*, 1999).

Los cuerpos de inclusión intranucleares son característicos de las infecciones por herpesvirus, y pueden encontrarse usualmente en tejidos fijados y teñidos de animales infectados y en cultivos celulares (Murphy *et al.*, 1999).

Propiedades biológicas

Los herpesvirus conocidos hasta el momento comparten, aparentemente, cuatro propiedades biológicas significativas:

1. Especifican para un amplio conjunto de enzimas involucradas en el metabolismo de ácidos nucleicos, síntesis de ADN, y posiblemente, procesamiento de proteínas. El número exacto de enzimas puede variar de un herpesvirus a otro.
2. La síntesis de ADN viral y el ensamblaje de la cápside ocurren en el núcleo. En el caso de algunos herpesvirus, se piensa que talvez podrían desenvolverse y re-entolverse en su tránsito a través del citoplasma. No obstante, la envoltura de la cápside en su tránsito a través de la membrana nuclear es obligatoria.
3. La producción de progene viral infecciosa es invariablemente acompañada por la destrucción irreversible de la célula infectada.
4. Los herpesvirus estudiados hasta la fecha son capaces de permanecer latentes en sus hospederos naturales. En las células que hospedan virus latentes, el genoma viral toma la forma de una molécula circular cerrada, y sólo un pequeño conjunto de genes virales es expresado (Roizman, 1996).

Los herpesvirus también tienen grandes variaciones en relación a sus propiedades biológicas. Algunos tienen un amplio rango de hospederos, se multiplican en forma eficiente, y destruyen rápidamente las células que infectan, ejemplo de ésto lo constituyen el virus herpes simplex tipo 1 y 2 (VHS-1, VHS-2). Otros tienen un rango de hospederos más limitado, como sucede con el Epstein-barr virus (EBV) y el virus herpes humano tipo 6 (VHH6), y existen otros de multiplicación más bien lenta, como es el caso del citomegalovirus humano (CMVH). Si bien, todos los herpesvirus realizan latencia en un conjunto específico de células, éstas varían de un herpesvirus a otro (Roizman, 1996).

Los viriones de herpesvirus son frágiles y no poseen buena sobrevivencia fuera del cuerpo. En general, la transmisión requiere un contacto cercano, particularmente a través de las mucosas. En animales preñados, una viremia asociada a células mononucleares puede resultar en una transferencia del virus a través de la placenta llevando al aborto (Murphy *et al.*, 1999).

Estos virus logran persistir en el hospedero, a través de infecciones latentes en las cuales el virus es periódicamente reactivado luego de períodos de estrés del animal.

Estudios filogenéticos moleculares sugieren que, con pocas excepciones, cada virus es único porque tiene un origen y una coevolución con su hospedero. La latencia permite a los herpesvirus ser perpetuado, incluso en muy pequeños grupos de hospederos (Murphy *et al.*, 1999).

Un amplio rango de enfermedades y síndromes son asociados con la infección de estos virus. Clínicamente, los síntomas pueden ser leves y localizados o incluir enfermedades severas generalizadas, llevando eventualmente a la muerte (Engels y Ackermann, 1996).

Inicialmente, el virus replica en las células epiteliales del lugar de entrada. Los síntomas de enfermedades agudas son usualmente asociados con la destrucción de estas células epiteliales (Engels y Ackermann, 1996). Estos virus producen lesiones en el hombre y los animales, que van desde erupciones vesiculares localizadas en epitelios superficiales, hasta daño difuso y generalizados en las mucosas de los tractos respiratorios, digestivos y genital (Murphy *et al.*, 1999). Además, muchos herpesvirus son capaces de entrar a células neuronales, donde pueden replicar y llevar a enfermedades neuronales, por ejemplo, encefalitis. Adicionalmente, pueden establecer latencia en células neuronales y linfoides. Durante la latencia, aparentemente no se sintetizan antígenos virales, pero el genoma del virus latente está presente en el núcleo de células de vida prolongada. Una vez reactivado el virus, se reestablece el ciclo de replicación y migran de regreso a los tejidos periféricos, donde son excretados y pueden ser transmitidos. Además, la fuerte respuesta inmune que es inducida durante la replicación viral primaria, ayuda a los herpesvirus a escapar de la vigilancia inmune durante la latencia y la reactivación (Engels y Ackermann, 1996).

Kydd *et al* (1994) han detectado la presencia del VHE-1 en los nódulos linfáticos 12 horas después de la inoculación del virus en potrillos, concluyendo que la rápida localización intracelular implica que la inmunidad celular es una importante respuesta del animal infectado. Según Edington *et al* (1994) los nódulos linfáticos respiratorios (bronquiales) son el principal sitio de replicación del VHE-1 y VHE-4, constituyendo el sitio primario de latencia.

Clasificación de los Herpesvirus

El propósito de clasificar los virus dentro de subfamilias y géneros es múltiple. Si bien, el esquema de clasificación es a menudo usado para representar parentescos evolutivos, también es útil para propósitos prácticos, al permitir al laboratorista predecir las propiedades de los virus e identificar nuevos aislados virales. Los miembros de la familia *Herpesviridae* han sido clasificados por el Grupo de Estudio de Herpesvirus del Comité Internacional de Taxonomía Viral (ICTV, en su sigla en inglés) en tres subfamilias: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* y *Gammaherpesvirinae*. Esta clasificación ha sido en base a propiedades biológicas, homología en la secuencia de ADN, similitudes en la disposición de la secuencia del genoma, y parentesco de importantes proteínas virales, demostrable a través de métodos inmunológicos (Roizman, 1996).

Los miembros de la subfamilia *Alphaherpesvirinae* están clasificados en base a un rango variable de hospederos, ciclo reproductivo relativamente corto, crecimiento rápido en cultivos celulares, eficiente destrucción de las células infectadas, y capacidad de establecer infecciones latentes, primariamente pero no de forma exclusiva, en ganglios sensoriales (Roizman, 1996).

La subfamilia *Alphaherpesvirinae* incluye, entre otros, al VHB-1, el virus de la pseudorrabia, el virus de la rinoneumonitis equina, el virus del exantema coital, al VHE-1, virus de la varicela, los herpesvirus de perros, gatos, caprinos y pollos (Murphy *et al.*, 1999).

Infección por VHE-1 en equinos

Los herpesvirus que producen cuadros clínicos de importancia en los equinos pertenecen a la subfamilia *Alphaherpesvirinae* y corresponden al herpesvirus equino 1 (VHE-1) que causa principalmente aborto, el virus herpes equino 4 (VHE-4) causante de rinoneumonitis equina y el herpesvirus equino 3 (VHE-3) responsable del exantema coital equino.

El VHE-1 es la principal causa de abortos en los equinos que pueden presentarse como epizootias, y que ocasionalmente produce rinoneumonitis. También se le considera causante de mortalidad perinatal y algunas cepas también producen encefalitis de forma esporádica (Campbell y Studert, 1983). La ubicación del virus en la familia de los

herpesvirus se basó en estudios comparativos de la morfología viral y de las características bioquímicas y biológicas con el virus herpes simplex humano (VHS), preliminarmente catalogado como tal, denominándosele como VHE-1, siendo el caballo y la mula las especies más susceptibles a la infección natural (Allen y Bryans, 1986).

El primer informe de presentación clínica fue a comienzos de 1922, cuando un brote de abortos afectó a un grupo de equinos en Kentucky, Estados Unidos de Norteamérica (Dimocks y Edwards, 1933). En la década del 30 se asoció el aborto con la presentación respiratoria, al observar que las yeguas preñadas abortaban meses después del cuadro clínico respiratorio. Por diversos estudios se logró demostrar que los agentes causantes de los abortos y de la enfermedad respiratoria eran semejantes (Doll *et al.*, 1954).

La rinoneumonitis equina (RNE) se presenta especialmente en los potrillos después del destete como una enfermedad respiratoria epidémica, principalmente en los meses de otoño e invierno. Puede ser causada por VHE-1 y VHE-4, siendo más grave la producida por el VHE-1. Los casos sin complicación bacteriana se resuelven aproximadamente en una semana (Ruiz *et al.*, 1998). El período de incubación es de 2 a 10 días. Luego cursan con signos clínicos, tales como fiebre, congestión nasal y de la membrana mucosa conjuntival, rinitis serosa, faringitis, traqueobronquitis, anorexia, posteriormente descarga nasal mucopurulenta y tos. Las infecciones bacterianas secundarias, generalmente por estreptococos, pueden producir complicaciones graves como neumonías, pleuritis y enteritis. Los casos no complicados se resuelven en forma natural entre 4 y 8 días (Campbell y Studdert, 1983).

Desde un punto de vista patológico, en la enfermedad respiratoria se observa edema, congestión y petequias en la membrana mucosa nasal, hiperplasia linfoide en la faringe, petequias en los nódulos linfáticos regionales y pequeñas áreas de consolidación en los lóbulos apicales del pulmón (Campbell y Studdert, 1983).

En las yeguas, el aborto ocurre espontáneamente sin signos previos y la mayoría de ellos se presenta en el último tercio de la gestación (9 a 10 meses). Las lesiones más frecuentes en los fetos abortados son respiratorias, especialmente la inflamación de los cornetes nasales. En aproximadamente el 90% de los casos se aprecia edema en los pulmones, neumonía y aumento del líquido pleural, además hay aumento de líquido en la cavidad peritoneal y edema subcutáneo (Jubb *et al.*, 1993). Los cascos, otras zonas blancas

de la piel y las membranas mucosas se observan frecuentemente de coloración amarillenta. En el hígado generalmente hay necrosis focal, encontrándose cuerpos de inclusión intranucleares en los hepatocitos. El bazo está aumentado de tamaño, pudiendo presentar hemorragias en la cápsula (Jubb *et al.*, 1993).

En brotes de abortos que se producen tardíamente en la época de pariciones, nacen potrillos infectados y débiles, que mueren dentro de las 24 horas, con severos signos respiratorios, algunos nacen sanos para luego enfermar y morir 2 a 3 días después. Las lesiones macroscópicas más llamativas se ubican en los pulmones que aparecen voluminosos y firmes, observándose alveolitis no supurativa, bronquitis y bronquiolitis necrotizante (Hartley y Dixon, 1979).

La asociación entre el VHE-1 y mieloencefalitis se comunicó por primera vez en 1966, cuando se aisló el virus de tejido nervioso de animales con parálisis (Berríos y Celedón, 1992).

La mieloencefalopatía en equinos es una manifestación poco común del VHE-1, pero puede causar pérdidas devastadoras cuando genera brotes en haras o granjas. Se puede presentar en animales de cualquier edad. Los signos neurológicos de la enfermedad son el reflejo de una mieloencefalopatía hemorrágica multifocal secundaria a una vasculitis y trombosis. Características típicas de los brotes de la infección son, la aparición repentina de signos, que incluyen ataxia, paresis e incontinencia urinaria en numerosos ejemplares, también antecedentes recientes de fiebre, abortos, o enfermedades respiratorias en los caballos o en el rebaño de yeguas. La prevención es difícil porque existen muchos casos asintomáticos donde el virus está latente provocando la mieloencefalopatía. Además, las vacunas no confieren protección contra las manifestaciones neurológicas de la infección (Wilson, 1997). De todos modos, es recomendable la vacunación contra el virus, debido a que ayuda a reducir la incidencia de enfermedades respiratorias, abortos y enfermedades neonatales, y por lo tanto, indirectamente se puede prevenir la ocurrencia de la forma neurológica de la enfermedad (Kohn y Fenner, 1987).

La presentación de cuadros encefálicos ha sido informada cada vez con mayor frecuencia, en forma independiente o asociada a cuadros respiratorios (Allen y Bryans, 1986).

Existen variados informes de la manifestación neurológica a causa de la infección natural con VHE-1 en equinos (Charlton *et al*, 1976; Whitwell y Blunden, 1992; Murray *et al*, 1998; Donaldson y Sweeney, 1998; Friday *et al*, 2000; Goehring *et al*, 2006; Hicks, 2007). El más reciente reporte corresponde a 72 equinos que, desde enero del 2007, permanecen en cuarentena en la Universidad de Connecticut, donde 21 individuos han mostrado signos de infección por VHE-1, cinco de los cuales han desarrollado signos neurológicos, el resto de ellos sólo han manifestado fiebre y signos respiratorios. El origen de este brote está siendo investigado (Press Release, 2007; The Associated Press, 2007).

Hace algún tiempo, en Alemania, ocurrió un brote de enfermedad neurológica en una escuela de equitación. Se observó ataxia y paresis en muchos caballos, cinco de los cuales quedaron postrados y fueron eutanasiados. Análisis postmortem revelaron una hemorragia difusa a lo largo de la médula espinal, siendo los segmentos torácico y lumbar los más afectados. Paralelo al curso de la enfermedad, se observaron también alteraciones de la mielina y activación de astrocitos y células de la microglia. Estudios virológicos confirmaron una infección aguda por el virus herpes equino 1, el cual fue aislado de la médula espinal de una yegua de 26 años de edad (Stierstorfer *et al*, 2002).

Por otro lado, también existen trabajos experimentales, donde se han inoculado individuos con el virus y se ha logrado inducir la enfermedad neurológica (Jackson *et al*, 1977; Sutton *et al*, 1998). En el caso del trabajo realizado por Jackson *et al*, los animales que no estaban preñados no desarrollaron la enfermedad, más aún, exámenes microscópicos de los tejidos no revelaron cambio alguno. Sin embargo, en todas las yeguas que se encontraban entre su tercer y noveno mes de gestación se manifestó el síndrome neurológico entre el sexto y octavo día de la inoculación. Mientras que yeguas inoculadas es su décimo mes de gestación no desarrollaron desórdenes neurológicos, pero muchas abortaron.

Infección por VHE-1 en Chile

En Chile, la RNE se informó por primera vez en el último trimestre de 1969, con un gran brote de abortos que duró hasta 1976, causando serias pérdidas económicas en la hípica nacional (Berríos y Celedón, 1992). Fue una epizootia que produjo grandes estragos en muchos criaderos, a tal punto que en algunos con pocas yeguas no conservaron ninguna cría (Retamales, 1989). Durante este acontecimiento, se estudiaron 18 fetos abortados entre el 7° y 11° mes de gestación; las muestras de hígado y pulmones fetales fueron inoculadas en cultivos celulares de corteza renal de feto equino y bovino, obteniéndose 9 aislados virales que fueron identificados como VHE-1 por las pruebas de seroneutralización y de fijación del complemento, mientras que el 99,45% de los sueros estudiados presentaron anticuerpos seroneutralizantes específicos contra el VHE-1 (Berríos *et al*, 1979).

El uso sistemático de una vacuna preparada con virus vivo modificado, iniciado con carácter experimental a fines de 1974 y continuado desde 1976, con la autorización oficial del Servicio Agrícola y Ganadero, es coincidente con la disminución gradual de los casos de abortos registrados en la zona central del país (Berríos y Celedón, 1992).

En Chile se empezó a estudiar la RNE, cuando Planas (1974) ensayó la prueba de fijación del complemento en un estudio prospectivo de la RNE en caballos Fina Sangre de Carrera. En este trabajo se encontró un 55% de sueros positivos, y se observó que las hembras presentaban títulos levemente superiores a los machos (Berríos y Celedón, 1992).

En el mismo año, Casanova y Bass (1974) describen el aislamiento del virus RNE desde hígado y pulmones de fetos abortados entre el 6° a 11° mes de preñez (Berríos y Celedón, 1992).

Riveros, en 1976, al estudiar la etiología viral y aspectos clínicos de cuadros respiratorios en equinos Fina Sangre de Carrera en Chile, aisló el virus de la RNE en un 10% de las muestras obtenidas en equinos enfermos y en un 50% de las muestras de fetos abortados entre el 7° y 11° mes de gestación (Berríos y Celedón, 1992).

En 1980 Aedo estudia la respuesta inmune en conejos inoculados con VHE-1 mediante variadas pruebas de laboratorio, resultando la técnica de dilución punto final seroneutralizante (DPFS) la que detectó los títulos más altos. Se concluye que el procedimiento DPFS es la prueba serológica más adecuada para cuantificar la respuesta sérica anti VHE-1 (Berríos y Celedón, 1992).

Con respecto a otros aislamientos del VHE-1 en Chile, cabe destacar dos casos: uno ocurrido en 1984, cuando se aisló una cepa de este virus desde muestras de órganos, hígado y pulmón, de un feto abortado horas después que la madre había ingresado al país proveniente del estado de Kentucky (EEUU) y previamente vacunada contra la RNE, lo que demostraría una de las posibilidades del ingreso de este virus al país. El otro caso se refiere al aislamiento del VHE-1 en la IX Región, desde muestras de hígado y pulmón fetal, de casos de aborto ocurridos en un predio ubicado en la localidad de Victoria, que tenía un total de 173 hembras preñadas a principio de temporada y que no estaban vacunadas contra la RNE. En dicho predio se presentaron 87 abortos, 79 de ellos entre mayo y septiembre de 1982, y 8 entre octubre y diciembre del mismo año. La edad de los 24 fetos encontrados en el terreno era de 5 a 11 meses. El diagnóstico se confirmó con la prueba de inmunofluorescencia directa (IFD) aplicada en impresiones de las muestras originales; el virus aislado se denominó VHE-1 cepa Victoria Chile, 1982. Este hallazgo constituyó el primer aislamiento del virus descrito en la zona sur de Chile, confirmando su diseminación desde la zona central (Berríos y Celedón, 1992).

En 1998, se realiza una descripción anatomopatológica de dos casos de aborto viral equino ocurrido en 1996 en un haras de la VIII Región, que corresponden a lo descrito para la RNE (Ruiz *et al*, 1998).

En un estudio realizado en el Laboratorio de la Unidad de Virología del Servicio Agrícola y Ganadero (S.A.G.) durante el año 2002, se analizaron 20 muestras provenientes del aparato respiratorio superior de equinos Fina Sangre de Carrera del Hipódromo Chile, 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 IFD y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). 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 (Jeria *et al*, 2004).

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 (Jeria *et al*, 2004).

A la fecha no hay otras descripciones referidas a virus herpes en el ganado equino en el país.

El poder identificar si existe infección por un virus antigénicamente relacionado al VHE-1 en los CS del país, tiene importancia tanto para la determinación de éstos como posibles reservorios de la enfermedad para el ganado equino, así como para el aporte de antecedentes y contribución al conocimiento de las patologías que pueden afectar a los CS en Chile.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS DE TRABAJO

En suero de vicuñas, llamas y alpacas del altiplano de la Región de Tarapacá existen anticuerpos neutralizantes para el virus herpes equino 1 (VHE-1).

OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento de la infección por el virus herpes equino 1 (VHE-1) en vicuñas, llamas y alpacas del altiplano de la Región de Tarapacá.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Detectar la presencia de anticuerpos neutralizantes de virus herpes equino tipo 1 (VHE-1) en vicuñas, llamas y alpacas del altiplano de la Región de Tarapacá.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras

Asumiendo que el 1% de los animales de la población de CS poseen anticuerpos seroneutralizantes para el VHE-1; trabajando con un 95% de confianza, para encontrar a lo menos un animal positivo, se determinó un tamaño mínimo de 149 muestras de CS (Thrusfield, 1986). Se analizó un total de 192 muestras (75 de vicuñas, 75 de llamas y 42 de alpacas) las cuales se obtuvieron de diferentes localidades de la Provincia de Parinacota en la Región de Tarapacá entre los años 2005 y 2006, a excepción de 18 muestras de alpacas, las cuales se obtuvieron el año 1987 (Cuadro N° 1). Los sueros se inactivaron a 56°C por 30 minutos y se conservaron en volúmenes de 0,5 a 1 ml en tubos Eppendorf ® a una temperatura de -40°C en el Laboratorio de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, hasta el momento de realizar la prueba de seroneutralización.

Cultivos celulares

Se emplearon células de pulmón fetal bovino cultivadas en medio esencial mínimo (MEM) adicionado con aminoácidos esenciales y no esenciales, bicarbonato de sodio, “buffer” Hepes, combiótico (100 UI de Penicilina más 100 ug de Estreptomicina por ml de medio de cultivo) y un 10% de suero fetal bovino gamma irradiado como factor de crecimiento.

Virus

Se empleó una cepa de referencia (aportada por el SAG) de uso para diagnóstico de anticuerpos de VHE-1 en equinos. La cepa se cultivó inoculando 0,2 ml de ésta en botellas con monocapas de 40 cm² de células de pulmón fetal bovino. Después de sembrado el virus, y luego de que éste manifestara un 90% de efecto citopático, el cual ocurre al cuarto o quinto día post inoculación, las botellas fueron sometidas a tres ciclos de congelación y descongelación a modo de liberar el virus de su ubicación intracitoplasmática. Posteriormente, el medio de cultivo con el virus y los restos celulares se centrifugaron a 1200 g durante 15 minutos y el sobrenadante se distribuyó en volúmenes de 500 ul

dispuestos en tubos Eppendorf ®, los que se mantuvieron congelados a -40°C hasta el momento de su uso.

Cuadro N°1**Localidad y número de muestras recolectadas para detectar la presencia de anticuerpos neutralizantes del VHE-1**

| Especie | Localidad | N° de muestras | Total |
|---------------------------|---------------------------------|-----------------------|--------------|
| Llama¹ | Caquena | 8 | |
| | Cruzani/Parinacota | 10 | |
| | Surire | 8 | |
| | Guallancallan/Gral Lagos | 7 | |
| | Guallatire | 27 | |
| | Visviri | 8 | |
| | Chuslluta/Gral Lagos | 4 | |
| | Humaquenque | 3 | |
| | | | 75 |
| Vicuña² | Chislluma Ankara | 34 | |
| | Caquena Culicculine | 41 | |
| | | | 75 |
| Alpaca³ | Región de Tarapacá ⁴ | 18 | |
| | Cruzani | 3 | |
| | Putre | 1 | |
| | Guallatiri | 6 | |
| | Chislluma | 5 | |
| | Visluvia | 7 | |
| | Colchane | 2 | |
| | | | 42 |

1 Las muestras analizadas corresponden a 28 hembras y 47 machos, con edades que fluctúan entre los 1,5 a 4 años.

2 Las muestras analizadas corresponden a 44 hembras y 31 machos. No se obtuvo registro de las edades.

3 De las muestras obtenidas el año 2006, de un total de 24 muestras analizadas, 16 corresponden a machos y 8 a hembras, con edades que fluctúan entre los 2,5 y 3,5 años.

4 No se conoce la localidad de donde fueron obtenidas las muestras del año 1987, tampoco se tiene registro del sexo de los individuos.

Titulación viral

Previo a la realización de la prueba de seroneutralización se requiere titular la capacidad infectante del virus, para lo cual se realizaron diluciones, de la suspensión viral, en base 10 desde 10^{-1} a 10^{-7} distribuyéndose 25 ul de cada dilución en cuatro pocillos de una microplaca (CELLSTAR®) de 96 pocillos, de fondo plano. Luego se adicionó 50 ul de una suspensión de células en una concentración de 150.000 células por ml de MEM adicionado de un 15% de suero fetal bovino. La microplaca se incubó a 37°C por 96 horas, en un ambiente con un 5% de CO₂, realizando observaciones microscópicas diarias para registrar los pocillos con efecto citopático (Lennette y Schmidt, 1964). La presencia del virus se evidenció por el típico efecto citopático de los herpesvirus, de englobamiento, refringencia y lisis celular. El título del virus se calculó por el método de Reed y Muench (1938), y corresponde a la dilución viral que produce efecto citopático en el 50 % de la población de pocillos celulares y representa 1 dosis infectante cultivo de tejido 50% (DICT₅₀).

Prueba de dilución punto final seroneutralizante (DPFS)

La seroneutralización dilución punto final (SNDPF) consiste en mezclar el suero problema de cada animal, en diluciones base dos, con una cantidad fija de virus, 100 DICT₅₀. La capacidad del suero para impedir la multiplicación viral sobre un cultivo celular susceptible de ser infectado se expresa como la ausencia de efecto citopático sobre las células. Si el suero no posee anticuerpos seroneutralizante para el virus, se produce la lisis celular por acción de las 100 DICT₅₀ del virus. Si se inhibe la acción viral, la capacidad neutralizante del suero demuestra la presencia de anticuerpos, pudiendo dicha capacidad ser cuantificada (Schmidt, 1964).

Técnica de la prueba DPFS

Se efectuó en microplacas de 96 pocillos, realizándose diluciones al doble del suero en volúmenes de 25 ul, empleándose dos pocillos por dilución. A cada dilución del suero se adicionó 25 ul de 200 DICT₅₀ del virus respectivo. Paralelamente, se incluyeron sueros controles positivos (anti VHE-1) y negativos (Lennette y Schmidt, 1964). Las mezclas de suero-virus y controles se incubaron por 1 hora a 37 °C, luego se adicionó 50 ul de una suspensión celular de 200.000 células/ml adicionado con un 15% de suero fetal bovino y se

incubó a 37°C en un ambiente de 5% de CO₂ por 96 horas, con observación microscópica cada 24 horas, en busca del efecto citopático típico de los herpesvirus, de englobamiento, refringencia y lisis celular.

El título neutralizante del suero se define como la dilución de suero que protege al 50% de la población de cultivos celulares infectados con 100 DICT₅₀ de VHE-1.

Análisis de resultados

Los resultados serán analizados por distribución de frecuencias de títulos serológicos, separados por sexo y por lugar geográfico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 192 muestras de CS analizadas, ninguna presentó anticuerpos neutralizantes para el VHE-1 o para algún otro virus antigénicamente relacionado.

Con este resultado se puede asumir que los CS involucrados en el estudio no han sido infectados por el VHE-1 o por algún otro virus con el cual comparta antígenos, y de estar presente el virus en la región, sería en un porcentaje menor al 1% de la población estudiada.

Las diferencias antigénicas entre los distintos tipos de virus herpes, y más aún, variaciones antigénicas entre distintos aislados de un mismo tipo, especialmente para el VHE-1, abre la posibilidad que muchas veces el uso de una cepa de laboratorio para detectar anticuerpos neutralizantes contra un herpesvirus oculte la presencia de otro virus herpes de similares características pero con variaciones antigénicas que lo hacen indetectable a través de las pruebas de seroneutralización. Sin embargo, en el presente estudio se utilizó la cepa Oregon, la misma cepa antigénica empleada en el estudio realizado por Vergara (2004), quien sí encontró anticuerpos, en sueros de CS, que reaccionaron contra la cepa viral.

Es importante destacar que las muestras analizadas fueron obtenidas desde individuos sanos, es decir, sin manifestación clínica de enfermedad. Por lo tanto, existe la posibilidad que algún individuo haya sido infectado con el virus, el cual estaba en latencia al momento de la obtención de las muestras, y el nivel de anticuerpos no pueda ser detectado por la prueba de seroneutralización, o simplemente ya no hay anticuerpos. Hay que tener presente que la respuesta inmune de los CS es similar a la de los equinos, los cuales alcanzan títulos máximos de anticuerpos neutralizantes aproximadamente a la tercera semana después de la infección, manteniéndose durante 4 a 5 meses y luego disminuyen hasta desaparecer entre los 6 y 12 meses, en ausencia de reactivación del virus en latencia (Allen y Bryans, 1986).

Lo más probable es que los resultados obtenidos se deban al aislamiento geográfico en el que se encuentran los CS involucrados en el estudio, los cuales se encuentran por encima de los 3.500 metros sobre el nivel del mar, condiciones a las que difícilmente pueden acceder otras especies emparentadas con los camélidos, como son los equinos. Por el contrario, los CS involucrados en el estudio realizado en el año 2004, en el cual se

detectaron seropositivos para el VHE-1, las alpacas y llamas eran de la Región Metropolitana, donde es mucho más probable su infección con el virus desde animales portadores. Cabe recordar, que los herpesvirus necesitan de contacto cercano, principalmente a través de mucosas, para su transmisión, y poseen escasa sobrevivencia fuera del hospedero (Murphy *et al.*, 1999).

La existencia de anticuerpos neutralizantes para el VHE-1 en el 56% de los sueros de vicuñas, analizados por Vergara (2004), pertenecientes a la Región de Tarapacá, se podría deber a que las muestras fueron obtenidas desde una localidad distinta a la que se consideró en el presente estudio.

Se podría pensar, que el manejo de las muestras de sueros, desde una región lejana del país, podría haber afectado la viabilidad de los sueros, lo que hubiese alterado la presencia de anticuerpos en los mismos. Sin embargo, ésto es poco probable, debido a que se utilizaron los mismos sueros para detectar la presencia de anticuerpos para el virus parainfluenza 3 (VPI-3) con resultados positivos (Aguirre, 2006).

El hecho de no haber detectado anticuerpos contra el VHE-1 en los sueros analizados en este estudio, no implica, de manera absoluta, su ausencia dentro de la población de CS de la cual se obtuvieron las muestras, siendo importante recordar los resultados obtenidos por Picton (1993), cuyo trabajo incluyó el análisis de 270 sueros de llamas, de los cuales sólo uno presentó anticuerpos seroneutralizantes contra el VHE-1, lo que corresponde a un 0,37% de seropositividad.

El resultado de este estudio podría ser significativamente positivo para la sanidad de los CS de la Región de Tarapacá, debido a que al ser el VHE-1 agente causal de importantes pérdidas productivas y reproductivas dentro de la población equina, no es un virus que estaría afectando a los CS de esta zona del país. Probablemente, estos individuos tampoco estarían infectados con un herpesvirus propio y antigénicamente relacionado con el VHE-1, que pueda generar problemas similares a los que ocurren en los equinos. Por lo tanto, ante la aparición de CS con signos clínicos atribuibles a un herpesvirus, serían necesarias nuevas investigaciones para detectar la responsabilidad que podría tener el VHE-1 o algún virus similar en la presentación de estos signos. Por el momento, sólo cabe recomendar que se mantengan barreras sanitarias que impidan el contagio de estas especies con el VHE-1, vigilando la introducción de CS desde otras regiones de Chile y desde otros países, pero,

principalmente, resguardar la introducción de otras especies animales, particularmente équidos, hacia las zonas altiplánicas donde habitan los CS, para así impedir el contacto cercano entre estas especies, y un eventual contagio de los camélidos con un virus que podría traer negativas consecuencias para la población.

CONCLUSIÓN

Mediante la técnica de seroneutralización aplicada, se concluye que menos del 1% de los CS de la Región de Tarapacá, Provincia de Parinacota, ubicados en la localidades de Caquena, Cruzani/Parinacota, Surire, Guallancallan/Gral Lagos, Guallatire, Visviri, Chuslluta/Gral Lagos, Humaquenque, Chislluma/Ankara, Caquena Culicculine, Putre, Visluvia, Colchane, podrían estar infectados con VHE-1 o con un virus herpes que comparte antígenos con el VHE-1.

BIBLIOGRAFÍA

AFSHAR, A.; HECKERT, R.A.; DULAC, G.C.; TROTTER, H.C.; MYERS, D.J. 1995. Application of a competitive ELISA for the detection of bluetongue virus antibodies in llamas and wild ruminants. *J. Wildl. Dis.* 31(3):327-30.

AGUIRRE, I.M.; SANTIBAÑEZ, M.C.; CELEDÓN, M.O. 2006. Detection of neutralizing antibodies against bovine parainfluenza virus-3 (BPIV-3) in vicuñas (*Vicugna vicugna*) in Chile. **In:** VII International Congress of Veterinary Virology. Lisboa, Portugal. 24-27 septiembre 2006. European Society for Veterinary Virology. pp. 177.

ALLEN, G.P.; BRYANS, J.T. 1986. Molecular epizootiology, pathogenesis and prophylaxis of equine herpesvirus-1 infections. **In:** Pandey, R. (Ed.), *Progress in Veterinary Microbiology and Immunology*, vol. 2, S. Karger, Basel, pp 78-144.

ARCE, C. 2001. Infección por pestivirus en un rebaño de alpacas de la zona central de Chile. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 42 p.

BELKNAP, E.B.; COLLINS, J.K.; LARSEN, R.S.; CONRAD, K.P. 2000. Bovine viral diarrhoea virus in New World camelids. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12 (6):568-70.

BERRÍOS, P.; CELEDÓN, M. 1992. Rinoneumonitis Equina en Chile (1969-1992). *Avances en Ciencias Veterinarias.* 7: 137-153.

BERRÍOS, P.; RIVEROS, V.; PHILLIPS, A.; CRUZ, N.; LUENGO, M. 1979. Aislamiento del virus de la rinoneumonitis equina en cultivos celulares desde casos naturales de aborto. *Arch. Med. Vet.* 11: 109-112.

BRIDGES, C.G.; EDINGTON, N. 1986. Innate immunity during equid herpesvirus 1 (EHV-1) infection. *Clin. Exp. Immunol.* 65(1):172-81.

CALLIS, J.J.; CRAIG, D.A. 1992. Foot-and-mouth disease. **In:** Castro, A.E.; Heuchele, W.P. (eds). *Veterinary Diagnostic Virology, A Practitioner's Guide.* St Louis, Mosby Year Book. pp 100-103. (citado por Mattson, D.E. 1994. *Viral diseases. Update on llamas medicine.* *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 10:345-351.

CAMPBELL, T.M.; STUDERT, M.J. 1983. Equine herpesvirus type 1 (EHV-1). *Vet. Bull.* 53: 135-146.

CELEDÓN, M.O. 1993. Nuevos antecedentes en el comportamiento del virus de la diarrea viral bovina. Situación en Chile, *Av. Cs. Vet.* 8: 11-17.

CELEDÓN, M.; CARBONELL, J.; IBARRA, L.; PIZARRO, J. 1998. Detección de bovinos portadores e inmunotolerantes al virus de la diarrea viral bovina en predios lecheros de la Región Metropolitana de Chile. Arch. med. vet. vol.30, no.1 p.125-132 [en línea] <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X1998000100014&lng=es&nrm=iso>. [consulta: 05-08-2006]

CELEDÓN, M.; PALACIOS, L.; PIZARRO, J.; IBARRA, L. 1997a. Prevalencia de anticuerpos seroneutralizantes para el virus de la diarrea viral bovina en ganado de carne de la Región Metropolitana de Chile. Av. Cs. Vet. 12:98-100.

CELEDÓN, M.O.; ROCO, L.; QUINTEROS, G.; SANTIBAÑEZ, M.; BERRIOS, P. 1997b. Puesta en evidencia del virus diarrea viral bovina en bovinos clínicamente afectados, Arch. Med. Vet. 29 (2): 189-195.

CELEDÓN, M.; SANDOVAL, A.; DROGUETT, J.; CALFÍO, R.; ASCENCIO, L.; PIZARRO, J.; NAVARRO, C. 2001. Pesquisa de anticuerpos seroneutralizantes para pestivirus y herpesvirus en ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos de Chile. Arch. Med. Vet. 33:165-172.

CELEDÓN, M.; VARGAS, C.; SALINAS, A.; CASANOVA, A.; IBARRA, L.; BERRÍOS, P. 1996. Prevalencias serológicas para el virus de la diarrea viral bovina y de la rinotraqueítis infecciosa bovina en predios lecheros de la Región Metropolitana de Chile. Av. Cs. Vet. 11:75-80.

CHARLTON, K.M.; MITCHELL, D.; GIRARD, A.; CORNER, A.H. 1976. Meningoencephalomyelitis in horses associated with equine herpesvirus 1 infection. Vet. Pathol. 13(1):59-68.

CROSS, R.F.; SMITH, C.K.; MOOREHEAD, P.D. 1975. Vertical transmission of progressive pneumonia of sheep. Am. J. Vet. Res. 36: 465-469. (citado por Mattson, D.E. 1994. Viral diseases. Update on llamas medicine. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract. 10:345-351.

DIMOCK, W.W.; EDWARDS, P.R. 1933. Is there a filtrable virus of abortion in mares?. Kentucky Agr. Exp. Sta. Bull. Suppl. 333:297-301. (citado por Foote, C.E.; Gilkerson, J.R.; Whalley, J.M.; Love, D.N. 2003. Seroprevalence of equine herpesvirus 1 in mares and foals on a large Hunter Valley stud farm in years pre and postvaccination. Aust. Vet. J. 81:283-288).

DOLL, E.R.; WALLACE, M.E.; RICHARD, M.G. 1954. Termal, hematological and serological responses of weanling horses following inoculation with equine abortion virus: its similarity to equine influenza. Cornell Vet. 44:181-190.

DONALDSON, M.T.; SWEENEY, C.R. 1998. Herpesvirus myeloencephalopathy in horses: 11 cases (1982-1996). J. Am. Vet. Med. Assoc. 1;213(5):671-5.

DOYLE, LG.; HEUSCHELE, W.P. 1983. Bovine virus diarrhoea virus infection in captive exotic ruminants. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183:1257-1259.

EDINGTON, N.; WELCH, H. M.; GRIFFITHS, L. 1994. The prevalence of latent equid herpesvirus in the tissues of 40 abattoir horses, *Equine Vet. J.* 26: 140-142.

ENGELS, M.; ACKERMANN, M. 1996. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Vet. Microbiol.* 53 (1-2): 3-15.

EVERMANN, J.F.; BERRY, E.S.; BASZLER, T.V. 1993. Diagnostic approaches for the detection of bovine viral diarrhoea (BVD) virus and related pestiviruses. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5: 265-269.

FAO (ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN). 2005. Situación actual de los camélidos sudamericanos en Chile. 72 pp.

FERNANDEZ-BACA, S. 1991. Avances y perspectivas del conocimiento de camélidos sudamericanos .FAO. Oficina Regional de Producción Animal. Santiago de Chile. 429 pp.

FIA (FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA). 2000. Camélidos en Chile situación actual y perspectivas. Gobierno de Chile. 130pp.

FONDEVILA, N.A.; MARCOVECCIO, F.J.; BLANCO VIERA, J.B.; O'DONNELL, V.K.; CARRILLO, B.J.; SCHUDEL, A.A.; DAVID, M.; TORRES, A.; MEBUS, C.A. 1995. Susceptibility of llamas (*Lama glama*) to infection with foot-and-mouth-disease virus. *Zentralbl Veterinarmed B.* Dec;42(10):595-9.

FOOTE, C.E.; GILKERSON, J.R.; WHALLEY, J.M.; LOVE, D.N. 2003. Seroprevalence of equine herpesvirus 1 in mares and foals on a large Hunter Valley stud farm in years pre and postvaccination. *Aust. Vet. J.* 81:283-288.

FOWLER, M. 1989. *Infectious Diseases. Medicine and Surgery of South American Camelids.* 5th Ed. Ames, Iowa State University Press. pp 105-107.

FRAMPTON, A.R.; SMITH, P.M.; ZHANG, Y.; GRAFTON, W.D.; MATSUMURA, T.; OSTERRIEDER, N.; O'CALLAGHAN, D.J. 2004. Meningoencephalitis in mice infected with an equine herpesvirus 1 strain KyA recombinant expressing glycoprotein I and glycoprotein E. *Virus Genes.* 29(1):9-17.

FRIDAY, P.A.; SCARRATT, W.K.; ELVINGER, F.; TIMONEY, P.J.; BONDA, A. 2000. Ataxia and paresis with equine herpesvirus type 1 infection in a herd of riding school horses. *J. Vet. Intern. Med.* 14(2):197-201.

GALBREATH, E.J.; HOLLAND, R.E.; TRAPP, A.L.; BAKER-BELKNAP, E.; MAES, R.K.; YAMINI, B.; KENNEDY, F.A.; GILARDY A.K.; TAYLOR, D. Adenovirus-associated pneumonia and hepatitis in four llamas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204:424-426.

GALLETTI VERNAZZANI, E. 1997. Relación del virus diarrea viral bovina con aborto y/o síndrome de vaca repetidora en bovinos serológicamente negativos a brucelosis. Memoria Título Med. Vet., U. de Chile, 53 pp. (citado por Celedón, M.; Carbonell, J.; Ibarra, L. *et al.* 1998. Detección de bovinos portadores e inmunotolerantes al virus de la diarrea viral bovina en predios lecheros de la Región Metropolitana de Chile. *Arch. med. vet.* vol.30, no.1, p.125-132.)

GATES, N.L.; WINWARD, L.D.; GORHAM, J.R. 1978. Serologic survey of prevalence of ovine progressive pneumonia in Idaho range sheep. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 73:1575-1577. (citado por Mattson, D.E. 1994. Viral diseases. Update on llamas medicine. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 10:345-351.

GOEHRING, L.S.; VAN WINDEN, S.C.; VAN MAANEN, C.; SLOET VAN OLDRUITENBORGH-OOSTERBAAN, M.M. 2006. Equine herpesvirus type 1-associated myeloencephalopathy in The Netherlands: a four-year retrospective study (1999-2003). *J. Vet. Intern. Med.* 20(3):601-7.

GOMEZ, D. 1964. Ensayos sobre susceptibilidad de los Auguenidos a la estomatitis vesicular. In *Anales II Cong Nac Med Vet y Zoot*, Lima, Perú. 403-406 pp. (citado por Mattson, D.E. 1994. Viral diseases. Update on llamas medicine. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 10:345-351.

HARTLEY, W.J.; DIXON, R.J. 1979. An outbreak of foal perinatal mortality due to equid herpesvirus type 1: Pathological observations in New Zealand. *N.Z. vet. J.* 29:7-8.

HICKS, S. 2007. Equine Herpesvirus Quarantines Horse At Newtown Veterinary Facility. [en línea] <<http://www.newtownbee.com/News.asp?s=News-2007-01-04-13-44-56p1.htm>> [consulta: 30-01-2007]

HOUSE, J.A.; GREGG, D.A.; LUBROTH, J.; DUBOVI, E.J.; TORRES, A. 1991. Experimental equine herpesviru-1 infection in llamas (*Lama glama*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 3:137-143.

HUTCHISON, J.M.; GARRY, F.B.; JOHNSON, L.W.; QUACKENBUSH, S.L.; GETZY, D.M.; JENSEN, W. A.; HOOVER, E.A. 1992. Immunodeficiency Syndrome associated with wasting and opportunistic infection in juvenile llamas: 12 cases (1988-1990). *J. of American Vet. Med. Assoc.* 201:1070-1076.

INE (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICAS).1997. VI Censo Agropecuario. Resultados Preliminares. Edición José Cayuela. Stgo. Chile, INE, 443 p.

JACKSON, T.A.; OSBURN, B.I.; CORDY, D.R.; KENDRICK, J.W. 1977. Equine herpesvirus 1 infection of horses: studies on the experimentally induced neurologic disease. *Am. J. Vet. Res.*38(6):709-19.

JERIA, J.; GARCÍA, A.; ANDAETA, F.; MATHIEU, C. 2004. Identificación del herpesvirus equino en fina sangre de carrera. [en línea] Boletín veterinario oficial. < <http://www.bvo.sag.gob.cl/noviembre2004/6.htm>> [consulta: 14-09-2006]

JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. 1993. Pathology of domestic animals, 4^a edition, Academic Press, Inc., California, USA, vol. 3: 436-438. (citado por Ruiz, A.; Quezada, M.; Gómez-Villamandos, J. *et al.* 1998. Aborto viral equino. Descripción anatomopatológica de dos casos ocurridos en la VIII Región, Chile. *Arch. med. vet.*vol.30, no.1, p.161-168).

KOHN, C.W.; FENNER, W.R. 1987. Equine herpes myeloencephalopathy. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* 3(2):405-19.

KUTZLER, M.; MATTSON, D. 2004. Infection, clinical disease, and vaccination in camelids. West Nile virus update. *Alpacas magazine.* Pp. 192-195.

KYDD, J.H.; SMITH, K.C.; HANNANT, D.; LIVESAY, G.J.; MUMFORD, J.A. 1994. Distribution of equine herpesvirus-1 (EHV-1) in the respiratory tract of ponies: implications for vaccination strategies, *Equine Vet. J.* 26: 466-469. (citado por Ruiz, A.; Quezada, M.; Gómez-Villamandos, J. *et al.* 1998. Aborto viral equino. Descripción anatomopatológica de dos casos ocurridos en la VIII Región, Chile. *Arch. med. vet.*vol.30, no.1, p.161-168).

LENETTE, E.H.; SCHMIDT, N.J. 1964. Tissue culture methods and procedures for diagnostic virology. In: Lennette E.H; Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases.3rd ed. Broadway, New York.:78-176 .

LUBROTH, J.; YEDLOUTSCHING, R.J. 1987. Foot-and- mouth disease studies in the llama. In: USAHA Proc. 91st Annual Meeting, Richmond, VA. October 1987. pp. 313-315.

LUBROTH, J.; YEDLOUTSCHNIG, R.J.; CULHANE, V.K.; MIKICIUK, P.E. 1990. Foot-and-mouth disease virus in the llama (*Lama glama*): diagnosis, transmission, and susceptibility. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2(3):197-203.

MANCINI, H. 1952. Ensayos sobre la receptividad de los anguénidas a la fiebre aftosa. *Bol. Inst. Nac. Antiaftoso, Lima, Perú.* 1:127-145.

MELENDEZ, P., M.O. CELEDÓN. 1995. Pesquisa del virus diarrea viral bovina desde un cuadro respiratorio atípico en novillo, *Av. Cs. Vet.* 10: 83-85.

MATTSON, D.E. 1994. Viral diseases. Update on llamas medicine. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 10:345-351.

MORO, M. 1971a. Ectima. En: La Alpaca. Enfermedades Infecciosas y Parasitarias. Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura. Unva Nac. San Marcos, Lima, Perú. 8:34. (citado por Mattson, D.E. 1994. Viral diseases. Update on llamas medicine. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 10:345-351).

MORO, M. 1971b. Fiebre aftosa en Alpaca. En: La Alpaca. Enfermedades Infecciosas y Parasitarias. Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura. Unva Nac. San Marcos, Lima, Perú. 8:34. (citado por Mattson, D.E. 1994. Viral diseases. Update on llamas medicine. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 10:345-351).

MOTHA, M.X.J.; THAM, K-M. 1992. Pestivirus infections in a llama (*Lama glama*). N. Z. Vet. J. 40:126. (citado por Mattson, D.E. 1994. Viral diseases. Update on llamas medicine. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 10:345-351).

MURPHY, F.A.; GIBBS, E.P.; HORZINEK, M.C.; STUDDERT, M.J. 1999. Veterinary Virology. 3rd. Academic Press. New York. USA. 629p.

MURRAY, M.J.; DEL PIERO, F.; JEFFREY, S.C.; DAVIS, M.S.; FURR, M.O.; DUBOVI, E.J.; MAYO, J.A. 1998. Neonatal equine herpesvirus type 1 infection on a thoroughbred breeding farm. J. Vet. Intern. Med. 12(1):36-41.

OSTLUND, E.N. 1993. The equine herpesviruses. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 9(2):283-94.

PARREÑO, V.; COSTANTINI, V.; CHEETHAM, S.; BLANCO VIERA, J.; SAIF, L.J.; FERNÁNDEZ, F.; LEONI, L.; SCHUDEL, A. 2001. First isolation of rotavirus associated with neonatal diarrhoea in guanacos (*Lama guanicoe*) in the Argentinean Patagonia Region. J. Vet. Med. B. 48:713-720.

PATEL, J.R.; HELDENS, J. 2005. Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) epidemiology, disease and immunoprophylaxis: a brief review. Vet J. 170(1):6-7.

PICTON, R. 1993. Serologic survey of llamas in Oregon for antibodies to viral diseases of livestock (MS thesis). Corvallis, Oregon State University. (citado por Mattson, D.E. 1994. Viral diseases. Update on llamas medicine. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 10:345-351).

PRESS RELEASE. 2007. Herpesvirus: University of Connecticut Horses Quarantined. [en línea] <<http://www.thehorse.com/ViewArticle.aspx?ID=8645>> [consulta: 30-01-2007]

PUNTEL, M.; FONDEVILA, N.A.; BLANCO VIERA, J.; O'DONNELL, V.K.; MARCOVECCHIO, J.F.; CARRILLO, B.J.; SCHUDEL, A.A. 1999. Serological survey of viral antibodies in llamas (*Lama glama*) in Argentina. Zentralbl Veterinarmed B. 1999 Apr;46(3):157-61.

RAMÍREZ, A. 1971. Ectima Contagioso en Alpaca. En: La Alpaca. Enfermedades Infecciosas y Parasitarias. Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura. Unva Nac San Marcos, Lima , Perú. 8:34. (citado por Mattson, D.E. 1994. Viral diseases. Update on llamas medicine. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 10:345-351).

REBHUN, W.C.; JENKINS, D.H.; RIIS, R.C.; DILL, S. G.; DUBOVI, E.J.; TORRES, A. 1988. An epizootic of blindness and encephalitis associated with Herpesvirus indistinguishable from equine herpesvirus 1 in a herd of alpacas and llamas J. Am. Vet. Med. Assoc. 192:953-956.

REED, L.J.; MUENCH, H. 1938. A simple method of estimating fifty-percent endpoints. Am. J. Hyg. 27:493-497.

REED, S.M.; TORIBIO, R.E. 2004. Equine herpesvirus 1 and 4. Vet. Clin. North Am. Equine Pract.20(3):631-42.

REINHARDT, G. 1992. Diarrea viral bovina/enfermedad mucosa, una enfermedad viral compleja, Monografías Med. Vet. 14: 49-55. (citado por Celedón, M.; Carbonell, J.; Ibarra, L. et al. 1998. Detección de bovinos portadores e inmunotolerantes al virus de la diarrea viral bovina en predios lecheros de la Región Metropolitana de Chile. Arch. med. vet. vol.30, no.1, p.125-132).

REINHARDT, G.; RIEDEMANN, S.; ERNST, S.; AGUILAR, M.; ENRIQUEZ, M.; GALLARDO, J. 1990. Seroprevalence of bovine viral diarrhoea/mucosal disease in Southern Chile. Prev. Vet. Med. 10:73-78.

REINHARDT, G.; RIEDEMANN, S. ; FIEDLER, H. ; NIEDDA, M. ; AGUILAR, M. ; CUBILLOS, V. ; PAREDES, E. 1986. Diarrea viral bovina/enfermedad mucosa. Primer aislamiento del agente causal en Chile, Arch. Med. Vet. 18: 157-161. (citado por Celedón, M.; Carbonell, J.; Ibarra, L. et al.1998. Detección de bovinos portadores e inmunotolerantes al virus de la diarrea viral bovina en predios lecheros de la Región Metropolitana de Chile. Arch. med. vet. vol.30, no.1, p.125-132).

RETAMALES, R. 1989. Reproducción, crianza, manejo de un haras F.S. de carrera. Ediciones Mar del Plata, Santiago de Chile.

RIVERA, H.; MADEWELL, B.R.; AMEGHINO, E. 1987. Serologic survey of viral antibodies in the Peruvian alpaca (*Lama pacos*). Am. J. Vet. Res. 48:189-191.

ROIZMAN, B. 1996. Herpesviridae. In: Fields, B.N.; Knipe, D.M.; Howley, P.M.; Chanock, R.M.; Melnick, J.L.; Monath, T.P.; Roizman, B.; Straus, S.E. Fields Virology. Third Edition. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia. 71: 2221-2230.

RUIZ, A.; QUEZADA, M.; GOMEZ-VILLAMANDOS, J.; BERRÍOS, P.; SIERRA, A. 1998. Aborto viral equino. Descripción anatomopatológica de dos casos ocurridos en la VIII Región, Chile. Arch. med. vet. vol.30, no.1, p.161-168.

SABINE, M.; WHALLEY, J. 1986. Towards a vaccine against equine herpesvirus 1. Aust. Vet. J. 66:403-404. (citado por Berríos, P.; Celedón, M. 1992. Rinoneumonitis Equina en Chile (1969-1992). Avances en Ciencias Veterinarias. 7: 137-153).

SAXEGAARD, F. 1966. Isolation and identification of equine pneumonitis virus (equine abortion virus) from cases of abortion and paralysis. Nordisk Veterinaermedicin. 18:504-516. (citado por Schultheiss, P.C.; Collins, J.K.; Hotaling, S.F. 1997. Immunohistochemical demonstration of equine herpesvirus-1 antigen in neurons and astrocytes of horses with acute paralysis. Vet. Pathol. 34:52-54).

SCHMIDT, N.J. 1964. Tissue culture methods and procedures for diagnostic virology. In Lennette E.H; Diagnostic procedures for viral and rickettsial diseases. 3rd ed. Broadway, New York.:78-176 .

SCHULTHEISS, P.C.; COLLINS, J.K.; HOTALING, S.F. 1997. Immunohistochemical demonstration of equine herpesvirus-1 antigen in neurons and astrocytes of horses with acute paralysis. Vet. Pathol. 34:52-54.

STIERSTORFER, B.; EICHHORN, W.; SCHMAHL, W.; BRANDMULLER, C.; KAADEN, O.R.; NEUBAUER, A. 2002 . Equine herpesvirus type 1 (EHV-1) myeloencephalopathy: a case report. J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health. 49(1):37-41.

SUTTON, G.A.; VIEL, L.; CARMAN, P.S.; BOAG, B.L. 1998. Pathogenesis and clinical signs of equine herpesvirus-1 in experimentally infected ponies in vivo. Can. J. Vet. Res. 62: 49-55.

THE ASSOCIATED PRESS. 2007. Herpesvirus: 21 University of Connecticut Horses Showing Clinical Signs. [en línea] < <http://www.thehorse.com/ViewArticle.aspx?ID=8716>> [consulta: 30-01-2007].

THEDFORD, T.R.; JHONSON, L.W. 1989. Infectious diseases of new-world camelids (NWC). Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 5:145-156.

THRUSFIELD, M. 1986. Veterinary Epidemiology. Butterworths, London. 280 p.

VAN MAANEN, C. 2002. Equine herpesvirus 1 and 4 infections: an update. 24(2):58-78.

VERGARA, J.F. 2004. Primera detección en Chile de anticuerpos seroneutralizantes contra herpesvirus equino tipo 1 en camélidos sudamericanos. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 45 p.

WENTZ, P.A.; BELKNAP, E.B.; BROCK, K.V.; COLLINS, J.K.; PUGH, D.G. 2003. Evaluation of bovine viral diarrhea virus in New World camelids. J. Am. Vet. Med. Assoc. 223:223-228.

WHITWELL, K.E.; BLUNDEN, A.S.1992. Pathological findings in horses dying during an outbreak of the paralytic form of Equid herpesvirus type 1 (EHV-1) infection. *Equine. Vet. J.* 24(1):13-9.

WILSON, W.D. 1997. Equine herpesvirus-1 myeloencephalopathy. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* 13(1):53-72.

YAEGER, M.; YOON, K.J.; SCHWARTZ, K.; BERKLAND, L. 2004. West Nile virus meningoencephalitis in a Suri alpaca and Suffolk ewe. *J. Vet. Diagn. Invest.* 16(1):64-6.