

Detección molecular de Parvovirus Equino-Hepatitis en Argentina.

Ruiz V¹, Olgún Perglione C¹, Álvarez I¹.

¹ Laboratorio de Virus Adventicios, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT) INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. E-mail: ruiz.vanesa@inta.gov.ar

El nuevo Parvovirus equino-hepatitis (EqPV-H) identificado en 2018, está asociado con hepatitis subclínica a grave en caballos y parece ser el agente etiológico de la enfermedad de Theiler (ET). Esta enfermedad es una de las causas más comunes de hepatitis aguda y falla hepática en caballos y se ha descrito con mayor frecuencia luego de la administración de productos biológicos de origen equino. Sin embargo, la enfermedad también ha sido reportada en caballos sin antecedentes de administración de productos biológicos equinos, así como en animales que estuvieron en contacto con casos de ET. Los caballos con EqPV-H pueden ser portadores sanos sin signos clínicos, por lo que podrían servir como reservorios para la infección de otros caballos. La infección por EqPV-H fue detectada en Estados Unidos, Canadá, China, Alemania, Eslovenia, Austria y recientemente en Brasil, con una prevalencia de ADN de 3,2-19,8% y una seroprevalencia de 15-34% en caballos clínicamente sanos, y 47-100% en animales con ET. Se ha reportado también la presencia de ADN de EqPV-H en lotes de suero equino comercial. Hasta el momento no hay reportes sobre la circulación de EqPV-H en Argentina. Considerando el riesgo potencial que implica la presencia de EqPV-H en productos biológicos de origen equino, resulta necesario conocer la situación sanitaria de nuestros caballos para impedir la propagación de la infección y la contaminación de los productos derivados de ellos, lo que eventualmente impediría su comercialización con países donde sea requisito sanitario la ausencia de EqPV-H (como es el caso de Estados Unidos al día de hoy).

OBJETIVO

Investigar la presencia de EqPV-H en *pooles* de suero equino provenientes de 2 establecimientos nacionales que elaboran productos biológicos.

METODOLOGÍA

- Se analizaron 51 *pooles* de suero equino. Cada *pool* está constituido por suero de 10-15 caballos. Las muestras pertenecen a dos establecimientos que elaboran productos biológicos (establecimiento A: 30 muestras, establecimiento B: 21 muestras).
- A partir de 200 µl de suero de cada *pool* se realizó la extracción de ADN utilizando un kit comercial (Roche). Se analizó la presencia de ADN de EqPV-H mediante PCR en tiempo real (qPCR), técnica previamente estandarizada y validada en nuestro laboratorio con un panel de proficiencia internacional.
- Las muestras positivas o indeterminadas (muestras en las que una o ambas réplicas presentaron un valor de Ct mayor al límite de detección [<5 copias/reacción]), fueron amplificadas por PCR punto final con cebadores dirigidos a la región NS1 (utilizada para análisis filogenético).

RESULTADOS

- Ninguna de las muestras resultó positiva por qPCR, pero 10/51 *pooles* (19,6%) resultaron indeterminados.
- Seis de las 10 muestras indeterminadas resultaron positivas por PCR (NS1), y de cuatro de ellas se pudo obtener suficiente producto de amplificación para secuenciar (carriles 1, 2, 3 y 6 en gel de Figura 1).
- Las secuencias resultaron específicas de EqPV-H y agruparon junto a cepas de Alemania y China (Figura 2).

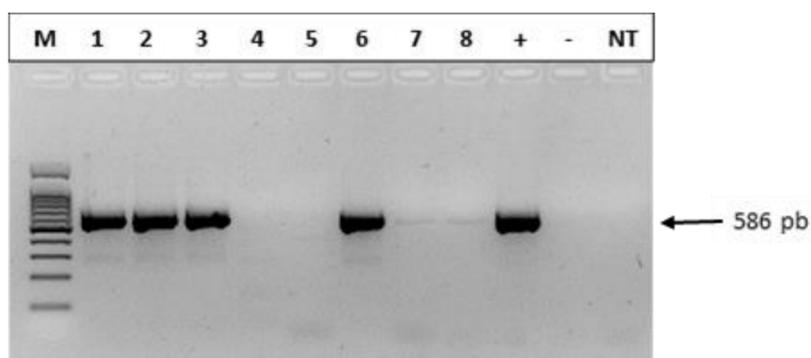


Figura 1: PCR NS1 de 8 de las muestras indeterminadas. Dos de las muestras resultaron positivas (586 pb), aunque con una señal muy débil. M: marcador de peso molecular (100pb), +: control positivo, -: control negativo, NT: no-templado.

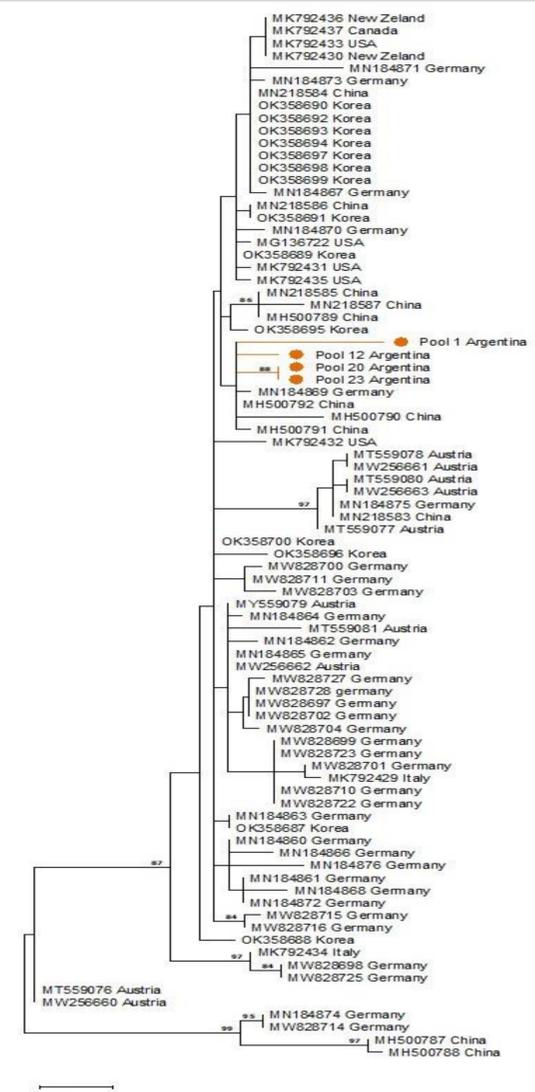


Figura 2: Árbol filogenético obtenido por análisis de máxima verosimilitud utilizando secuencias parciales del gen NS1. Las secuencias se identifican con su número de acceso al GenBank y el país de procedencia. Las 4 secuencias argentinas se resaltan con un círculo naranja

CONCLUSIONES

Se demostró la presencia de ADN de EqPV-H en *pooles* de suero equino de Argentina. La dificultad en cuantificar las muestras por qPCR pudo estar asociada al efecto dilución dado por la combinación de suero de 10-15 caballos en cada *pool*. Estos resultados alertan sobre la necesidad de conocer la situación sanitaria de los equinos de nuestro país en relación a este virus, para conocer su prevalencia y evaluar el riesgo de contaminación de productos derivados de equinos.