

Comunicaciones breves



Evidencia serológica de la infección por herpesvirus equino tipos 1 y 4 en dos regiones de Colombia[¶]

Revista
Colombiana de
Ciencias
Pecuarias

Serologic evidence of equine herpesvirus 1 and 4 infection in two regions of Colombia

Provas serológicas de infecção por equine herpesvirus 1 e 4, em duas regiões da Colômbia

Julián Ruíz Sáenz^{1*}, MV, MS; Yenny Góez¹, MV; Silvio Urcuqui Inchima¹, MS, PhD; Agustín Góngora², MS, Dr. Sci; Albeiro López Herrera³, Zoot, MV, MS, Dr. Sci.

¹Grupo Inmunovirología–Biogénesis, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

²Grupo de Investigación en Reproducción y Genética Animal (GIRGA), Universidad de los Llanos. Villavicencio, Colombia.

³Grupo BIOGEM, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Medellín, Colombia

(Recibido: 10 septiembre, 2007; aceptado: 21 mayo, 2008)

Resumen

Los herpesvirus equinos tipos 1 y 4 (HVE-1 y HVE-4) son agentes de distribución mundial y causa de graves pérdidas económicas. La infección primaria por ambos virus se produce en el tracto respiratorio, progresa a través de la mucosa y puede alcanzar otros sistemas orgánicos ocasionando abortos en el último tercio de gestación, muerte perinatal y síndromes neurológicos poco específicos. El HVE-1 está asociado principalmente con abortos, mientras que el HVE-4 se asocia con enfermedad respiratoria. Los animales afectados se recuperan sin tratamiento, pero permanecen infectados toda la vida. En 2001 se reportó en Colombia un aislamiento de HVE, pero hasta la fecha no se conoce ningún estudio que confirme y determine el tipo de herpesvirus aislado. El objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio serológico para determinar la presencia de los HVE-1 y HVE-4 en equinos clínicamente sanos, no vacunados contra HVE. Para lograr nuestro objetivo se tomaron 139 muestras de suero de equinos de dos regiones de Colombia (Antioquia y Meta), a partir de las cuales se realizó una prueba de ELISA indirecta, para detectar la presencia de anticuerpos dirigidos contra la glicoproteína G del HVE-1 y HVE-4. Se encontró una seropositividad para HVE-4 del 98.7 y 96.6% en Antioquia y Meta respectivamente; para HVE-1, la seropositividad fue del 18.8% en el departamento de Antioquia y 33.3% en departamento del Meta. Este es el primer estudio que reporta seropositividad en equinos clínicamente sanos no vacunados en Colombia, lo cual sugiere la presencia del virus y su establecimiento en la población equina de las regiones evaluadas, y posiblemente de otras zonas de Colombia.

Palabras clave: Departamento de Antioquia, Departamento de Meta, frecuencia de seropositividad, prueba de ELISA

[¶] Para citar este artículo: Ruíz-Sáenz J, Góez J, Urcuqui-Inchima S, Góngora A, López Herrera A. Evidencia serológica de la infección por Herpesvirus Equino tipos 1 y 4 en dos regiones de Colombia. Rev Colomb Cienc Pec 2008; 21:251-258.

* Autor para el envío de la correspondencia y la solicitud de separatas: Grupo de Investigación en Microbiología y Epidemiología, Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá. Bogotá, Colombia. E-mail: julianruizsaenz@gmail.com

Summary

Equine herpesviruses 1 and 4 (EHV-1 and EHV-4) are world wide spread viruses that cause significant economic losses. The primary infection of both viruses occurs in the upper respiratory tract, it can progress through the mucosa and can cause abortions in the last third of pregnancy, neonatal foal death, and non specific neurological syndromes. The EHV-1 is associated mainly whit abortion whereas EHV-4 is more related to respiratory disease. Infected animals rapidly overcome clinical symptoms but then remain infected all the life. In 2001 the first isolation of an EHV was reported in Colombia, but up-to-date, there are no reports that confirm and determine the type of isolated virus. The aim of the present work was to perform a serologic study in order to determine the presence of HVE-1 and HVE-4, in clinically healthy non-vaccinated horses. Serum samples n = 139 were drawn from healthy animals at two regions of Colombia (Antioquia and Meta department); an indirect ELISA test was performed to evaluate the presence of antibodies recognizing glycoprotein G of EHV-1 and EHV-4. We found that 98.7 and 96.6% of sera in Antioquia and Meta respectively were positive for EHV-4; the positivity for EHV-1 in Antioquia and Meta were 18.8 and 33.3% respectively. This is the first study that reports presence of antibodies to EHV-1 and EHV-4 in clinically healthy non-vaccinated horses in Colombia. These results suggest the establishment of the virus in the equine population of the studied regions and possibly in other areas of the country.

Key words: Antioquia State, ELISA test, frequency of seropositivity, Meta State

Resumo

O herpesvirus equino tipo-1 e -4 (HVE-1 e HVE-4) são os agentes de distribuição mundial e causam graves prejuízos econômicos. A infecção primária por ambos os vírus ocorre no trato respiratório, progredindo através da mucosa e podem atingir outros sistemas orgânicos causando abortos no último terço da gestação, morte perinatal e não-específica síndromes neurológicas. O HVE-1 é principalmente associado a abortos, enquanto o HVE-4 está associado a doenças respiratórias. Os animais afetados recuperar sem tratamento, mas permanecem infectados vida. Em 2001, foi relatada na Colômbia isolamento de HVE, mas até agora não teve conhecimento de qualquer estudo para confirmar e identificar o tipo de herpesvírus isolados. O objetivo deste estudo foi o de realizar um levantamento sorológico para determinar a presença de HVE-1 e HVE-4 em cavalos clinicamente saudáveis, não vacinados contra o HVE. Para alcançar nosso objetivo teve 139 amostras de soro de cavalos em duas regiões da Colômbia (Antioquia e Meta), de onde foi feito um teste Elisa indireta, para detectar a presença de anticorpos dirigidos contra a glicoproteína G da HVE -1 e da HVE-4. Para HVE-4 houve uma soropositividade de 98.7 e de 96.6% em Antioquia e Meta, respectivamente, para HVE-1, soropositividade foi 18.8% no departamento de Antioquia e de 33.3% no departamento de Meta. Este é o primeiro estudo que relatou soropositividade em cavalos clinicamente saudáveis não vacinados, na Colômbia, o que sugere a presença de vírus e seu lugar na equina população das regiões avaliadas e, possivelmente, de outras partes da Colômbia.

Palavras chave: Departamento de Antioquia, Departamento de Meta, frequência de soropositividade, teste Elisa

Introducción

Los herpesvirus equinos tipos 1 y 4 (HVE-1 y HVE-4) son de distribución mundial (2); el HVE-1 fue aislado por primera vez de tejidos de fetos abortados en EEUU en 1933 (9) y con base en estudios retrospectivos, ha sido reportado como causa de aborto desde 1921 en Australia (13). La infección por HVE-1 en particular, puede progresar a través de la mucosa respiratoria, dispersarse a

otros sistemas orgánicos y causar aborto en el último trimestre de la gestación (8). Los fetos infectados con HVE-1 durante la gestación tardía pueden llegar a nacer vivos y a término, pero enferman al nacimiento o pocos días después del parto. En brotes epidémicos, la infección puede llevar a la presentación de mieloencefalitis (25, 26).

La infección por HVE-4, conocida como rinoneumonitis viral equina, se ha asociado a una

enfermedad respiratoria, la cual compromete el tracto respiratorio superior; además puede causar aborto y en raras ocasiones mieloencefalitis (3). La enfermedad respiratoria se presenta principalmente en potros en el período comprendido entre el destete y los 2-3 años de edad; se caracteriza porque los animales presentan signos clínicos como fiebre, letargia, anorexia, linfadenopatía submandibular y descarga nasal profusa (3, 12).

Cerca del 80% de las infecciones primarias por HVE-1 y HVE-4, son seguidas por un estado de infección latente viral en ganglio trigémino; en este estado los caballos se encuentran fisiológicamente sanos (6). Sin embargo, luego de una situación de inmunosupresión o de estrés (transporte, cambio de medio, preñez etc.) puede ocurrir una reactivación viral, la cual conduce a una liberación de partículas virales a través de secreciones nasales y transmisión a otros caballos sanos susceptibles (3), lo que sugiere que los reservorios para HVE-1 y HVE-4, son los mismos caballos infectados en estado de latencia (1).

Desde la perspectiva epidemiológica el HVE-4 se considera enzootico en muchas poblaciones de equinos en el mundo, principalmente en Estados Unidos, Japón y Australia (4, 15, 19) y la infección por HVE-1 ha sido ampliamente descrita en Estados Unidos (3), Australia (14), Japón (19), Argentina (11) y Brasil (8) entre otros países. La identificación de anticuerpos específicos para HVE-1 y HVE-4, es uno de los métodos de diagnóstico útiles para estimar la ocurrencia de infecciones en criaderos de equinos (8); en una población en la cual nunca se ha evidenciado la presencia del virus, la detección de anticuerpos específicos anti-HVE, es un indicativo de infección y de circulación del virus (2).

Según la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), en Colombia se reportó la presencia del virus en 1992 (20), pero no se tiene confirmación de dicho reporte. Ramírez *et al* (21), reportaron el primer aislamiento de HVE, a partir de tejido de un feto abortado proveniente de un criadero de la ciudad de Bogotá, con historia de importación de equinos; la confirmación del virus se hizo con

base en observaciones obtenidas por microscopía electrónica (21), pero hasta el momento, no se ha realizado una caracterización puntual, que permita identificar con exactitud el tipo de virus aislado. Adicional a este reporte, no se conoce ningún estudio que establezca la presencia del HVE-1 y HVE-4 en Colombia. Con el propósito de contribuir al conocimiento de la situación zoonosaria de los equinos del país, el presente estudio se enfocó en explorar la presencia de HVE-1 y HVE-4, mediante el uso de una prueba de detección de anticuerpos tipo ELISA indirecta (Svanovir® Svanova Biotech Ab®) en muestras de animales clínicamente sanos. Para el efecto se evaluaron equinos de dos regiones de Colombia (Departamentos de Antioquia y Meta), ambas con alta participación en la cría y tenencia de caballos en el país, pero epidemiológicamente diferentes y con distintos sistemas de producción.

Materiales y métodos

Aval del Comité de ética

Esta investigación contó con la autorización del Comité de ética para experimentación con animales de la Universidad de Antioquia (Acta 15 de septiembre 16 de 2004).

Población de estudio y zonas de muestreo

Los 139 equinos evaluados se escogieron de manera aleatoria en las áreas de estudio, 96 pertenecientes al Departamento de Antioquia y 43 al Departamento del Meta; ésta muestra estuvo conformada mayoritariamente por hembras, las cuales representaron el 73 y 60.5% de la muestra para Antioquia y Meta, respectivamente. El muestreo se realizó en dos regiones de Colombia: la primera, caracterizada por ser un sistema de producción intensivo, en el área metropolitana del Valle de Aburrá y oriente cercano (Departamento de Antioquia), la cual se encuentra a una altura entre 1.300 y 2.800 metros sobre el nivel del mar (msnm), con una temperatura promedio de 24 °C, con la mayoría de animales criados en estabulación y utilizados principalmente para la reproducción y para las ferias o exposiciones de paso; la segunda, con un sistema de producción de tipo extensivo, localizada en

el municipio de Villavicencio (Departamento del Meta), ubicado a una altura de 423 msnm, con temperatura promedio de 28 °C, en donde los equinos son utilizados principalmente para las actividades de vaquería y el deporte del “coleo”.

Toma y procesamiento de las muestras

Para el estudio se muestrearon un total de 139 equinos, los cuales se encontraban clínicamente sanos según la evaluación del médico veterinario. De los 139 equinos, 96 correspondían a caballos del Departamento de Antioquia y 43 del Departamento del Meta (municipio de Villavicencio). A cada uno de los animales se les tomó 10 ml de sangre por punción en la vena yugular usando un sistema de sangrado tipo Vacutainer® (Becton Dickinson, USA) en tubos sin anticoagulante. Posteriormente, las muestras se transportaron refrigeradas al laboratorio, donde se centrifugaron a 640 x g/4 °C para separar el suero, que luego se congeló a -20 °C para su posterior evaluación.

Prueba de ELISA indirecta

La presencia de anticuerpos específicos de HVE-1 y HVE-4 en las muestras, se determinó utilizando el estuche de diagnóstico Svanoovir® EHV1/EHV4-Ab ELISA, gentilmente donado por el Dr. Malik Merza del laboratorio Svanova Biotech Ab (Suecia). La prueba permite detectar anticuerpos contra la glicoproteína G (gG) de HVE-1 y HVE-4 en muestras de suero o plasma equino, utilizando una placa de ELISA de 96 pozos, que está sensibilizada con antígenos de HVE-1 o antígenos de HVE-4; y además, incluye pozos sensibilizados con un antígeno que se utiliza como control negativo. Los sueros se diluyeron 1/100 en solución tampón de dilución; se adicionaron 100 µl/pozo de las muestras en los pozos del plato de ELISA sensibilizados con antígenos de HVE-1 o HVE-4 y se incubó el plato 2 h/temperatura ambiente (t.amb); luego se realizaron cuatro lavados con 200 µl/pozo de una solución tampón, se adicionaron 100 µl del anticuerpo anti-

IgG equina conjugado con peroxidasa, y se incubó el plato 1 h/t.amb. El procedimiento de lavado se repitió como se indicó anteriormente, se adicionaron 100 µl/pozo de sustrato y se incubó 10 min/t.amb. Finalmente, se adicionaron 50 µl/pozo de solución de parada que contenía ácido sulfúrico y se hizo la lectura por espectrofotometría a una densidad óptica (DO) de 450 nm. Para la interpretación de los resultados se tuvo en cuenta el valor de la DO de los controles positivos, que debía estar por encima de 0.2 y el de los controles negativos, que debía estar por debajo de 0.1. Para determinar la seropositividad de la muestra, al valor de la DO de cada pozo que contenía el antígeno para HVE-1 o HVE-4, se le sustrajo el valor de la DO correspondiente al pozo del control negativo.

Análisis estadístico

El porcentaje de seropositividad para HVE-1 y HVE-4 se determinó mediante la relación porcentual entre el número de animales que presentaron anticuerpos positivos y el número de animales evaluados. Adicionalmente se determinó la asociación entre la variable dicotómica presencia de anticuerpos y las variables sexo y procedencia de los equinos, sobre el total de los animales evaluados en cada zona, mediante el programa de análisis estadístico Prisma 4.0® para Windows®.

Resultados

Seropositividad para HVE-1 y HVE-4 en equinos de los departamentos de Antioquia y Meta

Una imagen representativa de la prueba de ELISA indirecta realizada en el estudio se observa en la figura 1, en la cual la reacción antígeno-anticuerpo se puede visualizar por el color amarillo en la placa, determinando así la presencia de anticuerpos específicos tipo inmunoglobulina G (IgG) contra estos virus en los equinos.

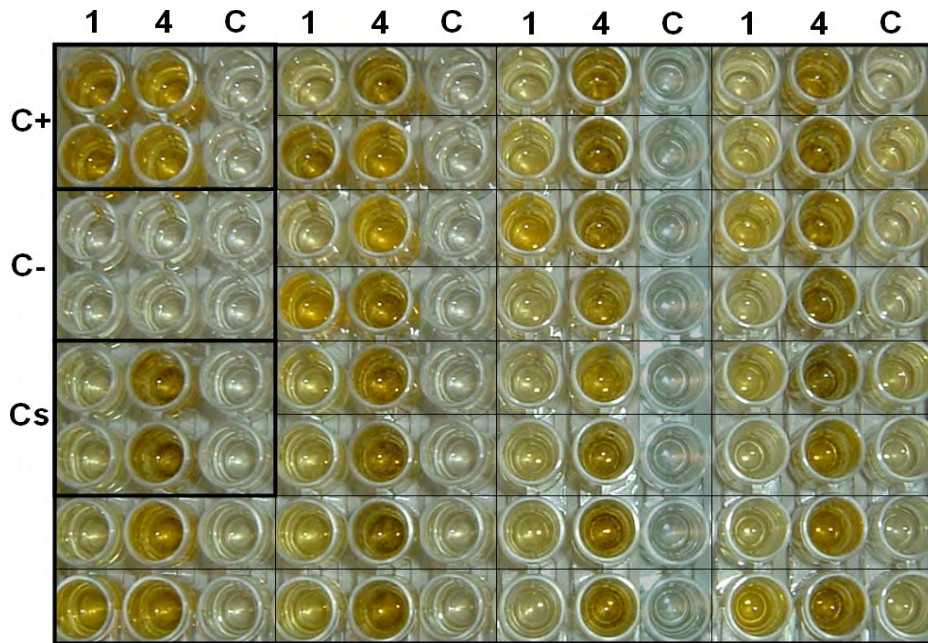


Figura 1. Resultado de una prueba de ELISA indirecta para HVE-1 y HVE-4. Las columnas con los números 1 y 4 estaban previamente sensibilizadas con antígenos de HVE-1 y HVE-4 respectivamente. Las columnas marcadas con la letra C están previamente sensibilizadas con un antígeno control. Los 6 pocos de la parte superior, lado izquierdo de la placa, muestran los controles positivos (C+) y con C- se indica los controles negativos, Cs representa el control de suero positivo para HVE-4, suministrado por los productores del estuche de ELISA. El resto de pocos del plato corresponde a muestras (tres pocos cada una). Para la interpretación de los resultados, al valor de la DO de cada pozo (por cada muestra) que contiene el antígeno para HVE-1 o HVE-4, se le sustrajo el valor de la DO correspondiente al pozo del control.

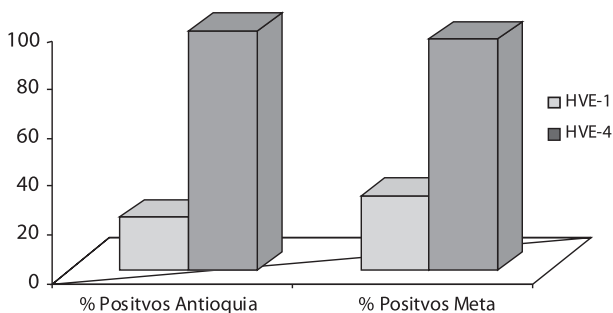


Figura 2. Seropositividad para HVE-1 y HVE-4 en los equinos muestreados del Valle de Aburrá y Oriente cercano, departamento de Antioquia y en el municipio de Villavicencio, Departamento del Meta.

De los 96 caballos evaluados en el Valle de Aburrá y Oriente cercano de Antioquia, se encontró que el 98.7 y 18.8% presentaron anticuerpos contra la IgG del HVE-4 e HVE-1, respectivamente (véase Figura 2). En los caballos del Municipio de Villavicencio se encontró un 96.6% de sueros positivos indicativos de anticuerpos dirigidos contra la IgG del HVE-4, un porcentaje muy similar al

observado en el Departamento de Antioquia. Para el caso del HVE-1, se encontró 33.3% de caballos con anticuerpos contra la IgG (Véase Figura 2). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre la frecuencia de anticuerpos para HVE-1 y HVE-4 en los dos departamentos. Al asociar la presencia de anticuerpos para cada uno de los virus con las variables sexo y procedencia, no se encontró diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) (véase Figura 3). Cuando se evaluó la coinfección por ambos HVE en la población evaluada, se encontró que todas las muestras que poseen anticuerpos para la IgG de HVE-1, también posee anticuerpos para la IgG de HVE-4. Esto está indicando que 18.8% y el 33.3% de los caballos del departamento de Antioquia y Meta, respectivamente, han sido infectados por ambos HVE; sugiriendo además, que la coinfección es un fenómeno común en la población de equinos de estos dos departamentos de Colombia.

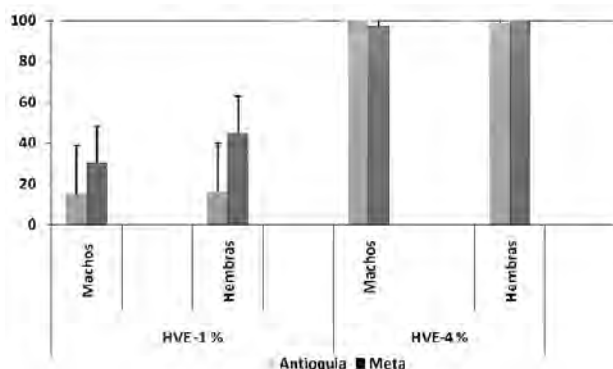


Figura 3. Porcentaje de animales machos y hembras que presentan anticuerpos para el HVE-1 y HVE-4 en los departamentos de Antioquia y Meta, evaluados por una técnica de ELISA indirecto. Nótese que tanto machos como hembras presentan seropositividad similar al HVE-4 y, a pesar de la diferencia de la respuesta de anticuerpos al HVE-1 no hubo diferencia estadística significativa en la presentación de la infección por sexo ni procedencia de los equinos ($p > 0.05$).

Discusión

La prueba de Elisa indirecto Svanovir® EHVI/EHV4-Ab, utilizada en el presente estudio ha sido ampliamente utilizado en estudios previos (7, 10, 16) que lo han informado como altamente específico (cerca al 100%) y suficientemente sensible (100%) para detectar todos los animales infectados con HVE-1 y HVE-4; además, posee mayor sensibilidad en comparación con las pruebas de seroneutralización y microneutralización implementadas y reportadas en los diferentes estudios de seroprevalencia (2). Teniendo en cuenta que la infección por estos virus nunca había sido demostrada en las zonas de estudio, la presencia de anticuerpos específicos reportada aquí confirma que gran parte de la población evaluada ha estado expuesta a los HVE-1 y HVE-4. Los porcentajes de equinos positivos para HVE-4, tanto en el Departamento Antioquia como en del Meta, concuerda con el de una zona enzoótica para este virus, ya que el porcentaje de seropositividad es comparable con la prevalencia reportada por países como Chile (5), Australia (15) y Japón (27), en los cuales hay una circulación enzoótica de la infección y el virus fue reportado hace más de 30 años.

Por otro lado, la infección por HVE-1 presenta un comportamiento diferente en las regiones de estudio; para el caso del Departamento de Antioquia, la seropositividad del 18.8% es similar a la reportada por Heinemann *et al*, (17), en la provincia de Uruará

(Brasil), donde los autores encontraron un 17.7% de seroprevalencia mediante el uso de la técnica de seroneutralización en cultivos de células VERO. En esta provincia, al igual que en el Departamento de Antioquia, no se habían reportado casos confirmados de infección por herpesvirus, ni se conocían reportes de prevalencia serológica, aunque la presencia esporádica de abortos era una de las preocupaciones generales. Por lo tanto, con base en los resultados obtenidos y en lo descrito por otros autores (17), la infección por HVE-1 se podría incluir como una de las posibles causas de presentación de abortos en las diferentes regiones evaluadas. En el Municipio de Villavicencio por su parte, el porcentaje de animales seropositivos al HVE-1 (33.3%) es similar al reportado para caballos peruanos de paso (34.8%), evaluados por la técnica de microneutralización en placas de 96 pozos (22). Sin embargo, se debe tener en cuenta que esta entidad se reportó por primera vez en Perú en 1975 (23), mientras que en el Departamento del Meta no se había reportado nunca, ni la presencia del virus, ni la presencia de anticuerpos.

Contrario a lo reportado por otros investigadores (1, 3), quienes sugieren que la explotación extensiva y la disminución del hacinamiento puede disminuir el paso de la infección a los animales susceptibles, nuestros resultados muestran que en el Departamento de Antioquia, donde se manejan los animales en confinamiento en pesebreras, la frecuencia de la infección por HVE-1 es menor que la observada en el Meta, donde los equinos se manejan en situaciones de tipo extensivo. También, se ha descrito que los HVE-1 y HVE-4 tienden a difundirse más eficazmente en clima frío, dado las bajas temperaturas que afectan el sistema respiratorio (12, 19); no obstante, los resultados muestran que en Antioquia el porcentaje de animales con anticuerpos para HVE-1 (18.8%), fue menor que el encontrado en Meta (33.3%), zona con menor altitud y clima más cálido. Sin embargo, para poder sugerir una explicación a estos fenómenos, es necesario tener en cuenta otra serie de factores, tales como la nutrición proporcionada a los equinos o su estatus inmune (1, 14). Similar a lo reportado en caballos del Valle de Lima por Ríos *et al* (22), al asociar la presencia de anticuerpos con las variables sexo

y procedencia de los caballos, no se encontraron diferencias estadísticas significativas, lo que sugiere que las variables estudiadas no constituyen un factor de riesgo para la presentación de la infección por el HVE-1 y HVE-4 en nuestro medio.

En Colombia, la presentación de enfermedad respiratoria en equinos es una causa común de disminución del desempeño y de pérdida económica en las empresas equinas; sin embargo, esta siempre se ha asociado con el virus de influenza equina, para el cual se tiene un plan de vacunación obligatorio. Con base en los resultados del presente estudio, se sugiere que la infección respiratoria en equinos podría ser debida, en parte, a la presencia de los HVE-1 y HVE-4, lo que podría explicar la presencia de brotes de enfermedad respiratoria que pueden alcanzar una morbilidad superior al 80% (18), aún en predios vacunados contra el virus de influenza equina.

En conclusión, los resultados de este trabajo sugieren que la infección por el HVE-1 y HVE-4 está distribuida en distintas zonas de Colombia, entre las que la distribución epidemiológica difiere, si se tiene en cuenta los resultados del presente estudio comparados con lo reportado para otros países de América Latina, en donde el HVE-1 se comporta como epizootico y el HVE-4 como enzoótico. Por lo tanto, es necesario fomentar y establecer redes de diagnóstico y sistemas de prevención y control adecuados para cada uno de los agentes, encaminadas a mejorar la situación zoonosaria de la población equina nacional. El establecimiento de estrategias eficientes, permitirá disminuir la presentación de la enfermedad y las pérdidas económicas en un sector tan importante de la economía nacional, como es el sistema de producción zootécnica de equinos (1, 24).

Agradecimientos

Los autores agradecen a todos los médicos veterinarios que amablemente colaboraron en este estudio y al Grupo de Inmunovirología-Biogénesis por el apoyo durante su ejecución. Este proyecto fue financiado por el Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) de la Universidad de Antioquia (proyecto cod. E01069) y cofinanciado por el Dr. Malik Merza, Svanova Biotech AB, Uppsala, Suecia.

Referencias

1. Allen GP. Epidemic disease caused by equine herpesvirus-1: recommendations for prevention and control. *Equine Vet Educ* 2002; 14:136-142.
2. Allen GP. **Equine rhinopneumonitis**. In: *OIE Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals*. 5th ed. Office International des Epizooties, París; 2004. p. 707-716.
3. Allen GP. Respiratory infections by equine herpesvirus types 1 and 4. In: *Equine respiratory diseases*, Lekeux P. ed. International Veterinary Information Service, Ithaca NY; 2002. [Acceso en diciembre de 2007] Disponible en URL: http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/toc.asp
4. Allen GP, Bryans JT. Molecular epizootiology pathogenesis and prophylaxis of equine herpesvirus-1 infections. *Prog Vet Microbiol Immunol* 1986; 2:78-144.
5. Berrios PE. Antecedentes en Chile de enfermedades virales de los animales domésticos. II. Enfermedades de presentación clínica y de alta seroprevalencia. *Avan Cienc Vet* 2002; 17:3-13.
6. Borchers K, Wolfinger U, Ludwig H. Latency-associated transcripts of equine herpesvirus type 4 in trigeminal ganglia of naturally infected horses. *J Gen Virol* 1999; 80:2165-2171. [Abstract] [HTML] [Pdf]
7. Crabb BS, MacPherson CM, Reubel GH, Browning GF, Studdert MJ, et al. A type-specific serological test to distinguish antibodies to equine herpesviruses 4 and 1. *Arch Virol* 1995; 140:245-258. [Abstract] [HTML]
8. Cunha ESM, Ferrari CI, Lara MC, da Silva MIH. Presença de anticorpos contra o herpesvírus equino 1 (HVE-1) em equinos do noroeste do Estado de São Paulo. *Arq Inst Biol* 2002; 69:1-5.
9. Dimock WW, Edwards PE, Bruner DW. Infections observed in equine fetuses and foals. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1947; 37:88-89.
10. Drummer HE, Reynolds A, Studdert MJ, MacPherson CM, Crabb BS. Application of an equine herpesvirus 1 (EHV1) type-specific ELISA to the management of an outbreak of EHV1 abortion. *Vet Rec* 1995; 136:579-581. [Abstract]
11. Galosi CM, Norimine J, Echeverria MG, Oliva GA, Noretto EO, et al. Diversity of genomic electropherotypes of naturally occurring equine herpesvirus 1 isolates in Argentina. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31:771-774. [Abstract] [HTML] [Pdf]
12. Gilkerson J, Jorm LR, Love DN, Lawrence GL, Whalley JM. Epidemiological investigation of equid herpesvirus-4 (EHV-4) excretion assessed by nasal swabs taken from thoroughbred foals. *Vet Microbiol* 1994; 39:275-283. [Abstract]
13. Gilkerson JR, Love DN, Whalley JM. Epidemiology of equine herpesvirus abortion: searching clues to the future. *Aust Vet J* 1998; 76:675-676. [Abstract] [Pdf]

14. Gilkerson JR, Whalley JM, Drummer HE, Studdert MJ, Love DN. Epidemiological studies of equine herpesvirus 1 (EHV-1) in Thoroughbred foals: a review of studies conducted in the Hunter Valley of New South Wales between 1995 and 1997. *Vet Microbiol* 1999; 68:15-25. [Abstract] [HTML] [Pdf]
15. Gilkerson JR, Whalley JM, Drummer HE, Studdert MJ, Love DN. Epidemiology of EHV-1 and EHV-4 in the mare and foal populations on a Hunter Valley stud farm: are mares the source of EHV-1 for unweaned foals. *Vet Microbiol* 1999; 68:27-34. [Abstract] [HTML] [Pdf]
16. Hartley CA, Wilks CR, Studdert MJ, Gilkerson J. Comparison of antibody detection assays for the diagnosis of equine herpesvirus 1 and 4 infections in horses. *Am J Vet Res* 2005; 66:921-928. [Abstract]
17. Heinemann MB, Cortez A, Souza MCC, Gotti T, Ferreira F, *et al.* Seroprevalence of equine infection anemia, equine viral arteritis and equine viral abortion in Uruará municipality, Pará State, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2002; 39:50-53. [Abstract] [HTML] [Pdf]
18. ICA. resolución ICA 2635. Instituto Colombiano Agropecuario, ICA; 2004.
19. Matsumura T, Sugiura T, Imagawa H, Fukunaga Y, Kamada M. Epizootiological aspects of type 1 and type 4 equine herpesvirus infections among horse populations. *J Vet Med Sci* 1992; 54:207-211. [Abstract]
20. Organización Mundial de la Salud Animal – OIE. Handistatus II. [Acceso en diciembre de 2007] Disponible en URL: <http://www.oie.int/hs2/report.asp>
21. Ramírez GC, Chaparro JJ, Vera VJ, Villamil LC, Romero JR. Primer aislamiento de herpesvirus equino en Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2001; 14:73. [Abstract] [Pdf]
22. Ríos P, Benito A, Rivera H. Rinoneumonitis equina en caballos del valle de Lima. *Rev Inv Vet Perú* 2002; 13:66-71. [Abstract] [HTML] [Pdf]
23. Rivera H, Samame H, Oballe R. Aislamiento y caracterización de un virus aislado de feto equino abortado. *Rev Vet Zootec* 1975; 126:10-13.
24. Ruíz J. Prevención y control de la rinoneumonitis equina. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2005; 18:64-74. [Abstract] [HTML] [Pdf]
25. Stierstorfer B, Eichhorn W, Schmahl W, Brandmuller C, Kaaden OR, *et al.* Equine herpesvirus type 1 (EHV-1) myeloencephalopathy: a case report. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2002; 49:37-41. [Abstract] [HTML] [Pdf]
26. Van Maanen C, Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM, Damen EA, Derksen AG. Neurological disease associated with EHV-1-infection in a riding school: clinical and virological characteristics. *Equine Vet J* 2001; 33:191-196. [Abstract]
27. Yasunaga S, Maeda K, Matsumura T, Kai K, Iwata H, *et al.* Diagnosis and sero-epizootiology of equine herpesvirus type 1 and type 4 infections in Japan using a type-specific ELISA. *J Vet Med Sci* 1998; 60:1133-1137. [Abstract] [Pdf]