

**Universidad Cardenal Herrera-CEU**

Departamento Medicina y Cirugía Animal



**PREVALENCIA DE  
ENFERMEDADES DE ETIOLOGÍA  
INFECCIOSA Y PARASITARIA EN  
CABALLOS DE LA COMUNIDAD  
VALENCIANA**

**TESIS DOCTORAL**

Presentada por:

D. Miguel Fábregas Dittmann

Dirigida por:

Dr. D. Santiago Vega García

Dra. Dña. Rosana Domingo Ortiz

VALENCIA

2017



## AGRADECIMIENTOS



Me gustaría agradecer a toda la gente que me ha ayudado en el largo proceso de elaboración de este trabajo.

Mi agradecimiento, de todas formas, no sólo va dirigido a las personas responsables de que este estudio se haya realizado, sino que me gustaría extenderlo a todas las personas que, de algún modo, han sido y son importantes en mi vida.

Para comenzar, gracias a Rosana Domingo y Santiago Vega, mis directores, porque sin su conocimiento, paciencia y ayuda no hubiera sido posible llevar a cabo este trabajo. Gracias también a Jaume Jordá por su gran ayuda, sus consejos y sugerencias en la elaboración de esta tesis.

Gracias a mis amigos y compañeros veterinarios, Mercedes Montejo, Francisco Pérez, Rebeca Martínez, Guillermo Arnal, Vicente Orts, Gonzalo Cerdá, Ana Baonza, por su colaboración y gran ayuda en la recogida de muchas de las muestras analizadas en este estudio.

A los propietarios de los caballos y, en muchos casos, amigos también, por permitirme tomar muestras de sus ejemplares, y a ellos mismos, los caballos, ya que son, sin duda, los grandes protagonistas de este trabajo.

A los equipos humanos y profesionales de los distintos laboratorios, Laboratorio Central de Veterinaria de Algete, Laboratorio de la Unidad de Análisis de Sanidad Animal de Valencia y Laboratorio de Microbiología de la Universidad Cardenal Herrera-CEU de Moncada, por su ayuda en el análisis de tantas muestras recopiladas para este estudio.

Sería imperdonable que no me acordara de mi madre. A ella le podría dedicar miles de páginas de agradecimiento. Mujer maravillosa, luchadora, íntegra y siempre dedicada y pendiente de su familia. A ella le debo todo y la quiero de una manera indescriptible. Por supuesto, gracias a mi padre que, aunque faltó hace ya más de 10 años, siempre está presente en mi día a día y nunca dejará de ser un referente en mi vida y en mi profesión. Gracias a mis tíos, Ventura y Teresa, que siempre me mostraron mucha atención y cariño, y que, cuando yo era un crío, me regalaron un libro de Gerald Durrell que originó una vocación que aún sigo disfrutando. A mi hermana, Rosa, por su apoyo y cariño en muchos momentos de mi vida. A mi hermano, Marcos, por ser un gran ejemplo de lo que es un profesional y un referente en mi vida. A mis primos, que, a pesar de la distancia, siempre estáis ahí. Y a mis sobrinas, Sibylle, Eugenia, Merute y Adriana, porque son todo alegría y me hacen disfrutar de momentos inolvidables.

Gracias a mis amigos, Franc, Mer, Rut, Alberto, Amador, Sandra, Ricardo, Laura, Almudena, Javi y muchos otros más, con los que espero seguir compartiendo y disfrutando de muchos buenos momentos que, de un modo u otro, han marcado mi vida. Gracias por vuestros ánimos en los momentos adversos.

Gracias a todos los animales que comparten y han compartido mi vida, sin ellos todo hubiera sido más difícil. Son el gran motivo de mi vocación por la Veterinaria y a ellos también va dedicado este trabajo.

Y, por último, gracias a ti, Victoria, tu nombre ya hace referencia al mayor éxito de mi vida. Siempre has sido un apoyo muy importante para mí en estos últimos años y siempre te estaré especialmente agradecido por tu amor y comprensión. Esto es tuyo también.

## RESUMEN

La población equina de la Comunidad Valenciana (CV) la conforman unos 24.500 caballos de distintas razas. La industria del caballo tiene una gran importancia, con un impacto considerable a nivel económico en todos los países, tanto en España y en Europa, como en el resto del mundo. Las enfermedades que pueden afectar a los équidos suponen una amenaza para la salud de los mismos y, consecuentemente, para todo el sector ecuestre y sus diferentes ámbitos, incluso, pudiendo afectar a otras especies y repercutir en otros sectores. En muchas ocasiones, se tratan de zoonosis que pueden ser transmitidas al hombre y suponer un riesgo para la salud pública.

Las enfermedades objeto de estudio en esta tesis han sido la leptospirosis, la salmonelosis, la piroplasmosis, la fiebre del Nilo Occidental (FNO) y la arteritis vírica equina (AVE), que son cinco enfermedades características de los caballos, de etiología bacteriana, parasitaria o vírica, con distintas características epidemiológicas, patogénicas y clínicas, cuyos estudios seroepidemiológicos nos ofrecen un panorama global del estado de salud de la población equina de la CV. Los objetivos de la presente tesis son, en primer lugar, realizar un estudio descriptivo y exponer por primera vez en algunos casos, o actualizar en otros, la situación sanitaria a la que está expuesta la población equina en referencia a las patologías estudiadas. En segundo lugar, determinar la posible relación, dentro de cada enfermedad, entre las prevalencias registradas y factores, como el sexo y la edad, y aportar nuevos datos sobre las cinco enfermedades que ayuden y orienten a las autoridades competentes en su labor epidemiológica.

En el presente trabajo, se analizaron muestras de suero de los caballos, a excepción de la salmonelosis, en la que se analizaron muestras de heces extraídas directamente del recto. En total, se tomaron 965 muestras para los distintos análisis, todas ellas procedentes de distintas explotaciones de las 3 provincias de la CV. Para todas las muestras sanguíneas se emplearon técnicas diagnósticas serológicas; en concreto, el MAT para la leptospirosis, técnicas de ELISA para la piroplasmosis y la FNO, y de seromicroneutralización para la AVE, mientras que, para el diagnóstico de salmonelosis, se recurrió al cultivo bacteriológico con posterior identificación bioquímica.

En el caso de la leptospirosis se registró un porcentaje de seropositividad del 65,04%, la más alta de las 5 enfermedades, seguida por la AVE y por la piroplasmosis, con un 12,24% y un 7,29%, respectivamente. La FNO y la salmonelosis sólo mostraron unos porcentajes del 3,41% y del 2,02%, respectivamente. Todos los valores obtenidos para las distintas enfermedades, a excepción de la salmonelosis, se

convierten en una nueva referencia para caballos PRE de España y del resto del mundo.

La seropositividad de leptospirosis equina es muy elevada en la CV y superior a la de países europeos cercanos. En España, no existen otros estudios de prevalencia de esta enfermedad en équidos. La seropositividad de AVE es menor a la detectada en otros estudios en otras zonas de España. En cuanto a la piroplasmosis, la seropositividad registrada es inferior a la obtenida en otros estudios a nivel nacional y en países europeos de la cuenca mediterránea. La infección por *B. caballi* es nula en este estudio. La seropositividad de FNO en la CV es baja, similar a otras zonas estudiadas de España e inferior a las registradas en Andalucía, en países europeos cercanos y de la cuenca mediterránea. El número de infectados por salmonelosis es muy bajo, sin poder compararlo con otras poblaciones equinas aparentemente sanas del país. En el caso de Europa y el resto del mundo, las prevalencias en poblaciones supuestamente sanas, en relación a esta enfermedad, son muy similares o inferiores a la de la CV. En el caso de la piroplasmosis, FNO y leptospirosis, la seropositividad es menor en los animales más jóvenes e, incluso, nula en las dos primeras enfermedades. En la AVE y en la piroplasmosis, la seropositividad más elevada aparece en grupos de mayor edad. En la salmonelosis, todos los resultados positivos correspondieron a machos, mientras que, en la AVE, la mayoría de seropositivos correspondió a las yeguas.

El hecho de que las enfermedades estudiadas sean zoonosis, a excepción de la AVE, reemergentes, en ciertos casos, y presentes a nivel mundial, y de que se haya demostrado su presencia, en mayor o menor grado, en la población equina de la CV, nos reclama iniciar o continuar, en ciertos casos, con las medidas preventivas y de control, tanto de sus agentes causales como de sus vectores, para evitar posibles brotes epidémicos y riesgos para la salud pública. En el caso de la AVE, la seropositividad registrada nos aporta más datos sobre el estado de salud de la cabaña equina y del PRE, y nos invita a controlar y erradicar el virus para mejorar la calidad de la raza, y reducir pérdidas y gastos.

## SUMMARY

The equine population of the Valencian Community (VC) is composed by 24.500 horses of different breeds. The horse industry plays an important role with a considerable economical impact in every country, both in Spain and in Europe as in the rest of the world. Diseases that may affect equines represent a threat to their health and consequently to the whole equestrian sector and its different fields, and they could also affect other species and have repercussions in other areas. In many cases, they are zoonoses that can be transmitted to humans and pose a risk to Public Health.

The diseases under study that have been included in this thesis are Leptospirosis, Salmonellosis, Piroplasmosis, West Nile Fever (WNV) and Equine Viral Arteritis (EVA), which are five characteristic diseases of horses, with bacterial, parasitic or viral etiology, with different epidemiological, pathogenic and clinical features, whose seroepidemiological studies give us an overview of the health status of the equine population of the VC. The objectives of this thesis are, firstly, to perform a descriptive study and to expose for the first time, in some cases, or to update, in others, the health status to which the equine population is subjected in reference to the pathologies studied. Secondly, to determine the possible relationship, within each disease, between registered prevalence rates and factors such as sex and age, and to provide new information on the five diseases that may help and guide competent authorities in their epidemiological surveillance work.

In the present study, serum samples of horses were analyzed, except for Salmonellosis, in which fecal samples extracted directly from the rectum were studied. In total, 965 samples were collected for the different analysis from several farms of the 3 provinces from the VC. Serological diagnostic tests were used for all blood samples, specially, MAT was chosen for Leptospirosis, ELISA tests for Piroplasmosis and for WNV determinations, and seromicroneutralization for EVA diagnosis, whereas for Salmonellosis determination, bacteriological culture with subsequent biochemical identification was used.

A seropositivity of 65,04% was obtained for Leptospirosis, the highest of the five diseases studied, followed by EVA and Piroplasmosis with values of 12,24% and 7,29%, respectively. WNV and Salmonellosis seropositivity results were only 3,41% and 2,02%, respectively. All rates recorded for the different diseases, with the exception of Salmonellosis, become a new reference for Spanish Purebred (SP) horses of Spain and the rest of the world.

The seropositivity of equine Leptospirosis is very high in the VC and even higher than in other nearby European countries. There are no other prevalence studies about

this equine disease in Spain. The seropositivity of EVA is lower than the one detected in other studies, carried out in other parts of Spain. Referring to Piroplasmosis, the recorded seropositivity is lower than that obtained in other surveys at a national level and in European countries of the Mediterranean basin. There was no horse infected by *B. caballi* in this study. The seropositivity of WNF is low in the VC, similar to other researched areas of Spain and lower than those recorded in Andalusia, in nearby European countries and of the Mediterranean Basin. The number of infected animals by Salmonellosis is very low and there is no option to compare it with other apparently healthy equine populations of the country. In the rest of Europe and the world, the positivity values in populations considered to be healthy in relation to this disease are very similar or lower than those of the VC. On the one hand, in the case of Piroplasmosis, WNF and Leptospirosis, the seropositivity rates are lower in the youngest animals, even null for the first two diseases, but on the other hand, we found the highest seropositivity rates in the older age groups for EVA and Piroplasmosis. Furthermore, all positive results for Salmonellosis belonged to male horses, while, for EVA, the majority of seropositives corresponded to mares.

The fact that all studied diseases are zoonoses, with the exception of EVA, reemerging, in some cases, and present worldwide, in addition to the demonstration of its presence in a higher or lower degree in the equine population of the VC, demands us to start or continue, in certain cases, with preventive and control measures of both their causal agents and their vectors, in order to avoid possible outbreaks and risks to Public Health. In the case of EVA, the recorded seropositivity gives us more information about the state of health of the equine population and of the SP horses, and invites us to control and eradicate the virus to improve the quality level of this breed and reduce losses and expenses.

## ÍNDICE



## Índice

1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Importancia del sector equino.....	3
1.2. Estado previo de conocimiento de las enfermedades sometidas a estudio .....	15
1.2.1. Leptospirosis .....	16
1.2.1.1. Etiología .....	16
1.2.1.2. Epidemiología .....	18
1.2.1.3. Patogenia .....	28
1.2.1.4. Cuadro clínico .....	31
1.2.1.5. Lesiones .....	36
1.2.1.6. Tratamiento .....	37
1.2.1.7. Profilaxis .....	39
1.2.1.8. Leptospirosis y Salud pública.....	41
1.2.2. Salmonelosis.....	42
1.2.2.1. Etiología .....	42
1.2.2.2. Epidemiología .....	44
1.2.2.3. Patogenia .....	62
1.2.2.4. Cuadro clínico .....	64
1.2.2.5. Lesiones .....	67
1.2.2.6. Tratamiento .....	68
1.2.2.7. Profilaxis .....	69
1.2.2.8. Salmonelosis y Salud pública .....	71
1.2.3. Piroplasmosis .....	74
1.2.3.1. Etiología .....	74
1.2.3.2. Epidemiología .....	75
1.2.3.3. Patogenia .....	91
1.2.3.4. Cuadro clínico .....	92
1.2.3.5. Lesiones .....	94
1.2.3.6. Tratamiento y Profilaxis.....	95
1.2.3.7. Piroplasmosis y Salud pública.....	97
1.2.4. Fiebre del Nilo Occidental .....	99
1.2.4.1. Etiología .....	99

1.2.4.2. Epidemiología .....	101
1.2.4.3. Patogenia .....	121
1.2.4.4. Cuadro clínico .....	122
1.2.4.5. Lesiones .....	125
1.2.4.6. Tratamiento .....	126
1.2.4.7. Profilaxis y Salud pública .....	127
1.2.5. Arteritis viral equina .....	131
1.2.5.1. Etiología .....	131
1.2.5.2. Epidemiología .....	133
1.2.5.3. Patogenia .....	138
1.2.5.4. Cuadro clínico .....	139
1.2.5.5. Lesiones .....	141
1.2.5.6. Tratamiento .....	142
1.2.5.7. Profilaxis y Control .....	143
1.2.5.8. AVE y Salud pública .....	145
1.3. Justificación del estudio .....	146
2. OBJETIVOS .....	149
3. MATERIAL Y MÉTODOS .....	153
3.1. Material animal .....	155
3.1.1. Leptospirosis equina .....	155
3.1.2. Salmonelosis equina .....	155
3.1.3. Piroplasmosis equina .....	155
3.1.4. Fiebre del Nilo Occidental .....	156
3.1.5. Arteritis viral equina .....	157
3.2. Obtención y preparación de la muestra .....	157
3.2.1. Leptospirosis, piroplasmosis, FNO y AVE .....	157
3.2.2. Salmonelosis equina .....	161
3.3. Análisis laboratorial .....	162
3.3.1. Leptospirosis equina .....	162
3.3.2. Salmonelosis equina .....	164
3.3.3. Piroplasmosis equina .....	165
3.3.4. Fiebre del Nilo Occidental .....	166

3.3.5. Arteritis viral equina.....	167
4. RESULTADOS.....	169
4.1. Leptospirosis equina .....	171
4.2. Salmonelosis equina .....	174
4.3. Piroplasmosis equina .....	175
4.4. Fiebre del Nilo Occidental.....	177
4.5. Arteritis viral equina .....	178
5. DISCUSIÓN .....	181
6. CONCLUSIONES.....	195
7. BIBLIOGRAFÍA .....	199
8. ANEXO 1: Hoja de registro de las muestras .....	229



## Índice de tablas

Tabla 1. Importaciones y exportaciones a la UE y a países terceros en 2013.....	12
Tabla 2. Prevalencias y serovares principales en distintas provincias de Canadá. ....	21
Tabla 3. Prevalencias y serovares principales en distintos Estados de los EEUU.....	21
Tabla 4. Prevalencias y serovares principales en distintos países de Centro- y Sudamérica.....	22
Tabla 5. Prevalencias y serovares principales en distintos países de Europa. ....	24
Tabla 6. Países con mayor incidencia anual de leptospirosis humana en el mundo. ....	25
Tabla 7. Países con mayor incidencia anual de leptospirosis humana en Europa. ....	27
Tabla 8. Casos declarados en España por CCAA (1982-1999) .....	28
Tabla 9. Serovares principales de salmonelosis en distintos países del mundo. ....	51
Tabla 10. Serovares principales de salmonelosis en distintos Estados de los EEUU. ....	52
Tabla 11. Serovares principales de salmonelosis en distintos países de Europa.....	53
Tabla 12. Incidencia de salmonelosis humana en distintos países del mundo.....	59
Tabla 13. Prevalencias de piroplasmosis en distintos países de América.....	79
Tabla 14. Prevalencias de piroplasmosis en distintos países de Asia. ....	80
Tabla 15. Prevalencias de piroplasmosis en distintos países y zonas de Europa.....	82
Tabla 16. Especies de piroplasmas más frecuentes en distintas especies.....	88
Tabla 17. Especies de mosquito en las que se ha aislado el VNO.....	104
Tabla 18. Prevalencias de FNO en distintos países de Europa.....	110
Tabla 19. Prevalencias de FNO en distintas zonas de España.....	112
Tabla 20. Brotes de FNO en Europa y la cuenca mediterránea (1994-2010).....	118
Tabla 21. Prevalencias de AVE en distintos países del mundo. ....	135
Tabla 22. Prevalencias de AVE en distintos países de Europa. ....	137
Tabla 23. Incidencia de leptospirosis en función del sexo.....	171
Tabla 24. Incidencia de salmonelosis, totales y en función del sexo. ....	174
Tabla 25. Distribución de los animales por grupos de edad. ....	174
Tabla 26. Incidencia de piroplasmosis en función del sexo. ....	175
Tabla 27. Porcentajes de piroplasmosis en función del sexo y del agente infectante. ....	176
Tabla 28. Incidencia de piroplasmosis en función del sexo y de la edad.....	176
Tabla 29. Incidencia de FNO en función del sexo.....	177
Tabla 30. Distribución de los individuos e incidencia de FNO en función de la edad y el sexo.....	178



## Índice de figuras

Figura 1. Distribución de la población equina mundial (Murray, G. et al., 2013). .....	3
Figura 2. Producción mundial de carne equina por continentes (Romero Falcón, 2004). .....	5
Figura 3. Distribución del censo de caballos (Daemon Quest, 2013).....	11
Figura 4. Destinos comunitarios de las exportaciones españolas de équidos vivos (SGPG, 2014). .....	13
Figura 5. Importaciones españolas de équidos vivos procedentes de la UE (SGPG, 2014). .....	13
Figura 6. Imagen microscópica de <i>Leptospira</i> ( <a href="http://www.leptospirosis.com.mx/#c">http://www.leptospirosis.com.mx/#c</a> ) .....	16
Figura 7. <i>Rattus norvegicus</i> , ejemplo de hospedador de mantenimiento de <i>Leptospira</i> ( <a href="http://dpcselvaggia.es/manual-de-plagas/muridos/ratas-de-alcantarilla-rattus-norvegicus/">http://dpcselvaggia.es/manual-de-plagas/muridos/ratas-de-alcantarilla-rattus-norvegicus/</a> ).18	
Figura 8. Transmisión vía oral al beber en aguas estancadas ( <a href="http://www.thehorse.com/articles/37295/equine-leptospirosis-now-we-have-a-vaccine">http://www.thehorse.com/articles/37295/equine-leptospirosis-now-we-have-a-vaccine</a> ). ...	20
Figura 9. Arroceros en Valencia, población de riesgo de leptospirosis ( <a href="http://www.lasprovincias.es/economia/agricultura/201509/07/menos-arroz-culpa-plagas-20150907001255-v.html">http://www.lasprovincias.es/economia/agricultura/201509/07/menos-arroz-culpa-plagas-20150907001255-v.html</a> ). .....	27
Figura 10. Uveítis Recurrente Equina.....	33
Figura 11. Enfermedad de Weil ( <a href="http://www.download.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(10)70106-7/fulltext">http://www.download.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(10)70106-7/fulltext</a> ). .....	35
Figura 12. Imagen microscópica de <i>Salmonella</i> ( <a href="http://www.vetbook.org/wiki/dog/index.php?title=Salmonella_spp">http://www.vetbook.org/wiki/dog/index.php?title=Salmonella_spp</a> ). .....	43
Figura 13. Potro con un cuadro de cólico digestivo asociado a <i>Salmonella</i> ( <a href="http://www.semanariohipico.com.ve/portal/diarrea-en-potrillos-dr-roliana-sanchez/">http://www.semanariohipico.com.ve/portal/diarrea-en-potrillos-dr-roliana-sanchez/</a> ). .....	48
Figura 14. Yegua con cólico digestivo agudo. ....	55
Figura 15. Incidencia de salmonelosis humana en España (1999-2014) (EFSA, 2013). .....	62
Figura 16. Aborto por <i>S. Abortus equi</i> ( <a href="https://www.ecured.cu/Salmonella_abortus_equi">https://www.ecured.cu/Salmonella_abortus_equi</a> ). ...	65
Figura 17. Diarrea profusa en un cuadro de salmonelosis en un caballo ( <a href="http://horsesidevetguide.com/drv/Observation/122/manure-is-watery-diarrhea-in-adult/">http://horsesidevetguide.com/drv/Observation/122/manure-is-watery-diarrhea-in-adult/</a> ). 66	
Figura 18. Imágenes microscópicas de <i>T. equi</i> (A) y <i>B. caballi</i> (B) en eritrocitos ( <a href="https://www.researchgate.net/publication/24270094_A_Perspective_on_Theileria_Equi_Infections_in_Donkeys">https://www.researchgate.net/publication/24270094_A_Perspective_on_Theileria_Equi_Infections_in_Donkeys</a> ). .....	75
Figura 19. Imagen de <i>Dermacentor reticulatus</i> ( <a href="http://www.equineplanet.pt/en/information_content.htm?id_informacao=19&amp;id=45">http://www.equineplanet.pt/en/information_content.htm?id_informacao=19&amp;id=45</a> ). .....	76

Figura 20. Imagen de garrapata del género <i>Hyalomma</i> ( <a href="http://controldeplagassanidadambiental.blogspot.com.es/2015/01/hyalomma-marginatum.html">http://controldeplagassanidadambiental.blogspot.com.es/2015/01/hyalomma-marginatum.html</a> ). .....	86
Figura 21. Imagen de garrapata del género <i>Rhipicephalus</i> ( <a href="http://bugguide.net/node/view/615949/bgpage">http://bugguide.net/node/view/615949/bgpage</a> ). .....	87
Figura 22. Imagen de <i>Amblyomma cajennense</i> ( <a href="http://insecta.maryno.net/?page_id=1412">http://insecta.maryno.net/?page_id=1412</a> ). ..	88
Figura 23. Ictericia en mucosa conjuntival ( <a href="http://casasviejaslibre.blogspot.com.es/2009/07/piroplasmosis-equina.html">http://casasviejaslibre.blogspot.com.es/2009/07/piroplasmosis-equina.html</a> ). .....	92
Figura 24. Micrografía electrónica del VNO ( <a href="https://www.newscientist.com/article/dn22194-threatwatch-west-nile-what-is-the-actual-risk/">https://www.newscientist.com/article/dn22194-threatwatch-west-nile-what-is-the-actual-risk/</a> ). .....	100
Figura 25. Mosquito del género <i>Culex</i> ( <i>Culex pipiens</i> ) ( <a href="https://research.pasteur.fr/en/culex-pipiens-2-jpg/">https://research.pasteur.fr/en/culex-pipiens-2-jpg/</a> ). .....	101
Figura 26. Mosquito del género <i>Aedes</i> ( <i>Aedes aegypti</i> ) ( <a href="http://www.smithsonianmag.com/science-nature/the-next-west-nile-virus-24067238/">http://www.smithsonianmag.com/science-nature/the-next-west-nile-virus-24067238/</a> ). ...	103
Figura 27. <i>Corvus brachyrhynchos</i> , una de las aves más susceptibles al VNO ( <a href="https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/West_Nile_Virus_in_Birds">https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/West_Nile_Virus_in_Birds</a> ). .....	104
Figura 28. Distribución del VNO en el mundo en 2007 (Adaptado de: <a href="http://www.microbeworld.org/news/west_nile/">http://www.microbeworld.org/news/west_nile/</a> ). .....	106
Figura 29. Distribución de casos de enfermedad en humanos por el VNO en la Europa Mediterránea (Actualización septiembre 2016) ( <a href="http://www.microbiologiaysalud.org/noticias/fiebre-del-nilo-occidental-en-andalucia/">http://www.microbiologiaysalud.org/noticias/fiebre-del-nilo-occidental-en-andalucia/</a> ). ....	117
Figura 30. Paresia en un caballo infectado por el VNO ( <a href="http://www.ahsequilink.co.za/west-nile-virus">http://www.ahsequilink.co.za/west-nile-virus</a> ). .....	123
Figura 31. Estado de depresión sensorial en un caballo infectado. ....	123
Figura 32. Erupción maculopapular habitual en la FNO en humanos ( <a href="http://www.mdpi.com/1999-4915/6/2/606/hm">http://www.mdpi.com/1999-4915/6/2/606/hm</a> ). .....	124
Figura 33. La vacunación frente al VNO. ....	128
Figura 34. Imagen microscópica del VAE ( <a href="http://fluoview.magnet.fsu.edu/gallery/cells/nbl6/nbl6cells.html">http://fluoview.magnet.fsu.edu/gallery/cells/nbl6/nbl6cells.html</a> ). .....	132
Figura 35. Transmisión venérea del VAE. ....	133
Figura 36. Edema en zona escrotal ( <a href="http://equine-reproduction.com/articles/EVA/Presentation/EVA_files/v3_slide0009.htm">http://equine-reproduction.com/articles/EVA/Presentation/EVA_files/v3_slide0009.htm</a> ). .....	139
Figura 37. Mapa de la localización de los caballos analizados en el presente estudio en la CV. .....	156
Figura 38. Extracción sanguínea de la vena yugular. ....	157

Figura 39. Guantes de examen de látex.....	158
Figura 40. Agujas hipodérmicas empleadas.....	158
Figura 41. Jeringa de 2 cuerpos tipo Injekt de 10 ml. ....	158
Figura 42. Tubo separador de suero. ....	158
Figura 43. Nevera portátil Cool Freeze ( <a href="https://www.francobordo.com/html">https://www.francobordo.com/html</a> ).....	159
Figura 44. Centrífuga empleada para separar el suero ( <a href="https://weblanau.com/13_nahita">https://weblanau.com/13_nahita</a> ). ..	159
Figura 45. Extracción del suero de las muestras para su congelación. ....	159
Figura 46. Micropipeta Pipet-Lite XLS+. ....	160
Figura 47. Tubo Eppendorf de 2 ml.....	160
Figura 48. Caja isotérmica para el envío de muestras ( <a href="http://www.storopack.es/es/productos-soluciones/envases-de-temperatura-controlada/cajas-aislantes-y-cajas-isotermicas.html">http://www.storopack.es/es/productos-soluciones/envases-de-temperatura-controlada/cajas-aislantes-y-cajas-isotermicas.html</a> )...	160
Figura 49. Extracción rectal de las muestras.....	161
Figura 50. Recipiente de recogida de heces.....	161
Figura 51. Porcentajes de seropositivos por leptospirosis dentro de cada sexo.....	171
Figura 52. Porcentajes de leptospirosis en función de la edad.....	172
Figura 53. Incidencia de los diferentes serovares de <i>Leptospira</i> . ....	173
Figura 54. Incidencia como agente principal de los distintos serovares de <i>Leptospira</i> . ....	173
Figura 55. Porcentajes de casos positivos por salmonelosis en función del sexo. ....	174
Figura 56. Porcentajes de casos positivos por salmonelosis en función de la edad.....	175
Figura 57. Porcentajes de seropositivos por piroplasmosis en función del sexo y de la edad. ....	176
Figura 58. Porcentajes de seropositivos por piroplasmosis en función de la edad. ....	177
Figura 59. Porcentajes de FNO en función del sexo.....	177
Figura 60. Porcentajes de seropositivos por FNO en función de la edad. ....	178
Figura 61. Porcentajes de AVE total y dentro del mismo sexo. ....	179
Figura 62. Porcentajes de seropositividad por AVE en función del sexo.....	179
Figura 63. Incidencia de AVE en función de la edad. ....	180
Figura 64. Seropositividad de AVE en función del grupo de edad.....	180



## Índice de abreviaturas

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AESAN	Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición
AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
API	Índice Analítico de Perfil
ARNr	Ácido Ribonucleico ribosómico
ARS	<i>Agricultural Research Service</i>
ASB	Albúmina Sérica Bovina
AVE	Arteritis Viral Equina
BES	Boletín Epidemiológico Semanal
BOE	Boletín Oficial del Estado
BUN	<i>Blood Urea Nitrogen</i>
CCAA	Comunidades Autónomas
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CDFA	California Department of Food & Agriculture
CE	Comisión Europea
CEE	Comunidad Económica Europea
cELISA	Enzimoimmunoanálisis de competición
CFSPH	<i>Center for Food Security &amp; Public Health</i>
CID	Coagulación Intravascular Diseminada
CPE	Efecto Citopático
CV	Comunidad Valenciana
DEET	N,N-dietil-metil-toluamida
DEFRA	<i>Department for Environment, Food &amp; Rural Affairs</i>
DICT50	Dosis infectiva del 50% en cultivo de tejidos
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>

ECM	Componentes Extracelulares de la Matriz
EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
EEUU	Estados Unidos
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay</i> (Enzimoimmunoanálisis)
EM	Estados Miembros
EMJH	Medio Ellingshausen-McCullough-Johnson-Harris
EVA	<i>Equine Viral Arteritis</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organisation of the United Nations</i>
FAT	Test del anticuerpo fluorescente
FC	Fijación del Complemento
FEI	Federación Ecuéstre Internacional
FISH	Hibridación Fluorescente in situ
FLAIR	Secuencia de Recuperación Inversa Atenuada por Fluido
FNO	Fiebre del Nilo Occidental
IA	Inseminación artificial
IFI	Inmunofluorescencia Indirecta
IFN	Interferones
Ig A	Inmunoglobulina A
Ig G	Inmunoglobulina G
Ig M	Inmunoglobulina M
IL	Interleukinas
iNOS	Sintasa de óxido nítrico inducible
kDa	kiloDalton
LCR	Líquido Cefalorraquídeo
LDH	Lactato Deshidrogenasa

Len A	<i>endostatin like protein A</i>
LPS	Lipopolisacáridos
Mab	Anticuerpo monoclonal específico
MAGRAMA	Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente
MAT	Test de Aglutinación Microscópica
MSRV	Medio Rappaport-Vassiliadis semisólido modificado
NDSC	Centro Nacional de Vigilancia de Enfermedades
NVRL	Laboratorio Nacional de Referencia Viroológica
OD590	longitud de onda de 590 nm
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal
OMP	<i>Outer Membrane Proteins</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONCE	Organización Nacional de Ciegos Españoles
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (Reacción en Cadena de la Polimerasa)
PIB	Producto Interior Bruto
PRE	Pura Raza Española
PRNT	Test de Neutralización-Reducción en Placa
RASVE	Red de Alerta Sanitaria Veterinaria Española
RLB	<i>Reverse Line Blotting</i>
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RNVE	Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica
RT-PCR	Transcripción Reversa de la Reacción en Cadena de la Polimerasa
RU	Reino Unido
SGPG	Subdirección General de Productos Ganaderos
SIDA	Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida
SIM	Sistema de Información Microbiológica

Sips	Proteínas de invasión de <i>Salmonella</i>
SNC	Sistema Nervioso Central
SP	<i>Spanish Purebred</i>
<i>spp.</i>	especies
SST3	Sistema de secreción tipo III
STAT	Test de tubo-aglutinación estándar
TAC	Tomografía Axial Computerizada
TESS	The European Surveillance System
TNF $\alpha$	Factor de necrosis tumoral $\alpha$
UASA	Unidad de Análisis de Sanidad Animal
UE	Unión Europea
UFC	Unidad Formadora de Colonia
URE	Uveítis Recurrente Equina
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
VAE	Virus de la Arteritis Equina
VC	<i>Valencian Community</i>
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
VN	Prueba de Neutralización Vírica
VNO	Virus del Nilo Occidental
WHO	<i>World Health Organisation</i>
WNF	<i>West Nile Fever</i>
XLD	Xylose-lysine-deoxycholate

## **1. INTRODUCCIÓN**



# INTRODUCCIÓN

## 1.1. Importancia del sector equino

➤ El sector equino a nivel **mundial**:

El caballo ha sido utilizado durante miles de años por el hombre con distintas funciones, como por ejemplo para la provisión de alimento, cuero, leche y terapéuticos, como bestias de carga en las tareas de producción granjera, como transporte y con objetivos militares, y también como afición y recreo. En tiempos más recientes y con la dinámica cambiante de la población humana, las circunstancias económicas y la cría selectiva de caballos, los équidos se encuentran distribuidos por todo el mundo. La **población global equina** se estima en 58 millones de individuos y se considera que el 60% son caballos de trabajo que se encuentran principalmente en países en vías de desarrollo, mientras que una proporción importante del resto se emplea en las crecientes industrias ecuestres de competición y de ámbito recreativo (Murray, G. et al., 2013), sin olvidar el porcentaje correspondiente a la explotación del caballo para la producción de carne y derivados.

Diez países en el mundo presentan una población equina por encima del millón de ejemplares, como **EEUU** con 9.500.000, China con 7.402.450, Méjico con 6.260.000, Brasil con 5.787.249, Argentina con 3.655.000, Colombia con 2.533.621, Mongolia con 2.029.100, Etiopía con 1.655.383, Rusia con 1.319.358 y Kazajistán con 1.163.500 (Murray, G. et al., 2013)(Figura 1). La población equina en la UE se estima en 6 millones de caballos (Johanson, S., 2010).

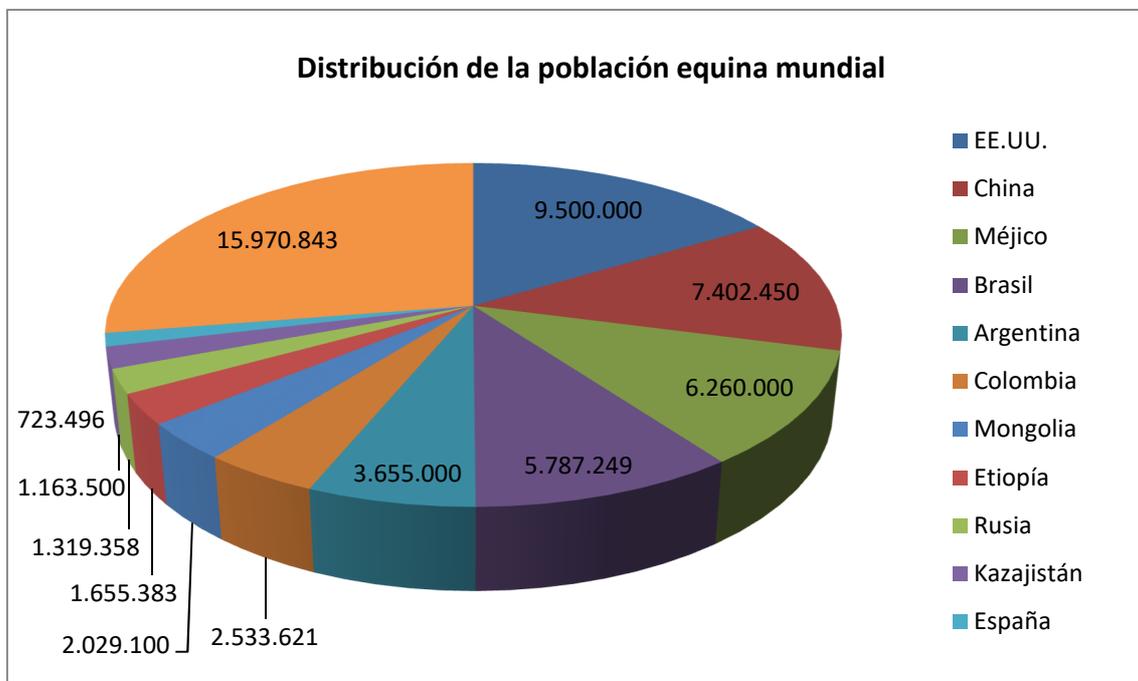


Figura 1. Distribución de la población equina mundial (Murray, G. et al., 2013).

## INTRODUCCIÓN

En cuanto al caballo como animal de **ocio**, más de 3.500 competiciones internacionales se disputaron en el año 2012 bajo la normativa de la Federación FEI. El promedio de crecimiento general en el total de eventos de la FEI ha sido significativo con un crecimiento por encima del 30% en las principales disciplinas entre los años 2007 y 2010.

El crecimiento en Asia es muy importante, con una participación en premios en dinero y en volumen total de ventas que mostraron incrementos muy significativos y que representaron casi un 55% y un 60% de las cifras totales a nivel mundial, respectivamente (Murray, G. et al., 2013).

Algunos datos económicos representativos de los muchos que recopila, guarda y analiza la FEI, y que son demostrativos del tamaño e impacto de la industria ecuestre a nivel mundial:

- La industria equina de la UE en 2010 representó un impacto económico de 100 billones de euros, con 400.000 puestos de trabajo a tiempo completo procurados por el sector y con un crecimiento de jinetes del 5% por año.
- El impacto económico directo del sector ecuestre con respecto a la economía de EEUU en 2004 resultó en 39,3 billones de dólares, con un impacto indirecto de 102 billones de dólares, con 460.000 puestos de trabajo a tiempo completo en la industria equina y con 1,4 millones de empleos indirectos o asociados con esta industria.
- Los caballos y su industria en Australia supusieron un impacto de 6,3 billones de dólares australianos en la economía del país en 2007, casi equiparable en volumen con la industria ganadera con una contribución aproximada de 7 billones de dólares australianos al PIB del país.
- El Reino Unido presentó unas cifras de empleo directo e indirecto de la industria equina que oscilaban entre los 220.000 y 270.000 de personas en el año 2009, similares o incluso superiores a las registradas en la ganadería. Con un impacto económico de la industria relacionada con el caballo que supone unos 7 billones de libras, de los cuales más de la mitad derivan de las carreras.

Con respecto al caballo destinado al **consumo**, según los datos de la FAO la producción total de carne de caballo en el mundo en el año 2002 era de 688.237 toneladas, siendo los mayores productores de carne de caballo Méjico, China, Italia, EEUU, Argentina, Mongolia, Australia, Canadá, Brasil y Francia. Tomando como fuente la misma base de datos, FAOSTAT 2004, la producción mundial por continentes nos daría la distribución siguiente: 44% Asia, 35% América, 16% Europa, Oceanía 3% y África 2%. La producción total se mantuvo más o menos estable entre las décadas 1960-1990, en niveles en torno a las 500.000 toneladas. Sin embargo, desde 1990 hasta los últimos datos del 2002, ha aumentado un 28 %. América y Asia acaparan

## INTRODUCCIÓN

prácticamente un 80% de la producción mundial de carne de caballo (Romero Falcón, F., 2004).

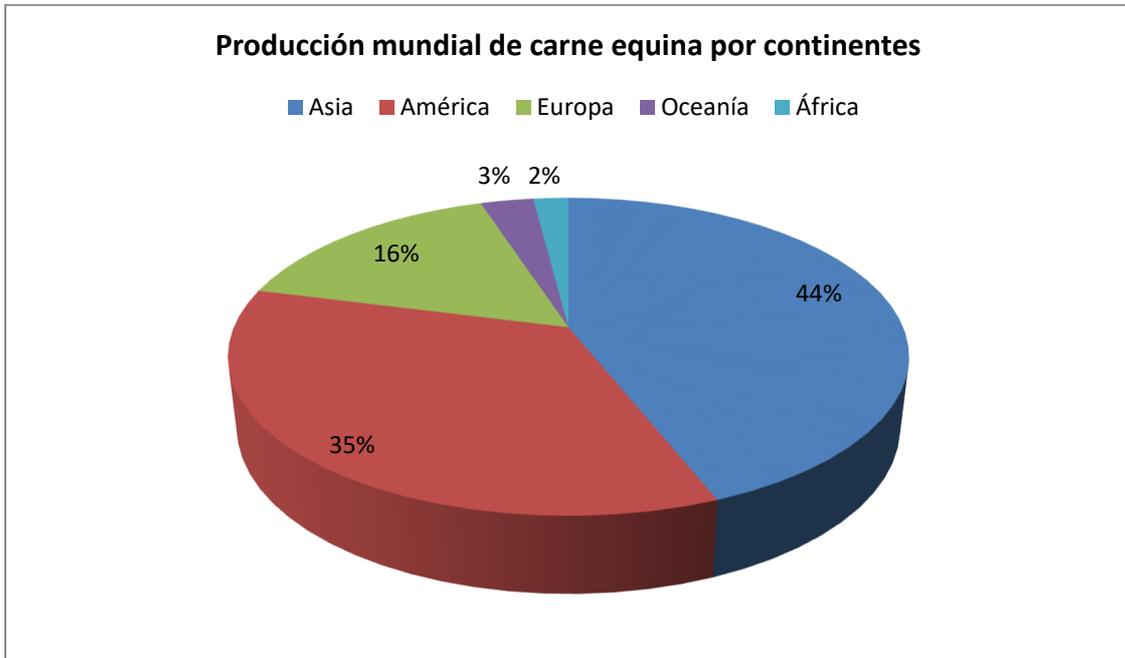


Figura 2. Producción mundial de carne equina por continentes (Romero Falcón, 2004).

Es de reseñar el espectacular aumento de producción de carne de caballo en el **continente asiático**, hasta el punto de superar al continente americano como principal área de producción (Figura 2). Los principales países asiáticos productores son: Kazajistán, China y Mongolia. Destaca China con una producción cercana a las 190.000 toneladas de carne de caballo, seguida muy de lejos por Méjico y Argentina. La producción en el continente americano se ha estabilizado durante los últimos años, después del descenso como consecuencia de un menor consumo de esta carne, debido a la aparición de casos de triquinosis en la población caballar canadiense. Los países en los que hay una mayor producción en este continente siguen siendo: Méjico, EEUU, Argentina y Canadá. Y en Europa cabe destacar un descenso mantenido en la producción de carne equina desde 1960 con una estabilización a partir de la década de los 90 (Romero Falcón, F., 2004).

En cuanto a los datos de importación y exportación de carne de caballo a nivel mundial, datos de 2001, de la base de datos de la FAO, destacan **América** y **Europa** como grandes exportadores de carne de caballo, mientras que **Europa** también repite como principal importador a nivel mundial.

Por las características dietéticas de la carne de caballo ha aumentado su consumo en algunos países como Francia, Italia, Alemania, Inglaterra y EEUU (Romero Falcón, F., 2004).

## INTRODUCCIÓN

### ➤ El sector equino a nivel **europeo**:

La industria del caballo en la UE tiene una gran importancia para todos los países. En el pasado, los équidos eran fundamentales en la industria, en la agricultura, en el transporte y en funciones militares. Hoy en día pueden ser utilizados en actividades deportivas o de ocio, pueden representar un modo de vida, un compañero de trabajo o ser, incluso, aprovechados como alimento.

Los caballos en Europa representan una parte de nuestra  **historia común**. En diferentes partes del continente europeo, distintas razas han evolucionado dependiendo de las condiciones ambientales y del uso al que se ha dedicado la raza concreta. En la actualidad, las fronteras nacionales entre los países europeos han pasado a tener menor importancia, también en el mundo del caballo. Por lo menos, por encima, parecemos más homogéneos, ya que se pueden apreciar las mismas actividades ecuestres y las mismas razas representadas por todo el continente. Sin embargo, a pesar de las muchas similitudes, también se observan muchas diferencias, como pueden ser las preferencias en determinados deportes ecuestres, la organización de las apuestas en torno al sector ecuestre o el grado de implicación del Estado en la industria equina. Por tanto, la industria del caballo en Europa es más variada de lo que puede parecer a primera vista (Liljenstolpe, C., 2009).

Actualmente, las industrias ecuestres se encuentran entre las más prometedoras empresas en las áreas rurales de la UE y con una tendencia clara al crecimiento. En los últimos tiempos, el número de caballos y actividades ecuestres han estado creciendo constantemente. Así, los eventos ecuestres y actividades relacionadas forman una parte importante de la  **economía rural** (Hägglom, M. et al., 2004).

En comparación con los principales sectores de la agricultura y de la ganadería que se encuentran aun marcadamente subsidiados y protegidos por los extensos mercados comunes de la UE, el sector equino se encuentra dirigido a nivel de mercado con muy poca o ninguna  **intervención gubernamental**. En cuanto a beneficio anual directo, se estima que las industrias ecuestres generan alrededor de 1.100 a 2.800 euros por caballo. Los efectos de generación de empleo de este sector no se han de ignorar, así como que los équidos generan una gran diversidad de servicios, desde los herradores, pasando por los veterinarios, hasta los mozos de cuadra. Además, a diferencia de la ganadería orientada a la producción de animales de abasto, la industria equina tiene un alto valor añadido, puesto que el consumidor se inclina más a invertir considerables sumas de dinero para su afición antes que para el consumo diario de alimentos (Hägglom, M. et al., 2004). Por los resultados obtenidos de un estudio realizado a nivel europeo se determinó que el número de  **caballos per cápita** está relacionado positivamente con el nivel medio de consumo, así como con el nivel

## INTRODUCCIÓN

de educación, mientras que el porcentaje de desempleo tenía una relación negativa con el número de caballos per cápita (Liljenstolpe, C., 2009).

Un estudio realizado en Alemania obtuvo como resultado que los gastos totales anuales en el sector ecuestre alemán fueron aproximadamente de 2.6 billones de euros y que las ventas totales dentro del sector supusieron alrededor de 5 billones de euros. Además, entre 3 y 4 caballos crean un puesto de trabajo a tiempo completo en Alemania. Otro estudio en el Reino Unido reflejó que el sector ecuestre aporta empleo directo a unas 50.000 personas y que la industria relacionada con el caballo de manera indirecta emplea a un total de entre 150.000 y 200.000 personas. Todo ello equivale a que de 5 a 7 caballos dan trabajo a tiempo completo a una persona (Liljenstolpe, C., 2009).

La agricultura y ganadería europeas están sufriendo un cambio profundo y la tendencia es hacia la producción intensiva y de grandes unidades en sistemas cerrados y, como resultado, los animales están desapareciendo del pasto y del paisaje rural europeo con sus consiguientes efectos sobre la biodiversidad y el paisaje. Pero no es el caso del caballo, cuya **cría** es de naturaleza **extensiva**, a excepción de los équidos criados para carne, y por tanto, está ocupando el lugar de la vaca en el paisaje y, como animal de pastoreo, mejora sus aptitudes al ser, incluso, indicado para lugares en riesgo, como áreas de protección de la naturaleza o para sus zonas limítrofes.

Al tratarse de un sector con un crecimiento muy rápido y muy cambiante, la industria equina también tiene **numerosos problemas**. El crecimiento del sector se ha producido en parte de manera incontrolada, y así no todos los animales están registrados y, como muchos se poseen como un hobby, sus propietarios son un grupo muy heterogéneo de personas, en la práctica imposibles de alcanzar de la misma manera que los granjeros de la UE. Tampoco es un sector que se encuentre bien organizado como para comunicar su opinión y necesidades a las autoridades públicas y, muchas veces, se sitúa de manera complicada entre distintas áreas jurisdiccionales, administrativas y políticas. Además, una actividad recreativa popular atrae, cada vez más, gente con escasa o ninguna experiencia formativa previa con animales, lo que es arriesgado y peligroso desde un punto de vista de Salud Pública y de bienestar animal (Hägglom, M. et al., 2004).

Se considera que existe en Europa una cantidad de caballos superior a los 6 millones de ejemplares, cuyo impacto económico ronda los 100 billones de euros al año. El sector equino aporta unos 400.000 puestos de trabajo a tiempo completo y se considera un sector en crecimiento ya que el número de jinetes aumenta en un 5% cada año. Los équidos en Europa ocupan una superficie de prados permanentes equivalente a 6 millones de hectáreas para su pasto y alimentación (Johanson, S., 2010). En algunas regiones de Europa, muchos équidos tienen una función protectora del medio ambiente gracias a su pastoreo selectivo, lo que, junto con su reutilización

## INTRODUCCIÓN

en tareas forestales y agrícola-ganaderas, tiene un impacto muy importante en cuanto a fuente de energía renovable y amistosa con el medio ambiente. También contribuye a nivel de turismo y aporta económicamente muchos beneficios a nivel local gracias, por ejemplo, a las más de 37.000 carreras de caballos que se celebran en Europa cada año. Muchas regiones se basan en el desarrollo e investigación de productos relacionados con la industria ecuestre, así como en la innovación en el desarrollo de productos y su relación con diferentes empresas de otros ámbitos.

En Europa, los équidos también representan un papel muy importante a nivel **social, educativo y sanitario**, al ser empleados en terapias ecuestres, en labores a nivel de prisiones y en actividades de conciliación a nivel familiar o afectivo. En cuanto a la cría de caballos, Europa lidera, por ejemplo, la crianza de caballos de deporte a nivel mundial, con lo que ello supone a nivel económico. El caballo está profundamente ligado a la cultura y a la historia de Europa, y así, por ejemplo, muchas de las yegadas nacionales son monumentos de un gran valor histórico y patrimonial. Además, ya sea por el empleo directo, o por los puestos de trabajo indirectos que genera, el sector equino europeo es un mercado en crecimiento que ofrece cientos de miles de empleos por toda Europa, muchos de ellos en áreas rurales con un alto índice de paro. Así mismo, el sector del caballo da un gran apoyo a los agricultores y granjeros al ofrecer un mercado para sus distintos forrajes y demás materias primas (Johanson, S., 2010).

La importancia económica de la industria equina se ha analizado en diferentes países europeos y se ha concluido que el sector ecuestre tiene un impacto considerable en la **economía** general. Como ejemplos, en Austria los caballos generan una producción aproximada de alrededor de 1,2 billones de euros y unos 650 millones de euros en actividades relacionadas al año, aportando unos 15.000 puestos de trabajo a tiempo completo. En Suecia por ejemplo, el volumen de ventas del sector ecuestre es de 2 billones de euros al año y ofrece alrededor de 10.000 puestos de trabajo a tiempo completo (Liljenstolpe, C., 2009).

Alemania y Gran Bretaña son los países de la UE que poseen mayor cantidad de caballos, aunque Suecia tiene el mayor número de caballos per cápita, y Bélgica y los Países Bajos la mayor densidad de caballos por 1.000 has de tierra (Liljenstolpe, C., 2009). El número de caballos per cápita en Europa ha permanecido relativamente constante en la última década.

Además, también hay que tener en cuenta que se ha incrementado la **movilidad** de caballos entre países europeos por motivos deportivos, de importación-exportación y por comercio de carne equina. Por ejemplo, cada año aproximadamente unos 100.000 caballos son transportados a mataderos entre distintos puntos de la UE, y, así mismo, la FEI organiza alrededor de 250 competiciones internacionales anualmente que suponen también un transporte extensivo de caballos de deporte por

## INTRODUCCIÓN

toda la UE. En Alemania, por ejemplo, se estima que se dan más de 1.5 millones de desplazamientos de caballos al año debido a las competiciones (Liljenstolpe, C., 2009).

En cuanto al caballo de aptitud **cárnica**, la UE lo considera como una especie animal de abasto normal, sin más limitaciones que las reglamentarias en cuanto a la producción, sacrificio, industrialización, comercialización y consumo de esta carne. En Europa, se ha presentado siempre como una alternativa más al resto de especies de abasto, sobre todo en momentos de crisis alimentaria. En muchos países de Europa, se crían ciertas razas de caballos exclusivamente para la producción de carne. La **producción** de carne equina en Europa representa el 16% de la mundial. El 2,8% de las razas equinas se destinan a la producción de carne. Algunos países europeos son importantes consumidores: Italia, Francia, Países Bajos, etc., aunque se aprecia un descenso de la producción y del consumo en la mayoría de los países. El descenso de la producción es un hecho evidente en todos los países, excepto en Italia y en el RU. Destaca Francia en cuanto al descenso sufrido en su producción desde la década de los 60 hasta la actualidad. España ocupa el tercer lugar en producción de carne a nivel europeo. Siendo, precisamente **Italia** el país de la Unión Europea donde la producción es mayor, seguido muy de lejos, de Francia y de España (Romero Falcón, F., 2004). Algunos países europeos, al no poder hacer frente con su propia oferta a la demanda interna, necesitan importar carne de países vecinos; por ejemplo, de Italia o Francia, aunque estos a su vez son grandes importadores. Europa es importadora de carne de caballo, duplicando las importaciones a las exportaciones, siendo América el principal continente exportador de carne de caballo hacia Europa (Romero Falcón, F., 2004).

### ➤ El sector equino en **España**:

La ganadería basada en la explotación de la especie equina es una de las más antiguas en la historia de nuestro país, aunque ha experimentado importantes cambios en el último siglo. Partiendo de una explotación ligada a los métodos agrícolas, donde las aptitudes de trabajo y transporte eran las más fomentadas, los avances tecnológicos y los cambios sociales del país, durante la segunda mitad del siglo XX, motivaron un descenso significativo del censo y una variación radical de las orientaciones económico-productivas. Sin embargo, la consolidación de alternativas al uso tradicional de estos animales, ligadas fundamentalmente al sector servicios, en las últimas décadas, está produciendo la recuperación del sector (BOE nº.157, 2011).

Este nuevo auge del equino en su conjunto, y particularmente del caballo, ha venido motivado por las diferentes fórmulas de **ocio** basadas en su utilización, que se han convertido en el principal pilar económico del sector y cuentan con una gran demanda social, sin olvidar otras aptitudes, como la producción cárnica o el trabajo en diversas zonas del país.

## INTRODUCCIÓN

La producción equina se ha constituido como una alternativa consolidada a otras producciones ganaderas, con un peso destacado en las políticas de **desarrollo rural** por su importancia en la creación de empleo y riqueza (BOE nº.157, 2011).

Según un estudio realizado en el año 2013 sobre el impacto económico del sector del caballo en España y que intenta mostrar no sólo su trascendencia económica, sino también laboral y social, éste supera los **5.300 millones de euros** en el año 2012. Refleja el movimiento económico de las diferentes actividades, como el deporte, la agricultura, el turismo, la industria, la veterinaria y el sector de las apuestas, que directa o indirectamente forman parte del mismo (Daemon Quest, 2013).

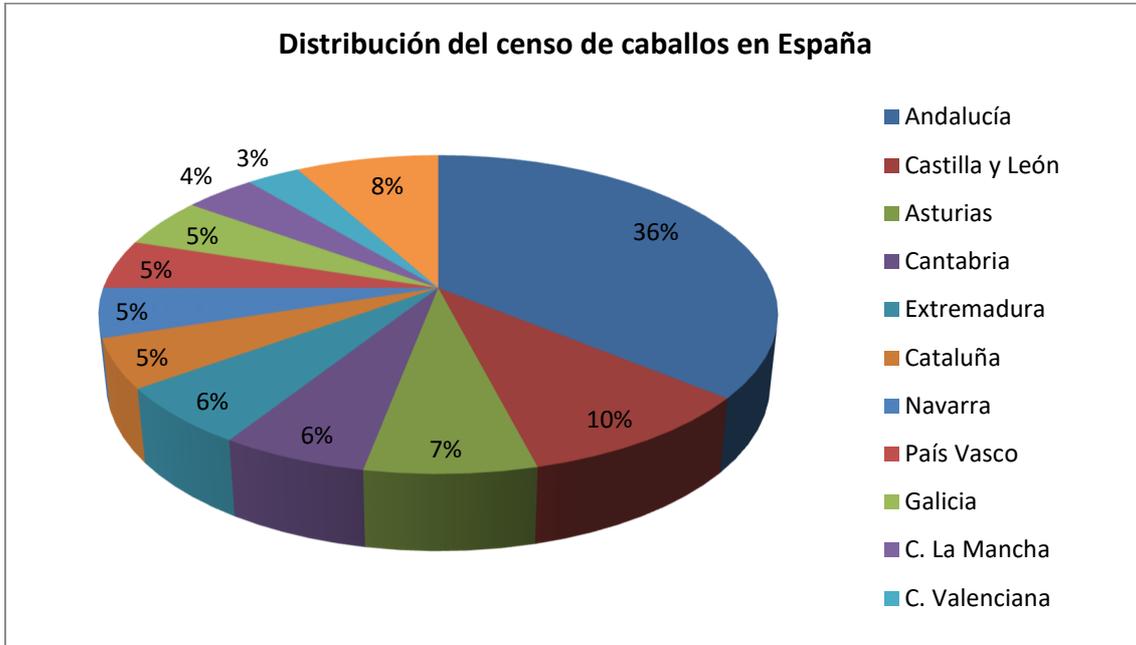
La industria equina española representó el 0,51% del PIB nacional durante el ejercicio del 2012, lo que supone un volumen económico de 5.303,6 millones de euros. En España, por un lado, más de 3.300 millones de euros derivan de actividades relacionadas directamente con el sector ecuestre, que vendría a ser un 64% del total, y por otro lado, más de 1.900 millones de euros del impacto económico total son generados por diferentes sectores que trabajan indirectamente en el mundo del caballo, como pueden ser la construcción, la medicina, el transporte, la alimentación, la moda, el turismo o la formación, y que suponen un movimiento económico del 36% sobre el total del impacto. Actualmente, dentro del desarrollo del sector estamos asistiendo a nuevos cambios impulsados por la evolución de las tendencias, como el crecimiento de la práctica de terapias con caballos, el desarrollo de complementos vitamínicos y medicamentos, o la entrada en el mercado de nuevos elementos de equipamiento para jinetes, veterinarios y caballos, que aún aumentarán más el impacto de este sector (Daemon Quest, 2013).

Además, más de 61.000 puestos de trabajo directos dependen de la industria equina en España, y es que existen muchas personas relacionadas con este sector.

En España hay 175.429 explotaciones ecuestres con **723.496 caballos**, de los que 219.997 están censados por asociaciones de pura raza, siendo el 85% caballos PRE. Si nos fijamos por comunidades autónomas, un 36% de estos caballos se encuentran concentrados en **Andalucía**, lo que conlleva representar el 32% del impacto económico directo total, un aporte de 1.719 millones de euros. Por detrás, figuran Castilla y León, Cataluña, Extremadura y Asturias, con 521, 371, 361 y 314 millones de euros, respectivamente. En cuanto a número de caballos, detrás de Andalucía se encontraría Castilla-León con un 10% de todos los caballos, seguidas de Asturias, Cantabria y Extremadura, en cuyas explotaciones contamos con el 7% y, en las dos últimas, el 6%, respectivamente (Daemon Quest, 2013)(MAGRAMA y Asociación de criadores, 2013). En la CV se encuentra el 3% de los caballos a nivel nacional (Figura 3), es decir, unos 24.500 caballos, de los que unos 9.500 son PRE.

## INTRODUCCIÓN

El número de explotaciones con caballos ascendía, con fecha de Octubre de 2012, a 175.429, la mayor parte de ellas nuevamente en Andalucía, con un 41%, aunque, en este caso, Extremadura con un 11% supera a Castilla-León, que aglutina el 9,4% de las explotaciones registradas. Galicia y Asturias muestran la importancia de la zona Norte en este tipo de explotaciones, con un 9,1% y un 6,4% respectivamente del total. En la CV, localizamos un 2%, según datos del año 2012 del MAGRAMA.



**Figura 3. Distribución del censo de caballos (Daemon Quest, 2013).**

En cuanto a la concentración de explotaciones por kilómetro cuadrado, de media en España hay 0,35 explotaciones por kilómetro cuadrado de superficie. Tres comunidades autónomas superan la unidad por kilómetro cuadrado, Asturias, Cantabria y País Vasco, mientras que Andalucía, donde mayor es el número de explotaciones, presenta un ratio de 0,81. La CV presenta un 0,12 (Daemon Quest, 2013).

Cabe destacar, sin embargo, que **Cantabria** es la Comunidad Autónoma con mayor concentración de caballos por metro cuadrado, seguida de Navarra y Asturias. De media en España hay 0,015 caballos por persona. En la CV, la concentración se sitúa en un 0,005 (Daemon Quest, 2013).

Un análisis por actividades refleja que la **explotación** es la fase de vida del caballo en la que se concentra la mayor carga económica, generando más de 1.697 millones de euros, el 42% del total, por encima de la cría y de la transformación con 542 y 462 millones de euros, respectivamente.

Del mismo modo, se pone de relieve la importancia de las actividades comunes en todas las fases del ciclo de vida del caballo, llamadas actividades transversales, que

## INTRODUCCIÓN

abarcan sectores muy heterogéneos y suponen un impacto económico directo aproximado de 2.000 millones de euros, siendo la partida más importante, la veterinaria, con un 33% del total, por delante de la industria alimentaria equina, con 557 millones de euros (Daemon Quest, 2013).

Dentro de la fase de explotación, el mayor impacto lo representan los clubes, con 622 millones de euros, seguido por las fincas privadas con 558 millones de euros.

Por otra parte, la producción de **carne de équidos** en España representa un porcentaje muy bajo de la producción total de carne, y en la actualidad las cifras de producción están lejos de las 15.000 toneladas que se alcanzaron entre los años 1967 y 1972. Desde entonces las cifras han ido decreciendo, si bien en los últimos 20 años la producción está estabilizada en torno a 7.000 toneladas.

El volumen máximo de cabezas totales sacrificadas es del año 1985, pudiendo apreciarse una tendencia descendente debido al claro descenso de ganado mular y asnal, ya que el número de cabezas de caballos sacrificadas apenas ha descendido respecto a este número. Sin embargo, el mayor peso total a la canal corresponde al año 1997, lo que se explica por el claro aumento del peso medio de la canal de los caballos. Cabe destacar el aumento sostenido del peso medio a la canal, en kilogramos, desde el año 1985 hasta la actualidad, circunstancia debida tanto a la mejora genética de las razas, como a un mejor manejo y a una mejor alimentación. En 2012, el peso total a la canal fue el mayor de los últimos años, situándose en 15.606 toneladas. Así mismo, el número de équidos sacrificados superó las 72.500 unidades a nivel nacional.

**Tabla 1. Importaciones y exportaciones a la UE y a países terceros en 2013.**

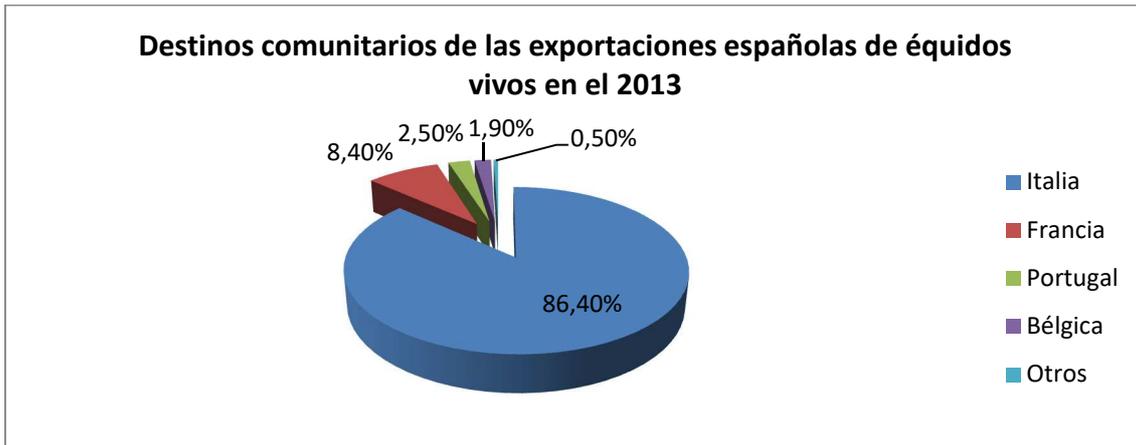
	UE	UE	Países terceros	Países terceros
2013	Animales vivos (unidades)	Carne (toneladas)	Animales vivos (unidades)	Carne (toneladas)
Importaciones	7.973	251	184	62
Exportaciones	4.391	5.632	485	102

Fuente: SGPG, 2014.

Los importantes descensos del número de animales sacrificados hasta el decenio 1960-1970 se frenaron, y a principios de la década pasada el número de sacrificios de équidos, aunque con algunos altibajos, se mantuvo sobre los 30.000. La evolución, en toneladas, de la producción de carne equina en España desde 1985 hasta el 2001, según los datos de sacrificio del Anuario de Estadística Agroalimentaria 2001, se mantuvo en unas 7.000 toneladas al año, aproximadamente, cifra que se mantuvo hasta el 2010. Cuando miramos por comunidades autónomas el número de équidos sacrificados para carne, destacaban Cataluña y la CV, con 10.905 y 9.144 animales sacrificados, con respecto a los 33.614 totales a nivel nacional. Siendo también los líderes en peso de canal total a nivel nacional, con 2.517 y 1.896 toneladas, respectivamente, en comparación con las 6.525 a nivel nacional total (datos del

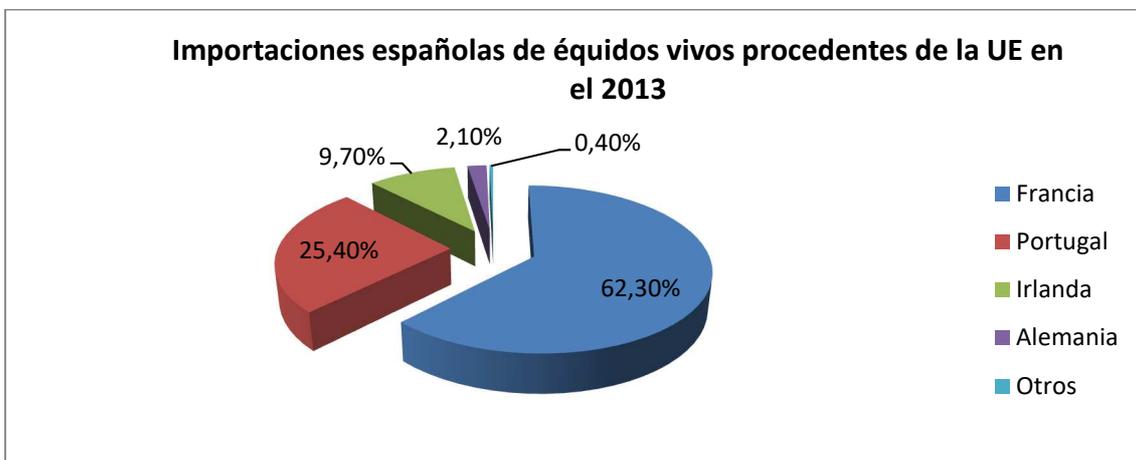
## INTRODUCCIÓN

Anuario de Estadística Agroalimentaria de 2001 del MAPA) (Romero Falcón, F., 2004). En los últimos años, aunque estas CCAA han mantenido su producción cárnica con pequeñas variaciones, otras han aumentado su producción y se han puesto a la cabeza, tanto en número de équidos sacrificados como en producción de carne. Se trata, principalmente, de Navarra, seguida por Castilla-León y Aragón. La producción de carne a nivel nacional en 2013 se situaba en casi 11.500 toneladas y el número de équidos sacrificados se encontraba en valores de 50.281 unidades en el mismo año.



**Figura 4. Destinos comunitarios de las exportaciones españolas de équidos vivos (SGPG, 2014).**

En España existen 12 razas equinas en peligro de desaparecer, de las cuales 3 son de aptitud cárnica, y en muchas ocasiones se destinan a la producción cárnica animales de tiro. El consumo de carne de caballo supone el **0,2%** del consumo de carne nacional. España es un país netamente **exportador de carne** de caballo y gran parte de esa producción citada se exporta al resto de la UE y a otros países terceros (Romero Falcón, F., 2004) (Figura 4). En 2013, la cantidad de carne y derivados importada de la UE fue de 251 toneladas, mientras que se exportaron 5.632 toneladas. Sin embargo, se importaron 7.973 équidos vivos pero se exportaron 4.391 (Figura 5) (Tabla 1).



**Figura 5. Importaciones españolas de équidos vivos procedentes de la UE (SGPG, 2014).**

## INTRODUCCIÓN

### ➤ El sector equino en el ámbito **social** y **económico**:

El sector equino se caracteriza por ser una **excepción** en la ganadería en muchos aspectos, mostrando un potencial impresionante para transformarse. En la última mitad del siglo XX y principios del XXI, se ha visto sujeto a un cambio enorme, y actualmente los équidos, en general, se reservan para el recreo y el deporte, convirtiéndose en una parte importante del estilo de vida moderna. Sin embargo, en muchos países subdesarrollados o en vías de desarrollo el caballo sigue siendo aprovechado como medio de transporte y vehículo agrícola. El “producto” caballo ha adquirido por tanto un significado social completamente diferente y, de este modo, existe una necesidad de diferentes cualidades y atributos. Paralelamente, el consumidor también ha cambiado y la sociedad demanda más atención en la manera de ofertar determinados productos. Así, por ejemplo, también se presta mucha más atención al medio ambiente y al bienestar dentro del sector equino (Hägglom, M. et al., 2004).

El sector equino es hoy en día un sector altamente diverso y, para muchos, ambiguo, ya que, por un lado, engloba actividades a una escala empresarial y, por otro, es a la vez, en gran medida, un sector de ocio y recreo. Es también necesario distinguir entre los diferentes tipos de organizaciones y empresas del sector primario hasta las industrias relacionadas con sus pilares más importantes: la **cría**, el **deporte** y el **ocio**. Otras actividades adicionales son el comercio y la producción de carne. El comercio equino engloba la importación, la exportación y el comercio interior, y se realiza tanto a nivel profesional, como a nivel privado. La **carne de caballo** se aprovecha para consumo humano y animal, así como para propósitos industriales. Todas estas partes fundamentales del sector poseen sus propias organizaciones pero, aparte de estos subsectores, el sector ecuestre emplea servicios como empresas forrajeras y de piensos, procesadoras de estiércol, compañías de transporte, de equipamiento deportivo, empresas constructoras, aseguradoras y medios de comunicación. Todos estos participantes tienen intereses en la estructura del sector y en las políticas que le conciernen.

Además, el sector equino está promovido y apoyado por diferentes organizaciones de diversos campos, como la educación, la investigación y la producción extensiva. Las actividades profesionales en este sector están muy interrelacionadas con las recreativas, hasta tal punto, que no se pueden acometer por separado y esto se refleja también en las distintas organizaciones ecuestres.

Si nos centramos en el sector equino contemporáneo, se observa una distancia considerable con respecto a la agricultura tradicional. El principal aumento en el sector ecuestre es resultado del interés del **consumo urbano**, muy ligado a la tendencia de la necesidad de experimentar el vínculo entre el ser humano y la naturaleza. Un ejemplo importante de ello es el ecoturismo y las industrias ecuestres desempeñan un papel

## INTRODUCCIÓN

fundamental en esta rama creciente. En todos los niveles del sector, existen tanto profesionales por un lado, como aficionados por otro, involucrados en su cometido, lo que hace claramente diferente este sector de la mayor parte de la ganadería (Hägglom, M. et al., 2004). En un mundo lleno de contrapuntos, para muchas personas, los caballos se han convertido en un estilo de vida y representan un alto nivel de vida, y para otras con menos recursos, significan un medio imprescindible y valioso para desplazarse y aprovechar sus tierras.

El sector ecuestre también es peculiar en el sentido que implica a muchos individuos del género **femenino**, tanto a nivel de ocio, como de empresa. Muchos emprendedores, empresarios y empleados dentro de la industria equina son mujeres, alrededor del 80% de los alumnos en las escuelas de equitación son niñas y un gran porcentaje de los estudiantes de veterinaria son mujeres.

A nivel social y educativo, es obligatorio mencionar el papel fundamental que desempeña el caballo en las terapias destinadas a individuos discapacitados, como un instrumento de desarrollo de sus aptitudes y habilidades físicas y mentales. También es importante la capacidad integradora y socializadora que ejerce el caballo en determinados grupos, como en centros penitenciarios o en centros de reinserción, con resultados muy prometedores.

Dentro del sector equino actual, no podemos olvidar el mundo de las **apuestas** en torno a las carreras de caballos y de trotadores principalmente, en el que se mueven grandes cantidades de dinero. En muchos países, muchas de las ganancias obtenidas vuelven en un porcentaje como impuestos a las arcas del Estado y, en ciertas ocasiones, parte de esos impuestos son redistribuidos hacia la industria ecuestre como soporte económico para diversas actividades. Además, cierta parte de los beneficios obtenidos con las apuestas van a parar directamente al sector ecuestre de las carreras de caballos a través de los premios logrados por los propietarios y criadores vencedores, y para mantenimiento y cobertura de gastos de los hipódromos (Liljenstolpe, C., 2009).

### 1.2. Estado previo de conocimiento de las enfermedades sometidas a estudio

Las enfermedades sobre las que se centra el estudio son la leptospirosis, la salmonelosis, la piroplasmosis, la fiebre del Nilo Occidental y la arteritis vírica equina, y se eligen por presentar una serie de características distintas entre ellas. Así, dos enfermedades son de etiología bacteriana, dos son de origen vírico y una de ellas, que a su vez engloba dos variedades etiológicas, es causada por parásitos. Presentan, además, diferentes aspectos epidemiológicos y mecanismos de acción, cuadros sintomáticos y repercusiones clínicas destacables, tanto en la especie equina como en otras especies, y sus medidas de tratamiento y de prevención también son muy diversos e importantes. Por esas mismas diferencias, y al tratarse de enfermedades

## INTRODUCCIÓN

infecciosas y parasitarias muy frecuentes en la población equina a nivel mundial, la intención es determinar y publicar los porcentajes de individuos positivos frente a estas cinco enfermedades de los caballos en la CV y obtener nuevos datos epidemiológicos que puedan servir para la toma de decisiones posteriores a distintos niveles y en distintas especies.

El motivo de incluir estas cinco enfermedades en el estudio, y no otro número, se fundamenta en la existencia de estudios preliminares que nos mostraron la presencia de individuos afectados en la región en cuestión, mientras que para otras enfermedades los resultados fueron negativos. Por supuesto, también los motivos presupuestarios llevan a limitar el número de enfermedades a cinco y el número de individuos analizados para cada enfermedad.

### 1.2.1. Leptospirosis

#### 1.2.1.1. Etiología

Las leptospiras son bacterias unicelulares, flexibles, móviles, de morfología fina y enrollada **helicoidalmente** (Figura 6). Al menos uno de sus extremos tiene forma de gancho, lo que le da su forma característica de signo de interrogación. Son organismos delgados, con un diámetro aproximado que varía entre 0,1 y 3  $\mu\text{m}$ , y una longitud aproximada de 6 hasta 20  $\mu\text{m}$ . La amplitud de la hélice enrollada ronda entre las 0,1 y 0,15  $\mu\text{m}$  (Hines, M.T., 2007), y la longitud de onda es de 0,5  $\mu\text{m}$ . La dirección del enrollamiento es hacia la derecha (Faine, S. et al., 1999).



Figura 6. Imagen microscópica de *Leptospira* (<http://www.leptospirosis.com.mx/#c>)

Las leptospiras poseen estructuras superficiales con características de bacterias, tanto Gram positivas como negativas. La doble membrana y la presencia de lipopolisacáridos son típicas de las Gram negativas, mientras que la asociación estrecha de la membrana citoplásmica con la pared celular son reminiscencias de la arquitectura envolvente de las Gram positivas (Evangelista, K.V. y Coburn, J., 2010). Sin embargo, poseen menor actividad endotóxica que otras bacterias Gram negativas y no se tiñen con tinciones bacteriológicas convencionales. Así mismo, esta característica estructura de doble membrana de las leptospiras es común con otras espiroquetas.

## INTRODUCCIÓN

Las leptospiras son espiroquetas con una gran **movilidad**, pudiéndose desplazar de dos formas distintas, de una manera translacional y no translacional. La motilidad se debe a los flagelos axiales, los cuales se contraen periódicamente provocando la rotación de la espiral y, por tanto, el movimiento. El movimiento y el aspecto que adquieren las leptospiras depende normalmente de la naturaleza del medio en el que crecen (Rocha, T., 2004). Otra característica relacionada con el movimiento es la quimiotaxis.

Las leptospiras son organismos **aerobios obligados** con una temperatura de crecimiento óptimo entre 28 y 30 °C, y un rango de pH entre 7,2 y 7,6, es decir, en un medio ligeramente alcalino. Son catalasa y oxidasa positivas, una concentración inicial no definida de dióxido de carbono es esencial y la concentración de oxígeno es un factor limitante de crecimiento (Faine, S. et al., 1999).

Algunas leptospiras patógenas pueden sobrevivir en medios de cultivo líquidos inalterados o, incluso, en ambientes con pocos nutrientes, como tierra húmeda o agua fresca, durante meses, a veces, hasta años. En estos casos, la concentración de sal, la viscosidad y el pH son factores críticos.

Se ha demostrado otra propiedad de las leptospiras que es la capacidad para agregarse formando una especie de **biopelícula** y parece ser que la motilidad no es necesaria para ello. Se considera que estas bacterias utilizan esta propiedad para sobrevivir en determinados ambientes (Evangelista, K.V. y Coburn, J., 2010).

El género *Leptospira* pertenece a la familia *Leptospiraceae* y al orden *Spirochaetales*. Los géneros reconocidos en esta familia son *Leptospira*, *Leptonema* y *Turneria*. Los 3 géneros de la familia *Leptospiraceae* se diferencian por características biológicas, serológicas, morfológicas y por composición del ADN. Históricamente, este género se clasificaba en dos especies, ***L.interrogans*** y ***L.biflexa***, que comprendían variedades patógenas y apatógenas, respectivamente (Rocha, M.T., 2004). Dentro de cada especie, se incluían gran cantidad de serovares en función de la aglutinación con anticuerpos, y la especificidad de cada serovar se la confieren los lipopolisacáridos (LPS), que actúan como antígenos. Como se han descrito más de 60 serovares saprófitos y más de 200 serovares patógenos distintos, los serovares antigénicamente relacionados se incluyeron en diversos serogrupos por conveniencia para estudios epidemiológicos, pero sin ninguna base taxonómica (Levett, P.N. y Haake, D.A., 2009). Ya se contabilizan más de 24 serogrupos.

La clasificación actualmente más utilizada es la basada en parámetros **genéticos**, dejando a un lado los criterios fenotípicos, y en ella se pueden enumerar hasta el momento 19 especies, o también conocidas como genomaespecies, 13 patógenas y 6 saprófitas, todas identificadas por medio de una técnica analítica de hibridación del ADN (Evangelista, K.V. y Coburn, J., 2010).

## INTRODUCCIÓN

### 1.2.1.2. Epidemiología

La leptospirosis sobrevive en la naturaleza gracias a los denominados hospedadores de **mantenimiento**, también conocidos como hospedadores reservorios o definitivos. Estos hospedadores, entre los que podemos incluir un gran número de especies domésticas y salvajes, actúan como fuente de infección para los hospedadores **accidentales**, entre los que se cuenta la especie humana (Radostits, O.M. et al., 2007). Determinados serovares de *Leptospira* son detectados habitualmente en especies concretas de hospedadores de mantenimiento y, además, algunos estudios epidemiológicos parecen indicar que estas preferencias por un hospedador determinado varían con la localización geográfica y con el transcurso del tiempo. Sin embargo, hay otra opinión que indica que esta asociación no es absoluta y que la base molecular de esta especificidad por este tipo de hospedadores es desconocida (Adler, B. y De la Peña, A., 2010). En esta clase de interacción o estado de mantenimiento, el microorganismo se dice que está adaptado a su hospedador y la infección es endémica. A pesar de que estos hospedadores son muy susceptibles a dicha infección, la patogenicidad es comúnmente baja y la enfermedad cursa de manera leve o subclínica. Generalmente, se produce una excreción prolongada de leptospiras a través de la orina, convirtiéndose estos hospedadores en la principal fuente de contaminación ambiental y de transmisión a otras especies. Como ejemplo, podemos citar a la rata (Figura 7). Los hospedadores portadores o de mantenimiento se infectan habitualmente en su infancia y, una vez infectados, pueden excretar las leptospiras intermitente o continuamente a lo largo de sus vidas. En algunos animales, se ha podido demostrar que está asociado a valores altos de anticuerpos antileptospirales IgM serovar-específicos en suero sanguíneo. La inmunoglobulina antileptospiral está presente en la orina de los túbulos renales y de la vejiga, pero no destruye a las leptospiras. Éstas no pueden sobrevivir en la orina ácida de la vejiga pero se mantienen viables en orina alcalina, por lo que herbívoros y animales cuya dieta produce una orina alcalina son relativamente más importantes como diseminadores de leptospiras (Faine, S. et al., 2001).



Figura 7. *Rattus norvegicus*, ejemplo de hospedador de mantenimiento de *Leptospira* (<http://dpcselvaggia.es/manual-de-plagas/muridos/ratas-de-alcantarilla-rattus-norvegicus/>).

## INTRODUCCIÓN

El poder saber cuáles son los **serovares prevalentes** y cuáles son los hospedadores reservorios es fundamental para entender la epidemiología de la leptospirosis, y para poder desarrollar un programa de control en cualquier región del mundo.

Por el lado contrario, las especies que actúan como hospedadores accidentales presentan habitualmente una susceptibilidad a la infección mucho más baja, aunque, en ellos, la enfermedad suele desarrollarse de forma más aguda y severa. Además, el período de excreción vía urinaria suele ser mucho más corto, así que su papel como transmisores es mucho menor e ineficaz. Un ejemplo de este tipo de hospedadores es el hombre (Hines, M.T., 2007).

La principal fuente de exposición de leptospiras es la **orina**, ya que suelen colonizar los túbulos renales proximales de los hospedadores, pudiendo llegar a excretar algunos reservorios grandes cantidades de leptospiras de hasta 100 millones por mililitro de orina, incluso meses después de la infección inicial. El agente también puede ser diseminado a través de descargas uterinas, restos fetales y placentarios, y a través de la leche. El contacto puede ser directo o indirecto por medio de suelos, camas, comida o agua contaminada con orina, leche u otros líquidos y tejidos infectados (Colville, J.L. y Berryhill, D.L., 2007). Una vez en el ambiente, las leptospiras pueden sobrevivir varias semanas en condiciones favorables, que son las que suele proporcionar un entorno cálido y húmedo, como puede ser el agua estancada, y con las características físicas y químicas anteriormente descritas (Figura 8).

Ciertos estudios indican que las leptospiras pueden infectar insectos y otros hospedadores invertebrados, pero sus influencias clínica y epidemiológica se desconocen aún (Hines, M.T., 2007).

La transmisión venérea y la vía transplacentaria también hay que tenerlas en cuenta, al haber sido descritas en algunas especies. En la especie humana, se ha descrito la transmisión sexual. Sin embargo, en la especie equina, no se han dado casos de infección a través del semen o por transferencia embrionaria, pero sí por vía **transplacentaria** posterior a la colonización del útero gestante, dando como resultado reabsorciones, abortos, mortinatos o potros neonatos muy débiles. Ciertos estudios sugieren, sin embargo, que existe la potencial transmisión por vía **sexual** en la especie equina, al haberse detectado ADN de *Leptospira* en semen y orina de sementales (Hamond, C. et al., 2013). Así mismo, la enfermedad puede interferir en el porcentaje de éxito de la transferencia embrionaria y emplearla como vía de transmisión (Pinna, A. et al., 2012).

Casi todos los mamíferos de temprana edad son susceptibles de ser infectados por *Leptospira*, ya sea antes o después del nacimiento, porque en la mayoría de los

## INTRODUCCIÓN

casos no están protegidos por los anticuerpos maternos específicos transferidos pasivamente a través de la placenta o el calostro.

Las leptospiras penetran el cuerpo del hospedador a través de cortes o heridas en la piel, a través de pieles reblandecidas, a través de las mucosas, ya sea por ingestión vía oral (Figura 8), ya sea por inhalación de agua o aerosoles vía respiratoria, y también se ha descrito, aunque en menor grado, la transmisión por mordeduras (Levett, P.N., 2004).



**Figura 8. Transmisión vía oral al beber en aguas estancadas**  
(<http://www.thehorse.com/articles/37295/equine-leptospirosis-now-we-have-a-vaccine>).

El grado de transmisión de la infección depende de diversos factores, destacando el clima, la densidad de población y la posibilidad de contacto entre hospedadores de mantenimiento y accidentales.

### ➤ Prevalencia de Leptospirosis en los équidos

Esta enfermedad es probablemente la zoonosis de importancia global **más extendida** por todo el mundo. Se ha descrito tanto en países desarrollados, como en vías de desarrollo, y se han declarado grandes brotes por todo el planeta. La leptospirosis se está reconociendo actualmente como una enfermedad infecciosa reemergente (Zavitsanou, A. y Babatsikou, F., 2008).

#### La leptospirosis equina a nivel **mundial**:

Los estudios serológicos indican que la infección inaparente en caballos es común, oscilando entre el 2 y el 70% a nivel mundial, y entre el 5 y el 67% en los EEUU (Hodgin, E.C. et al., 1989).

En un estudio realizado en Saskatchewan, provincia de **Canadá**, se analizaron muestras séricas de 408 caballos adultos de 8 poblaciones diferentes en busca de *L. interrogans* serotipo *Pomona* y se obtuvo una prevalencia total del 12,8%. Entre los distintos grupos de caballos la prevalencia oscilaba entre el 4 y el 26%. En Quebec, la prevalencia era del 9%, y en otros estados del país vecino, EEUU, los valores obtenidos

## INTRODUCCIÓN

se situaban en el 14% de Georgia y Nueva York, y en el 19% de Illinois (Carpio, M.M. y Iversen, J.O., 1979).

**Tabla 2. Prevalencias y serovares principales en distintas provincias de Canadá.**

Canadá	Saskatchewan	Quebec	Columbia	Ontario
% Prevalencia	12,8	7	6,3	38,2
Serovar principal	<i>Pomona</i>	<i>Pomona</i>	<i>Bratislava</i>	<i>Bratislava</i>

En Canadá, los valores de seroprevalencia frente al serovar *Bratislava* en distintas provincias del país a finales de la década de los 80 eran bajos en la Columbia Británica, 6,3%, mientras que en Ontario se situaban en el 38,2%. La prevalencia del serovar *Bratislava* para toda la población equina estudiada fue del 56,6%, y entre los caballos de carreras de Alberta, del 44,4% (Lees, V.W. y Gale, S.P., 1994) (Tabla 2). También En la provincia de Quebec se realizó un estudio serológico en animales domésticos, detectándose un 5% de prevalencia en los équidos. *Leptospira Pomona* fue la más predominante (Higgins, R. et al., 1980).

**Tabla 3. Prevalencias y serovares principales en distintos Estados de los EEUU.**

EE.UU.	Georgia	Nueva York	Illinois	Kentucky	Ohio
% Prevalencia	14	56	19	3,9	20,6
Serovar principal	<i>Pomona</i>	<i>Bratislava</i>	<i>Pomona</i>	<i>Kennewicki</i>	<i>Bratislava</i>

En **EEUU**, en Kentucky se llevaron a cabo dos estudios epidemiológicos para determinar la seroprevalencia de leptospirosis en los casos de abortos y mortinatos que tuvieron lugar en las temporadas reproductivas de 1990, y entre 1991 y 1993. Los resultados obtenidos para 1990 y para los 3 años siguientes fueron de un 4,4% y de un 3,3%, respectivamente, siendo el año con mayor prevalencia 1993 y el serovar más diagnosticado, *Kennewicki*, del serogrupo *Pomona* (Donahue, J.M. et al., 1992) (Donahue, J.M. et al., 1995). También se estudió la prevalencia de la enfermedad en el Estado de Nueva York entre los años 1991 y 1993, analizándose 2.967 muestras de caballos y obteniéndose un 56% de prevalencia. Los serovares más frecuentes fueron *Bratislava* y *Autumnalis*, por este orden (Barwick, R.S. et al., 1998). En Ohio, también se llevó a cabo un estudio de la prevalencia de Leptospirosis en caballos admitidos al hospital de la Universidad Estatal de Ohio y en caballos de dos explotaciones con signos clínicos de la enfermedad. El resultado obtenido fue de un 20,6% de positivos

## INTRODUCCIÓN

en los atendidos en el hospital y de un 72,7% en las granjas. El serovar más frecuente fue *Bratislava* (Park, Y.G. et al., 1992) (Tabla 3).

Se desarrolló un estudio de prevalencia en un grupo de caballos dedicados a la producción de sueros hiperinmunes en **Méjico** y se analizaron sus sueros frente a 19 serovariedades de *L. interrogans*. El resultado fue un 83% de prevalencia frente a uno o más serovares, siendo el serovar *Autumnalis* el más frecuente y con títulos más altos (López Pérez, M. et al., 1998) (Tabla 4). Así mismo, en 2003, los caballos de tres centros ecuestres del ejército mejicano se estudiaron para conseguir averiguar las serovariedades presentes en el ganado equino. Mediante el MAT se demostró la presencia de todo los serovares contrastados, siendo el serovar *Pyrogenes* el más frecuente (Gómez-Molina, T.G., 2005).

En el **Caribe**, en Cuba, los estudios de seroprevalencia realizados en ciudades de la isla, entre los años 1994 y 2001, detectaron valores de leptospirosis equina que rondaban entre el 5,5% y el 16% (Castillo, J.C. et al., 2007). Los serovares más frecuentemente aislados fueron *Australis*, *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae*.

En **Brasil** se llevó a cabo un estudio de la prevalencia de la enfermedad en caballos de carreras en Rio de Janeiro y se obtuvo un 71,4% de seropositividad. Ninguno presentó signos de enfermedad. Además, la prevalencia era mayor en caballos con bajo rendimiento deportivo (Hamond, C. et al., 2012). Así mismo, se realizó otro estudio de seroprevalencia de leptospirosis en caballos de Rio de Janeiro y su relación con alteraciones oftálmicas, y se obtuvo un 53,8% de seropositivos, en los cuales la mayoría de las alteraciones oculares eran significativamente más frecuentes (Braga, J. et al., 2011) (Tabla 4). Finalmente, también se desarrolló un estudio de seroprevalencia en caballos del área urbana de Londrina en Paraná, Brasil, y los resultados reflejaron un 66,8% de seropositivos, siendo *Icterohaemorrhagiae* el serovar más frecuente (Hashimoto, V.Y. et al., 2007).

En **Chile** se desarrolló un estudio de seroprevalencia de Leptospirosis en caballos de polo de la VIII región de Chile, en el que se analizaron 108 individuos serológicamente mediante el MAT, y se observó un 48% de prevalencia general. El serovar más detectado en las pruebas fue *Icterohaemorrhagiae*, con un 28,4% de prevalencia (Bay-Schmith González, N.M. y López Martín, J., 2004).

**Tabla 4. Prevalencias y serovares principales en distintos países de Centro- y Sudamérica.**

Centro- y Sudamérica	Méjico	Cuba	Brasil	Chile	Argentina
% Prevalencia	83	16	66,8	48	62,3
Serovar principal	<i>Autumnalis</i> <i>Pyrogenes</i>	<i>Australis</i>	<i>Icterohae.</i>	<i>Icterohae.</i>	<i>Pomona</i>

## INTRODUCCIÓN

Se llevó a cabo un estudio en Santa Fe, **Argentina**, para evaluar la utilidad del serodiagnóstico de esta enfermedad en équidos aparentemente sanos. La prevalencia detectada fue del 62,3%, y el serogrupo más predominante y con más títulos fue *Pomona* (Schmeling, M.F. et al., 2009) (Tabla 4).

Se estudió también la seroprevalencia de leptospirosis en **Egipto** y, tras los análisis serológicos, se obtuvieron unos valores del 72% en burros hospitalizados y del 57,5% en caballos hospitalizados. Además, se analizó una población de caballos aparentemente sanos y el resultado fue del 29,2%. Los serovares predominantes fueron *Butembo*, *Sentot* e *Icterohaemorrhagiae* para los caballos, y *Butembo*, *Pomona* e *Icterohaemorrhagiae* para los burros (Barsoum, I.S. et al., 1978).

Así mismo, en 2001, en Irán se determinó la seroprevalencia de leptospirosis en burros y caballos en Ahvaz mediante el MAT y se obtuvo un resultado del 40% para burros, siendo *Grippityphosa* el serovar con títulos más elevados (Rahim, M. et al., 2005).

Se elaboró un estudio para determinar la seroprevalencia de leptospirosis en caballos de carreras sanos de los tres hipódromos de **Corea del Sur**. Se examinaron 1.226 muestras de suero mediante el MAT para detectar la presencia de anticuerpos frente a 18 serovares. El serovar *Sejroe* fue el más detectado en los análisis, en 236 muestras (Jung, B.Y. et al., 2009).

Un estudio epidemiológico se desarrolló también en localidades del sudeste de **Australia** para obtener datos de seroprevalencia en caballos, perros y gatos. La leptospirosis tiene baja prevalencia y patogenicidad en esta zona (Dickeson, D. y Love, D.N., 1993).

La leptospirosis equina en **Europa**:

En el **Reino Unido** se determinó la prevalencia de títulos de anticuerpos frente a 20 antígenos leptospirales en muestras de suero de caballos y ponis, con y sin anomalías oftálmicas mediante el MAT. En el grupo de équidos sin alteraciones oculares, la prevalencia fue del 9,1%, mientras que, en el otro grupo con anomalías uveíticas endógenas, fue del 11,1%. El serovar *Sejroe* fue común a todos los animales seropositivos con uveítis anterior (Matthews, A.G. et al., 1987). Por otro lado, en otro estudio epidemiológico llevado a cabo en el RU sobre una población de 873 caballos, el serovar más frecuente fue *Bratislava* (Smith, K. y Dalley, C., 2006). En Irlanda del Norte, un conjunto de 650 muestras de suero de yeguas se analizaron para hallar anticuerpos aglutinantes y la reacción predominante fue frente al serotipo *Bratislava*, el cual se encontró en el 81,8% de los sueros (Ellis, W.A. et al., 1983).

En **Portugal**, una población de 145 caballos destinados al matadero se analizó serológicamente frente a anticuerpos leptospirales, obteniéndose mediante el MAT un

## INTRODUCCIÓN

37% de prevalencia (Tabla 5). Los serovares aislados fueron *Bratislava* y *Tsaratsovo* (Rocha, T. et al., 2004). Entre enero de 1987 y diciembre de 1993 se analizaron 83 muestras de suero equino mediante el MAT y los serogrupos más detectados fueron *Australis*, *Autumnalis*, *Cynopteri* y *Pyrogenes* (Rocha, T., 1998).

Desde 1995 hasta el 2001, se examinaron 9.885 muestras de suero de diferentes especies animales domésticas y salvajes en el norte y centro de **Italia**, y el serovar predominante entre los équidos fue *Bratislava* (Cerri, D. et al., 2003). Entre los años 2007 y 2009, se analizaron 386 muestras séricas de caballos sanos de 7 provincias del centro de Italia. La seroprevalencia obtenida fue del 1,5% (Ebani, V.V. et al., 2012).

Durante 3 años consecutivos (1984-1986) aparecieron 12 casos de leptospirosis clínica con un curso, a menudo, rápido y fatal, en potros de una misma yeguada de los **Países Bajos**. El análisis serológico de las 56 yeguas de la explotación reveló anticuerpos frente al serovar *Bratislava* en el 64% de los individuos, así como en la mayoría de los potros (Van den Ingh, T.S. et al., 1989) (Tabla 5). Por otra parte, años más tarde, se llevó a cabo un estudio epidemiológico sobre la leptospirosis en perros y caballos, determinándose que los serovares más predominantes eran *Copenhageni* y *Patoc* (Houwens, D.J., 2010).

**Tabla 5. Prevalencias y serovares principales en distintos países de Europa.**

Europa	Portugal	Italia	Países Bajos	Suecia
% Prevalencia	37	1,5	64	16,6
Serovar principal	<i>Bratislava</i> <i>Tsaratsovo</i>	<i>Bratislava</i>	<i>Copenhageni</i> <i>Patoc</i>	<i>Bratislava</i>

En **Suecia** se analizaron 2.017 muestras séricas de caballos remitidos a clínicas equinas entre 1997 y 1998 frente a diferentes serovares mediante el MAT. Las mayores seroprevalencias resultantes fueron frente a *Bratislava* e *Icterohaemorrhagiae*, con unos porcentajes del 16,6 y del 8,3, respectivamente (Bâverud, V. et al., 2009).

La leptospirosis equina en **España**:

Sobre la leptospirosis equina no se han encontrado estudios de prevalencia en España.

➤ Prevalencia de leptospirosis humana

La leptospirosis es una de las infecciones zoonóticas más comunes y más temidas a nivel mundial. Tradicionalmente relacionada con determinadas condiciones

## INTRODUCCIÓN

socioeconómicas o climáticas que favorecen el estado endémico en vectores animales y la exposición del hombre, se encuentra confinada generalmente a las zonas en desarrollo del mundo, mientras que en los países industrializados se describe rara vez, a menudo, como una enfermedad importada después de un viaje internacional a destino exótico (Pappas, G. et al., 2008).

Existen datos de prevalencia de leptospirosis humana de numerosos países del mundo recopilados desde 1996, y la enfermedad es endémica principalmente en el Caribe, América Central y Sudamérica, así como en el Sudeste Asiático y Oceanía.

La leptospirosis humana a nivel **mundial**:

Entre los países con mayor incidencia de la enfermedad se encuentran países del **Caribe y Centroamérica**, como Trinidad y Tobago, Barbados, Jamaica y Costa Rica, con incidencias anuales por millón de habitantes de 120, 100, 78 y 67, respectivamente. Mientras que en Méjico o Panamá, por ejemplo, los valores se sitúan en prácticamente un caso al año por millón de habitantes.

En Sudamérica, cabe destacar **Uruguay** con una incidencia anual por millón de habitantes de 25, mientras que otros países vecinos presentan valores más bajos, como Brasil y Argentina, 12,8 y 9,5, respectivamente, o Chile y Colombia, con unas incidencias muy bajas, con 1,6 casos por millón.

**Tabla 6. Países con mayor incidencia anual de leptospirosis humana en el mundo.**

PAÍS	INCIDENCIA ANUAL (por millón de habitantes)
Islas Seychelles	432,1
Trinidad y Tobago	120,4
Barbados	100,3
Jamaica	78
Costa Rica	67,2
Sri Lanka	54
Tailandia	48,9
El Salvador	35,8
Nueva Zelanda	26
Uruguay	25

Fuente: Pappas et al., 2008.

La enfermedad no se describe en Canadá, y en EEUU se ha retirado de la lista de enfermedades notificables, ya que la incidencia es de 0,1 casos por millón, con la excepción de Hawái, con una incidencia anual estimada de casi 13 casos por millón de habitantes (Pappas, G. et al., 2008).

En **Asia**, cabe destacar a las Islas Seychelles que presentan la mayor incidencia registrada a nivel mundial, con 432,1 casos por millón de personas (Tabla 6). Con

## INTRODUCCIÓN

valores más bajos, se encuentran Sri Lanka con 54 casos, Tailandia con 49, y Las Filipinas y Taiwán que suelen presentar entre 4 y 5 casos por millón de habitantes. Tailandia fue el origen del mayor brote de la enfermedad del siglo XXI a consecuencia de unas inundaciones. En India, Bangladesh, Vietnam, Laos, Nepal, Camboya, Malasia, Indonesia, China e Irán se sabe que la enfermedad se encuentra presente y que se dan brotes más o menos frecuentes, pero no se disponen de datos oficiales o fiables (Pappas, G. et al., 2008).

En **África** poco se conoce de la incidencia de la leptospirosis. La OIE tiene conocimiento de la presencia de la enfermedad en Marruecos, Eritrea y Etiopía, pero no dispone de datos específicos. Se ha notificado algún brote en Kenia, pero sin datos de diagnóstico ni prevalencia, mientras que, en Gabón, un estudio determinó un 15% de seroprevalencia.

En **Oceanía** destacan la región de Queensland, con una incidencia anual de 28 casos por millón de habitantes, y la región de Nueva Gales del Sur. En Queensland, la zona norte de la región es una de las áreas más endémicas del mundo, llegando a 288 casos anuales por millón de habitantes, con gran afectación a nivel ocupacional y por causas climáticas. En Nueva Zelanda, la incidencia es similar a Queensland, pero la tendencia descendente en los últimos años, según datos de la OIE. Ciertos territorios autónomos franceses de Oceanía, como Polinesia y Nueva Caledonia, son también hiperendémicos según datos de la misma fuente.

### La leptospirosis humana en **Europa**:

Muchos de los factores relacionados con la endemidad de la leptospirosis, como el clima tropical, la presencia de aguas estancadas, bajos niveles de sanidad e higiene, están generalmente ausentes en Europa. El clima local y factores ambientales han estado, en ocasiones, implicados en fluctuaciones de los casos descritos anualmente, como ha ocurrido en Francia o en República Checa, observándose incrementos en los casos anuales tras inundaciones en años concretos. En Alemania se ha observado un aumento parcial en la incidencia de la enfermedad desde el año 1998 y se ha atribuido a una expansión de la población de ratas y a la reemergencia de la leptospirosis canina. En Italia se ha detectado una predominancia de casos en las provincias del norte, mientras que en Portugal, en el periodo de 2001 a 2005, se registró un aumento en la incidencia en las islas Azores, donde se contabilizan más del 50% de los casos anuales de todo el país (Pappas, G. et al., 2008).

Según datos de la OIE, los **países del Este y de Centroeuropa** muestran la mayor incidencia, con valores de 17,3 y 17,2 casos anuales por millón de habitantes como ejemplo, en Croacia y en Rusia, respectivamente. Entre 5 y 15 casos anuales por millón, se sitúan países como Ucrania (15,3), Rumanía (9,4), Portugal (6,8), Dinamarca (6), Letonia (5,6) y Eslovenia (5,4) (Tabla 7).

## INTRODUCCIÓN

En otros países, la incidencia de la enfermedad es aún menor, como puede ser en Francia (3,9), Bulgaria (3,7) o Bielorrusia (3,4). En Alemania, Italia o RU, los valores de incidencia no superan el caso por millón de personas. En Italia, sin embargo, se realizó un estudio epidemiológico en humanos entre 1995 y 2001 y se obtuvo una seroprevalencia del 5,6% en una población de 250 individuos del norte y centro del país (Cerri, D. et al., 2003).

**Tabla 7. Países con mayor incidencia anual de leptospirosis humana en Europa.**

PAÍS	INCIDENCIA ANUAL (por millón de habitantes)
Croacia	17,3
Rusia	17,2
Ucrania	15,3
Rumanía	9,4
Portugal	6,8
Dinamarca	6
Letonia	5,6
Eslovenia	5,4
Eslovaquia	4,4
Francia	3,9

Fuente: Pappas et al., 2008.

En los países occidentales de Europa, la incidencia de la enfermedad ha ido decreciendo en general, y casi ha desaparecido en los Países Bajos, Bélgica, Alemania y Suiza, mientras que en otros países, como Francia, el número de casos ha descendido muy ligeramente. El estudio de los datos recogidos desde el inicio del serodiagnóstico de la leptospirosis, desde 1920 hasta el 2003, concluye que no existe una variación cíclica en la incidencia de esta enfermedad en Francia (Baranton, G. y Postic, D., 2005).

La leptospirosis humana en **España**:



**Figura 9. Arroceros en Valencia, población de riesgo de leptospirosis** (<http://www.lasprovincias.es/economia/agricultura/201509/07/menos-arroz-culpa-plagas-20150907001255-v.html>).

## INTRODUCCIÓN

La incidencia estimada en España se sitúa en **0,3 casos por millón de habitantes** (Pappas, G. et al., 2008), lo que se considera un nivel bajo en comparación con otros países europeos y vecinos, como Portugal o Francia.

La leptospirosis en España se presenta de forma ocasional, predominando en áreas de clima templado o caluroso, y con abundante agua, como Cataluña, Aragón, Asturias y deltas de los ríos, mientras que en el resto es menor. La incidencia de casos declarados es muy variable, desde los 22-24 de los años 1985 y 1983, hasta los valores más bajos en los años 88 y 89. Desde que se declara de forma obligatoria hasta 1998, se han dado casos en todas las comunidades, excepto en La Rioja, Islas Baleares y Ceuta. La distribución es amplia, acumulándose la mayoría de los casos en Cataluña (50%), CV (Figura 9), Andalucía, Asturias y Castilla-León; en el resto de las regiones son casos aislados (Barragán Casas, J.M. et al., 2001) (Tabla 8). Desde 1997, dejó de ser enfermedad de declaración obligatoria en España, aunque sí en Castilla-León.

**Tabla 8. Casos declarados en España por CCAA (1982-1999)**

COMUNIDAD AUTÓNOMA	CASOS DECLARADOS (1982-1999)
Cataluña	99
Comunidad Valenciana	21
Andalucía	20
Asturias	14
Castilla-León	14
País Vasco	7
Resto Comunidades	32
TOTAL	207

Fuente: Barragán Casas et al., 2001.

### **1.2.1.3. Patogenia**

El resultado de la exposición a las leptospirosis, como en la mayoría de infecciones, depende de la dosis, de la virulencia y de la susceptibilidad del hospedador. Una vez en el interior del hospedador, los microorganismos pasan a los vasos linfáticos y a la circulación sanguínea donde se multiplican y se distribuyen a diferentes órganos. Esta **bacteriemia** suele ocurrir de 4 a 10 días tras la exposición inicial al agente. Las variedades no virulentas no proliferan y son eliminadas de la circulación en 1 ó 2 días. No existe preferencia por un tejido en especial y, aunque las leptospirosis patógenas son fagocitadas por macrófagos hepáticos y pulmonares, proliferan en animales susceptibles hasta alcanzar altas concentraciones en diferentes partes del organismo, incluyendo **riñones, hígado, bazo, sistema nervioso central, ojos, glándulas mamarias y órganos genitales**. En la fase leptospirémica, el feto se suele infectar cuando estos microorganismos invaden la placenta del útero gestante. La patogénesis y el cuadro clínico en el feto pueden asemejarse mucho a los de la

## INTRODUCCIÓN

infección aguda en adultos, pero suelen aparecer enmascarados por la lisis. En ocasiones, se ven afectados también el aparato pulmonar con hemorragias y el sistema muscular con miositis.

Los mecanismos exactos por los que las leptospiras causan enfermedad se desconocen, aunque sí que se conocen ciertas características de su patogénesis. Se han identificado varios posibles factores de virulencia que pueden contribuir en su infección y enfermedad, incluyendo lipopolisacáridos LPS, hemolisinas, proteínas de membrana externa OMP y otras proteínas superficiales, así como moléculas de adhesión. Muchos de estos factores han sido descritos gracias a la secuenciación completa del genoma y, actualmente, se intenta determinar sus funciones.

La **vasculitis sistémica** es una lesión primaria común en la leptospirosis y parece debida a que la membrana celular endotelial es destruida por el desplazamiento que sufren ácidos grasos de cadena larga de dicha membrana, debido a la toxina glicolipoprotéica de *Leptospira*, por lo que la integridad de la pared celular vascular se pierde. Esto permite la progresión en la migración de estos microorganismos a otros tejidos, además de derrames y hemorragias con la consiguiente destrucción de la arquitectura tisular, isquemia y necrosis.

La capacidad de las hemolisinas para destruir eritrocitos y otras membranas celulares la convierten, junto con las esfingomielinasas, en posibles factores de virulencia. Pero los estudios realizados hasta ahora nos indican que la respuesta es muy variable y que, en muchas ocasiones, no presentan dicha patogenicidad, o sólo parcialmente, uniéndose a componentes extracelulares de la matriz ECM, o bien, como en el caso de las esfingomielinasas, su función es la de poder sobrevivir en el ambiente del mamífero hospedador.

La **adhesión** de leptospiras a componentes tisulares del hospedador es un paso inicial para la infección, y ese acoplamiento a células del huésped y a componentes de la matriz extracelular es importante para su penetración, diseminación y persistencia en los tejidos del hospedador. Se ha demostrado que las leptospiras son capaces de adherirse a una gran variedad de líneas celulares: fibroblastos, monocitos/macrófagos, células endoteliales y células epiteliales renales (Evangelista, K.V. y Coburn, J., 2010).

Se han identificado proteínas total- o parcialmente expuestas a nivel superficial (**OMP**) en leptospiras, que podrían tener un papel destacado en su adhesión y patogénesis, muy similares a las adhesinas de otras bacterias, como la intimina de *Escherichia coli* o la invasina de *Yersinia pseudotuberculosis*. Estas proteínas unen componentes extracelulares (ECM) del hospedador, como el colágeno I y IV, la elastina, la tropoelastina, la laminina, el factor H, el fibrinógeno y la fibronectina. Ejemplos de estas proteínas superficiales de *Leptospira* serían Lig A, Lig B y Lig C; Len A, B, C, D, E, F; Lsa21, 27, 63; LipL32; Loa22;... Esta última es considerada el primer factor

## INTRODUCCIÓN

de **virulencia** identificado genéticamente (Evangelista, K.V. y Coburn, J., 2010). Todas las proteínas estudiadas hasta la actualidad presentan una actividad diferente dependiendo de las condiciones en las que se analizan, así se han observado mutantes de *Leptospira* para un gen que no se comportaban de forma diferente al original lo que demuestra la interacción que posiblemente exista entre estas OMP leptospirales al realizar una función conjunta, lo que se conoce como redundancia funcional a la hora de la adhesión, supervivencia in vivo y colonización renal (Adler, B. y de la Peña, A. 2010). También se ha observado una actividad diferente de estas proteínas en función de las condiciones de estudio, estando algunas hiperactivas a determinada temperatura y osmolaridad, o hipoactivas si se modificaban estos parámetros (Cinco, M., 2010). Muchas investigaciones sugieren que las leptospiras patógenas presentan la capacidad de expresar diferentes proteínas cuando se encuentran fuera del hospedador, así como cuando penetran, colonizan o persisten dentro del organismo hospedador (Evangelista, K.V. y Coburn, J., 2011).

Los mecanismos **inmunomediados** también juegan un papel en la patogénesis de la leptospirosis, ya que, en determinados casos, un cuadro clínico significativo sigue estando presente incluso después de haberse eliminado la mayor parte de los microorganismos del hospedador. En algunas especies, como la humana, los niveles de inmunocomplejos circulantes son proporcionales a la gravedad de la enfermedad. Además, la leptospirosis induce, en ciertos casos clínicos, la aparición de auto-anticuerpos, por ejemplo anticuerpos antiplaquetarios, desconociéndose su función en la patogénesis. En la especie equina, estos mecanismos están presentes en algunos casos de URE, ya que la presencia de leptospiras dentro del ojo puede producir daño directo, iniciar una respuesta inmune local contra ellas mismas o provocar una reacción autoinmune a través de mímica molecular.

Una vez la inmunidad se desarrolla y las leptospiras son eliminadas de la sangre y de los órganos, el daño tisular, aunque sea severo, puede ser reversible y seguido de una completa recuperación, principalmente, a nivel renal y hepático. Sin embargo, lesiones de larga duración en procesos crónicos, como en el caso de la nefritis intersticial crónica, pueden dar complicaciones y dejar secuelas a modo de cicatrices en los riñones, sin una recuperación total (Rocha, T., 2004).

Así mismo, el desarrollo progresivo de anticuerpos específicos a lo largo de la vida del hospedador al entrar en contacto con el agente patógeno conlleva que estos animales vayan ganando mayor resistencia a la infección con la **edad** (Faine, S. et al., 1999).

La posible recuperación de la infección depende de la dosis infectante, del ritmo de multiplicación y de la virulencia de las leptospiras involucradas, así como de la extensión del daño efectuado a órganos vitales. Se ha demostrado la existencia simultánea en la naturaleza de poblaciones de leptospiras patógenas del mismo

## INTRODUCCIÓN

serovar, pero con distinta virulencia en la misma especie de hospedador, unas con una gran virulencia y otras con mínima patogénesis (Rocha, T., 2004). No se descarta que existan diferencias en los mecanismos patogénicos de distintas cepas de un mismo serovar, aunque aún se ha de investigar más (Evangelista, K.V. y Coburn, J., 2010).

### 1.2.1.4. Cuadro clínico

El cuadro clínico de la leptospirosis es **bifásico**, con una primera fase septicémica que suele durar, aproximadamente, una semana, seguida de una segunda fase inmune caracterizada por la producción de anticuerpos y la excreción de leptospiras en la orina (Levett, P.N., 2001).

#### ➤ Leptospirosis aguda

La forma aguda es muy similar en todas las especies animales. En su presentación más característica, se manifiesta con apatía, pérdida de apetito, fiebre, irritabilidad, pelo erizado, irritación ocular y, en ocasiones, con diarrea, apareciendo de 3 a 7 días tras la infección. Puede haber signos de hemorragias, hemoglobinuria e ictericia. El movimiento del animal suele ir acompañado de un arqueado del dorso. A partir de la instauración de este cuadro, se puede producir la recuperación o se puede dar la muerte del individuo. Sin embargo, la fase de recuperación puede estar asociada también a pérdida de peso, falta de desarrollo en animales jóvenes, fallo renal crónico y sus signos, así como muerte tardía. En ganado lechero, puede darse una alteración de la cantidad y calidad de la leche, con mastitis. En las afectaciones nerviosas, puede aparecer meningitis. La infección congénita de fetos en útero sigue un curso muy similar, dando lugar a **abortos**, partos prematuros, neonatos muy debilitados y la consiguiente muerte. La infertilidad es frecuente. Los fetos abortados y mortinatos suelen presentar un aspecto hemorrágico, icterico o mixto, y suelen ser infecciosos al tener una gran carga de leptospiras. A pesar de todo, se presentan infecciones no tan obvias, apareciendo frecuentemente cuadros clínicamente inaparentes de leptospirosis (Verma, A. et al., 2013). Esto suele suceder en infecciones por serovares adaptados al hospedador.

La mayoría de las complicaciones de la leptospirosis se asocia con la localización de las leptospiras en los diferentes tejidos durante la fase inmune y, por tanto, ocurre a partir de la segunda semana de la enfermedad (Levett, P.N., 2001).

#### ➤ Leptospirosis crónica

Los animales que se recuperan de la fase aguda suelen desarrollar un estado de portadores en el que las leptospiras proliferan y se establecen en los túbulos renales proximales, y posteriormente son eliminadas a través de la **orina**. Estos microorganismos también pueden asentarse en otros órganos, entre los que destaca el

## INTRODUCCIÓN

tracto genital, siendo un punto alternativo de diseminación y transmisión. En los caballos, existe una forma autoinmune de iridociclitis englobada dentro de las uveítis recurrentes que puede conllevar ceguera (Lucchesi, P.M. y Parma, A.E., 1999) (Figura 10).

En la forma crónica de leptospirosis, los hallazgos clínicos son leves y, en ocasiones, restringidos a abortos, pudiendo ocurrir oleadas de abortos en grupos de animales que están en la misma etapa de gestación cuando son expuestos a la infección. Estos abortos suelen suceder en el último tercio de la gestación. Los mortinatos y nacimientos de crías débiles, normalmente prematuras, son también frecuentes. De todas formas, no suele existir una reducción destacada de la eficiencia reproductiva, aunque, en muchos casos, la infertilidad se ha descrito como un síntoma característico de esta fase de la enfermedad.

La leptospirosis crónica también se debería considerar en determinados casos de fallo renal crónico o hepatitis activa crónica en ciertas especies, como la canina (*World Organisation for Animal Health, 2008*).

Ocasionalmente, se describen casos de animales con meningitis, siendo los síntomas más habituales incoordinación, salivación excesiva, conjuntivitis y rigidez muscular.

### ➤ Leptospirosis equina

Las infecciones por leptospiras patógenas en el caballo suelen tener **trofismo** por el aparato reproductor de la yegua, los riñones y los ojos. La infección puede dar lugar a placentitis y aborto, fallo renal agudo y hematuria-hemoglobinuria, y principalmente, uveítis, ocasionalmente combinada con sufusión conjuntival. Raramente, en casos severos, se observan otros signos como petequias en mucosas, anemia, ictericia y disfunción hepática, depresión y debilidad.

Tras inducción experimental de la enfermedad en el caballo, el signo clínico más constante es la fiebre, presentándose en algunos casos anorexia, depresión e ictericia. Algunos caballos desarrollan también uveítis, generalmente varios meses después de la exposición (Hines, M.T. 2007) (Verma, A. et al., 2013) (Figura 10).

La mayoría de **abortos** debido a *Leptospira* ocurren en el último tercio de la gestación y, en muy pocas ocasiones, suele nacer un potro enfermo y debilitado debido a la leptospirosis. Generalmente, las bacterias se encuentran en la placenta, en el cordón umbilical, y en los riñones e hígado del feto infectado. Se suele observar una placentitis en la que no se afecta la estrella cervical, con un aspecto edematoso y hemorrágico. En ocasiones, puede detectarse un hidroalantoides causado por *L. interrogans* y asociado a la placentitis (Shanahan, L.M. y Slovis, N.M., 2011). El hígado suele presentar una decoloración amarillenta, y los riñones del feto abortado suelen

## INTRODUCCIÓN

presentar tubulonefrosis y nefritis intersticial (Argenta Pescador, C. et al., 2004). La funisitis es reconocible por una decoloración amarillenta difusa en el cordón umbilical. Se desconoce si el aborto es a consecuencia de la placentitis, de la funisitis o de la infección fetal, o a una combinación de todas. Es rara la aparición de epidemias de abortos por leptospirosis y algunas yeguas que están infectadas no abortan.

En ciertas ocasiones, las leptospiras pueden causar fiebre, anorexia, letargo y fallo renal agudo en el caballo. Los **riñones** aparecen inflamados debido a la nefritis tubulointersticial y se puede observar piuria, hematuria y azotemia (Divers, T.J. et al., 1992), y, en ocasiones, poliuria y polidipsia (Hatazoe, T. et al., 2009). En neonatos y potros prematuros, se puede observar debilidad, baja condición corporal e ictericia y, en ocasiones, hematuria y disuria. En otras circunstancias, se han observado diarreas y marcha irregular en algunos potros. En caballos adultos, también se ha descrito disfunción hepática e ictericia (Hines, M.T., 2007).



**Figura 10. Uveítis Recurrente Equina.**

La leptospirosis y la uveítis van unidas en la especie equina (Verma, A. et al., 2013). Se trata de una reacción inmunomediada a través de anticuerpos IgG e IgA contra determinados antígenos de *Leptospira* que a su vez presentan una reacción cruzada con tejido uveal equino, cristalino, córnea, y retina (Frellstedt, L., 2009). Se ha demostrado la presencia de leptospiras vivas en la úvea, en el humor acuoso y en el humor vítreo de caballos con **uveítis recurrente**, así como altas concentraciones de anticuerpos antileptospirales en el humor acuoso en comparación con los títulos en suero (Faber, N.A. et al., 2000) (Pearce, J.W. et al., 2007) (Figura 10). La uveítis asociada a leptospirosis puede afectar a la córnea, a la cámara anterior y a la cámara posterior. Las manifestaciones clínicas suelen ser miosis, blefaroespasmo, fotofobia, edema corneal, lesiones retinales y, sobre todo, uveítis dolorosa recurrente y progresiva. En los casos crónicos pueden presentarse cataratas, sinequias, degeneración retinal o, incluso, glaucoma (Divers, T.J. et al., 2008), y finalmente, ceguera.

## INTRODUCCIÓN

Cada vez más a menudo se relaciona la leptospirosis equina con signos **respiratorios**, principalmente en potros, que suelen presentar distrés respiratorio severo, acompañado a veces de epistaxis, con depresión y fiebre (Hamond, C. et al., 2011). En estos casos de neumonía hemorrágica, la enfermedad suele tener un curso fatal (Hines, M.T., 2007).

### ➤ Leptospirosis humana

La infección por leptospiras en el hombre tiene un amplio espectro de severidad, puede cursar como una enfermedad subclínica seguida de seroconversión, o como dos síndromes clínicamente reconocibles, una enfermedad sistémica **autolimitante**, que suele ser más habitual, y una enfermedad potencialmente fatal acompañada de cualquier combinación de fallo renal, fallo hepático y neumonía con diátesis hemorrágica. En algunas ocasiones, la enfermedad presenta dos fases bien diferenciadas, una fase inicial septicémica seguida de un descenso de la fiebre, tras el cual tiene lugar la fase inmune en la que aparecen los síntomas severos. De todas formas, en casos muy severos, diferenciar estas dos fases es complicado.

El período medio de incubación suele ser de unos 10 días. La primera fase aguda, que suele durar de 5 a 7 días, comienza de forma abrupta con una **fiebre alta** remitente de hasta 40°C, cefalea, escalofríos, mialgias, sufusión conjuntival sin descarga purulenta, dolor abdominal, anorexia, náuseas y vómitos, diarrea, tos y faringitis, y, en raras ocasiones, puede aparecer una erupción cutánea maculopapular pretibial. La congestión conjuntival junto con la debilidad muscular, principalmente en la zona lumbar y de las piernas, son los hallazgos físicos más característicos, aunque ocurren en contadas ocasiones. Otros síntomas menos comunes son linfadenopatía, esplenomegalia y hepatomegalia. No suele ocurrir la muerte en esta fase aguda (Haake, D.A. y Levett, P.N., 2015).

La fase **inmune** generalmente suele durar entre 4 y 30 días. Las leptospiras pueden ser detectadas en casi todos los tejidos y órganos, y en orina durante semanas o meses, dependiendo de la severidad de la enfermedad. Además de los síntomas descritos anteriormente para la fase aguda, esta segunda fase se caracteriza por algunos o todos los siguientes síntomas: ictericia, fallo renal, arritmias cardíacas, síntomas pulmonares, meningitis aséptica, sufusión conjuntival con o sin hemorragia, fotofobia, dolor ocular, debilidad muscular, adenopatía y hepato-esplenomegalia. Suele aparecer dolor abdominal y, normalmente, es indicativo de pancreatitis.

La **anemia** que aparece asociada a la leptospirosis puede tener dos causas, o bien, a causa de toxinas leptospirales que actúan sobre los eritrocitos, o bien que sea secundaria a la hemorragia causada por el daño tóxico a los vasos sanguíneos o por la trombocitopenia tóxica (Faine, S. et al., 1999).

## INTRODUCCIÓN

La meningitis aséptica, con o sin síntomas, es típica de esta fase inmune, ocurriendo hasta en un 80% de los casos. Los pacientes sintomáticos presentan un intenso y punzante dolor de cabeza localizado en la zona bitemporal y frontal, con o sin delirio.

La forma más característica de enfermedad severa que se puede desarrollar es el síndrome de Weil, caracterizado por disfunción hepática y renal (Figura 11). Los casos más severos pueden progresar desde la fase aguda sin la clásica breve mejoría de síntomas, dando lugar a una enfermedad fulminante, con fiebre superior a 40°C y la rápida aparición de fallo hepático, fallo renal agudo, neumonía hemorrágica, arritmia o colapso circulatorio (Haake, D.A. y Levett, P.N., 2015). La mortalidad, en estos casos, puede alcanzar entre el 5 y el 40%, siendo la alteración del estado **mental** el principal signo predictivo de muerte.

La afectación **renal** se caracteriza inicialmente por una forma singular de insuficiencia renal anoligúrica e hipocalémica. Destacan una reabsorción deteriorada de sodio, una eliminación distal aumentada de sodio y una pérdida excesiva de potasio (Santana, L. et al., 2006). Se aprecia trombocitopenia en ausencia de CID y suele acompañar a la disfunción renal progresiva.

El síndrome hemorrágico severo **pulmonar** puede ser una manifestación importante de leptospirosis y puede aparecer en ausencia de fallo renal y hepático. En la fase aguda, puede presentarse hemoptisis profusa junto con tos simultánea, aunque, a veces, la hemorragia es inaparente.

Es muy poco frecuente que aparezca fallo cardíaco congestivo, aunque sí que es habitual observar cambios electrocardiográficos inespecíficos, como arritmias (fibrilación atrial, *flutter* y taquicardia) e irritabilidad cardíaca (contracciones ventriculares prematuras y taquicardia ventricular), pudiendo desarrollarse de forma brusca un colapso cardiovascular con shock (Levett, P.N. y Haake, D.A., 2009).



Figura 11. Enfermedad de Weil

([http://www.download.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(10\)70106-7/fulltext](http://www.download.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(10)70106-7/fulltext)).

## INTRODUCCIÓN

Las manifestaciones oculares de leptospirosis severa también se dan en la especie humana, siendo característica la sufusión conjuntival en la mayoría de pacientes. Si existe sufusión conjuntival en presencia de ictericia esclerótica, se considera patognomónica de **enfermedad de Weil** (Figura 11) (Levett, P.N., 2001).

### 1.2.1.5. Lesiones

La lesión primaria en todas las formas de leptospirosis, tanto en animales como en humanos, es el daño que produce la **toxina leptospiral** en la membrana de las células endoteliales de los vasos sanguíneos menores y capilares. El efecto inmediato es que se descompongan las uniones intercelulares, permitiendo el paso de fluido y leptospirosis a los espacios extravasculares, acompañados, a veces, de eritrocitos en casos de daño severo y prolongado. Los efectos secundarios de la isquemia, la anoxia y el aumento de la presión en los tejidos incrementan el daño, dando como resultado la desintegración funcional y la muerte celular. La cadena de acontecimientos que tiene lugar a continuación en determinados tejidos y órganos conduce a una pérdida de la integridad funcional y estructural, provocando las manifestaciones clínicas características de la enfermedad, así como los cambios macroscópicos, microscópicos y químicos asociados (Levett, P.N., 2001).

Aunque en diferentes grados, los riñones se ven afectados en todas las formas de leptospirosis. Pueden estar inflamados, amarillento-verdosos en individuos ictericos, y con hemorragias subsuperficiales (Radostits, O.M. et al., 2007). Los cambios vasculares siempre preceden al daño isquémico renal, dando lugar a la necrosis de las células de los **túbulos** contorneados proximales. En casos graves, aparecen cambios característicos de nefritis intersticial aguda, las lesiones glomerulares son menos constantes, pero sí que llama la atención la presencia de precipitados proteicos en los túbulos, hemoglobina, glóbulos rojos y células tubulares degeneradas.

Lesiones similares ocurren en todos los demás tejidos y órganos, pero son más pronunciadas en hígado, pulmones, sistema nervioso central, placenta y músculos, en los que las lesiones subyacentes dan lugar a las típicas presentaciones clínicas. Así, aparecen fallo hepático e ictericia, hemorragias pulmonares, hemoptisis y síndrome de estrés respiratorio en el adulto, encefalopatía y meningitis, muerte fetal, abortos y mortinatos, y miocarditis y debilidad muscular aguda.

Los principales cambios patológicos son esencialmente los mismos en animales y en humanos. Las **diferencias** están relacionadas con el serovar infectante, con la especie animal y con el estado de portador.

En general, puede presentarse ictericia en mayor o menor grado e intensidad, afectando al tejido subcutáneo y grasa, y junto con hemorragias petequiales y mayores, también a las membranas peritoneal, pleural, pericárdica y meningítica. Las

## INTRODUCCIÓN

hemorragias también pueden aparecer en la piel, conjuntivas y superficies mucosas, así como en erupciones labiales y nasales. Son comunes también infiltraciones celulares periarteriolares y pericapilares diseminadas por la piel, acompañadas de edema, incluso, en ausencia de hemorragias. Los ganglios linfáticos de todo el cuerpo están aumentados de tamaño e, incluso, hemorrágicos, y se puede llegar a observar histológicamente infiltración de macrófagos y eritrofagocitosis.

El **hígado** puede aparecer normal, presentar hemorragias superficiales, mostrar un aspecto agrandado y tenso, amarillento o pálido (Radostits, O.M. et al., 2007). En casos graves con gran ictericia, destaca histológicamente la desorganización estructural a nivel de cordones y lóbulos, en ocasiones, acompañada de necrosis centrilobular (Levett, P.N., 2001).

En los casos con afectación pulmonar, principalmente en los casos graves, pueden ocurrir extravasaciones intersticiales masivas, en ocasiones, hacia los bronquiolos y bronquios. La lesión primaria pulmonar se describe como una neumopatía hemorrágica con lesiones en los capilares septales.

El corazón puede aparecer pálido y flácido, con petequias epicardiales y endocardiales, y, ocasionalmente, puede darse una endocarditis aguda. Las fibras musculares pueden tener un aspecto edematoso, fragmentado, vacuolizado y degenerado. Una de las lesiones características de la leptospirosis es la **degeneración** del músculo estriado, causando extrema sensibilidad y espasmo (Levett, P.N., 2001).

A nivel ocular es muy típico y casi patognomónico observar en las fases iniciales de la enfermedad un **derrame conjuntival**, especialmente pericorneal, causado por una marcada vasodilatación. Son comunes también la uveítis, iritis e iridociclitis, acompañadas por opacidades lenticulares y vítreas. En ocasiones, se aprecia corioretinitis y neuritis óptica.

En la placenta se pueden observar hemorragias, inflamación de los pliegues coriónicos y necrosis intersticial en todas las fases.

### 1.2.1.6. Tratamiento

La terapia **antibiótica** debería ser iniciada lo antes posible en el curso de la enfermedad según lo permita la presunción o el diagnóstico, si puede ser en la fase aguda inicial, ya que el tratamiento es efectivo en los 7 a 10 primeros días (Faine, S. et al., 1999). Se han realizado diversas pruebas aleatorias y contrastadas con placebo, y se han obtenido resultados dispares (Levett, P.N. y Haake, D.A., 2008). Los resultados sobre la susceptibilidad antibiótica son diferentes en estudios *in vitro* y los realizados *in vivo*, así como dependiendo de si se tratan individuos en la fase aguda o crónica de la enfermedad. Un rápido tratamiento antibiótico puede reducir el avance de los

## INTRODUCCIÓN

síntomas, la aparición de secuelas y el progreso a una forma más severa. (Faine, S. et al., 1999).

El tratamiento **apropiado** para la leptospirosis depende de la severidad, la duración de los signos clínicos y el lugar de la infección. Algunos casos se resuelven sin tratamiento y otros simplemente con terapia de soporte. De todas formas, en algunos casos está indicada la terapia antibiótica específica. En general, las leptospiras son sensibles a diferentes antibióticos entre los que figuran la penicilina, la ampicilina, la amoxicilina, la cefotaxima, el ceftiofur, la eritromicina y el ciprofloxacino. La estreptomina y las tetraciclinas han demostrado ser efectivas clínicamente (Radostits, O.M. et al., 2007), aunque *in vitro* la sensibilidad frente a estos antibióticos es intermedia. Destacan, por su efectividad, la penicilina intravenosa en casos severos, y la doxiciclina oral en casos leves. La doxiciclina también se puede utilizar como quimioprofilaxis si se sospecha alto riesgo de exposición (Levett, P.N., 2004), pero no para uso continuado, en caso de exposición de larga duración, debido a sus efectos secundarios (Faine, S. et al., 1999). Los problemas en determinar la sensibilidad a los distintos antibióticos residen en el largo período de incubación requerido, el uso de medios de cultivo que contengan suero y la dificultad de cuantificar el crecimiento minuciosamente, lo que ha limitado el desarrollo de pruebas de sensibilidad estandarizadas (Kim, D. et al., 2006) (Levett, P.N., 2004).

En la especie **humana**, la penicilina y la doxiciclina son las que se recomiendan más frecuentemente (Kim, D. et al., 2006) y, aunque los efectos de esta terapia en relación a resultados y duración del cuadro clínico son variables, se ha demostrado que son capaces de prevenir la leptospirosis o reducir significativamente su duración. La ceftriaxona intravenosa, administrada una vez al día, se ha mostrado tan efectiva como la penicilina (Levett, P.N. y Haake, D.A., 2008). De manera similar, en los animales, se ha comprobado experimentalmente que la dihidroestreptomina, la tetraciclina y la eritromicina previenen la eliminación urinaria de leptospiras y, por tanto, el estado de portador. En la especie equina, algunos de los antibióticos más recomendados son la penicilina, la oxitetraciclina, la estreptomina, la dihidroestreptomina y la eritromicina. En un estudio realizado en caballos para acabar con la excreción urinaria de leptospiras, ni la tetraciclina ni la penicilina ni la dihidroestreptomina fueron capaces de conseguirlo. Por otro lado, la **penicilina** sí que tuvo éxito en el tratamiento de yeguas en gestación avanzada con títulos de anticuerpos elevados, obteniendo potros sanos clínicamente, así como en el tratamiento de potros prematuros neonatos con hematuria y leptospirosis, en combinación con sulfato de amikacina. Siempre debe ir acompañada la terapia antimicrobiana de terapia de soporte a base de fluidos intravenosos, furosemida, protectores hepáticos y otros fármacos, en función del cuadro clínico. En el caso de los équidos, hay que tener en cuenta la URE que se suele tratar con una combinación de agentes antiinflamatorios y midriáticos, en ocasiones, junto con el implante de dispositivos de liberación de ciclosporina inmunosupresiva. La

## INTRODUCCIÓN

administración local o sistémica de antibióticos, en estos casos, es necesaria, pero sólo en ciertos casos, efectiva, debido a que la infección persistente del ojo por parte de las leptospiras sólo se da en algunos caballos con URE. La vitrectomía y la sustitución del humor vítreo por una solución salina con gentamicina es otra alternativa para casos más severos. Esta última suele ser la solución más efectiva, en combinación con la antibioterapia, para el tratamiento de la URE (Hines, M.T., 2007).

### *1.2.1.7. Profilaxis*

El diseño detallado de un programa para la prevención de la leptospirosis ha de estar basado en el conocimiento de su localización, el número y frecuencia de casos, los tipos infectantes de leptospiras (serovar, serogrupo o grupo genético), sus hospedadores de mantenimiento, medios de transmisión, y la prevalencia de anticuerpos indicativa de infección subclínica en la población en cuestión. El **muestreo** es el procedimiento para adquirir y monitorizar esa información, y siempre debe ser dinámico, actual, con un objetivo y resultar en una acción sanitaria pública. Se requiere información de diversas fuentes y también es fundamental la coordinación entre las acciones de las autoridades de salud pública y salud animal.

A la hora de considerar la prevención y el control, hay que tener en cuenta 6 características de esta enfermedad:

- Las características clínicas no son patognomónicas, así que se requiere confirmación laboratorial.
- Son necesarios laboratorios especializados con un equipo preparado.
- La leptospirosis no se transmite entre humanos por lo que la leptospirosis humana siempre proviene de una fuente animal.
- La quimioprevención es factible en infecciones agudas en animales domésticos, pero no es una medida de control efectiva por sí sola.
- La leptospirosis en humanos o en animales debería ser una enfermedad notificable.
- Los diversos ambientes socio-geográficos, en los que personas y animales padecen leptospirosis, hacen inviable una única medida de control universalmente aplicable.

Por lo tanto, las medidas van dirigidas a los reservorios animales y al control de las condiciones ambientales que facilitan la transmisión indirecta (Verma, A. et al., 2013).

La **identificación** de animales convalecientes o sospechosos es la primera medida de prevención. Los controles serológicos son muy válidos para conocer que animales están infectados recientemente o son portadores crónicos, siempre que tengamos en cuenta las posibles inmunizaciones.

## INTRODUCCIÓN

El **aislamiento** de los animales infectados y portadores es fundamental, así como la toma de medidas necesarias para evitar que los animales sanos tengan acceso a zonas de pasto comunes y a fuentes de agua, como pueden ser estanques, charcas o zonas embarradas, infectadas o sospechosas de estarlo. El drenaje de zonas encharcadas en terrenos de pasto, el análisis de las aguas, el tratamiento de las mismas si es un área confinada, el depósito controlado de restos fecales y purines, y el control de desagües son otras opciones preventivas a tener en cuenta. Es importante evitar el contacto de los animales con fauna silvestre, principalmente roedores, evitando, en la medida de lo posible, su presencia en explotaciones animales, mataderos y hogares por medio de programas de desratización, desinsectación y desinfección. Los nuevos animales adquiridos no deben ser introducidos en un grupo con otros animales si no son tratados o inmunizados previamente y su estado de portador debe ser descartado. La eliminación adecuada de restos fetales y placentarios, la desinfección de zonas, instalaciones, transportes y materiales en contacto, y la higiene y profilaxis del personal son también medidas imprescindibles.

Existe la posibilidad de la **quimioprofilaxis** para tratar portadores mediante la administración de estreptomicina. Esto permite acabar efectivamente con la eliminación de leptospiras por parte de los portadores, siendo la pauta recomendada la administración intramuscular de 2 dosis de 25mg/kg de dihidroestreptomicina, con un intervalo de 2 semanas. La misma pauta se recomienda de forma rutinaria para animales antes del transporte, aplicándose la segunda dosis dentro de las 24 horas previas a la salida. La amoxicilina también resulta efectiva y se ha empleado intramuscularmente en ganado a la dosis de 15mg/kg, con un intervalo de 48 horas o en dosis única (Faine, S. et al., 1999).

Existe la posibilidad de la **inmunización** a través de vacunas en diferentes especies animales y en la humana. Estas **vacunas** son habitualmente suspensiones muertas a partir de células bacterianas enteras conocidas como bacterinas, aunque también se están utilizando vacunas elaboradas a partir de la envoltura externa. Estas vacunas muertas previenen frente a la enfermedad, pero no frente a la infección y la colonización renal, por lo que no poseen ningún efecto sobre el mantenimiento y transmisión de la misma (Levett, P.N. y Haake, D.A., 2008). Se suelen emplear vacunas polivalentes, especialmente en zonas donde más de un serovar o serogrupo infecta a los mismos animales, ya que la inmunidad es específica frente a cada serovar o, como mucho, para los del mismo serogrupo. Las vacunas se emplean en los animales con dos propósitos, para proteger a los animales y para proteger a las personas que pudieran contraer la leptospirosis a partir de ellos (Faine, S. et al., 1999).

En el caso de la especie **equina**, es fundamental limitar la exposición a aguas estancadas (Figura 8) y a portadores potenciales, como ganado, cerdos, roedores y fauna salvaje. Los hábitos de manejo son importantes también, se debe evitar la

## INTRODUCCIÓN

alimentación en zonas expuestas a otros animales incontrolados y se deben aplicar las medidas higiénico-sanitarias de aislamiento y control de entradas. Actualmente, no existe ninguna vacuna aprobada para su uso en caballos, aunque se han empleado bacterinas diseñadas para la especie bovina en la equina, sin que existan datos contrastados que apoyen su eficacia (Hines, M.T., 2007).

### **1.2.1.8. Leptospirosis y Salud pública**

La Leptospirosis es probablemente la zoonosis más diseminada del mundo y su prevalencia sigue aumentando progresivamente en los últimos años, por lo que actualmente es considerada una enfermedad **reemergente** (Zavitsanou, A. y Babatsikou, F., 2008).

Su prevención se puede conseguir evitando exposiciones de alto riesgo mediante la adopción de medidas protectoras, la inmunización y el empleo de quimioprofilaxis, siempre en combinaciones variables, y en función de las condiciones ambientales y del tipo de actividad humana (Verma, A. et al., 2013)

Las inmersiones en medios acuáticos naturales y el contacto con animales y sus fluidos corporales son exposiciones de alto riesgo. La estrategia preventiva disponible más efectiva sigue siendo reducir el contacto directo con animales potencialmente infectados y el contacto indirecto con suelo y agua contaminados con orina u otro material orgánico. La aplicación exhaustiva de medidas de control frente a roedores es importante para limitar la extensión de la contaminación. De igual manera, las medidas protectoras apropiadas en función de la actividad, profesión u ocupación también son fundamentales, principalmente, en cuanto a indumentaria, higiene y desinfección.

Las ventajas y limitaciones de las **vacunas** animales actuales son conocidas, mientras que la inmunización humana no se suele practicar en gran medida y, además, no existen, hoy en día, vacunas ampliamente disponibles frente a la leptospirosis para su uso en humanos (Evangelista, K.V. y Coburn, J., 2010).

La **quimioprofilaxis** se recomienda para personas que inevitablemente van a estar expuestas en lugares endémicos. Una opción es la doxiciclina en dosis de 200 mg durante una semana, que ha demostrado ser eficaz a la hora de reducir significativamente la enfermedad sintomática, aunque la infección sigue existiendo a nivel serológico. Los efectos secundarios, como la fotosensibilidad, los problemas gastrointestinales frecuentes, las restricciones de calcio en la dieta y las contraindicaciones en mujeres gestantes y niños, son la desventaja de este fármaco. La sensibilidad *in vitro* de las leptospiras frente a la azitromicina, su mayor vida media sérica y su menor número de efectos adversos, hacen de este antibiótico un prometedor profiláctico (Levett, P.N. y Haake, D.A., 2008).

## INTRODUCCIÓN

Es fundamental el conocimiento previo del estado de la enfermedad en la zona en cuestión, en cuanto a niveles serológicos de exposición y/o enfermedad en las poblaciones humana y animal, de los serovares y sus portadores más frecuentes, de los principales factores de riesgo con un mayor impacto en la zona, así como de la interrelación existente entre ambiente, animales y hombre. A partir de estos datos, se puede establecer un **mapa** de estado de leptospirosis en un área geográfica determinada y actuar sobre los puntos de transmisión detectados mediante medidas adecuadas de control y prevención. En el caso de la leptospirosis, la población humana más expuesta es la que habita de forma subdesarrollada las zonas lluviosas del mundo y la profesional expuesta a animales y a lugares húmedos, aunque en la actualidad, por razones de turismo y ocio, son mayores las posibilidades de entrar en contacto y/o padecer esta enfermedad por cualquier persona. Las campañas de educación e información son básicas para minimizar la exposición, pero siempre enfocadas a unas poblaciones humanas y animales determinadas, y a un área geográfica concreta. La identificación del animal portador y eliminador crónico de leptospiras en un ambiente determinado, junto con la determinación de las vías de exposición, son imprescindibles para el control de la leptospirosis en la zona de estudio.

La **erradicación** de esta enfermedad no sólo depende de la actuación de los veterinarios, sino también de la existencia de redes adecuadas de sanidad y vigilancia en las zonas geográficas más comprometidas. Es importante definir las áreas del mundo donde la leptospirosis es un problema de salud pública actualmente y con un riesgo potencial de contagio alto, así como determinar la posibilidad de aparición de nuevas tendencias en la epidemiología de la enfermedad en este mundo tan cambiante y global. La **coordinación** global, ya sea bajo los auspicios de organizaciones humanitarias internacionales, o ya sea a través de sociedades especializadas, es el primer paso de garantía para el control de la leptospirosis. La notificación adecuada de la enfermedad en todos los países es imprescindible pero, en muchos casos, inviable por la ineficacia o inexistencia de redes sanitarias y de vigilancia válidas. La recopilación de información sobre especies y serovares de *Leptospira* presentes en diferentes regiones permite un mejor reconocimiento de las tendencias y de los riesgos relacionados con esta enfermedad, y una mejor implementación de otras medidas preventivas (Pappas, G. et al., 2008).

### 1.2.2. Salmonelosis

#### 1.2.2.1. Etiología

El género **Salmonella** pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, cuyos miembros se caracterizan por ser bacilos Gram-negativos, anaerobios facultativos, móviles, no esporulados y con flagelos peritricos (Bergey, D. y Holt, J.G., 1994) (Figura 12). *S. Gallinarum* y *S. Pullorum* son dos excepciones, puesto que no son móviles.

## INTRODUCCIÓN

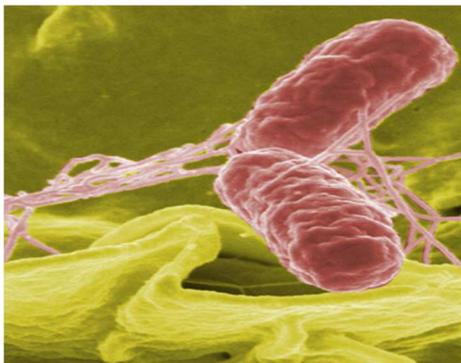


Figura 12. Imagen microscópica de *Salmonella*  
([http://www.vetbook.org/wiki/dog/index.php?title=Salmonella\\_spp](http://www.vetbook.org/wiki/dog/index.php?title=Salmonella_spp)).

La velocidad de crecimiento de *Salmonella* depende de varios factores, entre los que se incluyen la temperatura, el pH, la actividad de agua y los nutrientes, así como las interacciones entre ellos (González, M. et al., 2013). Estas características son importantes para su cultivo e identificación.

La temperatura óptima para *Salmonella spp.* es de 37 °C, aunque puede crecer entre los 10 y los 45 °C. Entre 0 y 5 °C, las bacterias permanecen viables aunque no hay crecimiento (Bowmer, E.J., 1965). Sin embargo, hay una marcada reducción en el número de bacterias durante la congelación y el almacenamiento congelado durante largos periodos, aunque no son destruidas totalmente. Se puede acabar con *Salmonella* cuando se expone a temperaturas de 55 °C durante una hora o 60 °C durante 15 a 20 minutos (Bowmer, E.J., 1965) (González, M. et al., 2013).

El pH óptimo para el crecimiento de *Salmonella* se encuentra entre 6,5 y 7,5, con posibilidades de crecimiento con un intervalo de pH entre 4,5 y 9,0. Valores de pH por encima o por debajo producen la muerte de las bacterias (Baird-Parker, A.C., 1991).

*Salmonella spp.* crece en **alimentos** con valores de actividad de agua del 0,93 (Baird-Parker, A.C., 1991), aunque el valor óptimo se sitúa en 0,995. No crece en valores inferiores a 0,93, aunque el tiempo de supervivencia puede durar meses. Sobrevive a la refrigeración, a la congelación y a ambientes secos.

Casi todos los medios de cultivo proporcionan las fuentes necesarias de carbono y nitrógeno para el crecimiento de *Salmonella spp.*, puesto que sus requerimientos para crecer son relativamente simples. La viabilidad de los cultivos puede mantenerse durante muchos años en medios sencillos, tales como el agua de peptona y el agar nutritivo (Shulman, S.T. et al., 1999).

Las bacterias del género *Salmonella* poseen las características **bioquímicas** generales de las enterobacterias: son fermentadoras de la glucosa y otros

## INTRODUCCIÓN

carbohidratos con la producción de ácido y, normalmente, gas, son catalasa positivo y oxidasa negativo.

La mayoría de salmonelas son aerogénicas, sin embargo, *S. Typhi* y algunos otros serotipos nunca producen gas (Bergey, D. y Holt, J.G., 1994).

*Salmonella* es sensible a la radiación gamma y a los ácidos orgánicos. Los desinfectantes comunes como fenoles, clorados y iodados son eficaces frente a *Salmonella spp.* (González, M. et al., 2013).

### ➤ Taxonomía

Ha existido controversia en la clasificación de *Salmonella* durante muchos años. El género consiste en dos especies:

- *Salmonella bongori*.
- *Salmonella enterica*.

A su vez, *Salmonella enterica* se divide en seis subespecies:

- *Salmonella enterica* subesp. *arizonae*.
- *Salmonella enterica* subesp. *diarizonae*.
- *Salmonella enterica* subesp. *enterica*.
- *Salmonella enterica* subesp. *houtenae*.
- *Salmonella enterica* subesp. *indica*.
- *Salmonella enterica* subesp. *salamae*.

En 2004, otro grupo de investigadores proponen el nombre *Salmonella subterranea* para una nueva cepa aislada, siendo publicado como válido en 2005 y por tanto, añadido a la lista anteriormente citada (González, M. et al., 2013).

En 1929, Kauffmann introdujo el método para el análisis antigénico del grupo de bacterias denominado *Salmonella*, desde entonces se han identificado más de **2.500** serotipos diferentes en el caso de *Salmonella enterica* subesp. *enterica*, subespecie que agrupa la mayoría de salmonelas y la única que afecta al hombre y a los animales de sangre caliente (Popoff, M.Y. y Le Minor, L., 2001) (*World Health Organisation*, 2005).

### 1.2.2.2. Epidemiología

#### ➤ Importancia de *Salmonella* en el sector equino

La existencia de esta bacteria repercute en diferentes aspectos del sector equino de una manera considerable. En primer lugar, como en otros sectores, el

## INTRODUCCIÓN

caballo puede actuar como foco infeccioso agudo o como portador crónico y, en determinados momentos de estrés, reactivarse el estado de **latencia** de la infección y comenzar a diseminar el agente infeccioso (Astorga, R. et al., 2004). *Salmonella*, en este caso, puede afectar a otros caballos, otras especies animales y al hombre por contacto directo o indirecto.

Ese contagio puede ocurrir en yeguas, centros hípicas, hospitales veterinarios y otro tipo de centros ecuestres, y las consecuencias sanitarias y económicas pueden ser muy importantes en función de diferentes factores relacionados con la cepa o serotipo involucrado (Traub-Dargatz, J.L. et al., 2000). La resistencia de *Salmonella* en el medio ambiente así como su capacidad de permanecer en el portador durante largos períodos de tiempo de forma **subclínica** permiten que, una vez presente en un determinado lugar, sea muy complicado eliminarla y pueda seguir infectando a individuos susceptibles por distintos factores favorecedores (House, J.K. et al., 1999) (Ewart, S.L. et al., 2001) (Hoelzer, K. et al., 2011).

Dependiendo de la patogenicidad del serotipo, podemos hablar de casos de muertes, tanto en potros como en adultos, con las consecuentes pérdidas económicas, así como transmisión de la enfermedad a corto y largo plazo, lo que supone también un gasto en medidas terapéuticas y preventivas higiénico sanitarias, en especial, en centros con un gran número de animales o con elevado trasiego de los mismos (Madic, J. et al., 1997) (Schott II, H.C. et al., 2001). En el caso de hospitales equinos, en determinadas ocasiones, se ha llegado al cierre temporal de los mismos a causa del foco de salmonelosis, lo que suele suponer un gran coste económico.

Por supuesto, el riesgo también existe para la especie **humana** en contacto con esos équidos infectados o portadores y con las instalaciones que los albergan. Por lo que todo el personal relacionado con los caballos puede ser susceptible de ser infectado por *Salmonella* en algún momento, siempre que no se respeten las debidas normas higiénico-sanitarias. Y así mismo, actuar como eslabón en la cadena de transmisión de la salmonelosis (Burgess, B.A. y Morley, P.S., 2014).

Aunque el consumo de **carne** de caballo no es una de las principales causas de infecciones por *Salmonella* de origen alimentario, muy por debajo de las infecciones provocadas por el consumo de huevos, carne de pollo o carne de cerdo, hay que tenerla en cuenta como posible fuente de infección y de amenaza para la salud pública (Van Rensburg, I.B.J. et al., 1995).

Tanto la cantidad de carne de caballo consumida como los hábitos de consumo son importantes a la hora de hablar del riesgo potencial de exposición a *Salmonella* que tienen los consumidores. El mayor **peligro** para la salud de los consumidores es, generalmente, la exposición a la carne cruda, que puede ser de forma directa o indirecta. La forma directa consiste en la ingesta de carne cruda o poco cocinada. La

## INTRODUCCIÓN

forma indirecta consiste en la contaminación cruzada de otros alimentos (Franco, B.D.G. et al., 2003). Los hábitos de higiene durante la elaboración de la comida y la educación del consumidor tienen una importante relevancia en este aspecto (Mead, P.S. et al., 1999). Se ha de garantizar que se adopten medidas apropiadas y eficaces para detectar y controlar *Salmonella* y otros agentes zoonóticos en todas las fases pertinentes de producción, transformación y distribución, en particular a nivel de producción primaria, incluidos los piensos, con objeto de disminuir su prevalencia y el riesgo que suponen para la **salud pública** (*European Food Safety Authority*, 2014).

Entre los serotipos de *Salmonella* aislados en estudios sobre prevalencia de esta patología en caballos, tenemos que destacar a ***Salmonella Abortus equi***, con una patogenicidad muy marcada en esta especie, suele provocar abortos en yeguas y artritis en potros, y presenta una distribución mundial. Se trata de un serotipo adaptado a los équidos y pocas veces se aísla de otras especies animales (*Queensland Horse Council Inc.*, 2010).

Los équidos son susceptibles también a otros serotipos de salmonelas, entre los que predomina ***Salmonella Typhimurium***. Suele provocar un cuadro de enteritis grave, en ocasiones, con alta mortalidad según la cepa, como en el caso de *Salmonella Typhimurium definitive type 104* o DT 104, una cepa reconocida a nivel mundial, que ha emergido con fuerza y que está aumentando en prevalencia a nivel internacional. *Salmonella Typhimurium* suele aislarse más en caballos hospitalizados y se observa habitualmente transmisión nosocomial. Los bóvidos son considerados el reservorio principal, pero la cepa DT 104 se está encontrando con mayor frecuencia en cerdos y en otras especies animales. En la especie humana, la incidencia de infección ha aumentado dramáticamente en los últimos años, y la transmisión entre animales y el hombre ocurre con mayor frecuencia con esta cepa como protagonista que con otras salmonelas (Threlfall, E.J. et al., 1994). Además, los índices de morbilidad y mortalidad por infecciones de *Salmonella Typhimurium* DT 104 son más altos que en otras salmonelosis (Scott Weese, J. et al., 2001).

Otros serotipos de *Salmonella* que también se aíslan con elevada frecuencia son Anatum, Newport, Krefeld y Agona. Aunque en determinadas ocasiones, cuando coinciden una serie de factores predisponentes, pueden tener lugar brotes de enfermedad muy graves por serotipos de *Salmonella* con una baja virulencia y que habitualmente no son patógenos ni comunes. Como ocurrió en un brote de salmonelosis en potros neonatos en Ontario, Canadá, en la época de reproducción, causado por el serotipo *Salmonella* Ohio (Walker, R.L. et al., 1991). O como también sucedió en un estudio de prevalencia de Salmonelosis en caballos sometidos a necropsia, en el que el serovar Hayindogo fue el más aislado por encima del habitualmente más común, Typhimurium (Van Rensburg, I.B.J. et al., 1995). *Salmonella Abortus suis*, es causa de aborto equino que no suele asociarse con diarrea.

## INTRODUCCIÓN

### ➤ Características epidemiológicas

El principal hábitat de *Salmonella* es el tracto **intestinal** de los vertebrados, incluido el hombre, y se comportan como parásitos intracelulares facultativos (EFSA, 2011). Los principales reservorios son los animales de abasto (tanto de carne roja como aves) y en menor medida las aves silvestres, roedores, insectos, peces, moluscos, tortugas y reptiles. También aparecen en alimentos y en el ambiente.

Aunque existen algunos serotipos especialmente adaptados a determinados hospedadores como, por ejemplo, *Salmonella* Typhi (hombre), *Salmonella* Abortus ovis (oveja) o *Salmonella* Gallinarum (aves), entre otros, la mayoría de serotipos se caracteriza por su naturaleza ubicuitaria, pudiendo sobrevivir en un amplio rango de especies (CFSPH, *Iowa State University*, 2005).

Esta amplia distribución por la naturaleza se debe a que son bacterias **resistentes** a condiciones ambientales adversas y muy poco exigentes en sus requisitos nutricionales. Esto les permite un rápido crecimiento y capacidad de colonización en ambientes muy diversos, entre ellos el agua y los alimentos. El hecho de que puedan vivir y multiplicarse tanto en el medio ambiente, de forma libre, como en los animales e incluso en el interior de las células, les confiere una extraordinaria capacidad de adaptación y ubicuidad (CFSPH, *Iowa State University*, 2005).

La **transmisión** de la bacteria a los seres humanos suele ocurrir cuando los organismos son introducidos en las áreas de preparación de comida y se permite su multiplicación en ella. Esto ocurre, por ejemplo, debido a almacenamientos a temperaturas inadecuadas, modos de cocinar inadecuados o contaminaciones cruzadas en alimentos listos para consumir. El organismo también puede transmitirse por contacto directo con animales o personas infectadas o ambientes contaminados con heces (EFSA, 2011).

La epidemiología de la infección por *Salmonella* se caracteriza por su complejidad. Por una parte, las múltiples vías de entrada y diseminación del patógeno entre y dentro de las explotaciones y, por otra, su gran capacidad para sobrevivir y multiplicarse dentro de un amplio rango de sustratos y condiciones ambientales, dificultan enormemente establecer un modelo o patrón único de infección extrapolable a todas las situaciones. (González, M. et al., 2013). Además, se trata de una infección que puede mostrar una gran **variabilidad** dentro de una misma explotación.

Existen, al menos, tres **factores** de riesgo principales que determinan si los caballos expuestos manifiestan la enfermedad clínicamente. Los podemos resumir en la virulencia de la cepa implicada, la dosis infectante y el estado inmunitario del hospedador.

## INTRODUCCIÓN

Las defensas del hospedador incluyen la respuesta inmunitaria celular y la humoral, junto con la protección entérica adecuada asegurada por una flora intestinal normal y un pH gástrico bajo.

Los équidos se pueden infectar por diferentes medios incluyendo la carga bacteriana ambiental, así como por *Salmonella spp.* diseminada por aves, roedores y otros animales, sin olvidar el contacto directo e indirecto con otros caballos enfermos o portadores.

Como factores de riesgo podemos nombrar cualquier cambio en la motilidad intestinal, dolor abdominal, cambios en la flora intestinal a raíz de la administración de antibióticos o de anorexia, factores innatos de estrés que puedan afectar al sistema inmune del équido.

Los caballos que sufren de cuadros de **cólico** digestivo y, en especial, los que padecen de impactación de colon se encuentran en grave riesgo. Los brotes de salmonelosis suelen presentarse más comúnmente en hospitales equinos de referencia donde estos factores son más habituales, en yeguas y ganaderías con una alta densidad de yeguas reproductoras y potros (Figura 13), y en explotaciones equinas donde se han suministrado alimentos contaminados por *Salmonella spp.*. Una temperatura ambiental alta, un aumento del número de caballos y potros en una determinada explotación, y la existencia de suelos o zonas húmedas en las instalaciones tienden a aumentar los índices de infección (Burgess, B.A. y Morley, P.S., 2014).



**Figura 13. Potro con un cuadro de cólico digestivo asociado a *Salmonella***  
(<http://www.semanariohipico.com.ve/portal/diarrea-en-potrillos-dr-roliana-sanchez/>).

*Salmonella spp.* se propaga por contacto directo a través de animales infectados (heces o aerosoles), o indirecto por contaminación del medio ambiente (alimento, agua, vectores, suelo, etc.). La ruta de infección de *Salmonella* es

## INTRODUCCIÓN

normalmente la vía feco-oral, pero también se ha descrito la infección a través de mucosas (conjuntiva, mucosa respiratoria, etc.), soluciones de continuidad (heridas, cordón umbilical en potros de menos de 30 días de edad, etc.) (Figura 13) y por inhalación.

Teniendo en cuenta estas vías de infección, no es difícil entender el papel destacado de muchos fómites y vectores en la **diseminación** del patógeno, tanto entre explotaciones como dentro de ellas (McKenzie, H.C. y Mair, T.S., 2009).

### ➤ Factores predisponentes

Los factores que suelen estar involucrados en el desencadenamiento de un cuadro clínico de salmonelosis en caballos los podemos resumir en el **estrés** que sufren esos individuos. Este estrés tiene un papel muy importante en la patogénesis de la salmonelosis equina (Van Duijkeren, E. et al., 1995).

Entre los potenciales factores de estrés que se han relacionado con la salmonelosis en los caballos, destacan el transporte prolongado, la temperatura ambiente elevada, la presencia de superficies húmedas en instalaciones, una elevada densidad de caballos, la sobrecarga de trabajo, la administración de antibioterapia (especialmente con aminoglicósidos), el suministro de productos que alteran el equilibrio intestinal, la administración de fármacos que influyen en la motilidad intestinal, el sondaje nasogástrico (Kim, L.M. et al., 2001), la anestesia, la cirugía y la patología intestinal, los cambios de dieta, la privación de alimento, la gestación, el parto, el destete prematuro (Astorga, R. et al., 2004), la presencia de enfermedades concurrentes inmunodepresoras, los tratamientos antihelmínticos y la duración de hospitalizaciones. Todos ellos pueden aumentar la difusión por los animales portadores así como la susceptibilidad de los équidos expuestos. La infección por lo general se difunde rápidamente.

En un estudio realizado sobre factores de riesgo en infecciones nosocomiales entre caballos hospitalizados, se llegó a la conclusión que el incremento en el promedio de caballos excretando determinados serotipos de *Salmonella* (Typhimurium y Krefeld) en los días previos a la admisión de un caballo aumentaba el riesgo de infección, lo que resulta bastante obvio, sin embargo, esto no ocurría cuando ese promedio de caballos eliminaban otros serotipos de *Salmonella* y no se asociaba con un aumento significativo del riesgo (House, J.K. et al., 1999).

De acuerdo a estudios realizados, la administración de **antibióticos** y la infección por *Salmonella* están estrechamente asociadas. Cuando se agrupan en estos trabajos todos los antibióticos como un conjunto, no se detecta ninguna relación entre la excreción de salmonelas y el uso de antibioterapia, pero cuando se estudian individualmente esos antibióticos administrados, se confirma que determinados

## INTRODUCCIÓN

fármacos antimicrobianos aumentan el riesgo de salmonelosis en una población determinada, como, por ejemplo, la penicilina potásica G (House, J.K. et al., 1999).

Otros de los factores desencadenantes de salmonelosis son la privación de alimentación y los cambios de **dieta**. En caballos sanos, la privación de alimento aumenta la susceptibilidad a la infección por salmonelas, al reducir la producción de ácidos grasos volátiles (acetatos, propionatos y butiratos) que inhiben a *Salmonella*, mientras que, en enfermos (animales con problemas gastrointestinales, íleo, impactación de colon,...), ese ayuno retrasa el crecimiento de anaerobios, como los clostridios, y de anaerobios facultativos, como las salmonelas, al limitar la disponibilidad de sustratos, así como de limitar el contagio a través del alimento. Los cambios de dieta suelen alterar la inmunidad del hospedador frente a la infección por *Salmonella*. Especialmente, en caballos debilitados o anoréxicos, cuando se introduce un cambio en la dieta o se reinicia la alimentación tras un período de ayuno (especialmente alimentos apetecibles ricos en carbohidratos como el “*bran mash*”), la fermentación anormal favorece la multiplicación de salmonelas. Aumenta la proporción de carbohidratos solubles liberados en el ciego, lo que promueve una rápida fermentación y esto incrementa la susceptibilidad de infectarse por *Salmonella*.

En cuanto a patologías intestinales, existe una asociación significativa entre la impactación de colon mayor y la impactación por arena, y el riesgo de padecer salmonelosis. La producción de ácidos grasos volátiles en el colon en estos casos se altera en cuanto a su cantidad y calidad, y el íleo asociado agiliza el crecimiento de anaerobios totales y facultativos (House, J.K. et al., 1999).

En **hospitales veterinarios** se ha demostrado que hay más factores de riesgo que pueden influir en la infección y excreción de salmonelas durante su estancia en dichas instalaciones. Destacan los hallazgos anormales al realizar el sondaje nasogástrico en équidos con cólico, los pacientes hospitalizados que desarrollan leucopenia en las primeras 6 horas, los que desarrollan laminitis durante la hospitalización, o los que presentan diarrea en las primeras 6 horas y están más de 8 días hospitalizados (Kim, L.M. et al., 2001).

Es importante también tener en cuenta la época del año y la **climatología**. En determinados estudios se ha demostrado un nivel más elevado en la infección y diseminación a finales del verano y a principios del otoño, y, sin embargo, un nivel más bajo en primavera y en invierno. Además, se ha observado que la excreción de salmonelas se produce con más asiduidad en regiones de clima más cálido y húmedo (Traub-Dargatz, J.L. et al., 2000) (Burgess, B.A. y Morley, P.S., 2014).

## INTRODUCCIÓN

### ➤ Prevalencia de salmonelosis en los équidos

La salmonelosis equina a nivel **mundial**:

La infección causada por *Salmonella* es una patología contagiosa con una distribución mundial y amplia en cuanto al espectro de especies que puede llegar a afectar. Como en otras especies, la prevalencia de salmonelosis en caballos está en aumento (Van Rensburg, I.B.J. et al., 1995).

**Tabla 9. Serovares principales de salmonelosis en distintos países del mundo.**

	Sudáfrica	India	Australia	Brasil	EE.UU.
Serovar principal	Hayindogo	Drogana	Anatum	Anatum	Newport

En un estudio realizado en Sudáfrica se observó una prevalencia elevada de infección intestinal por *Salmonella* en caballos sometidos a necropsia, comparable al 1-27% obtenido en otros países (Van Rensburg, I.B.J. et al., 1995). Las muestras fueron tomadas directamente de diferentes segmentos del tracto intestinal. El serovar *Salmonella* **Hayindogo** fue el más aislado, aunque también se encontraron otros serovares como el Typhimurium, que suele ser, generalmente, el más observado (Tabla 9).

En otra investigación realizada en la India para determinar la prevalencia de salmonelosis equina por medio de la toma de muestras fecales y sanguíneas, se obtuvo una prevalencia muy alta en mulas y burras, de, aproximadamente, un 70%, por medio de técnicas de cultivo convencionales, de pruebas de tubo-aglutinación estándar (STAT-O, STAT-H) y de PCR. (Babu, N. et al., 2008).

En un estudio llevado a cabo durante 3 años en la Universidad de Queensland, Australia, en el que se analizaron 1.178 muestras fecales de 462 caballos admitidos en el hospital clínico, el serotipo *Salmonella* **Anatum** fue el más aislado, en un 54% de las muestras. Los caballos estudiados no mostraron signos clínicos de padecer la enfermedad. (Roberts, M.C. y O'Boyle, D.A., 1981) (Tabla 9).

Otro estudio de prevalencia desarrollado en Brasil, en el Estado de Pernambuco, en el noreste del país, detectó un valor del 3,4% en 19.238 muestras de équidos destinados al consumo humano. Los serovares aislados con mayor frecuencia fueron Anatum, Carrau y Saintpaul. (Hofer, E. et al., 2000) (Tabla 9).

En EEUU, en los estados del sur, la prevalencia alcanzaba un 1,4%, mientras que en los del Norte era únicamente de un 0,2%. A partir de este estudio, también se llegó

## INTRODUCCIÓN

a la conclusión de que el porcentaje de caballos positivos era mayor en verano que en invierno, aunque la diferencia no era estadísticamente significativa (USDA, 2001).

En un brote de salmonelosis neonatal equina en una explotación de purasangres de California, se aisló *Salmonella* Ohio como agente etiológico responsable de la infección con una prevalencia del 27,8% en yeguas y del 35,1% en potros (Walker, R.L. et al., 1991). Se consideró a las **yeguas** como fuente más probable de infección para los potros.

Por otra parte, en un estudio realizado en una población de caballos hospitalizados en un intervalo de tiempo de cuatro años y medio en la Universidad de California-Davis, de 1.429 pacientes analizados, 78 se encontraban eliminando *Salmonella* durante sus respectivas estancias en el hospital veterinario. Al analizar las heces, los serotipos que más se aislaron fueron Krefeld y Typhimurium, por este orden, además de otros muchos más serotipos, pero en menor cantidad (House, J.K. et al., 1999).

**Tabla 10. Serovares principales de salmonelosis en distintos Estados de los EEUU.**

	California	Davis-California	Colorado	Michigan	Pensilvania
Serovar principal	Ohio	Krefeld	Typhimurium	Typhimurium	Typhimurium

En otro estudio llevado a cabo en la Universidad de Colorado, en EEUU, en una población de caballos hospitalizados con cólico, se detectó por medio del cultivo bacteriológico de muestras fecales que el serotipo más aislado fue **Typhimurium** (Kim, L.M. et al., 2001) (Tabla 10).

En un estudio muy similar realizado en la costa este de EEUU, concretamente en la Universidad de Pensilvania, en una población de caballos admitidos en el hospital del Centro New Bolton con cólico agudo pero sin diarrea (Dallap-Schaer, B.L. et al., 2012), de un total de 167 caballos, 59 dieron positivo a la infección por *Salmonella*. Siempre teniendo en cuenta que son pacientes con un trastorno digestivo y animales debilitados, más propensos a sufrir este tipo de infección (Tabla 10).

En un estudio realizado en la Universidad de Michigan, a raíz de un brote de salmonelosis **nosocomial** que afectó a caballos hospitalizados en su clínica de grandes animales en 1996, se obtuvo una prevalencia de infección del 13% al analizar sus muestras fecales, aunque se sospecha un mayor porcentaje. Cabe destacar el elevado porcentaje de mortalidad de los pacientes positivos, al sacrificarse o morir el 44% de los afectados por *Salmonella* (Schott II, H.C. et al., 2001).

## INTRODUCCIÓN

### La salmonelosis equina en **Europa**:

En una determinación que se realizó en Gran Bretaña, en 2012, en la que se analizaron 442 muestras de caballos, 16 resultaron positivas (Slater, J., 2012). Los serovares más aislados fueron Typhimurium, Dublin y Oslo (Tabla 11). Otro estudio llevado a cabo en 2012, en este país, reveló 42 casos de caballos en los que se aisló *Salmonella*, un número inferior al que se contabilizó en 2011, en el que hubo 50 aislamientos del microorganismo (DEFRA, 2013).

En la Universidad de Utrecht, en los Países Bajos, se llevó a cabo un estudio para contrastar técnicas para el diagnóstico de salmonelosis equina. Se procedió al análisis de muestras fecales de 136 caballos de los cuales 25 dieron un resultado positivo a la presencia de *Salmonella*. La población se dividió en dos grupos, uno sospechoso de salmonelosis, con 89 individuos, y otro control, con 47, y la prevalencia obtenida fue 4 veces más alta en el grupo sospechoso (Van Duijkeren, E. et al., 1995).

En otro estudio que se desarrolló en Croacia, a raíz de un brote de abortos en una población de 38 caballos, de los cuales 26 eran yeguas gestantes, se obtuvo como resultado tras el diagnóstico bacteriológico que *Salmonella Abortus equi* era la causa única de aborto en 21 yeguas (Madic, J. et al., 1997) (Tabla 11).

**Tabla 11. Serovares principales de salmonelosis en distintos países de Europa.**

	Gran Bretaña	Países Bajos	Croacia	España
Serovar principal	Typhimurium	Typhimurium	Abortus equi	Enteritidis

### La salmonelosis equina en **España**:

No existen apenas estudios sobre la prevalencia de *Salmonella* en la especie equina en España.

En un estudio que se desarrolló como consecuencia de un brote de salmonelosis septicémica sobreaguda ocurrido en una yeguada, en **Sevilla**, se obtuvo como resultado que de los 45 caballos y potros presentes, 9 mostraron signos clínicos de enfermedad, como fiebre, anorexia, diarrea severa, dolor abdominal, letargo y engrosamiento de nódulos linfáticos periféricos, lo que representa un 20% de la población. Todos los caballos afectados murieron entre 2 y 4 días desde la aparición de los signos descritos a pesar de recibir tratamiento médico (Astorga, R. et al., 2004).

#### ➤ Principales fuentes de contaminación de *Salmonella* en los équidos

Los brotes de salmonelosis se han declarado con mayor frecuencia en équidos hospitalizados. Los caballos clínicamente sanos y otras especies domésticas que

## INTRODUCCIÓN

eliminan el microorganismo en sus heces son considerados una fuente muy importante de contaminación ambiental. Los caballos con **dolor abdominal** muestran un aumento en el índice de eliminación, sugiriendo que *Salmonella spp.* son huéspedes habituales del tracto gastrointestinal pero que generalmente son excretados por las heces en una cantidad baja, a no ser que exista un desorden a nivel abdominal. Si existen cambios en la motilidad intestinal y en la producción de ácidos grasos volátiles por parte de la flora normal, puede aumentar la capacidad de las salmonelas de adherirse a la mucosa intestinal y así proliferar. La diseminación elevada de *Salmonella spp.* en caballos con dolor cólico abdominal no afecta significativamente a la mortalidad, pero sí que es indeseable por las posibilidades de desarrollar colitis y por el incremento en la diseminación ambiental. Las salmonelas pueden persistir en el ambiente desde meses hasta años, dependiendo del serotipo y de las condiciones de humedad y de temperatura.

La **reunión** de équidos de distintos orígenes, como ocurre en hospitales veterinarios, hipódromos, espectáculos ecuestres e instalaciones de embarque y entrenamiento, aumenta el riesgo de transmisión de agentes infecciosos como *Salmonella* (Burgess, B.A. y Morley, P.S., 2014).

En el caso de hospitales veterinarios equinos, la **higiene** ambiental es un factor importante en la contaminación, incluyendo políticas ineficaces de control de infecciones, suelos con superficies que permiten el acúmulo de contaminación, y el uso de superficies porosas difíciles de limpiar y desinfectar como las moquetas o esteras, o como el conglomerado o madera no sellados. Además, la contaminación del material e instrumental de uso común, como cubos, sondas nasogástricas y termómetros rectales, y los períodos de un alto número de casos con una cantidad limitada de personal favorecen la aparición de infecciones. Hay que centrar la vigilancia y monitorizar zonas o ambientes cercanos a pacientes positivos o sospechosos, en zonas de aislamiento, sala de necropsia, quirófanos, etc., y, concretamente, en lugares determinados como suelos, desagües, grietas y ensamblajes, donde se suele concentrar la contaminación.

Un estudio reciente defiende que los caballos con cólico agudo con signos de fiebre ( $>39,4^{\circ}\text{C}$ ), con diarrea y recuento de leucocitos anormal ( $< 4.500$  células/ $\mu\text{l}$  ó  $> 12.500$  células/ $\mu\text{l}$ ) tienen más tendencia a excretar salmonelas en heces y reflujo en los primeros 5 días de hospitalización (Figura 14). Sin embargo, esta triada de signos clínicos ocurre muy raras veces y, según el mismo estudio, cuando estos síntomas se hacen aparentes, el animal ya está excretando salmonelas por las heces (Burgess B.A. y Morley, P.S., 2014).

Los caballos con enfermedad **severa** (con compromiso inflamatorio y vascular) tienen mayor tendencia a excretar cantidades detectables de salmonelas en las heces que aquellos que simplemente presentan un cuadro cólico que se resuelve con un

## INTRODUCCIÓN

manejo médico mínimo (Burgess, B.A., et al., 2015). Según un estudio, también los caballos admitidos por cólico agudo (pero sin diarrea) tenían mayor tendencia a eliminar salmonelas si recibían un tratamiento quirúrgico que si recibían uno médico.



**Figura 14. Yegua con cólico digestivo agudo.**

Dentro de la población de pacientes en hospitales, el 70% del riesgo de diseminación se puede atribuir a los caballos con **enfermedad sistémica**, con indiferencia del sistema orgánico afectado, presentando una mayor probabilidad de excreción los pacientes con un grado de enfermedad más severo, como los admitidos a la unidad de cuidados intensivos o los neonatos críticos (Burgess, B.A. y Morley, P.S., 2014).

Además, hay que considerar los hospitales **multiespecies** en los que conviven los équidos con otras especies, principalmente grandes rumiantes, teniendo el ganado bovino de explotación intensiva una mayor predisposición a eliminar salmonelas que los caballos.

En el caso de los caballos atendidos a nivel de campo, las fuentes de contaminación en gran parte son comunes a las vistas en hospitales. La reunión de animales de distinto origen sin un aislamiento previo, ya sea a la hora de adquirir un animal nuevo o en el momento de volver de cualquier evento ecuestre, así como la no separación de caballos o potros sospechosos de enfermedad son causas habituales de contaminación e infección en las explotaciones equinas. Por supuesto que la falta de higiene y desinfección en la explotación en general y más en concreto en zonas compartidas o comunes para los animales, así como con los utensilios y material de trabajo y entrenamiento son puntos clave para una mayor probabilidad de infección y diseminación de salmonelosis. No podemos olvidar la importancia de la higiene y prevención por parte de los veterinarios ambulantes y otros profesionales que se mueven de explotación en explotación para evitar transmitir esta y otras patologías. No sólo hay que tener presente una **higiene** personal fundamental, sino que, además, hay que mantener un nivel elevado de higiene dentro de los vehículos de trabajo ambulantes, con respecto al equipo multiuso empleado y también con la indumentaria

## INTRODUCCIÓN

externa de trabajo en cada explotación. Los consejos y recomendaciones profesionales de los veterinarios a los propietarios, a los responsables y al personal de las distintas explotaciones equinas para implantar buenas prácticas de control y prevención de infecciones son fundamentales para evitar nuevos brotes y contagios de salmonelosis (Burgess, B.A. y Morley, P.S., 2014).

### ➤ Distribución y dinámica de excreción de *Salmonella* en los équidos

Dentro de la población equina general, podemos señalar diferentes estados en los que se puede encontrar un caballo con respecto a la infección por salmonelas.

En primer lugar, podemos citar el estado libre de *Salmonella* en el que el équido no es portador de la bacteria en ninguna parte de su organismo o cuerpo. Seguidamente, tendríamos el estado de excretor en el que el caballo presenta una forma de infección en la que la bacteria se encuentra en el contenido intestinal y la está liberando al ambiente por las heces. Y, por último, destacar el estado de no excretor o portador en el que la bacteria se localiza en ciertos órganos pero no en el contenido digestivo. Los équidos con esta forma de infección no excretan la bacteria en el ambiente. A estas formas de infección se les puede añadir un componente de contaminación a nivel externo o de piel y, en estos casos, estamos hablando de libre con contaminación, excretor con contaminación o portador con contaminación. Estos estados con **contaminación** actúan como vectores de infección y acentúan aún más la posibilidad de diseminación e infección de otros équidos, animales, personas e instalaciones.

La susceptibilidad de los caballos a la infección y a la severidad de salmonelosis se encuentra ligada a la virulencia del serotipo, a la dosis infectante y al estado inmunológico o de estrés del individuo. A nivel de explotaciones, no se observa una variación en la distribución de la prevalencia de salmonelosis en función de la edad de los équidos. Es cierto que se dan brotes de salmonelosis neonatal (Walker, R.L. et al., 1991) pero también en caballos adultos, como en el caso de infecciones por *Salmonella* en yeguas gestantes, dando lugar a brotes de aborto en distintas explotaciones (Madic, J. et al., 1997), o en brotes de *Salmonelosis* nosocomial en hospitales veterinarios equinos o de grandes animales, afectando a diferentes grupos de edad dentro de la población presente (House, J.K. et al, 1999) (Schott II, H.C. et al., 2001) (Dallap Schaer, B.L. et al., 2012) (Kim, L.M. et al., 2001).

Tampoco se detectan, en la mayoría de casos, diferencias en los porcentajes de équidos infectados que excretan *Salmonella* en las heces cuando se agrupan los pacientes en base a variables de **raza** o sexo (Kim, L.M. et al., 2001). Aunque, en determinados estudios, sí se menciona mayor predisposición a excretar salmonelas en caballos infectados de razas como la árabe o la *Warmblood* que en caballos purasangre (Dallap-Schaer, B.L. et al., 2012).

## INTRODUCCIÓN

En un estudio realizado en la India, los resultados obtenidos al analizar las muestras fecales de una población de 245 équidos, entre ellos burros, asnos y mulas, mostraron una mayor prevalencia entre las mulas y las burras que en caballos y burros. Se demostró que las burras eran más susceptibles a la colonización por *Salmonella* y a la excreción que los machos (Babu, N. et al., 2008).

La dinámica y distribución de la salmonelosis son muy difíciles de controlar debido en parte a la gran **diversidad** de consecuencias clínicas de la infección, abarcando desde excreción asintomática intermitente, diarrea aguda y fiebre con neutropenia hasta septicemia y muerte. Además, los caballos que se recuperan de forma natural después de un episodio agudo de salmonelosis pueden eliminar los microorganismos durante largos períodos de tiempo, un tercio pueden excretar hasta durante 30 días y de forma intermitente (Burgess, B.A. y Morley, P.S., 2014).

Un **meta-análisis** de estudios que se basaban en la inoculación experimental de animales sanos (équidos, rumiantes grandes y pequeños) determinó que, de promedio, la pirexia ocurre a los 1,5 días de la infección y que la diarrea aparece a los 1,7 días desde la infección. Los 43 estudios incluidos en esta investigación utilizaban dosis de inoculación mayores que la dosis infectiva en el proceso natural de infección, por lo que los tiempos medios hasta la manifestación de los síntomas en la infección natural por *Salmonella* son más largos. Este meta-estudio también reflejaba un tiempo medio hasta la excreción de 1,3 días desde la inoculación, indicando que los animales frecuentemente ya están eliminando *Salmonella* en sus heces antes de que la fiebre y la diarrea sean aparentes.

La **duración** desde la exposición hasta la excreción fecal puede estar influenciada por el serotipo, la dosis infectiva, así como por el estado de salud o de estrés del caballo. El tiempo hasta la eliminación depende del serotipo infectante, fluctuando desde aproximadamente los 3 hasta los 5 días en caballos infectados de manera natural. Por el contrario, los caballos inoculados experimentalmente excretan *Salmonella* en un tiempo máximo de 1,3 días, lo que sugiere que la dosis infectiva tiene un papel importante ya que las inoculaciones experimentales son, generalmente, a una dosis mayor que la ocurriría de forma natural. El tiempo hasta que empieza a eliminar por las heces también se ve afectado por el estado de salud del individuo. (Burgess, B.A. y Morley, P.S., 2014). Es importante recordar la intermitencia en la excreción de salmonelas a través de las heces, así como el bajo número de organismos, salvo en situaciones extremas. Por estudios realizados, se ha llegado a la conclusión de que caballos sospechosos de eliminar *Salmonella* deberían considerarse positivos y todas las medidas de aislamiento y prevención mantenidas hasta que repetidas muestras de heces den un resultado negativo para esta bacteria (Van Duijkeren, E. et al., 1995). La aplicación generalmente aceptada de esta idea es que un mínimo de 3 a 5 **cultivos negativos** deberían ser obtenidos en un corto período de tiempo (a intervalos

## INTRODUCCIÓN

de 12 a 24 horas) para estar razonablemente seguros que los pacientes tienen un bajo riesgo de excretar salmonelas (Burgess, B.A. et Morley, P.S., 2014). Esto no garantiza, sin embargo, que el caballo esté libre de *Salmonella* (Hyatt, D.R. et Scott Weese, J., 2004).

### ➤ Persistencia de *Salmonella* en explotaciones equinas

*Salmonella* resiste temperaturas de congelación y puede potencialmente **sobrevivir** durante años bajo condiciones ambientales adversas. Se multiplica a temperaturas que oscilan entre los 7 y los 45°C. Es susceptible a la desinfección química sobre superficies limpiadas minuciosamente, pero pequeñas cantidades pueden permanecer en superficies irregulares y porosas y en áreas difíciles de limpiar como desagües, esquinas, debajo de planchas de goma, etc., y quedar como una fuente persistente de infección.

Según un estudio realizado para investigar los efectos de diversos desinfectantes a la hora de recuperar organismos de *Salmonella*, la lejía fue el desinfectante más efectivo en eliminar organismos detectables de todas las superficies investigadas, más que el cloruro de amonio y que los compuestos de fenol, al 12% y al 6,7%, para eliminar los organismos de *Salmonella* (Ewart, S.L. et al., 2001).

Una gran cantidad de trabajos de **investigación** han demostrado una elevada persistencia de la bacteria en diferentes instalaciones tras la limpieza y desinfección (Ruple-Czerniak, A. et al., 2014). En cualquier caso, está claro que los procedimientos de limpieza son claves para la eliminación de la materia orgánica adherida al suelo y paredes de los ambientes más expuestos al agente, especialmente, cuando son de un material rugoso como el cemento. Se ha demostrado la supervivencia de *Salmonella* Typhimurium en suelo hasta 96 días a 8°C y hasta 54 días a 20°C, por lo que es recomendable un proceso intenso de limpieza.

Es importante tener en cuenta que la presencia de materia orgánica puede disminuir el efecto del desinfectante (Ruple-Czerniak, A. et al., 2014).

Además, se debe considerar que, a pesar de ser menos importante que el modo de transmisión por ingestión, *Salmonella* puede diseminarse por aire a través de aerosoles y polvo. El polvo acumulado en el ambiente, equipos de distribución de pienso y agua, es considerado como un factor de riesgo a tener en cuenta. (González, M. et al., 2013). Los roedores, y las plagas en general, presentes en la explotación, comprometen la eficacia del proceso de limpieza y desinfección.

Se ha demostrado también que la producción de celulosa y la formación de biofilm podrían jugar un papel importante en la **supervivencia** de *Salmonella* en el ambiente (González, M. et al., 2013).

## INTRODUCCIÓN

### ➤ Prevalencia de salmonelosis en el ser humano

Para la OMS (WHO, 2005), *Salmonella* es una de las mayores causas de enfermedad de origen alimentario en humanos. En todo el mundo, se producen anualmente millones de casos de salmonelosis, y la enfermedad se traduce en cientos de muertes. Esto constituye una gran preocupación para la Salud Pública y representa un coste significativo en muchos países.

La salmonelosis humana a nivel **mundial**:

*Salmonella* es una de las mayores causas de gastroenteritis de origen bacteriano a nivel mundial (Barrow, P.A., 1993). Se dispone de cierta información sobre la frecuencia de *Salmonella* en algunos países, sin embargo, hay regiones de las cuales existe una carencia o una cantidad limitada de datos, como son África, Asia y América del Sur (Centers for Disease Control and Prevention, 2009).

Los datos **internacionales** indican una incidencia estimada de salmonelosis de entre 14 y 120 casos cada 100.000 personas en 1997: 14 en EEUU, 38 en Australia y 73 en Japón. En la UE, los cálculos varían entre 16 casos por 100.000 en los Países Bajos y 120 casos por 100.000 en algunas partes de Alemania (González, M. et al., 2013) (Tabla 12).

**Tabla 12. Incidencia de salmonelosis humana en distintos países del mundo.**

PAÍSES	INCIDENCIA (por 100.000 habitantes)
EE.UU.	14
Australia	38
Japón	73
Países Bajos	16
Alemania	120

Fuente: González et al., 2013.

Cada año, aproximadamente 40.000 infecciones por *Salmonella* son confirmadas mediante cultivo, serotipadas y comunicadas a los CDC de los EEUU. Del número total de casos, se calcula que el 96% es de origen **alimentario** (WHO y Food and Agriculture Organisation of the United Nations (FAO), 2002).

En el 2009, hubo un total de 17.468 casos de infección por patógenos transmitidos por los alimentos, confirmados mediante laboratorio, en EEUU. *Salmonella spp.* fue el patógeno más frecuente, con 7.039 infecciones registradas y con una incidencia de 15,2 por cada 100.000 habitantes (CDC, 2010).

Según Mead, P.S. et al. (1999), los principales patógenos de origen alimentario que causan la muerte en EEUU son *Salmonella*, *Listeria* y *Toxoplasma*, los cuales

## INTRODUCCIÓN

reúnen 1.427 o más del 75% de las muertes por toxiinfecciones alimentarias causadas por patógenos conocidos.

De acuerdo con la revisión realizada entre 1995 y 1998, en Sudamérica, por Franco, B.D.G. et al. (2003) sobre brotes alimentarios de origen bacteriano, *Salmonella* era la responsable de la mayoría de los casos registrados en la región (36,8%).

En Corea, el 55,1% de las enfermedades de origen alimentario registradas entre 1993 y 1996 fueron por salmonelosis (Bajk, G.J. y Roh, W.S., 1998).

*Salmonella* ha experimentado un **descenso** pronunciado en el número total de brotes en Europa. Aun así, en 2009, permaneció como el agente causante de brotes de origen alimentario detectado con mayor frecuencia en la UE, siendo el responsable del 31% de los brotes en cuyo agente etiológico fue determinado (EFSA, 2011).

Se han identificado más de 2.500 **variantes** séricas de *Salmonella*, de las cuales las más prevalentes son *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Heidelberg (WHO y FAO, 2002).

### La salmonelosis humana en **Europa**:

El número de casos de salmonelosis humana ha descendido en 2009 siguiendo la tendencia de descenso existente desde 2005. A pesar de ello, la salmonelosis permanece como la segunda zoonosis aislada con mayor frecuencia en la UE.

En el año 2009, un total de 109.844 casos de salmonelosis no tifoidea fueron registrados por los 27 EM, de los cuales 108.614 fueron confirmados por el Sistema de Vigilancia Europeo (*The European Surveillance System-TESS*). La tasa de notificación fue de 23,7 casos por 100.000 habitantes (EFSA, 2011).

En los últimos cinco años, el número de casos de salmonelosis ha mantenido una tendencia descendente, aunque existen variaciones específicas dentro de cada país, desde 173.879 (38,2/100.000) casos confirmados en 2005 hasta los 108.614 (23,7/100.000) casos confirmados de 2009. El número de casos de Salmonelosis humana ha disminuido un 17,4% (22.854 casos) comparado con 2008 (131.468 casos). Esta reducción ha sido particularmente manifiesta para el serotipo aislado con mayor frecuencia, Enteritidis. Se asume que dicha reducción es debido principalmente a los programas de control de *Salmonella* llevados a cabo en las poblaciones de aves. A pesar de ello, el número de notificaciones de *Salmonella spp.* sigue siendo elevado en los países de la UE, esto subraya la necesidad de continuar con los esfuerzos de prevención y control de la salmonelosis en humanos a nivel comunitario (EFSA, 2011)

Como en años anteriores, los dos serotipos de *Salmonella* registrados con mayor frecuencia en 2009 fueron Enteritidis (52,3%) y Typhimurium (23,3%). Esto representa el 75,6% de todos los serovares conocidos de casos humanos en la UE

## INTRODUCCIÓN

(102.001 casos). El número de casos de Enteritidis disminuyó en un 23,8% (16.709 casos) comparado con 2008, así como el de Typhimurium que disminuyó en un 10,1% (2.664 casos).

En 2012, se confirmaron a nivel **laboratorial** 8.798 casos de salmonelosis en el RU. Según los esquemas nacionales de muestreo, por cada caso de enfermedad confirmado laboratorialmente, se estima que hay 4,7 casos no diagnosticados, por lo que el número total de casos en el RU, en 2012, es de, aproximadamente, 50.000. *Salmonella* Enteritidis fue el serovar más detectado en 2012, responsable del 27,9% de los casos, mientras que *Salmonella* Typhimurium fue el segundo serovar más diagnosticado en el RU (DEFRA, 2013).

La salmonelosis humana en **España**:

*Salmonella spp.* es el agente implicado con mayor frecuencia en los brotes de origen alimentario en España y constituye la segunda causa de **gastroenteritis** bacteriana desde el año 2006, después de *Campylobacter* (EFSA, 2008).

Con el objetivo de describir las características epidemiológicas de la salmonelosis no tifoidea en España en cuanto al tipo de población afectada y a la tendencia de esta infección en el tiempo y su variación estacional, se analizaron los datos recogidos en el SIM de la RNVE entre los años 2000 y 2008. La mediana de casos anuales notificados durante todo el periodo fue de 7.003 casos.

También se obtuvo información sobre los serotipos más **prevalentes**, siendo *Salmonella* Enteritidis (62,3%) y *Salmonella* Typhimurium (14,4%) los más frecuentes (BES, 2009). En 2008, *Salmonella* Enteritidis fue el serotipo declarado con más frecuencia, siguiéndole *Salmonella* Typhimurium que experimentó un aumento del 24% con respecto a 2007 (BES, 2009). En 2004, los entonces denominados Ministerios de Sanidad y Consumo, y de Agricultura, Pesca y Alimentación, presentaron conjuntamente un Programa de Control de *Salmonella* en Huevos y Ovoproductos y los resultados de este estudio parecen indicar que las medidas de vigilancia, prevención y control contempladas en este programa fueron muy efectivas. La efectividad de las medidas de control no está tan clara en *Salmonella* Typhimurium. El número de notificaciones de este serotipo no ha disminuido a lo largo del periodo de estudio, sino que parece estar aumentando en el último año. Esto podría ser debido a que la transmisión para este serotipo no está tan asociada al consumo de huevos y ovoproductos contaminados y, por lo tanto las medidas de control podrían no ser tan efectivas. Además, esto puede indicar un reemplazo del serotipo Enteritidis por el serotipo Typhimurium.

En cuanto al comportamiento **estacional** de esta enfermedad, se observó que el mayor número de casos tenía lugar entre junio y septiembre. En el mismo estudio, se observó que la salmonelosis afecta por igual a ambos sexos y que referente a la

## INTRODUCCIÓN

edad, hay variaciones según el tipo de muestra recogida, aunque sigue siendo más prevalente en **niños** menores de 5 años.

Durante el año 2008, el Centro Nacional de Epidemiología junto con los responsables del SIM de las CCAA acordaron un listado mínimo de microorganismos a vigilar y los criterios de notificación comunes para todo el territorio nacional. Dicha revisión se realizó en parte con el objetivo de adaptarse al listado de enfermedades a vigilar establecido por la UE. Se acordó un listado de 34 microorganismos que empezó a funcionar desde 2009, entre estos se encontraba *Salmonella spp.*.



Figura 15. Incidencia de salmonelosis humana en España (1999-2014) (EFSA, 2013).

En el informe de declaración de microorganismos del año 2009 se habla de 4.327 casos de salmonelosis entre enero y abril de 2009, de los cuales 25 casos eran causados por *Salmonella Typhi* y *Paratyphi*. En cuanto al sexo y edad de los afectados, continuó la misma tendencia que en años anteriores, es decir, el mayor número de cepas se aisló en niños menores de cinco años y no se observó una diferencia significativa en la distribución de los casos de salmonelosis en cuanto al sexo del paciente (BES, 2010).

En 2008, se registró una cifra inferior a 4.000 casos confirmados de salmonelosis en **España**, el nivel más bajo de una tendencia descendente en la incidencia de la enfermedad desde principios de siglo, aunque desde ese mismo año volvió a aumentar progresivamente el número de casos por encima de 5.000 casos en 2014 (Figura 15). En 2011, se notificaron 95.548 casos confirmados de salmonelosis en la UE, de los que cerca de 4.500 correspondieron a España.

### 1.2.2.3. Patogenicia

Muchos de los factores de patogenicidad permanecen sin explicación, particularmente, la relación entre las toxinas de *Salmonella* y el daño celular que

## INTRODUCCIÓN

producen. La virulencia de cualquier organismo de *Salmonella* está determinada por su capacidad de **invasión**, que depende de su adhesión a la mucosa epitelial y de la producción de enzimas y toxinas (citotoxinas, endotoxinas y enterotoxinas), que dañan el epitelio y/o alteran la permeabilidad epitelial, y facilitan la entrada bacteriana dentro de las células de la mucosa y la infección de la lámina propia (McKenzie III, H.C. y Mair, T.S., 2009).

Tras la infección, generalmente por vía **oral**, y para alcanzar sus objetivos de colonización en el tracto intestinal más bajo, dosis altas de bacterias (> 10<sup>5</sup>) sobreviven a la lactoperoxidasa de la saliva, al pH ácido de los jugos gástricos y a la acción antimicrobiana del ácido clorhídrico, alcanzando el intestino delgado. Los organismos de *Salmonella* tienen que adherirse al epitelio intestinal mediante las fimbrias y los *pili* en su superficie bacteriana. Para una infección completa, las salmonelas tienen que invadir las células epiteliales y establecer una infección intracelular. Tras adherirse inicialmente al epitelio, expresan un sistema de secreción tipo III (SST3) que facilita la invasión epitelial, permitiendo la transferencia directa de factores de virulencia en las células hospedadoras. Esto se produce utilizando una estructura similar a una aguja que penetra la membrana epitelial celular y forma un conducto por donde se liberan esos factores dentro de la célula epitelial. Diversos factores de virulencia pueden estar involucrados, incluyendo proteínas de invasión de *Salmonella* (Sips), endotoxinas (LPS), y flagelinas. Estos factores son todos potentes agentes inflamatorios de modo que *Salmonella* aprovecha la respuesta inflamatoria del hospedador para facilitar su invasión del epitelio intestinal, ya que su habilidad para establecer infección está correlacionada con su capacidad de atraer neutrófilos hacia el epitelio. Estos factores de virulencia actúan para estimular la producción local de citoquinas proinflamatorias, particularmente, de interleuquina-1 beta, de factor interleuquina-8 quimioatrayente de neutrófilos y también de ciclooxigenasa activada dentro del epitelio.

El siguiente paso en el establecimiento de la infección **intracelular** es el movimiento de la bacteria desde la superficie de la célula epitelial hacia el interior de la célula hospedadora. Este proceso está mediado también por los factores SST3 y, de esta manera, varias Sips (A, B y C) interactúan con el citoesqueleto actínico de la célula epitelial, dando como resultado la internalización de la bacteria dentro de una vacuola asociada a la membrana. Esta vacuola no se fusiona a lisosomas dentro de la célula y el organismo es así protegido. La vacuola, con la *Salmonella* en su interior, se desplaza desde el borde luminal de la célula epitelial hasta la membrana basal, donde la bacteria interactúa y penetra en los macrófagos en la submucosa. A nivel intestinal, las placas de Peyer y el tejido linfoide asociado a la mucosa parecen representar un objetivo primario durante el inicio de la infección por *Salmonella*. Estos macrófagos, dentro de estas estructuras, desarrollan un papel clave en la producción inicial de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y de la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS), que a su vez desempeñan un papel importante en la sobrerregulación de la respuesta

## INTRODUCCIÓN

inflamatoria. Esta respuesta contribuye al desarrollo de la diarrea característica, y la producción de prostaglandina E2 por los iNOS fomenta la hipersecreción intestinal (McKenzie III, H.C. y Mair, T.S., 2009).

Seguidamente al establecimiento de la infección por salmonelas, se desencadena una respuesta **inflamatoria** local y sistémica para intentar eliminar el organismo patógeno. La inflamación de la mucosa resulta en un aumento de la permeabilidad de la mucosa, aumento de la secreción de agua y electrolitos, y alteraciones en la motilidad debidas a una función alterada del sistema nervioso entérico. Todo esto puede ser beneficioso para disminuir la adherencia a la mucosa por parte de los organismos patógenos, pero también interfiere con flora intestinal normal, lo que, junto con las alteraciones en la función normal de la barrera protectora de la mucosa intestinal, aumenta la patogenicidad de *Salmonella*. Esto sucede, en parte, al no poder competir eficazmente la flora normal contra los agentes patógenos a raíz de los efectos negativos de estos cambios provocados.

Se puede dar una inflamación intestinal profunda, llevando a una disfunción permanente y a inflamación sistémica abrumadora y, en definitiva, resultando en la muerte del individuo afectado. Se puede producir también una translocación bacteriana, lo que resulta inicialmente en una dispersión de salmonelas hacia los nódulos linfáticos regionales y, posteriormente, en la entrada hacia la circulación sistémica, provocando una septicemia y una infección generalizada (McKenzie III, H.C. y Mair, T.S., 2009).

### 1.2.2.4. Cuadro clínico

Una vez que se ha establecido la infección sistémica, la salmonelosis se puede establecer como enfermedad clínica.

El patógeno más importante en los équidos es *Salmonella Abortus equi*, que causa abortos en yeguas y artritis en potrillos. El aborto se produce en los últimos meses de gestación y los fetos, como también las envolturas fetales, contienen gran número de bacterias. Este serotipo está adaptado a la especie equina y rara vez se encuentra en otras especies animales (Madic, J. et al., 1997) (Figura 16).

La salmonelosis es una enfermedad seria y común en el caballo, y se pueden reconocer diversas formas clínicas.

La forma sobreaguda, habitualmente sólo observada en potros, se caracteriza por fiebre, taquicardia, hiperpnea, leucopenia, anorexia, septicemia (especialmente en potros entre 1 y 4 meses de edad), shock séptico y muerte.

## INTRODUCCIÓN



Figura 16. Aborto por *S. Abortus equi* ([https://www.ecured.cu/Salmonella\\_abortus\\_equi](https://www.ecured.cu/Salmonella_abortus_equi)).

La forma aguda cursa con depresión severa, anorexia, profunda neutropenia, hipertermia y frecuente dolor abdominal. Heces líquidas y con olor fétido. Suele presentarse deshidratación, acidosis metabólica y pérdida de electrolitos. También puede aparecer septicemia y shock hipovolémico de progresión rápida. Se pueden dar, entre las 24 y 48 horas, episodios leves de dolor abdominal o cólicos severos secundarios por íleo, timpanismo, colitis o complicaciones isquémicas. Las impactaciones en el colon menor en caballos adultos a menudo se asocian con la salmonelosis. Se produce una marcada pérdida de proteína con concentraciones plasmáticas muy bajas en procesos diarreicos que se alargan. En potros, la septicemia suele causar artritis séptica y puede que, en ocasiones, esta forma no curse con **diarrea**, y también pueden aparecer diarrea hemorrágica, neumonía y meningitis (Figura 17). En ocasiones, culmina con la muerte del animal, tanto joven como adulto. De esta manera, ocurrió en un brote por *Salmonella* Ohio, de baja virulencia en principio y que rara vez afecta a los équidos, en una explotación de California en el que sólo mostraron signos clínicos potros menores de 8 días y algunos murieron a causa de la septicemia (Walker, R.L. et al., 1991). También se pueden presentar cuadros reproductivos en yeguas gestantes, especialmente causados por *Salmonella* Abortus equi, con aparición de **abortos** en el último tercio de la gestación (Figura 16).

La forma crónica es, muchas veces, continuación del progreso del episodio agudo y puede cursar con signos de depresión, fiebre, anorexia y heces pastosas o sin diarrea. Puede presentarse ligera neutropenia. Pueden aparecer caballos con laminitis a consecuencia de la endotoxemia.

La forma subclínica o de portador es la que no muestra signos apreciables de enfermedad y en la que el microorganismo puede o no estar activo (Van Duijkeren, E. et al., 1995). La importancia de esta forma radica en el grave riesgo de transmisión y contagio de la enfermedad.

## INTRODUCCIÓN



Figura 17. Diarrea profusa en un cuadro de salmonelosis en un caballo (<http://horsesidevetguide.com/drv/Observation/122/manure-is-watery-diarrhea-in-adult/>).

➤ Cuadro clínico en el ser humano

La salmonelosis es una de las causas más importantes de gastroenteritis en las personas (Miller, S.I. et al., 1995).

Existe una variación muy importante en cuanto al poder patógeno de los diferentes serotipos, pero la mayor parte de ellos son patógenos tanto para los animales como para el hombre.

*Salmonella* Typhi y la mayoría de *Salmonella* Paratyphi (A, B y C) causan serias infecciones sistémicas en los humanos (fiebre tifoidea y paratifoidea, respectivamente). La mayoría de estos serovares son patógenos **específicos** del ser humano, y son transmitidos directa o indirectamente de humanos a humanos. La fiebre entérica o tifoidea es la más grave de las salmonelosis humanas. En la mayoría de los casos, la enfermedad es asintomática durante el periodo de incubación de 1 a 14 días, y posteriormente cursa con fiebre, malestar, anorexia, mialgias, cefalea, dolor abdominal y estreñimiento. La diarrea es más común en pacientes con el sistema inmune comprometido y en niños. Puede aparecer también tos improductiva y epistaxis. Otros síntomas menos frecuentes son la aparición de exantemas maculosos o maculo-papulosos, bradicardia y, en casos más graves, síntomas neurológicos. Un diagnóstico tardío o una falta de respuesta al tratamiento pueden conllevar complicaciones serias, incluyendo la hemorragia gastrointestinal, la perforación de intestino y el shock (Kanungo et al., 2008). Sin el tratamiento adecuado, la **letalidad** alcanza el 10%. Actualmente, los brotes de fiebre tifoidea ocurren frecuentemente en países en vías de desarrollo, en campos de refugiados y en áreas con una densidad de población elevada (Maskalyk, J., 2003).

## INTRODUCCIÓN

Los demás serotipos pueden producir una gran variedad de infecciones no tifoideas en el hombre, como infecciones asintomáticas del intestino, enterocolitis, bacteriemia o infecciones localizadas, desde osteomielitis hasta endocarditis. El periodo de incubación es de 5 a 7 horas tras la ingestión del alimento contaminado, aunque los síntomas pueden no aparecer hasta las 12 o 36 horas. El cuadro dura entre 4 y 7 días, y la mayoría de las personas mejora sin tratamiento. Puede ser más grave en personas con el sistema inmune comprometido, como ancianos, niños y personas con enfermedades crónicas, aunque la muerte del paciente es poco común (Guerrant, R.L., 1989).

### 1.2.2.5. Lesiones

Los principales hallazgos patológicos en los caballos con salmonelosis son los típicos de una enteritis y/o una colitis. Habitualmente se observa una **inflamación** difusa fibrinosa o hemorrágica del ciego y del colon mayor. La mucosa puede encontrarse ulcerada y suelen aparecer pseudomembranas diftéricas adheridas a la superficie. Histológicamente, el ciego y el colon presentan tiflitis/colitis con hemorragia y necrosis coagulante. Se observan exudados fibrinocelulares adheridos al epitelio necrótico. Los capilares de la lámina propia frecuentemente aparecen trombosados. Los ganglios linfáticos mesentéricos suelen presentar un aspecto inflamado, hemorrágico y edematoso. En el hígado se pueden hallar pequeños focos de necrosis, los llamados nódulos paratifoideos (McKenzie III, H.C. y Mair, T.S., 2009). Otras lesiones que se pueden apreciar son degeneración grasa del hígado, líquido sanguinolento en cavidades serosas y hemorragias petequiales en el corazón y en otros órganos. Las lesiones observadas en la necropsia no son patognomónicas (CFSPH, *Iowa State University*, 2005).

#### ➤ Lesiones en el ser humano

En la especie humana, las lesiones observadas en la salmonelosis son muy similares a otras especies animales. Cabe destacar, sin embargo, unas lesiones **cutáneas** que aparecen en el tronco en forma de manchas circulares de color rosa, que desaparecen con la presión y se mantienen durante pocos días (Fundación ONCE, 2009). Son lesiones discretas, papuloeritematosas, de 2 a 4 mm, inicialmente blancas y posteriormente equimóticas. Suelen presentarse en la fiebre tifoidea de la salmonelosis. Este exantema se conoce como roséola tifoidea y es posible aislar *Salmonella Typhi* de las lesiones (Romero Cabello, R., 2007). Se observa también esplenomegalia y leucopenia con importante desviación izquierda. En la forma de enterocolitis se pueden presentar complicaciones como la erosión de la mucosa intestinal, dando lugar a sangrados importantes o a perforación, produciéndose en este último caso una infección peritoneal grave. Se puede producir, en ocasiones, una **bacteriemia**, dando lugar a diversas afectaciones, como las vasculitis, endocarditis,

## INTRODUCCIÓN

miocarditis, infecciones óseas o meningitis, colecistitis, hepatitis, neumonía, pancreatitis, parotiditis, pielonefritis, orquitis, amigdalitis y linfadenitis supurativa (Romero Cabello, R., 2007). Principalmente ocurre en pacientes con cierta predisposición (neonatos, ancianos, inmunodeprimidos,...) (Fundación ONCE, 2009).

### 1.2.2.6. Tratamiento

#### ➤ Tratamiento en los équidos

El tratamiento de la salmonelosis es, principalmente, de **soporte** ya que la bacteria patógena puede no responder a la terapia específica. Las pérdidas sustanciales de fluido del volumen circulatorio necesitan de fluidoterapia de soporte en la mayoría de los casos, y las pérdidas adicionales de proteínas pueden requerir también de terapia coloidal. El plasma equino se emplea en ocasiones, solo o combinado con los sustitutos coloidales del plasma, para corregir la hipoproteïnemia y aportar factores de coagulación y, muchas veces, también dependiendo de su origen, anticuerpos específicos (Manual Merck). Los desequilibrios ácido-básicos y electrolíticos se presentan frecuentemente y deben ser compensados mediante suplementación enteral o parenteral.

La terapia antiinflamatoria también se recomienda en estos casos con la intención de corregir tanto el componente local como el sistémico de la respuesta inflamatoria, y también para combatir los efectos de la endotoxemia (CFSPH, *Iowa State University*, 2005). Su uso, además, ayuda a controlar el dolor asociado a estos cuadros y, posiblemente, a prevenir complicaciones como la laminitis (Manual Merck). El fármaco más empleado suele ser el flunixin meglumine.

El soporte **nutricional** también suele ser necesario debido al menor consumo voluntario de alimento o debido a la privación forzada del mismo.

El uso de antibióticos puede estar indicado en ciertos casos. La salmonelosis septicémica puede ser tratada con diferentes tipos de antibióticos, pero muchas cepas son resistentes a uno o varios antibióticos, de modo que la elección se debe basar en estudios de susceptibilidad. Para enfermedad entérica, la antibioterapia puede estar contraindicada porque puede favorecer la persistencia de *Salmonella spp.* en el intestino después de la recuperación, puede afectar a la flora intestinal y puede incrementar la aparición de más cepas resistentes a este tipo de fármacos (CFSPH, *Iowa State University*, 2005). Su administración no suele cambiar el curso de la colitis o disminuir la excreción del microorganismo, aunque puede reducir la predisposición a la bacteriemia (Manual Merck).

La utilización de **protectores** gastrointestinales, como el subsalicilato de bismuto o el carbón activo, pueden ser beneficiosos y pueden llegar a fijar toxinas

## INTRODUCCIÓN

bacterianas. Se ha demostrado que la administración de polimixina B a dosis bajas también consigue neutralizar las endotoxinas circulantes (Manual Merck).

El cuidado y el manejo de estos cuadros pueden llegar a ser **intensivos** y es difícil llevarlos a cabo fuera de un ambiente hospitalario (McKenzie, H.C. y Mair, T.S., 2009).

### ➤ Tratamiento en el ser humano

La salmonelosis en los humanos puede ser tratada con diferentes antibióticos entre los que se incluyen ampicilina, amoxicilina, gentamicina, trimetoprim-sulfametoxazol y fluoroquinolonas. Muchas cepas aisladas son resistentes a uno o más antibióticos por lo que, si es posible, es aconsejable recurrir al **antibiograma**. La antibioterapia se emplea principalmente frente a la septicemia, fiebre entérica e infecciones focales extraintestinales. Dichas infecciones focales pueden necesitar cirugía y periodos prolongados de antibioterapia.

Se suelen administrar antimicrobianos para la gastroenteritis en personas mayores, niños e individuos inmunodeprimidos, que son más propensos a padecer septicemia y complicaciones. Sin embargo, la mayoría de personas sanas se recupera espontáneamente en un periodo de 2 a 7 días y no suele requerir antibioterapia. Estos fármacos, habitualmente, no suelen acelerar la recuperación en este curso de la enfermedad. Al contrario, suelen prolongar el tiempo de excreción bacteriana y suelen favorecer el desarrollo de cepas resistentes frente a los antibióticos. En muchos casos, puede llegar a ser necesario el tratamiento sintomático de la deshidratación, de las náuseas y de los vómitos (CFSPH, *Iowa State University*, 2005).

### 1.2.2.7. Profilaxis

#### ➤ Profilaxis en los équidos

En el ambiente de un hospital, donde los caballos están estresados, posiblemente en ayuno y frecuentemente recibiendo tratamiento antibiótico, es fundamental la identificación urgente y el aislamiento estricto de los caballos infectados por *Salmonella*. Las prácticas de **bioseguridad** para minimizar la contaminación cruzada entre équidos hospitalizados son también aconsejables. El aislamiento de animales que desarrollan diarrea y/o fiebre y leucopenia representa un primer paso en biocontención (McKenzie, H.C. y Mair, T.S., 2009). Los procedimientos de protección se deben de diseñar para satisfacer las características individuales de cada instalación, pero deben incluir el uso de guantes, monos y botas cuando se trabaje con el individuo afectado, así como la utilización de pediluvios, y el lavado y desinfección de manos. El estiércol de animales sospechosos o confirmados se debe de manejar separadamente del resto del flujo de desechos de la instalación y nunca debe ser esparcido en los pastos. En el momento en que se aísla un animal, se deben tomar

## INTRODUCCIÓN

muestras fecales para cultivo de *Salmonella*, tanto como muestreo como para optimizar la eficacia del tratamiento. Se deben llevar a cabo cultivos seriados para confirmar de 3 a 5 resultados negativos frente al microorganismo antes de **reintroducir** un paciente de la zona de aislamiento en la población del hospital o de la explotación. Todas las superficies potencialmente contaminadas deben ser meticulosamente limpiadas y desinfectadas, y se recomienda realizar cultivos previos de las superficies antes de su reutilización para asegurarse que la desinfección ha sido efectiva (McKenzie, H.C. y Mair, T.S., 2009). El serotipado, los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana y el genotipado mediante electroforesis de campo pulsado, mediante análisis del perfil del plásmido y mediante fagotipado se pueden emplear para determinar si las cepas aisladas están genéticamente relacionadas y para ayudar a averiguar si la infección es nosocomial (Manual Merck).

### ➤ Profilaxis en el ser humano

Para disminuir el riesgo de padecer salmonelosis, tan importantes son las buenas **prácticas** de seguridad alimentaria, como la prevención de transmisión por parte de los animales.

El contagio a partir de los alimentos se puede evitar si no se ingieren huevos, pollería y otras carnes, crudos o poco cocinados. La leche y otros derivados lácteos no pasteurizados no se deben comer ni beber. Las verduras y frutas crudas se deben lavar concienzudamente antes de consumir. La contaminación cruzada de alimentos se debe de prevenir. Las carnes no cocinadas han de separarse de otros alimentos elaborados, cocinados o listos para comer. Después de manipular alimentos potencialmente contaminados, se han de lavar meticulosamente las manos y los utensilios de cocina que entran en contacto con comida no cocinada. Las manos se deben de lavar antes de manipular alimentos. A los niños, no se les ha de alimentar ni se les ha de cambiar los pañales cuando sus cuidadores estén manipulando huevos o carnes crudas.

En cuanto al contagio a partir de animales, para **reducir** el riesgo es importante lavarse las manos con agua caliente y jabonosa inmediatamente después de haber estado en contacto con las heces de cualquier animal. Las personas inmunocomprometidas deberían evitar el contacto con reptiles, pollitos y crías de patos, así como tener especial cuidado al visitar granjas o núcleos zoológicos (CFSPH, *Iowa State University*, 2005).

Los propietarios de caballos deben ser conscientes del riesgo zoonótico de la infección por *Salmonella*. Tanto ellos, como el resto de personal en contacto con ellos, y, especialmente las personas que trabajan con équidos infectados, deben practicar una higiene estricta (Manual Merck).

## INTRODUCCIÓN

Debido a la alta prevalencia de salmonelosis en hospitales equinos y en yeguas, los grupos de la población más vulnerables y con mayor riesgo de contagio deberían evitar la entrada en los mismos o tomar especiales medidas de precaución (Hoelzer, K. et al., 2011).

**No** existen vacunas humanas para prevenir la salmonelosis zoonótica o a partir de los alimentos. Pero sí que hay disponible una vacuna frente a la fiebre tifoidea, un tipo de infección transmitido entre personas.

### **1.2.2.8. Salmonelosis y Salud pública**

Esta enfermedad es una importante **zoonosis** que además se considera responsable de millones de casos de cuadros diarreicos, cientos de miles de hospitalizaciones y muertes anuales en todo el mundo. Los casos de salmonelosis alimentarias son los más habituales y entre ellos se incluyen los originados a partir del consumo humano de carne de caballo en las zonas del mundo en las que esta práctica se lleva a cabo. El contacto directo con caballos infectados es también un importante factor de riesgo para la transmisión zoonótica. Los caballos clínicamente sanos mantenidos en buenas condiciones en granjas o escuelas de equitación no suelen suponer un riesgo a tener en cuenta. En competiciones u otro tipo de acontecimientos ecuestres públicos, el riesgo de transmisión suele ser considerablemente mayor debido al estrés generado, y aún se incrementa en mayor medida cuando están presentes yeguas gestantes, potros y équidos hospitalizados. Los caballos infectados por *Salmonella* a menudo no presentan síntomas clínicos o son atípicos, lo que enfatiza aún más la necesidad de una cuarentena estricta, un control de la contaminación ambiental y unas prácticas higiénicas adecuadas (Hoelzer, K. et al., 2011). La transmisión de la zoonosis en hospitales veterinarios de grandes animales y en clínicas veterinarias privadas ocurre muy a menudo, aunque sólo un número reducido de casos humanos asociados con dicha transmisión se hayan documentado (Hoelzer, K. et al., 2011).. La aparición de cepas resistentes a múltiples fármacos, como *Salmonella* serovar Newport, genera especial **preocupación** en cuanto al contagio directo entre animales infectados, sus propietarios y el personal veterinario que los atiende (McKenzie, H.C. y Mair, T.S., 2009).

#### ➤ La salmonelosis en el ámbito social y económico

Aunque el número de casos de salmonelosis humana ha descendido en los últimos años, aún sigue siendo elevado. Sin embargo, estos datos no reflejan la magnitud del problema, ya que muchos casos de salmonelosis no son registrados, debido principalmente a tres causas (EFSA, 2007):

- La persona enferma no acude al médico.

## INTRODUCCIÓN

- La persona enferma acude al médico pero no se recoge una muestra para el análisis laboratorial.
- Los resultados obtenidos por el laboratorio no son comunicados a las autoridades pertinentes.

De los datos que se obtienen en EEUU, se estima que, en general, el 87,6% de los individuos con síntomas de salmonelosis se recuperan totalmente sin acudir al médico, el 12,4% va al médico y se recupera totalmente, el 1,0% requiere hospitalización, y el 0,03% de los pacientes morirá (González, M. et al., 2013).

La salmonelosis constituye un gran problema a nivel de salud pública y representa un coste significativo en muchos países. Muy pocos países publican datos sobre el coste económico que supone dicha enfermedad. Los CDC de los EEUU calculan una tasa anual de 1,4 millones de infecciones por *Salmonella* no tifoidea, lo que conlleva 172.640 visitas al médico, 14.487 hospitalizaciones y 415 muertes al año sólo en dicho país, y un **coste** por cada paciente con salmonelosis que oscila aproximadamente entre 52 y 5,6 millones de dólares americanos, respectivamente, para casos sin complicaciones hasta casos que terminan con hospitalización y muerte. El coste total asociado a esta enfermedad se estima en 2.649 millones de dólares americanos al año en EEUU en concepto de atención médica, pérdida de productividad y muerte prematura, teniendo en cuenta datos del 2009 (González, M. et al., 2013).

Respecto a Europa, tenemos datos de Dinamarca del año 2001, donde se estima que el coste anual generado por salmonelosis provocada a través de los alimentos es de 15,5 millones de dólares americanos, representando aproximadamente el 0.009% del PIB. Se ha llevado a cabo durante varios años un programa de control de *Salmonella* en este país y se estima que su coste anual es de 14,1 millones de dólares americanos, pero se calcula que se ahorra 25,5 millones de dólares americanos anualmente de gasto público danés (WHO, 2005).

Los países en vías de **desarrollo** no suelen publicar los datos relacionados con el coste que supone esta enfermedad de origen alimentario.

### ➤ Marco legislativo comunitario y nacional

Con el fin de invertir la tendencia de aumento en los casos de zoonosis en la población de la UE, la CE introdujo nuevas reglamentaciones en el año 2003 (González, M. et al., 2013). En ella se regulaban las medidas de **protección** contra determinadas zoonosis y determinados agentes zoonóticos en animales y sus productos, con el objetivo de evitar brotes de infecciones e intoxicaciones de origen alimentario:

- La Directiva 2003/99/CE para la monitorización y control de las zoonosis, en las que aparecen reglas detalladas para establecer una monitorización armonizada en toda la Comunidad Europea. Esta Directiva derogó la anterior y en ella se

## INTRODUCCIÓN

marcó la obligatoriedad para cada EM de realizar programas de vigilancia, tanto en los casos humanos como en la producción primaria y en toda la cadena alimentaria (materias primas, pienso y huevos/carne), informando anualmente a la Comisión.

- El Reglamento (CE) Nº2160/2003 para el control de *Salmonella spp.* y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos establece los objetivos comunitarios de reducción de prevalencias, marca los requerimientos básicos que deben incluir los planes nacionales de control de *Salmonella spp.* e indica el procedimiento para realizar los citados controles. Este Reglamento tiene la finalidad de garantizar el que se adopten medidas apropiadas y eficaces para detectar y controlar *Salmonella* y otros agentes zoonóticos en todas las fases pertinentes de producción, transformación y distribución, en particular a nivel de producción primaria, incluidos los piensos, con objeto de disminuir su prevalencia y el riesgo que suponen para la salud pública.

En **España**, durante el año 2003, se publicó la Ley de Sanidad Animal (Ley 8/2003, del 24 de abril), donde se introdujeron aspectos de coordinación entre las CCAA con el fin de reducir y eliminar enfermedades que afecten a los animales y que también puedan afectar al hombre. La Directiva Comunitaria del año 2003 se traspuso a la legislación española el año siguiente (Real Decreto 1940/2004, del 27 de septiembre). En este Real Decreto sobre vigilancia de zoonosis en la producción primaria y comunicación de brotes en personas figuraban las primeras actuaciones para el control de *Salmonella spp.* en España. También se establecieron los laboratorios de referencia, y sus funciones, y el plan de vigilancia de resistencias de los agentes a los antimicrobianos (González, M. et al., 2013).

El procedimiento general que se ha establecido comienza con la determinación de la **prevalencia** de *Salmonella* en la población objeto, luego se determina un objetivo de reducción de la prevalencia y, por último, se presentan y aprueban los programas de control, específicos para cada EM (AESAN, 2011).

Sucesivamente fueron publicándose Reglamentos, fijando los objetivos a conseguir en los Programas de Control de *Salmonella* de las diferentes especies animales. El 1 de enero de 2007, se inició el Programa para el control de *Salmonella* en gallinas reproductoras de líneas pesadas (carne) y ligeras (huevos) con el objetivo de alcanzar un máximo del 1% de prevalencia (Reglamento (CE) Nº1003/2005). En años sucesivos se inició el programa para el control de *Salmonella* en gallinas ponedoras, pollos de engorde y pavos. En el caso de la especie porcina, se han realizado estudios de prevalencia de *Salmonella* a nivel europeo (González, M. et al., 2013). En otras especies animales, aún están por desarrollarse **estudios** de prevalencia y determinar objetivos y programas de control de esta zoonosis.

## INTRODUCCIÓN

### 1.2.3. Piroplasmosis

La piroplasmosis equina es una infección parasitaria en los caballos producida por **protozoarios** de los géneros *Babesia* y *Theileria*, y transmitida por garrapatas del género *Dermacentor*, *Rhipicephalus* y *Hyalomma* (Quiroz, H., 2006). La garrapata *Amblyomma cajennense* ha sido identificada actualmente como uno de los vectores de la piroplasmosis equina por los científicos del ARS de EEUU, basándose en la investigación epidemiológica de un brote que ocurrió en Texas en el 2009 y que afectó a casi 300 animales (Scoles, G.A. et al., 2011). Es posible que sea difícil diagnosticar esta parasitosis, ya que puede causar signos clínicos variables y no específicos. La piroplasmosis es la principal **restricción** para el movimiento internacional de equinos (Rovid, A. et al., 2010).

#### 1.2.3.1. Etiología

##### ➤ Taxonomía y clasificación

La piroplasmosis equina es causada por *Theileria* (antiguamente *Babesia* o *Nuttallia*) *equi* o *Babesia caballi*. Ambos organismos pertenecen a la familia *Apicomplexa* y al orden *Piroplasmida*, la primera, a la familia *Theileriidae*, y la segunda, a la *Babesiidae* (Brandt, J. et al., 2009). *Theileria equi* es un parásito pequeño y es más virulento que *Babesia caballi*. *Theileria equi* se reclasificó como *Theileria* en 1998 debido a evidencias evolutivas, morfológicas, bioquímicas y genéticas (Maynard, K.C. et al., 2007) (OIE, 2014). Más evidencia para apoyar una estrecha relación con especies de *Theileria*, deriva de la homología encontrada entre las proteínas de superficie de 30 y 34 kDa de *T. equi* y las proteínas de tamaño similar de otras especies de *Theileria*. Sin embargo, la comparación de los genes para el ARN de la subunidad pequeña ribosomal en varios parásitos de los géneros *Babesia*, *Theileria* y *Cytauxzoon* indica que *T. equi* se encuentra en un grupo distinto diferente a los grupos de *Babesia* y de *Theileria* (*World Organisation for Animal Health*, 2004). En raras ocasiones, se han informado casos en caballos por otros protozoos relacionados, como *Babesia bovis* (Rovid, A. et al., 2010) o *Babesia bigemina*, mediante PCR cuantitativo. También *Babesia canis* se ha demostrado mediante diagnóstico molecular en caballos aparentemente asintomáticos (Brandt, J. et al., 2009).

##### ➤ Características morfológicas y bioquímicas

*Theileria equi* es un pequeño piroplasma, de 2  $\mu$ . Los trofozoítos en los eritrocitos tienen forma redondeada, ovoide o de pera. Por lo general, estas formas se encuentran en tétradas, en número de cuatro, con aspecto de cruz de **Malta**, aunque también pueden detectarse aisladas o en pares (Malekifard, F. et al., 2014) (Figura 18).

## INTRODUCCIÓN

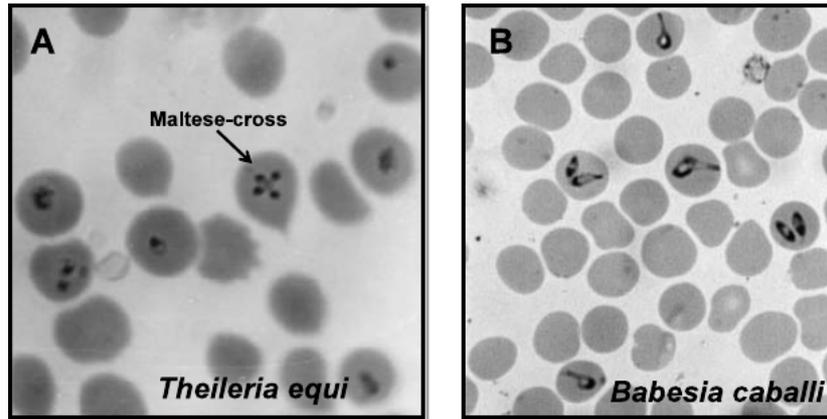


Figura 18. Imágenes microscópicas de *T. equi* (A) y *B. caballi* (B) en eritrocitos ([https://www.researchgate.net/publication/24270094\\_A\\_Perspective\\_on\\_Theileria\\_Equi\\_Infections\\_in\\_Donkeys](https://www.researchgate.net/publication/24270094_A_Perspective_on_Theileria_Equi_Infections_in_Donkeys)).

*Babesia caballi* es una especie de mayor tamaño que *Theileria equi*, parecida a *B. bigemina*, los trofozoítos son normalmente **piriformes** y miden de 2.5-4  $\mu$  (Kaufmann, J., 1996). Pueden presentar también forma redondeada u oval. Se encuentran en los eritrocitos de caballos, burros, mulas y cebras, y pueden formar pares, dando lugar a un ángulo recto, o aparecer aisladas (Quiroz, H., 2006) (Figura 20).

### 1.2.3.2. Epidemiología

*B. caballi* y *T. equi* son transmitidas por **garrapatas** que se infectan al ingerir parásitos que se encuentran en la sangre de los équidos infectados (Uilenberg, G., 2006). Aproximadamente 14 especies de garrapatas del género *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Amblyomma* y *Rhipicephalus* pueden ser vectores para estos organismos; sin embargo, se desconoce la importancia epidemiológica de algunas especies (Rovid, A. et al., 2010).

Aunque las garrapatas son vectores biológicos para *T. equi* y *B. caballi*, las diferencias en los ciclos de multiplicación de estos parásitos pueden afectar su método de transmisión. Dentro de la garrapata, los cigotos de *Babesia* se multiplican como "vermiculos" que invaden muchos de los órganos de la garrapata, incluidos los ovarios, y la especie *Babesia* pasa fácilmente a la siguiente generación de garrapatas en el huevo (transmisión transovárica) (Méndez, J.I. et al., 2012). Cuando una garrapata en estado de larva, ninfa o adulta de la generación siguiente se adhiere a un nuevo hospedador, el parásito es estimulado para que llegue a su maduración final, lo que le permite infectar al hospedador. En contraste, los cigotos de *Theileria* no se multiplican en la garrapata y la transmisión **transovárica** de *T. equi* es incierta o está ausente (Uilenberg, G., 2006).

## INTRODUCCIÓN



Figura 19. Imagen de *Dermacentor reticulatus* ([http://www.equineplanet.pt/en/information\\_content.htm?id\\_informacao=19&id=45](http://www.equineplanet.pt/en/information_content.htm?id_informacao=19&id=45)).

Las garrapatas que transmiten este organismo pueden infectarse como larvas y transmitir la infección como ninfas, o pueden infectarse como ninfas y transmitir la infección como adultas (transmisión **transstadial**) (Figura 19). En algunas especies de garrapatas, como *Rhipicephalus microplus* (anteriormente *Boophilus microplus*), *T. equi* también puede transmitirse por el mismo estadio en que la garrapata adquirió el parásito (transmisión **intraestadial**); se desconoce si esto ocurre en otras especies de garrapatas. Las garrapatas infectadas con *Theileria* pierden esos parásitos después de la transmisión. Al igual que en el caso de *B. caballus*, los parásitos *T. equi* sólo son estimulados para completar su maduración después de que la garrapata se adhiere para alimentarse. Por ese motivo, una garrapata infectada con cualquiera de los organismos debe permanecer adherida al hospedador durante cierto tiempo antes de convertirse en infecciosa; con frecuencia, *B. caballus* y *T. equi* son transmitidos después de que la garrapata haya estado adherida durante algunos días (Rovid, A. et al., 2010).

Después de la recuperación, los caballos pueden convertirse en **portadores** durante un período prolongado. Los animales infectados con *B. caballus* pueden ser portadores durante un período de hasta cuatro años, aunque es posible que finalmente queden libres del organismo. Los équidos infectados con *T. equi* parecen quedar infectados de forma permanente. Con frecuencia, la parasitemia no se encuentra en los portadores, pero puede volver a presentarse en estos animales después de padecer inmunodepresión o de realizar ejercicio intenso. *T. equi* puede pasar al potro *in útero*, y algunos de ellos pueden ser portadores sanos (Rovid, A. et al., 2010). En las zonas endémicas para equinos con piroplasmosis, la ictericia neonatal en el potro puede ser fácilmente mal diagnosticada como isoeritrolisis neonatal. Los potros con ictericia después del parto siempre deben ser examinados y hacerles pruebas de piroplasmosis equina (Chhabra, S. et al., 2011) (Méndez, J.I. et al., 2012).

En raras ocasiones, se han informado casos de transmisión transplacentaria de *B. caballus*, aunque algunas fuentes no consideran que la evidencia para esta vía sea fiable (Rovid, A. et al., 2010). Las personas también pueden diseminar los agentes de la

## INTRODUCCIÓN

enfermedad cuando utilizan agujas o jeringas usadas entre equinos infectados y no infectados. El equipo para uso dental, de tatuaje y quirúrgico puede también propagar la enfermedad si no está completamente limpio y estéril, así como la intubación nasogástrica e inseminación artificial con semen contaminado (Thiemann, A. y Phipps, P., 2009). Además, hacer una transfusión de sangre de un equino infectado, aunque parezca sano, a un equino no infectado probablemente transmitiría el agente de la enfermedad entre los equinos (USDA, 2008).

### ➤ Prevalencia de piroplasmosis en los équidos

Los agentes etiológicos de la piroplasmosis equina se presentan en el sur de Europa, Asia, países de la Unión de Estados Independientes (*Commonwealth*), África, Caribe, Sudamérica y América Central, y ciertas partes del sur de los EEUU de América. *T. equi* se ha descrito también en Australia, aunque en apariencia nunca se ha establecido en esta región, y se piensa que tiene una distribución general más amplia que *B. caballi* (*World Organisation for Animal Health*, 2009).

*Babesia* y *Theileria* pueden detectarse en muchas áreas tropicales y subtropicales del mundo, entre las latitudes 58º norte y 40º sur (Mújica, F.F. et al., 2011), aunque estos límites se están modificando con el cambio climático y la dispersión de los vectores. En áreas templadas pueden encontrarse en menor cantidad. Australia, Nueva Zelanda, Canadá, Japón, Noruega, Islandia y algunos otros países están libres de estos parásitos (Méndez, J.I. et al., 2012).

*B.caballi* ha sido detectada en el sur de Europa, Rusia, Asia, África, América central y del Sur, y en los Estados sureños de los EEUU. *T.equi* tiene una mayor distribución geográfica e, incluso, en zonas tropicales se presenta con mayor frecuencia que *B.caballi*, y también en la cuenca mediterránea, Suiza y el suroeste de Francia (Brandt, J. et al., 2009).

La piroplasmosis equina a nivel **mundial**:

Se han realizado diversos **estudios** para determinar la prevalencia de esta enfermedad en diferentes partes del mundo.

Desde 1978, la OIE consideraba a EEUU **libre** de piroplasmosis equina, pero en 2009 tuvo lugar un brote en el Estado de Texas con una prevalencia en el mismo rancho del 81,1%, de 360 caballos, 292 estaban infectados por *Theileria equi*, siendo el principal vector la garrapata *Amblyomma cajennense* (Scoles, G.A. et. al, 2011). A pesar de ello, se sigue considerando actualmente al Estado de Texas y a los EEUU no endémicos para esta enfermedad, aunque siguen ocurriendo brotes aislados en diferentes zonas del país. Se considera que es debido a que se dan falsos negativos en el test de fijación del complemento, el cual fue empleado en EEUU como análisis para la importación hasta 2004-2005, y puede existir la posibilidad que algunos caballos

## INTRODUCCIÓN

sean portadores inaparentes. Otros países libres de piroplasmosis, que también lo utilizaron, podrían albergar portadores (CFSPH, *Iowa State University*, 2008).

En Méjico, la piroplasmosis en los équidos se encuentra ampliamente distribuida en regiones denominadas de clima cálido. La presencia de *Anocentor nitens*, garrapata de las orejas de los équidos en zonas tropicales es muy frecuente (Méndez, J.I., 2012). Debido a que la piroplasmosis en los equinos se encuentra en forma endémica, su presencia pasa inadvertida. En un estudio que se realizó desde el año 2001 hasta el 2010, se notificaron 596 casos de piroplasmosis en todo el país.

También se llevó a cabo un estudio de la seroprevalencia de la piroplasmosis equina en Trinidad, concretamente, en purasangres (Asgarali, Z. et al., 2007). Se analizaron 93 muestras buscando anticuerpos frente a *T. equi* y a *B. caballi* mediante la técnica de IFI, el 82,8% fueron positivas, de las que el 33,3% lo fueron frente a *T. equi*, el 68,8% frente a *B. caballi*, mientras que el 19,4% lo fueron frente a ambos parásitos.

En 1999, en el Estado de Sao Paulo, en Brasil, se recolectaron muestras de suero de 582 caballos de 40 explotaciones diferentes determinándose una prevalencia de infecciones por *B.caballi*, de un 54,1%, y por *T.equi*, de un 21,6%. Los vectores principalmente involucrados fueron las garrapatas *Dermacentor nitens*, *Amblyomma cajennense* y *Rhipicephalus microplus* (Kerber, C.E., et al., 2009). En el año 2000, se realizó otro estudio para evaluar la prevalencia de piroplasmosis en dos Estados de Brasil (Sao Paulo y Mato Grosso do Sul) y los valores obtenidos mediante ELISA y el test de látex aglutinación fueron del 81% para *Theileria equi* y del 90% para *Babesia caballi*, siendo un 75% de las muestras positivas para ambas (Xuan, X. et al., 2001). Posteriormente, se llevó a cabo un estudio de la seroprevalencia de *T. equi* mediante la técnica de ELISA en caballos atletas de la región centro-occidental del Estado de Paraná, en Brasil. Se obtuvo una prevalencia del 61% en dicha población, lo que demuestra que la enfermedad está muy extendida en Brasil (Prochno, H.C. et al., 2014).

En Uruguay, en el año 2007, se realizó un muestreo para conocer la seroprevalencia en el país obteniéndose un resultado del 3,9%, no detectándose *B. caballi*. También se llevó a cabo un estudio de prevalencia de *T. equi* en el 2008 y se determinó que la prevalencia es mayor en la zona norte del país, con un valor de hasta el 42% por IFI, y baja en las otras regiones (Solari, M.A., 2008).

Las babesiosis equinas son consideradas **endémicas** en el noreste argentino desde hace nueve décadas (Aguirre, D.H. et al., 2004). En diferentes estudios serológicos de prevalencia realizados en las décadas de los 80 y 90 en las provincias del norte, se detectaron valores que oscilaban entre el 2,6% y el 32,6%. La garrapata *Dermacentor nitens* es el principal vector americano y es el hallado como responsable

## INTRODUCCIÓN

de dos casos clínicos de babesiosis en una región noroeste de Argentina en los años 2002 y 2003 que acabaron con la muerte de los équidos (Tabla 13).

En el Estado de Lara, en Venezuela, se analizó la **seroprevalencia** de piroplasmosis obteniéndose unos valores de infección por *Babesia caballi* del 70,6% y por *Theileria equi* del 50,3% (Mújica, F.F. et al., 2011). La técnica de diagnóstico empleada fue cELISA y también detectó que un 35,6% de los équidos estudiados estaban infectados por ambos parásitos. Los vectores más encontrados fueron *Dermacentor nitens* y *Rhipicephalus microplus*. Otro estudio realizado en los hipódromos de la Rinconada y Nacional de Valencia en Venezuela sobre caballos Pura sangre de carrera para determinar la seroprevalencia de piroplasmosis arrojó un resultado del 13,1% mediante Inmunofluorescencia indirecta (De Vera, M. et al., 2006). La seroprevalencia fue mayor para *T.equi* que para *B.caballi*.

**Tabla 13. Prevalencias de piroplasmosis en distintos países de América.**

	EEUU	Trinidad	Brasil	Uruguay	Argentina	Venezuela	Colombia
% Prevalencia total	-----	82,8	-----	-----	2,6 - 32,6	-----	18,3
% <i>T.equi</i>	81,1	-----	81	3,9 - 42	-----	50,3	-----
% <i>B.caballi</i>	-----	-----	90	-----	-----	70,6	-----
% Mixta	-----	-----	75	-----	-----	35,6	-----

Se llevó a cabo un estudio para determinar la prevalencia de babesiosis en el departamento de Córdoba, en Colombia, mediante la tinción de Wright. El resultado fue un total de 23 animales infectados de un total de 126 équidos, es decir, un 18,3% de prevalencia (Calderón, A. et al., 2013).

En **África** se investigó la prevalencia de piroplasmosis equina en el noreste de Nigeria, dando como resultado que de 240 caballos analizados 100 eran positivos. El 94% de los équidos era positivo a *T. equi* y el 6% restante a *B. caballi*. La técnica de diagnóstico usada fue la tinción de Giemsa en frotis sanguíneos (Turaki, U.A. et al., 2014).

Otro estudio encaminado a determinar la seroprevalencia de la piroplasmosis equina se realizó en Sudán, empleando las técnicas de la PCR y ELISA (Salim, B.O.M. et al., 2008). Se analizaron 158 muestras de suero, obteniéndose un 4,4% de positivos frente a *B. caballi* y un 63,5% frente a *T. equi*. Los porcentajes de muestras positivas fueron inferiores mediante PCR, concluyéndose que la enfermedad es endémica en el país (Salim, B.O.M. et al., 2008).

## INTRODUCCIÓN

En Sudáfrica, también se estudió la prevalencia de la piroplasmosis equina mediante frotis sanguíneos con tinción de Giemsa, mediante PCR e IFI, se realizó concretamente en la Provincia Libre del Noreste. Las seroprevalencias para *T. equi* oscilaban entre el 95% y el 100%, mientras que para *B. caballi* entre el 17% y el 71%, lo que, junto con la baja parasitemia y el reducido número de muestras positivas mediante PCR, implica que ambos parásitos son endémicamente estables en la provincia (Motloang, M.Y. et al., 2008).

En **Asia**, también se han desarrollado estudios para determinar la seroprevalencia de la piroplasmosis en las distintas poblaciones equinas. En el norte de Tailandia se analizaron 240 muestras de équidos dando como resultado unas prevalencias del 2,5% y del 5,4% para *B.caballi* y *T.equi*, respectivamente, mediante ELISA, y unas prevalencias del 5% y del 8,75% para *B.caballi* y *T.equi*, respectivamente, mediante la técnica de IFI. También se determinó que la prevalencia de *T.equi* es mayor en mulas que en caballos y a la inversa con respecto a *B.caballi* (Kamyngkird, K. et al., 2014).

Así mismo, se realizó un estudio para averiguar la prevalencia de esta enfermedad en la provincia de Sinkiang, en **China**, mediante la técnica de ELISA. De 70 muestras serológicas recogidas, 28 fueron positivas para *T. equi* y 17 para *B. caballi*. Además, un 15,7% de las muestras fueron positivas frente a ambos parásitos (Xuan, X. et al., 2002).

**Tabla 14. Prevalencias de piroplasmosis en distintos países de Asia.**

	Tailandia	Mongolia	Irán	Arabia Saudí	Jordania	Egipto	Israel	Turquía
% P.Total	-----	-----	----	-----	27,1	41,6	----	18,4
% <i>T.equi</i>	8,75	78,8	11	10,4	18,8	----	26,4	12,8
% <i>B.caballi</i>	5	65,7	6	7,5	7,3	----	----	9,6
% Mixta	-----	-----	1,7	3	-----	----	----	5

Un estudio desarrollado en **Mongolia**, en 2004, demostró mediante PCR e IFI unas prevalencias para *Theileria equi* del 66,5% y del 78,8%, respectivamente, mientras que para *Babesia caballi* fueron del 19,1% y del 65,7%, respectivamente (Rüegg, S.R. et al., 2007).

En Irán, en la provincia de Azerbaiyán Occidental, la búsqueda de *Theileria equi* y *Babesia caballi* en 240 caballos mediante técnicas microscópicas y moleculares dio como resultado unas prevalencias **distintas** según el método elegido. Mediante tinción

## INTRODUCCIÓN

de Giemsa en frotis sanguíneos, las infecciones por *T.equi*, *B.caballi* y mixtas representaron un 6,25%, un 2,8% y un 0,83%, respectivamente. Mediante PCR, las prevalencias correspondientes fueron del 10,8%, 5,8% y 1,7%, respectivamente (Malekifard, F. et al., 2014). Otro estudio realizado en la provincia de Juzestán, en el suroeste de Irán, en una población de caballos árabes pérsicos, obtuvo una prevalencia de *Theileria equi* del 28,5%. Los análisis se llevaron a cabo mediante técnicas moleculares de PCR (Bahrami, S. et al., 2014) (Tabla 14).

Un estudio acerca de la piroplasmosis equina realizado en la Provincia Central de Arabia Saudí reveló que, de 241 muestras de suero de caballos adultos clínicamente sanos analizadas mediante IFI, el 10,4% fueron positivas a *Theileria equi*, el 7,5% a *Babesia caballi* y el 3% a ambos parásitos (Alanazi, A.D. et al., 2012).

En **Jordania**, 288 équidos fueron analizados mediante técnicas de PCR para obtener la prevalencia frente a infecciones por *Theileria equi* y *Babesia caballi*, dando como resultados unos valores de 18,8% y de 7,3%, respectivamente. La prevalencia general de piroplasmosis equina fue del 27,1%. La mayor prevalencia fue detectada en mulas, seguidas de los caballos y burros. *T. equi* se encontró con mayor frecuencia en caballos y mulas, mientras que *B. caballi* fue más prevalente en la población de burros (Qablan, M.A. et al., 2013).

Así mismo, se realizó, durante un año, un estudio para saber la prevalencia de la infección por *Theileria equi* en 149 équidos de Giza, Egipto, con síntomas de fiebre, emaciación y cansancio, y que fueron explorados, dando como resultado un valor del 41,6%. Las técnicas empleadas para el diagnóstico serológico fueron fijación del complemento e IFI (Salib, F.A. et al., 2013) (Tabla 14).

La prevalencia de la infección por *Theileria equi* también se estudió en **Israel**, analizando las muestras de sangre de 590 caballos sanos mediante técnicas moleculares y obteniéndose un resultado de un 26,4% de individuos positivos, con una gran variación en el porcentaje en función de la localización geográfica dentro del país. La infección por *T. equi* es endémica en Israel (Steinman, A. et al., 2012).

En Turquía se tomaron 481 muestras de sangre de una yeguada y de un hipódromo, y se analizaron mediante cELISA, obteniéndose una seroprevalencia del 18,5%, siendo *Theileria equi* significativamente más frecuente que *Babesia caballi*. También los porcentajes de seropositividad fueron más altos en el hipódromo que en la yeguada (Sevinc, F. et al., 2008). Otro estudio desarrollado también en Turquía, en la provincia de Nidge, detectó mediante la técnica de IFI una seroprevalencia del 18,4%, el 12,8% positivas a *T. equi*, el 9,6% a *B. caballi* y el 5% a ambas (Karatepe, B. et al., 2009).

## INTRODUCCIÓN

La piroplasmosis equina en **Europa**:

Durante los últimos años se han llevado a cabo varios estudios en distintos países de Europa para conocer la prevalencia de esta enfermedad en los équidos y ciertos factores relacionados. Se sabe que la piroplasmosis equina es endémica en muchas partes de Europa (Zobba, R. et al., 2008).

**Tabla 15. Prevalencias de piroplasmosis en distintos países y zonas de Europa.**

	Italia (Cerdeña)	Italia Sur	Italia Centro	Italia Norte	Portugal (Azores)	Suiza	Grecia
% P.Total	86,4	57,1	68,4	8,5	9,1	4,8	11,6
% <i>T.equi</i>	61,4	44,3	12,4	-----	-----	4,4	11
% <i>B.caballi</i>	11,4	35,5	17,9	-----	-----	1,5	2,2
% Mixta	13,6	22,6	38,1	-----	-----	1,5	-----

En Cerdeña, **Italia**, se realizó, desde 2003 hasta 2007, un estudio basado en la exploración clínica, análisis hematológicos y bioquímicos, frotis sanguíneos y diagnóstico por PCR de 44 caballos sospechosos de enfermedad transmitida por garrapatas. El 86,4% de las muestras fueron positivas a piroplasmosis, de las cuales 61,4% fueron positivas a *T. equi*, 11,4% a *B. caballii* y un 13,6% a ambos parásitos (Zobba, R. et al., 2008). En otra región del sur de Italia, se estudió la seroprevalencia de la enfermedad en una población de burros mediante una técnica comercial de IFI. De un total de 203 muestras, el 57,1% fueron positivas a la piroplasmosis, de ellas el 35,5% frente a *B. caballii*, el 44,3% frente a *T. equi* y un 22,6% a ambos parásitos (Tabla 15). Los burros están muy expuestos a la enfermedad en el sur de Italia y son un importante reservorio de piroplasmosis (Piantedosi, D. et al., 2014). También en el centro y norte de Italia se estudió la prevalencia de piroplasmosis equina, dando como resultado un valor de seropositividad del 68,4% mediante la técnica de IFI. El 38,1% de las muestras fueron positivas frente a ambos parásitos, el 17,9% frente a *B. caballii*, el 12,4% frente a *T. equi*. El pastoreo se determinó como un factor de riesgo para la enfermedad (Moretti, A. et al., 2010). Un nuevo estudio, realizado en el 2008, en áreas rurales del norte del país reveló una seroprevalencia del 8,5% en una población de 294 caballos. La inmensa mayoría positivos frente a *T. equi* (Grandi, G. et al., 2011).

En **Portugal** se llevó a cabo un estudio para calcular la prevalencia de la infección por *Theileria equi* en las Azores. Mediante técnicas de cELISA y moleculares se determinó una prevalencia del 9,1% en las islas Azores. Los resultados de una

## INTRODUCCIÓN

población de ponis nativos de las Azores fueron todos negativos (Baptista, C. et al., 2013).

También, en el suroeste de los Países Bajos, se desarrolló un estudio para determinar la prevalencia de la enfermedad ya que, aunque siempre se ha considerado un país libre de piroplasmosis, se han detectado casos clínicos y subclínicos de transmisión autóctona. Se analizaron 300 muestras de sangre de caballos para detectar anticuerpos frente a *Theileria equi* y *Babesia caballi* mediante IFI y PCR, combinado con “Reverse Line Blotting” (RLB), obteniéndose una seroprevalencia muy baja. El 75% fueron positivos a *B. caballi* y el 25% a *T. equi* (Butler, C.M. et al., 2012).

En **Suiza** se investigó también la seroprevalencia de piroplasmosis equina mediante la técnica de IFI y se determinó que, de 689 sueros de caballos presentes en Suiza, 50 eran seropositivos. El 4,4% positivo a *T. equi*, el 1,5% a *B. caballi* y el 1,5% a ambos parásitos a la vez. Mientras que, en caballos domésticos (nacidos y criados en Suiza), la prevalencia se situaba en un 4,8%, en los importados, el valor alcanzaba el 8,5% (Sigg, L.U., 2009) (Tabla 15).

Así mismo, se llevó a cabo un estudio para averiguar la seroprevalencia en **Grecia**. Se tomaron 544 muestras de suero para analizarlas mediante la técnica de cELISA y se obtuvieron un 11% de positivos frente a *T. equi* y un 2,2% frente a *B. caballi*. Una mayor seroprevalencia se detectó en animales locales en comparación con équidos importados, por lo que se deduce que la enfermedad es enzoótica en Grecia (Kouam Kenmogne, M., 2010). En otro estudio realizado entre los años 2001 y 2008, en el que se analizaron 7.872 muestras de suero equino, se determinó una prevalencia del 12,9% frente a *Theileria equi* y de un 1,3% frente a *Babesia caballi* (Mangana-Vougiouka, O. et al., 2013).

En un estudio desarrollado en Hungría, se investigó la seroprevalencia de *Theileria equi* en una población de 324 caballos sanos mediante las técnicas de cELISA e IFI. El resultado fue de un 32% de muestras positivas a *T. equi* (Farkas, R. et al., 2013).

En Polonia se analizaron mediante técnicas de PCR las causas de las enfermedades de 3 caballos con síntomas de fiebre, ataxia, palidez de mucosas, hematuria y trombocitopenia, demostrándose que se trataba de piroplasmosis equina causada por *Theileria equi* (Adaszek, L. et al., 2011).

En países europeos, considerados libres de piroplasmosis, pueden ocurrir brotes al fallar las medidas preventivas y de control. Así, en **Irlanda**, en 2009, se declaró un brote de piroplasmosis en una explotación afectando a un grupo de caballos purasangre. Siempre se ha considerado al RU libre de la infección y que no alberga los vectores específicos necesarios para transmitir la enfermedad entre caballos, a no ser que el calentamiento global haya modificado el hábitat de las garrapatas vectores (*Veterinary Ireland*, 2009).

## INTRODUCCIÓN

La piroplasmosis equina en **España**:

En **Andalucía** se realizó un estudio para determinar la seroprevalencia de piroplasmosis equina. De 537 équidos analizados, 286 resultaron positivos, lo que representa un 53,3% de la población estudiada, el 11,4% positivo a *B. caballi*, el 50,3% a *T. equi* y un 8,4% a ambos parásitos simultáneamente. La seroprevalencia, en cuanto a *B. caballi* y *T. equi*, era significativamente mayor en mulas que en caballos. La seroprevalencia de *T. equi* en mulas, caballos y burros fue del 66,1%, 48,6% y del 47,2%, respectivamente. Mientras que la seroprevalencia a *B. caballi* en mulas, caballos y burros fue del 32,1%, 7,9% y 17%, respectivamente. Los équidos en el sur de España están ampliamente expuestos a la piroplasmosis equina (García-Bocanegra, I. et al., 2012a).

A finales de la década de los 90, se desarrolló un estudio en Extremadura y Andalucía para determinar la seroprevalencia de *Theileria equi* y *Babesia caballi* en ambas regiones. Los resultados en Extremadura fueron los más elevados para *Theileria equi* y para *Babesia caballi*. Mientras que, en Andalucía, los valores se situaban en un 53% y un 20%, respectivamente (Habela, M.A. et al., 2000).

En **Galicia** se desarrolló un estudio para averiguar la seroprevalencia de la enfermedad en una población de 60 caballos sanos de dos explotaciones. Mediante IFI se detectaron resultados positivos frente a ambos parásitos, principalmente, frente a *Theileria equi*. Los resultados demuestran que la enfermedad está ampliamente extendida en la región (Camacho, A.T. et al., 2005).

### ➤ Piroplasmosis en el sector equino

A raíz de resoluciones adoptadas por el comité internacional y recomendaciones emitidas por las comisiones regionales, se encomendó a la sede de la OIE que elaborase una **lista** única de enfermedades de declaración obligatoria para animales terrestres y acuáticos para sustituir a las antiguas listas A y B. Se elaboró esta lista única a fin de clasificar las enfermedades como riesgos específicos y otorgar a todas las enfermedades que formen parte de la lista el mismo grado de importancia en el comercio internacional. Tras años de aprobación, examen y análisis de los criterios para realizar la lista única, en 2006 entró en vigor una lista de la OIE de enfermedades, infecciones e infestaciones que se revisa periódicamente y, en caso de enmiendas adoptadas por la asamblea mundial de delegados durante su sesión general anual, la lista nueva entra en vigor a partir del 1º de enero del año siguiente. En la lista de la OIE en vigor para 2015, entre las enfermedades e infecciones de los équidos, figura la **piroplasmosis** equina.

La piroplasmosis equina es una enfermedad que no presenta una elevada mortalidad pero sí que puede llegar a alcanzar un alto nivel de morbilidad. Lo que se

## INTRODUCCIÓN

traduce en muchos animales infectados, principalmente en zonas endémicas, que pueden manifestar sintomatología y sufrir una pérdida de salud y de rendimiento, y posteriormente, si superan la enfermedad, convertirse en portadores asintomáticos por muchos meses o años, o de por vida. No sólo hablamos de un gasto en tratamientos, pruebas diagnósticas y preventivas, sino también de una pérdida de valor del équido en cuestión, que, incluso, puede llegar a morir o sufrir aborto en el caso de individuos gestantes.

Además, la naturaleza cada vez más **internacional** de la industria equina presenta el riesgo potencial del ingreso en países, en los que la piroplasmosis no está presente o no es endémica, de la enfermedad (USDA, 2008). Por lo que la exportación de caballos con resultado positivo al diagnóstico de piroplasmosis no puede llevarse a cabo hacia estos países, y conlleva restricciones y pérdidas económicas en los países exportadores. Así mismo, los países importadores no endémicos, en los que no existen vectores infectados, deben extremar las medidas de seguridad y de prevención para evitar la entrada de équidos portadores, ya que esto supondría la infección de vectores y de los caballos libres de piroplasmosis, muy propensos a manifestaciones graves de la enfermedad (Rothschild, C.M., 2013). Por supuesto, todo ello afecta también a los équidos infectados y portadores en cuanto a que no pueden participar en competiciones internacionales celebradas en países libres de la enfermedad (Prochno, H.C. et al., 2014) (Habela, M.A. et al., 2000).

La piroplasmosis requiere un control de los **vectores** en los diferentes países, de los équidos residentes, exportados e importados, para disminuir la posibilidad de transmisión y evitar su extensión, y consecuentemente reducir las muertes y las pérdidas económicas.

Esta enfermedad ha causado importantes pérdidas **económicas** en la industria equina y es una seria amenaza para el creciente sector ecuestre y el movimiento internacional de caballos (Prochno, H.C. et al., 2014).

### ➤ Principales vectores de infección de piroplasmosis equina

Aproximadamente 14 **especies** de garrapatas de los géneros *Hyalomma*, *Rhipicephalus* y *Dermacentor* pueden actuar como vectores de la infección (CFSPH, Iowa State University, 2008). La garrapata *Amblyomma cajennense* también ha sido identificada como posible vector en EEUU (Méndez, J.I., 2012) (Figura 22).

El género *Hyalomma* pertenece al *phylum Arthropoda*, clase *Arachnida*, orden *Acari*, suborden *Metastigmata*, superfamilia *Ixodoidea*, familia *Ixodidae*, subfamilia *Hyalomminae*, y presenta distintas especies.

## INTRODUCCIÓN

Los géneros *Rhipicephalus* y *Dermacentor* pertenecen a los mismos grupos taxonómicos, excepto que pertenecen a la subfamilia *Rhipicephalinae* y presentan diversas especies cada una.

El género *Amblyomma* también se diferencia únicamente en que pertenece a la subfamilia *Amblyomminae*, y se distinguen más de 130 especies.

### 1.2.3.2.4. Distribución y dinámica de los vectores de piroplasmosis equina

Las garrapatas del género *Hyalomma* son típicos representantes de especies desertícolas y están activas durante la primavera y buena parte del verano. Es una garrapata muy particular en lo que se refiere a evolución, pues se comporta como di/trifásica (dos hospedadores principalmente, aunque pueden utilizar tres), endo/exofílica (desarrollo tanto en espacios abiertos como cerrados) y mono/ditrópica (preferencia por un tipo o más de especies hospedadoras) según el hábitat que colonice y el tipo de hospedadores que parasite, debido a la amplia variedad de éstos, entre los que cabe destacar: micromamíferos, lepóridos, aves y reptiles para las formas inmaduras mono o ditrópicas, y grandes mamíferos, entre los que se encuentran los équidos, para las formas adultas ditrópicas. Es fácil hallarla desde zonas desérticas hasta áreas húmedas, soportando una amplia variedad de temperaturas y asociada a una vegetación diversa. El límite a su dispersión lo establece el hecho de que ninguna hembra de esta especie realiza la puesta a temperaturas inferiores a 16°C (Habela, M.A. et al., 2005) (Figura 20).



Figura 20. Imagen de garrapata del género *Hyalomma* (<http://controldeplagassanidadambiental.blogspot.com.es/2015/01/hyalomma-marginatum.html>).

Las garrapatas del género *Rhipicephalus* presentan una amplia distribución y una extensísima lista de hospedadores, que abarca a todos los animales domésticos, salvajes y otros como micromamíferos, reptiles y aves (Figura 21). Son garrapatas que presentan una evolución difásica (dos hospedadores) o trifásica y un carácter monotrópico (preferencia por un mismo tipo de hospedador) o, en ocasiones, según especie, politrópico. Es, además, una garrapata de carácter exofílico (tiende a

## INTRODUCCIÓN

desarrollarse en hábitats abiertos) en cualquiera de sus estadios evolutivos. La actividad de las formas adultas se extiende desde marzo hasta septiembre, en el hemisferio norte, siendo más intensa en los meses de mayo-junio-julio. En cuanto a las larvas y ninfas, están presentes prácticamente todo el año sobre los animales, principalmente en otoño e invierno. Aparecen a finales de octubre, alcanzando su mayor intensidad entre noviembre y enero, persistiendo hasta marzo, cuando declinan. Se considera que está adaptada a hábitats caracterizados por bajas precipitaciones y un verano largo y seco. Se encuentra mucho en el sur de Europa y es, por tanto, una especie cosmopolita, presente en España, Portugal, Francia meridional, Italia, Croacia, etc. (Habela, M.A. et al., 2005).



Figura 21. Imagen de garrapata del género *Rhipicephalus* (<http://bugguide.net/node/view/615949/bgpage>).

Las garrapatas del género *Dermacentor* suelen presentar ciclo trifásico y carácter claramente ditrópico, donde las formas inmaduras se comportan como endófilas al parasitar micromamíferos, y las formas adultas como exófilas, las cuales parasitan animales superiores. Prefieren formaciones abiertas, xerofíticas y cálidas donde imperan el estrato gramíneo y el arbóreo. Se distribuye, por ejemplo, por toda Europa, desde el este hasta España, que representa el límite sur en este continente. Hay especies, como *D. reticulatus* (Figura 19), propias de climas templados o fríos, típicas de bosque decíduo y mixto, desarrollándose en aquellas zonas donde la cobertura vegetal está asegurada, y prefieren zonas más húmedas (Habela, M.A. et al., 2005).

Las garrapatas del género *Amblyomma* son bastante grandes y se comportan como trifásicas (3 hospedadores) y politrópicas. *Amblyomma cajennense* se distribuye en las regiones tropicales y subtropicales de América y tiene un ciclo vital que dura unos 12 meses (Figura 22). Estas garrapatas se desarrollan mejor en pastos ricos en árboles y arbustos, con abundante fauna salvaje como hospedadores alternativos. *A. cajennense* prefiere climas calientes y húmedos, a menudo cerca de las costas. Normalmente, todos los estadios de desarrollo se encuentran libres en los pastos durante todo el año aunque, según las condiciones climáticas locales, puede predominar un estadio durante una estación concreta.

## INTRODUCCIÓN



Figura 22. Imagen de *Amblyomma cajennense* ([http://insecta.maryno.net/?page\\_id=1412](http://insecta.maryno.net/?page_id=1412)).

➤ Prevalencia de la piroplasmosis en el ser humano

La piroplasmosis o babesiosis es una **hemoparasitosis** causada por protozoos del género *Babesia*, los cuales infectan principalmente a rumiantes, a mamíferos monogástricos y, ocasionalmente, a aves. Desde 1957, cuando se diagnosticó en la antigua Yugoslavia el primer caso de babesiosis humana, su casuística en humanos ha aumentado progresivamente en distintos países y continentes, por lo cual, desde 1976, la OMS la clasificó como una zoonosis. En las dos últimas décadas del siglo XX, en las zonas templadas, la incidencia de babesiosis humana se ha incrementado, por ende, se le considera ahora como una importante zoonosis emergente, la cual probablemente está subdiagnosticada en humanos de zonas tropicales (Meléndez, R.D., 2000).

Tabla 16. Especies de piroplasmas más frecuentes en distintas especies.

Hospedador	Piroplasma (>2,5 micras)	Piroplasma (<2,5 micras)
Équidos	<i>Babesia caballi</i>	<i>Theileria equi</i>
Bóvidos	<i>B. bigemina</i>	<i>B. bovis</i>
Cánidos	<i>B. canis</i>	<i>B. gibsoni</i>
Óvidos	<i>B. motasi</i>	<i>T. ovis</i>
Roedores	<i>B. rhodaini</i>	<i>B. microti</i>
Humanos	<i>Babesia sp.</i> (cepa WA1)	<i>B. microti, divergens, B. bovis, T. equi</i>

Fuente: Meléndez, 2000.

No hay una especie de *Babesia* propia de los humanos, quienes se infectan con babesias específicas de los animales domésticos o de roedores silvestres. Entre estas especies están: *Babesia divergens*, *B. bovis*, *T. equi*, y *B. microti*. La transmisión de estas babesias a humanos es por picaduras ocasionadas por garrapatas de la familia *Ixodidae*, o bien por transfusiones sanguíneas (Meléndez, R.D., 2000) (Tabla 16).

## INTRODUCCIÓN

Los seres humanos **rara** vez son infectados por los organismos causantes de la piroplasmosis equina (CDFA, 2015). En zonas endémicas, donde la prevalencia de la enfermedad es alta, se han detectado casos en humanos. Tiene mayor repercusión en las zonas tropicales o subtropicales del planeta, aunque se pueden observar casos clínicos allí donde los vectores, es decir, las garrapatas, estén presentes.

Las infecciones humanas son producidas por la picadura de garrapatas o, raramente, por transfusiones de sangre o infecciones transplacentarias/perinatales. Cada sistema *Babesia*-vector-hospedador mamífero tiene sus propias características, y la ecología y bionomía de la garrapata vector define el patrón de riesgo para la población humana. Actualmente, la babesiosis ha **reemergido** como una infección de amplia distribución global, si bien los casos se han declarado con mayor importancia en Europa y en Norteamérica.

La piroplasmosis humana a nivel **mundial**:

En Asia, la babesiosis se ha declarado en Taiwán, India, China, Corea y Japón. En África, ha sido descrita en Egipto y Sudáfrica.

En los EEUU, la mayoría de los casos han sido debidos a *B. microti*, siendo detectados consistentemente en la región norte de la costa este del país, con casos esporádicos en Wisconsin, California, Georgia, Missouri y Nueva York. Recientemente, se ha descrito una nueva especie de *Babesia* en California, denominada *B. duncani*. *B. microti* infecta el roedor *Peromyscus leucopus*, el hospedador preferido por *I. dammini*, principal vector de *B. microti* en los EEUU, pero que, a su vez, es vector también de *Borrelia burgdorferi*, por lo cual se observan coinfecciones *Babesia/Borrelia* (Rodríguez Morales, A.J., 2007). En dichos casos, hay más síntomas y la duración de la enfermedad es mayor que en pacientes con una sola infección. Como se ha mencionado previamente, hay mayor riesgo de infección en individuos esplenectomizados, aun cuando en individuos con bazo intactos se ha reportado la infección también. En EEUU, se han encontrado casos en individuos con la infección VIH/SIDA, donde se observan parasitemias persistentes y enfermedad severa.

En algunos Estados de los EEUU, la enfermedad es endémica, como en las islas de la costa de Massachussetts. Es posible que en otros sitios haya más casos de piroplasmosis que son autolimitados y no son descritos. Entre los años 1968 y 1993, se confirmaron más de 450 casos de Babesiosis en los EEUU, pero no se conocen muchos estudios que hablen de la seroprevalencia de la enfermedad a nivel nacional. En el Estado de Nueva York se evaluaron durante un año 671 personas que tenían alto riesgo de haber sido picadas por una garrapata, encontrándose 1% de seroprevalencia para anticuerpos contra *B. microti*. Una encuesta realizada en 779 donantes en Cape Cod (Massachussetts) se encontró una seroprevalencia del 3,3% (Hernández Sarmiento, J.M., 2006).

## INTRODUCCIÓN

En Canadá se ha detectado recientemente la infección por *Babesia* en seres humanos, debida a transfusiones sanguíneas, así como un caso aparentemente importado.

En **Latinoamérica** se encontraron anticuerpos contra una especie indeterminada de *Babesia* en 38 de 101 muestras de residentes rurales de México y aislaron el parásito de tres muestras por inoculación en hámsteres. Lamentablemente, en dicho país, el estudio de esta parasitosis ha sido escaso hasta la fecha (Méndez, J.I., et al., 2012).

En Cuba se llevó a cabo también un estudio sobre seroprevalencia de *B. bovis* y *B. bigemina* en seres humanos, en la región de la provincia de Ciego de Ávila. De un total de 781 muestras evaluadas por la prueba de IFA, se encontraron títulos positivos en el 7% de los trabajadores del ganado, en ranchos, y en el 3,9%, en donantes de sangre de dicha área (Rodríguez Morales, A.J., 2007).

En Sudamérica, sí se han venido observando consistentemente casos de babesiosis humana en los últimos veinte años. En Colombia se llevó a cabo en el 2003 el primer estudio en el cual se identificaron casos humanos de babesiosis. En dicho estudio se encontraron 7 individuos serológicamente positivos para *Babesia*: 3 presentaron anticuerpos IgM contra *B. bovis*, 1 tuvo IgG contra esta especie; 1 tuvo IgM contra *B. bigemina*, otra tuvo IgG y un tercero tanto IgM como IgG contra esta especie. Sólo un individuo fue parasitológicamente positivo para *Babesia* y serológicamente positivo para *Babesia bovis* (IgM 1:64) (Rodríguez Morales, A.J., 2007).

En Venezuela, sólo un estudio en humanos ha descrito datos de interés. En el mismo fueron analizados 294 sueros, seleccionados entre individuos con profesiones u oficios ligados de una u otra forma al medio rural (médicos veterinarios, trabajadores agrícolas y soldados de origen rural), todos ellos provenientes de zonas con alto riesgo de exposición a garrapatas infectadas. Los anticuerpos antibabesia fueron detectados con la técnica de IFI, usando antígenos de *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *B. caballi* y *B. equi*. Los resultados fueron: reactores positivos a *B. bigemina* 42,2%; *B. bovis*, 22,1%; *B. caballi*, 30% y *B. equi*, 6%. Frecuencias relativas a reactores positivos, según las profesiones u oficios, dieron el siguiente resultado: médicos veterinarios, *B. bigemina* y *B. bovis*, un porcentaje de 21%; trabajadores agrícolas, *B. bigemina*, 50% y *B. bovis*, 36%; soldados de origen rural, *B. bigemina*, 45% y *B. bovis*, 20%. Los estados de Venezuela con mayor porcentaje de reactores positivos fueron: Lara, 70%; Aragua, 57%; Zulia, 55%; Guárico, 47%; Anzoátegui, 40% y Carabobo, 38% (López, R. et al., 1989) (Rodríguez Morales, A.J., 2007).

## INTRODUCCIÓN

### La piroplasmosis humana en **Europa**:

En Europa se han registrado más de 30 casos de infecciones humanas por *B. divergens* desde el primer reporte en 1957. En dicho continente también se han descrito casos de infección por *B. microti*, *B. canis* y *B. bovis*. En Francia, Reino Unido e Irlanda, es donde se han dado más de la mitad de los casos (Brasseur, P. y Gorenflot, A., 1996). También se han contabilizado casos en otros países, como en Austria, en la región del Tirol, o en Italia, en la región Alpina en 2003, en este caso, provocados por EU1, una especie íntimamente ligada a *B. odocoilei* (Vannier, E. et al., 2008). Así mismo, se han dado casos en regiones geográficas nuevas y la tendencia es hacia el este de Europa (Ord, R.L. y Lobo, C.A., 2015).

En estos casos, el principal factor de riesgo asociado ha sido el antecedente de **esplenectomía**. Otros factores incluyen la exposición por razones ocupacionales o recreativas a zonas de pastizales con ganado infectado. Entre los países de Europa donde se ha descrito la babesiosis se incluyen: Inglaterra, Bélgica, Escocia, España, Francia, Irlanda, Rusia, Alemania, Suecia y la antigua Yugoslavia, entre otros (Rodríguez Morales, A.J., 2007).

### La piroplasmosis humana en **España**:

En España, la principal especie que infecta al hombre es *Babesia divergens*, transmitida a los seres humanos por el conocido *Ixodes ricinus*, principalmente desde el ganado bovino, como en el resto de Europa.

La confirmación de que una nueva especie de *Babesia*, *B. microti-like*, encontrada de forma endémica en Galicia en la especie canina, guarda una gran similitud genotípica con el agente etiológico de la babesiosis humana en EEUU, lleva a plantear la hipótesis de que formas distintas a *B. divergens* puedan ser las causantes de patología humana en Europa, y que cursarían de forma asintomática o subclínica, en forma de cuadros pseudomononucleósicos (Camacho, A.T. et al., 2002). La zona ecológica de Galicia presenta las condiciones ideales para permitir la circulación de esta nueva especie de *Babesia*, merced a la existencia del vector capaz de su mantenimiento, *Ixodes hexagonus*.

#### 1.2.3.3. **Patogenia**

*T. equi* es más **virulenta** que *B. caballi*. Ambas tienen acción traumática en los glóbulos rojos, acción expoliatriz, acción mecánica obstructiva a nivel capilar y acción tóxica con los productos metabólicos (Quiroz, H., 2006).

La garrapata transmite los parásitos a través de su **saliva**, ya que se alimenta de los caballos. El parásito entra en la circulación e invade los glóbulos rojos y los linfocitos. Los glóbulos rojos se rompen, y los signos de hemólisis se presentan.

## INTRODUCCIÓN

Después de la ruptura, los parásitos entran en nuevos glóbulos rojos para seguir replicándose. El caballo es ahora infeccioso para otras garrapatas. Dependiendo de la especie, el parásito también puede transmitirse a través del ciclo de vida de la garrapata (Wilson, D.A., 2012).

Durante el ciclo de vida de *Babesia*, los merozoitos invaden los eritrocitos (RBCs) y se transforman allí en trofozoitos. En esta situación, los trofozoitos crecen y se dividen en dos merozoitos redondos, ovales o piriformes. Los merozoitos maduros son capaces entonces de infectar nuevos eritrocitos y luego, el proceso de división se repite.

Se ha demostrado que los esporozoitos inoculados en caballos a través de picadura de garrapata invaden los **linfocitos**. Los esporozoitos se desarrollan en el citoplasma de estos linfocitos y eventualmente forman esquizontes semejantes a *Theileria*. Los merozoitos liberados de estos esquizontes penetran en los eritrocitos (Méndez, J.I., et al., 2012).

### 1.2.3.4. Cuadro clínico



**Figura 23. Ictericia en mucosa conjuntival**  
(<http://casasviejaslibre.blogspot.com.es/2009/07/piroplasmosis-equina.html>).

El período de incubación varía de 10 a 30 días para *B. caballi* y de 12 a 19 días para *T. equi* (De Waal, D.T., 1992). La infección puede presentar varios signos clínicos. El curso de la enfermedad puede ser hiperagudo, agudo, subagudo o crónico. Signos clínicos para la fase hiperaguda y aguda pueden incluir fiebre, ictericia (Figura 23), anemia, hemoglobinuria en ciertas ocasiones, bilirrubinuria, problemas digestivos (cólico, estreñimiento o diarrea) o signos respiratorios, y ocasionalmente la muerte. Los equinos con piroplasmosis subaguda pueden mostrar anorexia, letargo, pérdida de peso, anemia, edema en las extremidades (posteriores), frecuencia respiratoria baja y esplenomegalia (Rothschild y Knowles, 2007). La fiebre puede ser **intermitente** y haber signos de cólicos leves. Las membranas mucosas, en los casos subagudos, pueden ser de color rosa, rosa pálido o amarillo, y pueden tener petequias o equimosis. En los

## INTRODUCCIÓN

casos crónicos, los signos comunes incluyen inapetencia leve, baja tolerancia al ejercicio, pérdida de peso, fiebre transitoria y esplenomegalia (palpable mediante examen rectal). Algunas yeguas infectadas, incluidas las yeguas portadoras, pueden abortar o transmitir *T. equi* a sus crías. Los potrillos infectados *in útero* pueden estar débiles al nacer y desarrollar rápidamente anemia e ictericia grave. En otros casos, estos potrillos pueden ser portadores sanos. Los portadores asintomáticos pueden desarrollar signos clínicos después de padecer inmunodepresión o de realizar ejercicio enérgico (Rovid, A. et al., 2010).

La mayoría de los caballos seropositivos para *T. equi* y *B. caballi* son los transmisores que, por definición, son **persistentemente** infectados con agentes patógenos de piroplasmosis equina, pero no muestran signos clínicos y pueden servir como una fuente de infección para otros équidos durante toda su vida (Rothschild, C.M. y Knowles, D.P., 2007).

### ➤ Cuadro clínico en el ser humano

La babesiosis humana es llamada “malaria del noreste” en la costa atlántica del norte de los EEUU, debido a que su morbilidad y sus síntomas son similares a los de la malaria auténtica. En realidad, se sabe muy **poco** de la babesiosis en aquellos lugares en los que la malaria está muy extendida, porque se parecen tanto que es fácil confundirlas entre sí o con otras enfermedades tropicales.

El período de incubación de la enfermedad varía de 1 a 8 semanas. En la infección post-transfusión, el período de incubación puede ser el doble del tiempo (Hernández Sarmiento, J.M., 2006).

En ocasiones, la infección con agentes de la piroplasmosis puede ser **asintomática** o causar una enfermedad leve no específica, y el enfermo, a menudo, ni siquiera es consciente de que está infectado. En los casos más leves, esta enfermedad puede provocar febrícula, cierto grado de anemia, malestar general, fatiga, mientras que, en los casos más agudos, la temperatura puede alcanzar los 40°C y provocar fallos orgánicos como insuficiencia respiratoria, cefaleas, náuseas, vómitos, mialgias y hemólisis. Es frecuente observar también escalofríos, diaforesis y hemoglobinuria. Puede durar de días hasta meses (Hernández Sarmiento, J.M., 2006). Las causas que predisponen a los humanos a padecer esta enfermedad son: estar esplenectomizados, la edad avanzada, haber sufrido transfusiones sanguíneas periódicas, y presentar un estado de inmunosupresión (Meléndez, R.D., 2000).

Los signos más frecuentes al examen físico son **hepato-esplenomegalia**, **palidez**, en ocasiones, ictericia y, en casos graves, signos de shock. Además, pueden presentarse signos neurológicos como fotofobia, alteraciones del sensorio y labilidad

## INTRODUCCIÓN

emocional. En casos complicados de piroplasmosis, se pueden observar síntomas graves como fallo cardíaco, CID, fallo respiratorio, fallo renal e infarto de miocardio.

En los hallazgos de laboratorio, se suelen encontrar un aumento de la fosfatasa alcalina y leucopenia inespecífica (Hernández Sarmiento, J.M., 2006).

### 1.2.3.5. Lesiones

En los casos agudos, el caballo se encuentra habitualmente demacrado, ictérico y anémico. Las lesiones que se observan con mayor frecuencia son las comúnmente asociadas con una condición **hemolítica** intravascular. Las membranas mucosas están ictéricas (Figura 23) o pálidas, mientras que la sangre suele presentar un aspecto más diluido y acuoso (OIE, 2009). El hígado aparece engrosado y suele presentar un aspecto o bien marrónáceo, anaranjado oscuro, o bien pálido debido a la anemia. El bazo está aumentado de tamaño, de color oscuro friable y palpable en el examen rectal (OIE, 2009). Los riñones suelen estar blandos y pálidos, o también pueden estar de un color rojo oscuro o negro, si el animal presenta hemoglobinuria. Se pueden observar hemorragias petequiales en los riñones, así como hemorragias subepicardíacas y subendocardíacas en el corazón. Si existen infecciones secundarias, pueden causar edema, enfisema o signos de neumonía en los pulmones (CFSPH, *Iowa State University*, 2008). En ocasiones, también se aprecia fluido en cavidades corporales y coágulos amarillentos en vasos sanguíneos (Callow, L.L., 1987).

El examen microscópico suele revelar la **proliferación** generalizada de células reticuloendoteliales y la presencia de eritrocitos parasitados dentro de los vasos. También es habitual la presencia de numerosos macrófagos en sinusoides y venas centrales en el hígado, así como trombos en grandes vasos y acúmulos periportales de células mononucleares. Las lesiones hepáticas se pueden confundir con las de la anemia infecciosa equina, excepto por la presencia de eritrocitos parasitados. También se puede observar nefrosis severa con precipitados de hemoglobina y proteínas, junto con infiltración intersticial de células mononucleares en los riñones (Callow, L.L., 1987).

#### ➤ Lesiones en el ser humano

En la babesiosis humana se suele observar esplenomegalia o hepatomegalia. También se han descrito un leve eritema faríngeo, petequias, equimosis, ictericia y retinopatía. De igual manera, se ha relacionado con la enfermedad una erupción cutánea similar al *erythema chronicum migrans*, pero probablemente se deba a la presencia de enfermedad de Lyme en el mismo individuo (Sharan, K.P. y Krause, P.J., 2000).

Entre los hallazgos laboratoriales se pueden encontrar un valor de hematocrito y un recuento de plaquetas reducidos, un recuento de leucocitos normal o disminuido, y un coeficiente de sedimentación de eritrocitos elevado. Los enzimas hepáticos y el

## INTRODUCCIÓN

BUN se encuentran elevados en ocasiones. El urianálisis puede revelar proteinuria y hemoglobinuria (Sharan, K.P. y Krause, P.J., 2000).

Pueden aparecer otro tipo de lesiones en individuos en riesgo de sufrir babesiosis más severas, como pueden ser anemia hemolítica severa, hemoglobinuria o edema agudo pulmonar secundario al aumento de la permeabilidad de la membrana capilar, que suelen desembocar en fallo renal o fallo respiratorio agudo y, por supuesto, en convalecencias prolongadas o muerte.

### 1.2.3.6. Tratamiento y Profilaxis

#### ➤ Piroplasmosis equina

Los animales portadores o las garrapatas infectadas pueden **introducir** la enfermedad en nuevas regiones. A los équidos, habitualmente se les toman muestras de sangre para descartar la seropositividad para piroplasmosis, a la hora de importarlos, normalmente mediante técnicas de IFI y ELISA, que son las de elección.

Los desinfectantes y los saneamientos generalmente no son efectivos contra la diseminación de este tipo de infecciones transmitidas por garrapatas. De todas formas, es vital eliminar el contacto con garrapatas y prevenir la transfusión de sangre infectada entre animales. En zonas endémicas, el empleo de acaricidas, junto con el examen frecuente del animal y la extracción inmediata de las garrapatas, pueden ayudar en la prevención de la infección (CFSPH, *Iowa State University*, 2008).

Cuando un animal infectado es descubierto en un país considerado libre de piroplasmosis, éste ha de ser sometido a una **cuarentena** y protegido del contacto con garrapatas. Se han de tomar precauciones estrictas para prevenir el contacto entre los vectores y los équidos cuando individuos portadores son admitidos a una competición internacional en un país libre de la enfermedad. Entre las medidas a adoptar, destacan la fumigación repetida mediante acaricidas de las dependencias en las que se alojan los animales, la eliminación de la vegetación cercana y el mantenimiento de los ejemplares infectados en una zona separada de cuarentena, excepto para la competición y otras actividades especificadas (Brüning, A., 1996). Los animales domésticos, silvestres y roedores deben ser excluidos de estas zonas. Los équidos deben ser inspeccionados **diariamente** para la detección de los vectores y, en su caso, pueden ser tratados con sprays acaricidas, repelentes y champús. Los excrementos de los équidos deben ser destruidos y no pueden salir de la zona de cuarentena. Se pueden usar caballos centinelas para monitorizar la efectividad de estas medidas de control (CFSPH, *Iowa State University*, 2008).

En cuanto al tratamiento médico, no existen productos biológicos disponibles actualmente. Los medicamentos antiprotozoarios sólo eliminan **temporalmente** a *T. equi* de los portadores (OIE, 2009). El tratamiento puede suprimir los signos clínicos de

## INTRODUCCIÓN

la piroplasmosis pero, incluso en el tratamiento frente a infecciones por *B. caballi*, aunque el imidocarb elimina temporalmente los parásitos y el animal da resultados negativos transitoriamente tras la prueba de la PCR, el ADN de *B. caballi* continúa detectándose en el caballo una vez se finaliza el tratamiento (Brandt, J. et al., 2009). No hay vacunas frente a la piroplasmosis equina (CFSPH, *Iowa State University*, 2008).

En países endémicos se puede usar diaceturato de diminaceno (Brüning, A., 1996), isetionato de pentamidina y diisetionato de amicarbalida para aliviar los signos clínicos en infecciones por *B. caballi*. En el caso de infecciones por *T. equi*, se pueden administrar buparvaquona u otras drogas antitheileriales. También se puede emplear imidocarb, el fármaco más utilizado y recomendado frente a la piroplasmosis equina, aunque presenta un estrecho margen de seguridad y, en ocasiones, se asocia a efectos secundarios tóxicos, especialmente en burros (Brandt, J. et al., 2009). El tratamiento para eliminar el estado de portador es ineficaz, habitualmente. Mientras que algunas infecciones por *B. caballi* se pueden esterilizar, las causadas por *T. equi* persisten a pesar de la terapia (*Australian Government, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry*, 2008).

En un estudio realizado para comparar la **eficacia** de tres tratamientos diferentes frente a piroplasmosis en équidos infectados de forma natural, se determinó que la administración de metilsulfato de pentamidina es eficaz al 100% para curar a los animales afectados. El uso de dipropionato de imidocarb también tuvo un éxito del 90% en la curación de los équidos, aunque a dosis altas, y en burros los efectos secundarios fueron muy graves. Por último, la administración de diaceturato de diminaceno también consiguió curar al 80% de los équidos infectados (Chaudhry, M. et al., 2014).

Otro estudio, llevado a cabo en Egipto para evaluar cuatro tratamientos distintos para eliminar *T. equi* de équidos infectados, demostró que el uso de aceturato de diminaceno, imidocarb al 7%, buparvaquona o una combinación de estos dos últimos es eficaz. Los distintos tratamientos fueron capaces de erradicar el parásito de la sangre de los équidos infectados y mejorar los signos clínicos, los hemogramas, los perfiles bioquímicos y reducir los títulos séricos de anticuerpos en los caballos después de un mes tras el tratamiento. Según este estudio el imidocarb es altamente efectivo frente a infecciones por *Theileria* (Salib, F.A. et al., 2013).

Según M.A. Habela y sus colaboradores, esta enfermedad puede ser tratada con aceturato de diminaceno (Berenil®), eficaz para tratar la infección por *B.caballi*, mientras que para *T.equi* puede ser requerida la repetición del tratamiento, no llegando a la esterilización del animal. También se puede emplear dipropionato de imidocarb (Imizol®), pudiéndose conseguir la eliminación en el caso de *B.caballi* pero no en *T.equi*. Además, se están utilizando drogas theilericidas en el tratamiento de la infección por *T.equi*, como la parvaquona (Clexon®) y la buparvaquona (Butalex®),

## INTRODUCCIÓN

siendo ambas eficaces en el tratamiento, pero no consiguen eliminar el estado de **portador** (Habela, M.A. et al., 2000).

### ➤ Piroplasmosis humana

La babesiosis humana se puede tratar con **antibióticos** (CFSPH, *Iowa State University*, 2008). El tratamiento más comúnmente utilizado es la combinación de quinina (650 mg) y clindamicina (600 mg), vía oral tres veces al día, administrados durante un periodo de 7 a 10 días. Hay efectos colaterales que deben ser manejados en función del paciente. Se han utilizado también otros medicamentos como primaquina, azitromicina, atovaquona, tetraciclinas y sulfadiazina (Hernández Sarmiento, J.M., 2006). La combinación de azitromicina y atovaquona durante 7 días se ha administrado con éxito en el tratamiento de esta enfermedad y, habitualmente, con menos efectos secundarios que otras combinaciones.

En algunos casos de pacientes en estado crítico, puede ser necesario realizar **exanguino-transfusión**, principalmente en aquellos que presentan parasitemia y hemólisis severa.

Las medidas preventivas frente a la babesiosis tienen que ver con mantener un adecuado control de vectores y roedores, principalmente durante los meses de primavera y verano.

El uso de **repelentes** y **ropa** adecuada ayuda a evitar el contacto con las garrapatas, lo que es fundamental. Personas inmunocomprometidas y esplenectomizadas deben ser informadas oportunamente cuando se dirigen a una zona endémica para la enfermedad. Para personas que están expuestas al vector por razones laborales, es importante que hagan una revisión diaria para buscar garrapatas adheridas a la piel, procurando retirarlas lo antes posible (Hernández Sarmiento, J.M., 2006). No existen vacunas frente a la babesiosis humana.

Las **coinfecciones** con otras enfermedades transmitidas por garrapatas, como la enfermedad de Lyme o la ehrlichiosis, son habituales y suelen dar como resultado un cuadro clínico más severo y una evolución del paciente más grave. En estos casos, es necesario añadir al tratamiento de la babesiosis la medicación específica para la infección coexistente. La doxiciclina suele ser el antibiótico de elección, a dosis de 100 mg por vía oral, dos veces al día (Hernández Sarmiento, J.M., 2006).

### 1.2.3.7. Piroplasmosis y Salud pública

#### ➤ La piroplasmosis en el ámbito social y económico

La mayoría de los estudios realizados acerca de la piroplasmosis han sido en animales. Los casos en humanos son más escasos (Hernández Sarmiento, J.M., 2006) y

## INTRODUCCIÓN

la prevalencia de la enfermedad, allí donde se ha estudiado, suele ser baja en el hombre. Muchas veces, cursa de forma asintomática y sus índices de morbilidad y mortalidad son bajos.

Sin embargo, la piroplasmosis humana cada vez se **expande** más a nivel mundial. Esto puede deberse a múltiples factores. Una mayor exposición por el ser humano a las garrapatas en zonas donde existen otros mamíferos infectados con el parásito, una mayor distribución espacial de las garrapatas, los cambios ambientales y el mayor flujo de individuos entre países, son factores contribuyentes. Tal como se ha mencionado, la posibilidad de adquisición a través de transfusiones de sangre y trasplante de órganos hacen pensar en una mayor amplitud geográfica de esta patología o zoonosis emergente en el mundo. Es de pensar que, en las zonas más rurales y pobres, los individuos en contacto con el ganado puedan presentar las mayores seroprevalencias (Rodríguez Morales, A.J., 2007).

Mayores y más exhaustivos controles y análisis a nivel hospitalario, en zonas endémicas, en transfusiones y trasplantes, limitarían en gran medida esta vía de transmisión. Sin embargo, el riesgo de infectarse con una transfusión sanguínea es bajo. Recibir una unidad de glóbulos rojos empaquetados representa el riesgo más alto, el cual se calcula que puede ser del 0,17% (Hernández Sarmiento, J.M., 2006).

No es una zoonosis con una prevalencia alta en la especie humana pero se tienen que establecer las medidas preventivas adecuadas para frenar la **emergencia** de la enfermedad en zonas endémicas, de las garrapatas y su expansión a nuevas zonas. La inversión económica relacionada con la especie humana no es elevada, debido a la baja prevalencia pero, si no se realiza, podría suponer un elevado coste en prevención y tratamientos de curación y erradicación de vectores.

### ➤ Marco legislativo comunitario y nacional

En España, el **programa** de control sanitario oficial de las enfermedades incluidas en la parte A del anexo II del Real Decreto 804/2011, de 10 de junio, por el que se regula la ordenación zootécnica, sanitaria y de bienestar animal de las explotaciones equinas y se establece el plan sanitario equino, y el programa de vigilancia epizootiológica oficial de las enfermedades incluidas en la parte B del anexo II, entre las que figura la piroplasmosis equina, será realizado o bien por la autoridad competente de la comunidad autónoma, o bien bajo su supervisión.

El programa de control se realizará de acuerdo a lo establecido en las partes I y II del anexo III del Real Decreto mencionado anteriormente.

El programa de vigilancia será examinado por el Comité Nacional del Sistema de Alerta Sanitaria Veterinaria, regulado en los artículos 27 y 28 de la Ley 8/2003, de 24

## INTRODUCCIÓN

de abril, que podrá elevar a las autoridades competentes las correspondientes recomendaciones o propuestas (BOE nº.157, 2 de Julio de 2011).

La inclusión de un équido en uno de los programas previstos según las directrices anteriormente señaladas, los resultados de los mismos, las calificaciones sanitarias y la información de las vacunaciones realizadas deberán ser incluidas en el registro de identificación individual de animales equinos, establecido por Real Decreto 1515/2009, de 2 de octubre.

La **Ley** de Epizootias y el Código Zoosanitario Internacional disponen de articulado específico para la piroplasmosis equina, si bien es la reglamentación internacional la más estricta, pues limita los movimientos de équidos enfermos y portadores asintomáticos a determinados países importadores, En este sentido, especifica la necesidad de acompañar un certificado zoosanitario internacional donde se indique: Ausencia de signos clínicos el día del embarque, seronegatividad 30 días antes del embarque (IFI, ELISA), realización del tratamiento con ixodicidas 7 días antes del embarque. Algunos países pueden restringir las importaciones a los períodos de inactividad de las garrapatas.

Por otra parte, esta **reglamentación** internacional recoge artículos referidos a la importación temporal de caballos seropositivos de competición. Para éstos exige: pasaporte, certificado zoosanitario internacional con indicación de ausencia de signos clínicos y empleo de tratamiento ixodicida 7 días antes del embarque. La autoridad veterinaria del país de destino velará por la permanencia de estos animales en áreas bajo control de garrapatas y realizará exámenes periódicos para verificar la ausencia de éstas (Habela, M.A. et al., 2000).

### 1.2.4. Fiebre del Nilo Occidental

#### 1.2.4.1. Etiología

El virus del Nilo Occidental (VNO) pertenece al género *Flavivirus* (familia *Flaviviridae*) y, dentro de éste, al complejo antigénico de la encefalitis japonesa, que incluye:

- Virus Afluí
- Virus de la Encefalitis Japonesa
- Virus Kokobera
- Virus Koutango
- Virus Kunjin
- Virus de la Encefalitis del valle Murray
- Virus de la Encefalitis de San Luis
- Virus Stratford

## INTRODUCCIÓN

- Virus Usutu
- Virus del Nilo Occidental

Los análisis **filogenéticos** realizados en la secuencia de ARN, a partir de numerosos genomas completos del virus, han demostrado la existencia de dos líneas diferentes del VNO (Marín, S. et al., 2007).

La **Línea 1** tiene una distribución mundial, incluyendo cepas procedentes de África, Europa, el Oriente Medio, Norteamérica, India y Australia, y son responsables de los brotes en seres humanos, caballos y aves. La **Línea 2** incluye cepas procedentes del África subsahariana y Madagascar, y causan infecciones endémicas de baja virulencia en dicho continente. Dentro de la Línea 1, se distinguen dos grupos genotípicos, el europeo-mediterráneo-keniano y el americano-israelí, y dentro del primero, en base a la envoltura y al genoma completo, se diferencian dos subgrupos, el de la cuenca mediterránea este y oeste (Marín, S. et al., 2007).

EL VNO es un virus envuelto, cuyo genoma consiste en un ARN monocatenario, no segmentado y de polaridad positiva (Figura 24).

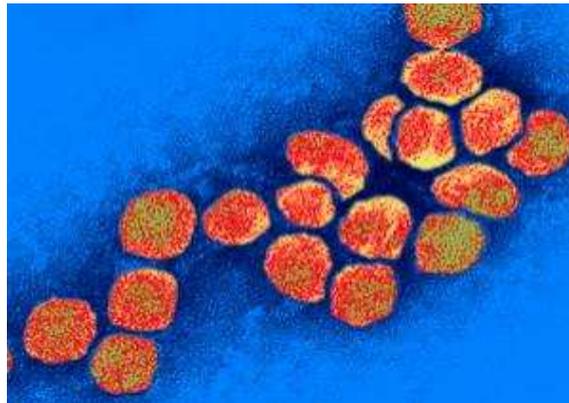


Figura 24. Micrografía electrónica del VNO (<https://www.newscientist.com/article/dn22194-threatwatch-west-nile-what-is-the-actual-risk/>).

El **virión** está rodeado de una nucleocápside de simetría poliédrica de 25-35 nm, compuesta de múltiples copias de una proteína estructural llamada C, de 12 kDa. Esta nucleocápside está rodeada por una envoltura derivada de la membrana celular de la célula huésped. Dicha envoltura es una modificación de la membrana celular del huésped mediante la inserción de dos proteínas codificadas por el virus, la proteína de envoltura E (53 kDa) y la proteína de membrana M (8 kDa). Esta última deriva de una proteína precursora, prM (18-20 kDa), que se adhiere antes de que el virión se libere de la célula infectada (Castillo-Olivares, J. y Wood, J., 2004).

El virión, la nucleocápside y la envoltura configuran una partícula viral esférica o pleomórfica de 40-60 nm de diámetro con pequeñas espículas procedentes de la glicoproteína viral.

## INTRODUCCIÓN

El VNO, como muchos otros **flavivirus**, crece en una amplia variedad de células primarias y líneas celulares de mamíferos (células *Vero*, BHK-21, RK-13, SW-13) y de mosquito (C6/C36, células de *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*). El virus puede crecer en una gran variedad de células procedentes de diferentes tejidos, dependiendo de la especie hospedadora. Estos tejidos incluyen neuronas, células gliales, células esplénicas, hepáticas, cardíacas, linfocíticas y pulmonares (Marín, S. et al., 2007).

### 1.2.4.2. Epidemiología

En la epidemiología de todos los miembros del complejo antigénico de la encefalitis japonesa del género *Flavivirus*, entre los que se encuentra el VNO, están involucradas las aves como principal hospedador y varias especies de artrópodos como vectores principales (Castillo-Olivares, J. y Wood, J., 2004).

La identidad de los vectores y de los hospedadores vertebrados implicados en el ciclo biológico del VNO depende fundamentalmente del área **geográfica** en cuestión, así como de los niveles de virus circulantes. Existe un amplio rango de especies de aves y mosquitos que pueden ser infectadas por este virus.

Tras el paso por varios estadios (huevo, larva y pupa), los **mosquitos** adultos comienzan a emerger en la primavera en las zonas templadas. La amplificación viral ocurre hasta el comienzo del otoño, cuando las hembras de mosquito entran en fase de diapausa o periodo de letargo, y pican con poca frecuencia.

Durante los periodos en que los mosquitos adultos se alimentan, el VNO puede ser transmitido entre los mismos y las **aves** hospedadoras. Los mosquitos infectados contienen el VNO en sus glándulas salivares, lo que permite su transmisión a los hospedadores vertebrados susceptibles al alimentarse.



Figura 25. Mosquito del género *Culex* (*Culex pipiens*) (<https://research.pasteur.fr/en/culex-pipiens-2-jpg/>).

En un estudio realizado para comparar diferentes tipos de uso de la tierra y el efecto de los factores climáticos, se determinó que los hábitats de uso agrícola beneficiaban localmente a los vectores del VNO y a sus hospedadores reservorios (aves), así como en los accidentales (caballos), creando determinados focos para la

## INTRODUCCIÓN

transmisión de la enfermedad en condiciones climáticas apropiadas. Se daba un menor número de infecciones cuando se producía un aumento en la cantidad de precipitaciones (Crowder, D.W. et al., 2013).

Los hospedadores vertebrados competentes mantendrán una viremia, que permitirá la transmisión del virus a nuevos insectos.

Como sucede con muchos arbovirus, tras un periodo dependiente de la temperatura y humedad, se produce la replicación del virus y la entrada en las glándulas salivares de los mosquitos. Normalmente, este periodo dura unas dos semanas en condiciones de temperatura cálida (Bernard, K.A. y Kramer L.D., 2001). La dependencia de la temperatura para la reproducción de los mosquitos y la replicación viral en los insectos vectores explica las variaciones estacionales en la transmisión y aparición de brotes epidémicos de fiebre del Nilo Occidental (FNO) (Marín, S. et al., 2007).

Varios estudios experimentales sugieren que, como ocurre en otros arbovirus, la transmisión desde mosquitos infectados a hospedadores susceptibles es muy eficiente si existen picaduras, mientras a la inversa, la transmisión desde los vertebrados a mosquitos depende del nivel de viremia del hospedador (Bunning, M.L. et al., 2002).

A diferencia de las aves, los **mamíferos**, incluidos los caballos y seres humanos, raramente desarrollan títulos lo suficientemente duraderos y altos que permitan infectar mosquitos, por lo que no son capaces de sostener el ciclo del virus. Sin embargo, a pesar de que típicamente se denominan como hospedadores  **finales**, ocasionalmente pueden ser capaces de transmitir el virus a mosquitos (Komar, N., 2000) (Marín, S. et al., 2007).

Otra transmisión posible en aves puede ocurrir de forma directa, bajo ciertas circunstancias, lo que resulta de cierta importancia para la **ecología** de la enfermedad (Bernard, K.A. y Kramer, L.D., 2001) (Castillo-Olivares, J. y Wood, J., 2004).

La competencia de las diferentes especies de mosquitos para comenzar la infección y transmitir el virus, está determinada por las preferencias alimenticias del vector, longevidad y frecuencia de contacto con el hospedador (Bernard, K.A. y Kramer, L.D., 2001). Al menos 16 especies de mosquito son competentes vectores del VNO (Komar, N., 2000) (Tabla 20).

Varias especies de *Culex* (Figura 25) se alimentan indiscriminadamente de aves y mamíferos, prefiriendo múltiples hospedadores (Bernard, K.A. y Kramer, L.D., 2003). Estas especies menos selectivas pueden tener una función de vectores puente que diseminen la enfermedad hacia equinos y seres humanos desde las aves. La

## INTRODUCCIÓN

comprensión de las preferencias alimenticias de los vectores es fundamental para conocer la ecología del VNO y realizar estrategias de control (Marín, S. et al., 2007).

Mientras que la transmisión del VNO puede ser mantenida de forma constante entre aves y mosquitos en áreas tropicales o subtropicales, diferentes mecanismos pueden ser importantes en regiones más templadas entre periodos de transmisión continua. La presencia del virus en mosquitos hibernantes y sobrevivientes al invierno (Nasci, R.S. et al., 2001), o la continua aunque baja transmisión entre hospedadores vertebrados, han sido propuestas para explicar la **persistencia** del virus en invierno (Komar, N., 2000).



Figura 26. Mosquito del género *Aedes* (*Aedes aegypti*) (<http://www.smithsonianmag.com/science-nature/the-next-west-nile-virus-24067238/>).

De forma experimental se ha comprobado que varias especies del género *Culex* y *Aedes* (Figura 26) pueden transmitir el virus a su descendencia por vía **transovárica**. Aunque, como sucede con otros flavivirus, se ha sugerido que probablemente este modo de transmisión no es importante, no hay que descartarlo como una posible fuente de persistencia del virus (Bernard, K.A. y Kramer, L.D., 2001).

Se ha especulado sobre el papel de las aves migratorias como **reintroductores** del VNO en zonas templadas donde la transmisión ocurre esporádicamente. Este mecanismo se ha propuesto para explicar los brotes epizooticos de carácter irregular que se detectan en determinadas regiones del mundo. Se estima que, dos veces al año, miles de millones de aves de más de 300 especies diferentes viajan desde Norteamérica a Centro y Sudamérica, y una cantidad similar lo hacen entre Europa Occidental y África, realizando sus recorridos en pocas semanas. Durante estas migraciones, las aves son potenciales agentes de dispersión de microorganismos que pueden ser peligrosos para la salud pública y animal.

## INTRODUCCIÓN



Figura 27. *Corvus brachyrhynchos*, una de las aves más susceptibles al VNO ([https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/West\\_Nile\\_Virus\\_in\\_Birds](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/West_Nile_Virus_in_Birds)).

En numerosas localizaciones de Europa, América, África y Asia, se ha conseguido el aislamiento del virus, a partir de aves nativas y migratorias, de ecosistemas acuáticos o terrestres (cuervos, palomas, patos, gaviotas, estorninos, ibis, garzas, cercetas, lavanderas y fochas) (Figura 27).

Tabla 17. Especies de mosquito en las que se ha aislado el VNO.

ESPECIES DE MOSQUITO		
<i>Culex antennatus</i>	<i>Coquillettidia microannulata</i>	<i>Culiseta melanura</i>
<i>Culex decens</i>	<i>Coquillettidia perturbans</i>	<i>Psorophora ferox</i>
<i>Culex ethiopicus</i>	<i>Coquillettidia richiardii</i>	<i>Deinocerites cancer</i>
<i>Culex guiarti</i>	<i>Mansonia uniformis</i>	<i>Mimomyia hispida</i>
<i>Culex modestus</i>	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Mimomyia lacustris</i>
<i>Culex neavei</i>	<i>Aedes africanus</i>	<i>Mimomyia splendens</i>
<i>Culex nigripens</i>	<i>Aedes albopictus</i>	<i>Aedeomyia africana</i>
<i>Culex nigripalpus</i>	<i>Aedes albocephalus</i>	<i>Ochleratatus japonicus</i>
<i>Culex perexiguus</i>	<i>Aedes albothorax</i>	<i>Ochleratatus triseriatus</i>
<i>Culex perfuscus</i>	<i>Aedes cantans</i>	<i>Ochleratatus trivittatus</i>
<i>Culex pipiens</i>	<i>Aedes caspius</i>	<i>Ochleratatus atropalpus</i>
<i>Culex poicilipes</i>	<i>Aedes circumluteous</i>	<i>Ochleratatus canadensis</i>
<i>Culex pruina</i>	<i>Aedes excrucians</i>	<i>Ochleratatus cantator</i>
<i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>Aedes juppi+caballus</i>	
<i>Culex scottii</i>	<i>Aedes madagascariensis</i>	
<i>Culex restuans</i>	<i>Aedes vexans</i>	
<i>Culex salinarius</i>	<i>Anopheles brunniceps</i>	
<i>Culex theileri</i>	<i>Anopheles coustani</i>	
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	<i>Anopheles atropos</i>	
<i>Culex univittatus</i>	<i>Anopheles punctipennis</i>	
<i>Culex vishuni</i>	<i>Anopheles maculipalpis</i>	
<i>Culex weschei</i>	<i>Anopheles maculipennis</i>	
<i>Coquillettidia metallica</i>	<i>Anopheles subpictus</i>	

Fuente: Marín et al., 2007.

## INTRODUCCIÓN

La posible implicación de las **garrapatas** en la transmisión del VNO ha sido documentada por varios autores (Hayes C.G., 1989) (Hubalek, Z. y Halouzka, J., 1999). El VNO se ha aislado a partir de varias especies de garrapatas y se han logrado infecciones experimentales con el virus a partir de varias especies de estos artrópodos. La introducción del VNO en nuevas áreas a través de garrapatas se puede producir cuando son transportadas por aves migratorias desde su lugar de origen a sus áreas de migración (Marín, S. et al., 2007).

Junto con el ser humano, los **caballos** son los mamíferos más sensibles a la infección por el VNO (Castillo-Olivares, J. y Wood, J., 2004). Numerosos brotes epizooticos han tenido lugar tanto en el viejo mundo (Italia 1998, Francia 1962-1963 y 2000, Marruecos 1996-2003), como en Norteamérica, donde se contabilizan centenares de casos anualmente. Como el resto de mamíferos, en general se considera al ser humano hospedador final del VNO, ya que su capacidad de reinfectar nuevos mosquitos es muy baja. La infección por el VNO ha sido detectada también en numerosas especies de mamíferos, así como en varias especies de reptiles y anfibios (Marín, S. et al., 2007) (Sotelo, E. et al., 2012).

En el ser **humano**, la ruta más común de infección es a través de la picadura de hembras adultas de mosquitos infectados con el virus, principalmente especies incluidas en el género *Culex* (Tabla 17) (Figura 25). Los mosquitos comienzan la infección al alimentarse en aves que tienen niveles altos de VNO en sangre. A partir de aquí, el virus se replica en el mosquito en las glándulas salivares, pudiendo transmitirlo en una siguiente picadura al ser humano o a otro hospedador. Las personas con mayor riesgo, son aquellas que realizan actividades al aire libre, en zonas donde se encuentra el vector (granjeros, jardineros, forestales...). El VNO no se transmite entre seres humanos a través de la picadura de mosquitos, debido sobre todo a la corta duración de la viremia y al bajo nivel de virus durante la misma. Sin embargo, se han descrito nuevas formas de transmisión de la enfermedad entre seres humanos que matizan la consideración del hombre como hospedador final. Concretamente, se trata de la transfusión sanguínea, el trasplante de órganos, la alimentación materna, la vía transplacentaria y el contagio intralaboratorial percutáneo (*World Organisation for Animal Health*, 2013).

### ➤ Prevalencia del VNO en los équidos

El VNO a nivel **mundial**:

En 1962, se consiguió el aislamiento de VNO en un caballo muerto tras un cuadro de encefalitis en Egipto (Marín, S. et al., 2007).

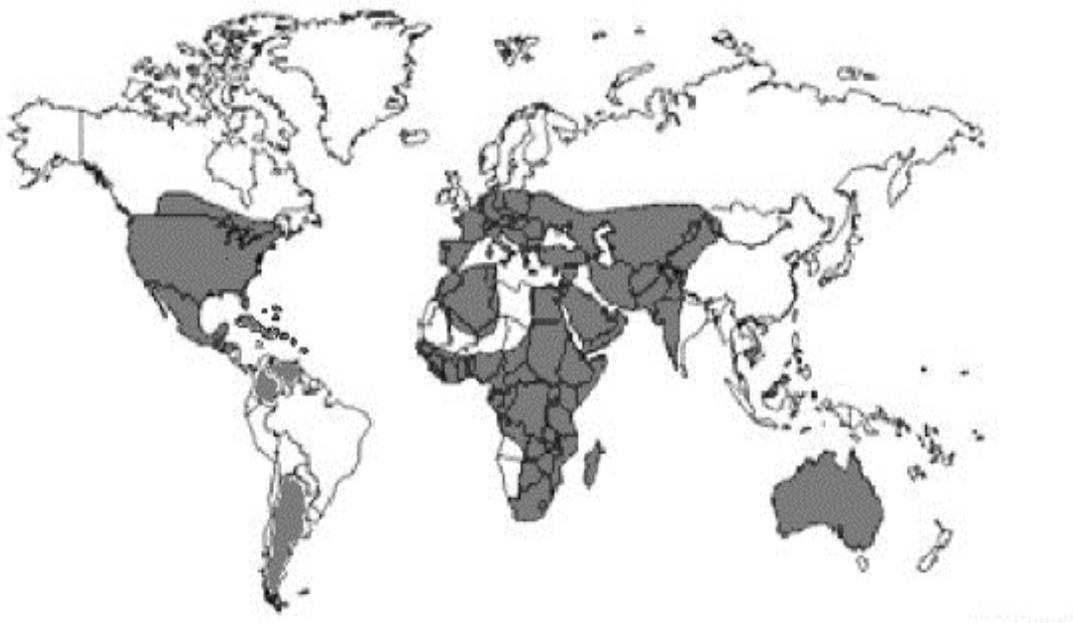
En **Marruecos** se observó por primera vez un brote de la enfermedad en 1996, que causó 94 casos en équidos (42 muertes entre ellos), así como un caso en humanos.

## INTRODUCCIÓN

En 2003, el VNO reemergió en Marruecos, causando un brote en caballos, sin casos de enfermedad en humanos ni aves (Marín, S. et al., 2007).

En 2010, en Sudáfrica, se dio el primer caso de FNO por la línea 1 del virus, siendo normalmente el causante de la enfermedad en este país, un virus de la línea 2. En este caso, se produjo la muerte de una yegua preñada (Chancey, C. et al., 2014).

En **Norteamérica**, en EEUU, a finales del verano de 1999, en la zona de Nueva York, aparecieron varios casos de enfermedad neurológica en caballos. A finales de 1999, aproximadamente 20 caballos de la zona de Long Island padecieron la FNO (Trock, S.C. et al., 2001) (Figura 28). Durante el verano del año 2000, se detectaron 63 casos de VNO en equinos en 7 Estados diferentes. Durante el año 2001, se detectaron, principalmente en el Estado de Florida, 738 casos de FNO en caballos. En el año 2003, fue detectada la FNO en más de 4.146 caballos de 41 estados, 30 perros, 17 ardillas y un gato. Una de las razones que puede explicar la importante reducción de la incidencia en equinos es la masiva vacunación frente al virus llevada a cabo durante ese año. En 2005, se describieron 1072 casos de FNO en caballos de diversos Estados (Marín, S. et al., 2007).



**Figura 28. Distribución del VNO en el mundo en 2007 (Adaptado de: [http://www.microbeworld.org/news/west\\_nile/](http://www.microbeworld.org/news/west_nile/)).**

En Canadá, en 2002, el virus se encontró en aves, caballos y mosquitos en Nueva Escocia, Quebec, Ontario, Manitoba y Saskatchewan. Un brote de FNO en caballos ocurrió en el sur de Ontario durante este año, afectando a 28 animales con enfermedad neurológica (Weese, J.S. et al., 2003).

Durante el verano de 2002, se realizó un estudio de seroprevalencia en aves y caballos en el Archipiélago de Guadalupe (Isla de San Martín, Antillas francesas). Todas

## INTRODUCCIÓN

las aves analizadas (36 patos, 14 gansos y 3 gaviotas) resultaron negativas a la presencia de IgG frente al VNO. De los 360 sueros de caballos analizados, 10 mostraron la presencia de IgG, y 2 presentaron IgM frente al virus. En 2003, se analizó nuevamente a 114 de los caballos que resultaron seronegativos en el anterior estudio. En este estudio se reveló que casi la mitad de los caballos habían seroconvertido, lo que parecía indicar que el VNO permanecía **endémico** (Marín, S. et al., 2007).

Se tienen evidencias de la **diseminación** del VNO por Méjico desde julio de 2002, cuando se recibieron informes de enfermedad neurológica en caballos en varias zonas del país (Blitvich, B.J. et al., 2003).

Diversos brotes epizooticos en équidos ocurrieron en El Salvador, entre noviembre de 2001 y abril de 2003, causando la muerte a 203 caballos. Dieciocho de 73 muestras procedentes de animales fallecidos en 2003, resultaron positivas a la presencia de anticuerpos frente al VNO, confirmándose la infección mediante la prueba de seroneutralización en placa.

En 2004, durante un estudio de seroprevalencia de VNO en varias regiones de Colombia, se detectaron 10 positivos entre 130 équidos sanos (caballos y burros), empleando el test de neutralización-reducción en placa (PRNT).

En **Centroamérica**, el Caribe y Sudamérica se conocen casos de seroconversión en caballos y aves residentes, con escasas referencias de casos clínicos o aumento de la mortalidad (Marín, S. et al., 2007) (Figura 28).

En Venezuela, en un estudio serológico llevado a cabo entre 2004 y 2006, se evidenció la presencia del virus en aves residentes y en caballos, ya que, de casi un total de 1.400 animales analizados, se encontraron anticuerpos del VNO en 34 caballos y 5 aves adultas (Bosch, I. et al., 2007).

En 2006, se detectaron varios casos de FNO en Argentina en caballos, además de 4 casos en seres humanos, en las provincias de Córdoba y Chaco (Marín, S. et al., 2007).

En Brasil, entre octubre de 2009 y octubre de 2010, se tomaron muestras de suero de équidos de diferentes ranchos de la región de Pantanal, en la zona centro-occidental del país. Mediante técnicas de ELISA y de seroneutralización en placa se detectaron porcentajes mayores frente a otros **flavivirus**, como el Ilheus o el de la encefalitis de San Luis, del 10,3% y 7,8%, respectivamente (Pauvolid-Correa, A. et al., 2014).

Desde octubre del 2011 hasta julio del 2012, se desarrolló un estudio de la seroprevalencia de la FNO en caballos de la zona sudoeste de Nigeria. Se recolectaron muestras de 145 caballos asintomáticos y no vacunados, y se analizaron mediante

## INTRODUCCIÓN

cELISA y mediante un ELISA específico de IgM. La elevada prevalencia registrada demuestra que es una enfermedad enzoótica en esta región del país (Sule, W.F. et al., 2015).

En Turquía, también se realizó un estudio para investigar la frecuencia y la distribución de las infecciones por VNO en vectores potenciales y en varias especies de mamíferos y aves. Se detectaron anticuerpos neutralizantes en el 10,5% de las 1.180 muestras analizadas y se encontraron en todas las especies estudiadas (Ergunay, K. et al., 2014).

La seroprevalencia del VNO en caballos, en Israel, se determinó durante un periodo superior a una década, antes, en 1997, y después, en 2002, del brote masivo de FNO que tuvo lugar en el año 2000 en équidos y humanos. Se ha ido observando un aumento de la seroprevalencia, obteniéndose un valor del 39% en 1997, mientras que en 2002 el resultado fue del 66,1%. Destaca una seroprevalencia persistente y significativamente mayor en caballos localizados a lo largo de la zona del Valle del Gran Rift, la principal ruta de **migración** de aves en Israel (Aharonson-Raz, K. et al., 2014).

### El VNO en **Europa**:

En 1962, se diagnosticaron en equinos 30 casos de FNO en la **Camarga**, Francia, y otros 50 casos en áreas vecinas de clima más seco, que cursaron con cuadros de enfermedad neurológica. La mayoría de los caballos afectados vivía libremente, motivo por el que no se pudo registrar con exactitud el total de animales afectados con enfermedad clínica. Se observó una mortalidad del 30 % entre los 50 animales que se contabilizaron con signos neurológicos (Murgue, B. et al., 2001). Entre 1963 y 1964, se llevó a cabo un estudio serológico en 47 caballos de la región de la Camarga, 10 de los cuales habían padecido patologías acompañadas de signos neurológicos. Se encontraron anticuerpos neutralizantes frente al VNO en 6 de los 37 animales sin signos clínicos, así como en 6 de los 10 animales con enfermedad clínica previa (Marín, S. et al., 2007).

En el verano de 1998, las autoridades sanitarias de la Toscana, Italia, informaron de 14 casos clínicos de enfermedad neurológica en caballos residentes en un área cercana a un gran humedal localizado en las provincias de Florencia y Pistola. Seis de los animales murieron o fueron eutanasiados, consiguiéndose el aislamiento del virus en dos de ellos. En 2008, tras 10 años de silencio, ocurrió una gran epidemia de FNO en el noreste del país, repitiéndose en 2009 en las mismas regiones y extendiéndose a nuevas regiones de Italia central. Se confirmaron 223 casos en équidos, de los que 37 mostraron signos clínicos. El análisis filogenético de las muestras aisladas reveló que el virus circulante en 2009 pertenecía a la línea 1. En 2010, el VNO continuó circulando por el país, apareciendo en nuevas regiones como Sicilia y Apulia, y se contabilizaron 128 casos equinos, de los que 11 evidenciaron

## INTRODUCCIÓN

signos clínicos. En 2011, se sumaron 197 casos nuevos a los ya aparecidos, con 58 casos clínicos y 14 muertes, distribuyéndose la enfermedad en las mismas regiones de años previos, pero afectando también a regiones del sur y a la isla de Cerdeña, por primera vez. En 2012, la FNO se volvió a confirmar en 30 establos de las mismas regiones afectadas anteriormente y se detectaron 63 nuevos casos. En 2013, se describieron 50 casos de la enfermedad en équidos en distintas regiones del país y se confirmó la presencia de la línea 2 del VNO (Di Sabatino, D. et al., 2014).

Al final del **verano** y en el **otoño** de 2000, tuvo lugar en Francia un brote de FNO que afectó exclusivamente a caballos, registrándose 131 casos clínicos, de los cuales 21 tuvieron un desenlace fatal. En 76 de los 131 casos clínicos, se confirmó la infección por VNO (Murgue et al., 2001). Tras un estudio de seroprevalencia llevado a cabo en Septiembre de 2000 sobre 5.107 animales (4.776 caballos y 91 burros) de la región afectada, los resultados sugieren que el VNO es endémico en el sur de Francia, lo que haría posible la aparición de nuevos brotes en el futuro (Durand, B. et al., 2002). En el año 2003, un brote de la enfermedad se observó nuevamente en esta región, afectando al menos a 6 personas y a 3 caballos. Y se dio otro caso de VNO en septiembre de 2006, en el sur del país (Pirineos Orientales), afectando a una granja de 15 caballos localizada en Argeles-sur-Mer (Marín, S, et al., 2007).

En el verano de 2010, se declaró un brote de FNO causado por la línea 2 del virus en la región de Macedonia Central, en Grecia, afectando tanto a caballos como a humanos. Esto indica que la cepa del virus responsable de la epidemia masiva en humanos en 2010, en Grecia, también era altamente patógena para los caballos (Bouzas, I.G. et al., 2015). Entre 2010 y 2013, en este país, se notificaron 83 casos de FNO en équidos y se declaró una muerte (Di Sabatino, D. et al., 2014).

En **Portugal**, entre 2004 y 2010, se llevó a cabo un estudio de la seroprevalencia en caballos y en aves. La mayoría de caballos no mostró signos clínicos compatibles con la infección, aunque 2 ejemplares de una misma explotación desarrollaron signos neurológicos (Barros, S.C. et al., 2011). También se declararon 2 casos de FNO en équidos, en 2010, en las regiones de Lisboa y Vale do Tejo. Ambos mostraron signos clínicos neurológicos (Di Sabatino, D. et al., 2014).

En **Bulgaria**, tuvo lugar también un brote epidémico en 2010 que afectó a un total de 60 caballos. Nunca anteriormente se había descrito la enfermedad en este país (Sotelo, E. et al., 2012).

Entre los años 2008 y 2011, se analizaron los sueros de 395 caballos de distintos distritos de la República Checa y Eslovaquia. Mediante un microtest de neutralización no se detectó ningún caballo seropositivo en la República Checa, mientras que, en Eslovaquia, 19 ejemplares no vacunados presentaron anticuerpos específicos frente al VNO. La seropositividad en caballos no vacunados de Eslovaquia fue del 8.3% y la

## INTRODUCCIÓN

infección local autóctona ocurrió en al menos 11, es decir, en el 4,8% de los animales estudiados (Hubálek, Z. et al., 2013) (Tabla 18).

También en Ucrania, se llevó a cabo un estudio para determinar la seroprevalencia del VNO en una población de 310 caballos, en los años 2010 y 2011. Se obtuvo un resultado final del 13,5% tras los análisis por ELISA de competición y seroneutralización (Ziegler, U. et al., 2013a).

En **Alemania** se realizó también un estudio de seroprevalencia de la FNO y se analizaron 5.178 sueros equinos entre los años 2010 y 2012, de los cuales sólo el 1,2%, 61 muestras, resultaron positivas mediante las pruebas de cELISA. Posteriormente, se analizaron mediante seroneutralización y sólo 5 dieron resultado positivo, 3 de los cuales habían sido vacunados frente al VNO, previamente (Ziegler, U. et al., 2013b).

También se analizaron 349 muestras de suero mediante técnicas de ELISA y seroneutralizantes en Serbia, en 2009 y 2010, por primera vez, y los resultados mostraron un 12% de seroprevalencia (Lupulovic, D. et al., 2011) (Di Sabatino, D. et al., 2014) (Tabla 18). Otro estudio se llevó a cabo en el norte de Serbia para conocer la seroprevalencia del VNO en la población equina. Entre 2007 y 2011, se recogieron 252 muestras de suero equino, se analizaron mediante técnicas de ELISA y de seroneutralización y se encontraron anticuerpos específicos frente al VNO en el 28,6% de las muestras (Medic, S. et al., 2014).

En 2012, en 12 distritos de **Albania**, se desarrolló un estudio para averiguar la prevalencia de la enfermedad en caballos mediante pruebas serológicas, usando las líneas 1 y 2 del VNO, y se obtuvo un porcentaje de positivos del 22,2%, de 167 sueros recolectados, 37 fueron positivos (Berxholi, K. et al., 2013) (Di Sabatino, D. et al., 2014). Además, se analizaron 29 muestras séricas de caballos de Kosovo mediante la técnica de ELISA, pero no se encontró ningún individuo seropositivo (Berxholi, K. et al., 2013).

**Tabla 18. Prevalencias de FNO en distintos países de Europa.**

	Eslovaquia	Ucrania	Alemania	Serbia	Albania	República Checa
% Prevalencia	8,3	13,5	1,2	12	22,2	11,5

En 2013, se confirmaron 50 casos de FNO en caballos de distintas regiones de **Italia**. 12 caballos presentaron cuadro clínico. El análisis en un caballo muerto demostró la circulación de la línea 2 del VNO (Di Sabatino, D. et al., 2014).

En la República Checa, entre los años 2011 y 2013, se analizaron 2.349 muestras de suero de caballos sanos, adultos, no vacunados, mediante la técnica de

## INTRODUCCIÓN

cELISA. El 11,5% de las muestras resultaron positivas mediante esta técnica, es decir, 271 muestras del total, confirmándose sólo en 16 mediante el test de neutralización del virus (Sedlák, K. et al., 2014).

### El VNO en **España**:

El primer estudio en équidos y bóvidos en España se realizó en los alrededores del Parque Natural de **Doñana**. El estudio muestreó, entre junio y septiembre de 2005, 157 caballos salvajes y se detectaron 30 animales con títulos de seroneutralización iguales o superiores a 1/20. Todos los bovinos resultaron negativos (Bakonyi, T. et al., 2005) (Marín, S. et al., 2007).

En 2006, se analizaron 91 muestras de équidos de la **CV**, de las provincias de Alicante y Castellón. Todas las muestras positivas procedieron de explotaciones de la provincia de Alicante. En ninguna de las muestras positivas, se encontraron anticuerpos frente al virus mediante la prueba de seroneutralización. Todas las muestras de suero de caballos analizadas mediante PCR para la detección del ARN del VNO resultaron negativas. Ninguno de los animales, en los que fueron detectados anticuerpos frente al VNO mediante ELISA indirecto, mostraron signos de enfermedad neurológica (Marín, S. et al., 2007).

En España, el primer **foco** de encefalitis del Oeste del Nilo se notificó en Andalucía, en 2010, concretamente en las provincias de Cádiz, Sevilla y Málaga, afectándose 37 caballos, y 9 de ellos murieron. Finalmente, se notificaron 44 casos de caballos afectados por el VNO en el 2010, en Andalucía (Di Sabatino, D. et al., 2014). Entre septiembre y diciembre de 2010, se declararon 36 brotes de FNO en caballos de estas tres provincias. Entre abril de 2010 y febrero de 2011, se estudiaron poblaciones de équidos no sospechosas en la zona afectada y en 6 de los 38 grupos poblacionales estudiados, el 15,8%, se encontró, al menos, un animal seropositivo. Estos resultados demostraron una circulación activa del VNO meses antes del primer brote descrito en caballos, así como una mayor diseminación geográfica del virus de la esperada (García-Bocanegra, I. et al., 2012b). Se llevó a cabo otro estudio de seroprevalencia en **Andalucía**, en caballos no vacunados previamente, se detectaron anticuerpos frente al VNO en 54 de 510 caballos mediante ELISA de bloqueo y se confirmó en 36 animales mediante microneutralización, lo que suponía un 7,1% de prevalencia (Tabla 19) . 28 de las 348 explotaciones investigadas, el 8,3%, presentaron, al menos, un individuo seropositivo (García-Bocanegra, I. et al., 2012c). Al año siguiente, 2011, en las provincia de Cádiz, Málaga y Sevilla se afectaron 12 caballos, y uno de ellos murió. Posteriormente, en 2012, un nuevo foco, también en la provincia de Cádiz, afectó a 4 caballos, muriendo 2 de ellos. En el 2013, los focos fueron 2, en las provincias de Huelva y Sevilla, con 40 caballos positivos entre agosto y noviembre (Di Sabatino, D. et al., 2014), pero, en esta ocasión, sin ninguna muerte declarada. Hasta 2014, no se había declarado ningún foco fuera de Andalucía. En 2014, también se detectaron focos

## INTRODUCCIÓN

de la FNO en explotaciones andaluzas, concretamente de Cádiz, Huelva y Sevilla, obteniéndose, tras los análisis, 6 ejemplares con resultado positivo (Domingo, R. y Vega, S., 2014). El número total de focos de la enfermedad, en 2014, ascendió a 8, uno se declaró en Castilla-La Mancha y 7 en Andalucía (Ventura, J., 2015).

En **2015**, la RASVE confirmó la aparición de cuatro caballos infectados por el VNO, tres de ellos en Andalucía, concretamente en las provincias de Sevilla y Cádiz, y otro más en Extremadura, declarados oficialmente el 23 y el 25 de septiembre de 2015, respectivamente (Ventura, J., 2015).

En **Cataluña**, entre 2007 y 2013, se analizaron 55 muestras de suero de caballos mediante ELISA y seroneutralización, presentando sólo 1 caballo anticuerpos neutralizantes frente al VNO, es decir, un 1,8% de la población estudiada (Gorres, A., 2014).

**Tabla 19. Prevalencias de FNO en distintas zonas de España.**

	Andalucía	Cataluña	Zona central España
% Prevalencia	7,1	1,8	1,4

Se realizó un trabajo de investigación para determinar la seroprevalencia de FNO en el centro de España y se recogieron muestras de suero de 369 caballos asintomáticos entre septiembre de 2011 y noviembre de 2013. Se analizaron mediante seroneutralización, y se obtuvo una prevalencia del 1,4% (Tabla 19). Una de las muestras seropositivas al VNO también fue positiva a la IgM. Las primeras muestras positivas correspondieron a sueros recogidos en el 2012, en la provincia de Madrid (Abad-Cobo, A. et al., 2016).

En 2013, se estudió nuevamente la seroprevalencia del VNO en caballos del área **central** de la Península Ibérica y se analizaron 416 muestras de suero por seroneutralización en placa, obteniéndose un 1,44%. También se tomaron muestras de suero de una población centinela en el 2015 y se descubrió que el virus sigue circulando, al aparecer muestras positivas a IgM-ELISA (Abad-Cobo, A. et al., 2015).

### ➤ Prevalencia del VNO en el ser humano

Originalmente, la FNO fue identificada en **África**, dentro de la región occidental del Nilo perteneciente a Uganda, en 1937, en una paciente indígena que padeció una enfermedad febril. A partir de este primer caso, el VNO se ha detectado en numerosos países en África, Europa, Asia, Oceanía y más recientemente en América, y en España.

## INTRODUCCIÓN

El VNO a nivel **mundial**:

La FNO tiene un **amplio** rango de distribución geográfica que incluye zonas de Europa, Asia, África, Australia (virus Kunjin) y Norte-, Centro- y Sudamérica (OIE, 2013).

Entre 1952 y 1954, se observaron varios brotes de la enfermedad en Egipto. Los estudios serológicos demostraron que el VNO era endémico en toda la cuenca del Nilo, con una seroprevalencia de un 60%.

Un estudio de la seroprevalencia realizado en 1939-1940 encontró una amplia seropositividad en humanos en países como Uganda, Sudán, la actual República Democrática del Congo y Kenia, con valores en algunas localidades que superaban el 50%. En muestras recogidas entre 1951 y 1955, en el oeste de Nigeria, y en 1954, en Sudáfrica, se detectó una gran seropositividad en la especie humana, y en este último país, también en monos, animales domésticos y pájaros (Chancey, C. et al., 2014).

En 1951, en el mismo año que se iniciaron los brotes del delta del Nilo, apareció una epidemia de FNO en Israel, en una pequeña ciudad a las afueras de Haifa. Se documentaron un total de 123 casos en una población de 303 habitantes. No hubo ninguna muerte entre los pacientes afectados. Tras otro brote que sucedió en 1957, no fue hasta 1998 cuando el virus volvió a aparecer de forma agresiva en Israel. En el año 2000, apareció el brote de FNO más agresivo hasta el momento. Entre julio y noviembre de ese año, 417 pacientes fueron serológicamente diagnosticados de infección por VNO, de los cuales 42 murieron en la fase aguda de la enfermedad (Marín, S. et al., 2007). Finalmente, en ese año, se notificaron 429 casos en humanos. Posteriormente a esa epidemia, se describieron 68 casos neuroinvasivos en humanos, en 2010, 36 en 2011, 63 en 2012, y de nuevo 63 en 2013 (Di Sabatino, D. et al., 2014).

Se documentaron casos de seropositivos humanos frente a la FNO en la década de los 70, en Turquía, y de nuevo, al comienzo de la mitad de la primera década del 2000. Un brote de FNO ocurrió en 2010-2011, en Turquía, a la vez que otros brotes en la región mediterránea, dando lugar a 47 casos, 40 de enfermedad clínica y 10 muertes (Chancey, c. et al., 2014). La línea 1 del VNO también se aisló de una mujer en la provincia de Ankara, en 2012 (Di Sabatino, D. et al., 2014).

El primer caso de FNO en **Asia** Oriental ocurrió durante el año 1957, cuando se observó meningoencefalitis como cuadro de complicación de otro proceso clínico previo en niños, en la India, con tres casos fatales. A partir de estos casos, el virus se ha detectado en varios países asiáticos como Azerbaiyán, Rusia asiática, Jordania, Kazajistán, Pakistán, Tayikistán, Turkmenistán y Uzbekistán. Además, se han detectado anticuerpos frente al virus en Armenia, China, Borneo, Georgia, Irak, Malasia, Filipinas, Sri Lanka, Siria y Tailandia. Se detectaron casos humanos de seropositividad en Irán, en la década de los 70, y también se identificaron varios casos clínicos con fiebre y pérdida de consciencia en 2008-2009 (Chancey, C. et al., 2014).

## INTRODUCCIÓN

En Sudáfrica, en 1958, se consiguió aislar el VNO en la sangre de un paciente con enfermedad febril media y, posteriormente, en 1974, se detectó un gran brote epidémico con decenas de miles de casos entre seres humanos que padecieron signos febriles pero sin consecuencias fatales, obteniéndose a posteriori unos niveles de anticuerpos frente al VNO de un 55%, elevándose en algunas zonas hasta el 80-85%. También en 1984, tuvo lugar otro brote epidémico en humanos (Chancey, C. et al., 2014).

En 1983, se detectaron cuatro casos de hepatitis atribuidas a infección por VNO en la República Centroafricana, dos de los cuales resultaron en fallecimiento de los pacientes.

Se ha diagnosticado la presencia del VNO en otros países africanos como Botswana, África central, Costa de Marfil, Congo, Etiopía, Madagascar, Mozambique, Nigeria, Senegal, Uganda y Túnez. También se han detectado anticuerpos frente al VNO en estudios serológicos, en Kenia, Líbano y Sudán, entre la población humana.

En **Guinea**, en 2006, 11 casos de enfermedad febril aguda fueron causados por el VNO. En 2009, un estudio de seroprevalencia en Ghana indicó que la FNO es endémica en este país, con la mayoría de los casos afectando a los niños. Se describió un caso mortal de la FNO en Gabón en 2009. Y un estudio en Nigeria demostró que el 25% de los pacientes febriles analizados eran seropositivos frente al VNO. En África Oriental se han detectado infecciones humanas y de mosquitos por la línea 2 del VNO en Yibuti, entre 2010 y 2011 (Chancey, C. et al., 2014).

En el entorno del Magreb se han diagnosticado brotes de la enfermedad en Argelia en 1994, Marruecos en 1996 y 2003, y en Túnez en 1997 y 2003. En 1997, ocurrió un brote en Túnez, afectando a 173 pacientes que padecieron meningitis o meningoencefalitis. En 2003, un nuevo brote se produjo en Túnez, en el Sureste del país, en el que 57 pacientes fueron hospitalizados con meningitis o encefalitis aséptica. Existe transmisión activa continuada en el norte de África, con brotes descritos en 2010, en Marruecos, y en 2012, en Túnez, y transmisiones esporádicas ininterrumpidas en Egipto y Argelia (Chancey, C. et al., 2014) (Di Sabatino, D. et al., 2014). En el año 2012, se notificaron 63 casos en Túnez y 1 en Argelia (Sánchez, A. et al., 2013).

Antes de **1999** no se había detectado la presencia del VNO en el continente americano. A finales del verano de este año, un inusual número de casos de meningoencefalitis fueron informados por el departamento de salud estadounidense en la zona de Queens de la ciudad de Nueva York. En concreto, los estudios epidemiológicos preliminares en los hospitales identificaron 8 casos. Tras la detección de estos casos en seres humanos, se puso en marcha un estudio epidemiológico en todos los hospitales de los alrededores de la zona norte de Queens. El estudio mostró

## INTRODUCCIÓN

que 62 (9%) de 719 pacientes atendidos con signos clínicos de meningitis y encefalitis tuvo evidencias serológicas de infección aguda por VNO.

El mecanismo de introducción del virus en Norteamérica es, hasta el momento, desconocido, pero se considera que la fuente de la cepa de VNO detectada en Nueva York, en 1999, es originaria de **Oriente Medio**.

Tras el brote de Nueva York de 1999, se produjo una progresiva **diseminación** del VNO por los EEUU. A finales de 1999, 4 Estados norteamericanos habían detectado casos de FNO, contabilizándose 7 muertos entre los seres humanos. Durante el verano del año 2000, se diagnosticaron 21 casos de FNO en personas residentes en 7 Estados diferentes. Durante el año 2001, el VNO fue diagnosticado en 27 Estados norteamericanos diferentes, más el Distrito de Columbia y Canadá (sur de Ontario). Ese año, se produjo la enfermedad en 66 personas, 64 de las cuales sufrieron afección neurológica y 9 tuvieron un desenlace fatal. El año 2002 fue el de mayor letalidad del VNO hasta la fecha. El virus se detectó en 44 Estados norteamericanos y en Canadá. Ese año, se afectaron 4.156 personas con enfermedad neurológica y provocó la muerte en 84 casos. En 2003, se diagnosticó la enfermedad en un número cercano a 9.000 personas, causando 199 muertes. Durante 2004, 40 Estados y el Distrito de Columbia declararon 2.283 casos y 77 muertes por FNO; más del 60% de las personas afectadas vivían en los Estados de California, Arizona y Colorado. Desde el 1 de enero al 27 de diciembre de 2005, se diagnosticaron un total de 2.811 casos (85 fallecimientos) de FNO en EEUU. Durante el año 2006, se vieron afectados 36 Estados, con un total de 4.052 casos de FNO entre los seres humanos. De todos los casos, 1.396 sufrieron manifestaciones neurológicas y 146 fallecieron. En el año 2007, se dieron aproximadamente 3.304 casos de FNO en seres humanos, con 93 personas fallecidas (Marín, S. et al., 2007).

Lo que parecía un problema circunscrito inicialmente al Estado de Nueva York y a los Estados vecinos de Nueva Jersey y Connecticut, rebasó todas las previsiones, extendiéndose posteriormente a 48 Estados, causando la peor epidemia de enfermedad de VNO de los últimos años, con más de 30.000 casos de enfermedad notificados en humanos, y alrededor de 1.200 muertes en el periodo comprendido entre 1999-2010, más de 25.000 casos en caballos, entre 1999-2010, y 60.000 córvidos muertos, entre 1999-2007 (Komar, N., 2003) (Marín, S. et al., 2007) (Sotelo, E. et al., 2012).

El segundo país, en el que se declararon casos humanos de FNO dentro del continente americano, fue las Islas Caimán. En este país, durante el año 2001, un paciente fue hospitalizado con un cuadro severo de encefalitis, del que se recuperó. También aparecieron casos de la enfermedad en Jamaica y República Dominicana (Komar, N., 2003).

## INTRODUCCIÓN

En **Canadá**, el virus se identificó por primera vez en Agosto de 2001 pero, hasta 2002, no aparecieron los primeros casos en seres humanos, que se confirmaron en Quebec y sur de Ontario. A partir del primer diagnóstico de personas afectadas por FNO en Canadá, se fue detectando la enfermedad en años sucesivos: 2003 (1478 casos, 12 muertes), 2004 (25 casos, 2 muertes), 2005 (224 casos, 12 muertes) y 2006 (6 casos). Y se extendió por las provincias de Saskatchewan, Manitoba y Nueva Escocia (Komar, N., 2003).

En 2004, en Méjico, se detectó el VNO en una paciente con enfermedad febril grave, aunque sin signos neurológicos (Marín, S et al., 2007).

### El VNO en **Europa**:

En Europa, la presencia del VNO se indicó por primera vez en 1958, en **Albania**, cuando se detectó la presencia de anticuerpos frente al virus en dos ciudadanos albaneses.

Se considera que, en Rusia, el VNO se mantiene endémico desde hace unos 30 años. Las áreas donde se distribuye el virus incluyen Ucrania, Bielorrusia, el sur de la Rusia europea, Siberia Occidental, Armenia, Azerbaiyán, Kazajistán, Tayikistán, Uzbekistán y Turkmenistán.

De 1963 a 1968, se detectaron, al menos, 10 casos en seres humanos, documentados en el delta del Volga. En 1977, fueron documentados varios casos en Bielorrusia. En 1997, se comunicaron 38 casos, 16 de los cuales cursaron con encefalitis en Ucrania. En 1999, se produjo un gran brote en Rusia, en la región de Volgogrado. Desde Julio a Octubre de 1999, 826 pacientes fueron hospitalizados con meningoencefalitis aguda, meningitis o fiebre compatible con infección arboviral. De los 84 casos de meningoencefalitis, 40 fueron fatales.

En 2002, se produjo un brote con 33 casos en la región de Astrakán. En 2004, se documentaron 3 casos en Siberia Occidental. En 2005, se detectó un brote en la región de Astrakán. Hasta el 9 de septiembre de 2005, se registraron 60 casos de la enfermedad en esta región. Entre agosto y septiembre de 2006, tuvo lugar en la región de Rostov, en Rusia, un brote con seis humanos afectados.

Posteriormente, en **Rusia**, desde 2007, han tenido lugar grandes brotes de FNO en la especie humana, principalmente en la zona de Volgogrado, donde se confirmaron casos causados por la línea 2 del VNO en muestras sanguíneas y cerebrales de humanos. En Rusia, entre 2010 y 2013, se contabilizaron un total de 1.329 casos humanos de FNO (Di Sabatino, D. et al., 2014) (Figura 29).

Los primeros casos de FNO en Europa se registraron en **Francia**, en la región de la Camarga, al sur del país, en 1962. Durante el verano de ese año, se describieron 10

## INTRODUCCIÓN

casos severos en seres humanos, los cuales fueron detectados serológicamente mediante la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (Marín, S. et al., 2007). También se detectaron casos de FNO en humanos y en équidos, en 2003 y 2004, en este mismo país (Di Sabatino, D. et al., 2014).



**Figura 29. Distribución de casos de enfermedad en humanos por el VNO en la Europa Mediterránea (Actualización septiembre 2016)**  
(<http://www.microbiologiaysalud.org/noticias/fiebre-del-nilo-occidental-en-andalucia/>).

En Rumanía, entre 1996 y 1997, ocurrió un severo brote en la zona sur del país, valle del Danubio y Bucarest, en el que se detectaron 393 casos de pacientes con enfermedad neurológica, de los cuales 17 murieron. Todos los pacientes tenían edades superiores a los 50 años. En esta ocasión, se detectó el virus, tanto en seres humanos como en mosquitos y aves. Desde este episodio, el VNO se considera endémico en Rumania, donde suceden anualmente casos esporádicos (Campbell, G.L. et al, 2001). La línea 1 del VNO circuló en Rumanía entre 1997 y 2009. Entre 2008 y 2009, se detectó el virus en distintas regiones y se registraron 4 casos en humanos. En 2010, se observó un cambio aparente en la situación epidemiológica ya que, por primera vez en más de 10 años, se detectaron varios casos confirmados en humanos, en las provincias del norte y centro del país, nunca antes afectadas por la infección (Figura 29). Se descubrió mediante investigaciones moleculares que estos episodios de FNO fueron causados por la línea 2 del virus. Entre 2010 y 2013, se describieron 107 casos de FNO en humanos de distintos distritos de toda Rumanía (Di Sabatino, D. et al., 2014).

En 1997, se diagnosticó un brote de FNO en el sur de Moravia, República Checa, con 5 casos entre la población humana (Hubalek, Z. et al., 1999). Se ha sugerido que el virus aislado tras este brote a partir de mosquitos *Culex pipiens* (Figura 25) recogidos en la zona, y tras realizar estudios filogenéticos del mismo, se trata de una nueva línea

## INTRODUCCIÓN

(Línea 3) de VNO, o bien de un nuevo flavivirus del complejo encefalitis japonesa (Bakonyi, T. et al., 2005).

**Tabla 20. Brotes de FNO en Europa y la cuenca mediterránea (1994-2010).**

Año(s)	País	Carácter	Especie(s) afectada(s)
1994	Argelia	Epidémico	Humanos
1996	Rumanía	Epidémico	Humanos
1996	Marruecos	Epidémico	Caballos
1997	Túnez	Epidémico	Humanos
1998	Italia	Epidémico	Caballos
1997-2001	Israel	Epidémico	Humanos, caballos, aves
1998	Georgia		Humanos
1999	Rusia	Epidémico	Humanos
2000	Francia	Epidémico	Caballos
2003	Francia	Esporádico	Caballos, humanos
2003	Túnez	Epidémico	Humanos
2004	Portugal	Esporádico	Humanos
2004	España	Esporádico	Humanos
2004	Francia	Esporádico	Aves, caballos
2004	Israel	Esporádico	Humanos
2004	Hungría	Esporádico	Aves
2006	Francia	Esporádico	Caballos
2007	España	Esporádico	Aves
2008	Austria	Esporádico	Aves
2008-2010	Italia	Epidémico	Caballos, humanos, aves
2010	Grecia	Epidémico	Humanos, aves
2010	Marruecos	Epidémico	Caballos
2010	España	Epidémico	Caballos, humanos
2010	Rusia	Epidémico	Humanos
2010	Bulgaria	Epidémico	Caballos
2010	Rumanía	Esporádico	Humanos
2010	Hungría	Esporádico	Humanos
2010	Israel	Esporádico	Humanos

Fuente: Sotelo, E. et al., 2012.

Se conocen, hasta el momento, 3 afectados por el VNO en **Alemania**, el último de ellos se produjo a finales de 2004. Parece ser que, en todos los casos, se trató de casos importados de la enfermedad (Robert Koch-Institut, 2004).

En julio de 2004, el NVRL irlandés informó de dos casos sospechosos de padecer infección por VNO en el NDSC. Se trataba de dos pacientes que pasaron sus vacaciones en el sur de Portugal, en la región del Algarve, durante el verano. El

## INTRODUCCIÓN

diagnóstico se realizó mediante la detección de IgM específica para VNO en los dos casos (Connell, J. et al., 2004).

En **2010**, en particular, tuvo lugar un significativo aumento de casos humanos en Europa (342 casos clínicos, 41 muertes), en Grecia, Hungría, Rumanía, Italia y España (Figura 29) (Tabla 20). El brote en Grecia fue el peor que ha ocurrido en la UE hasta la actualidad, con 35 fallecidos, 261 infectados, entre los que se contaron 197 casos neuroinvasivos. El agente causal aislado fue la línea 2 del VNO (Di Sabatino, D. et al., 2014). Las otras muertes por la enfermedad se produjeron en Rumanía y Hungría (5 y 1 casos mortales, respectivamente) (Sotelo, E. et al., 2012). Entre 2011 y 2013, en Grecia, se detectaron 348 casos en humanos que incluyeron casos mortales. A la cepa aislada se le denominó Nea Santa-Grecia-2010, genéticamente muy relacionada con la cepa de la línea 2 que provocó el brote en Hungría, en 2004 (Di Sabatino, D. et al., 2014).

En Hungría se detectaron casos esporádicos de infección en humanos, en caballos, en aves silvestres y en ovejas, entre 2004 y 2007 (Tabla 20). Posteriormente, entre 2010 y 2013, se notificaron 54 casos más en humanos de este país, en este caso producidas por la línea 2 del VNO (Di Sabatino, D. et al., 2014).

En Polonia se llevó a cabo un estudio de la seroprevalencia del virus entre los años 2010 y 2014, y se tomaron muestras de aves silvestres, de caballos y de humanos con meningitis de diferentes zonas de todo el país. Los análisis de las muestras se realizaron mediante la técnica de ELISA competitivo, resultando en un 13,29% de aves positivas, un 0,26% de caballos positivos y un 33,33% de personas positivas frente al VNO (Niczyporuk, J.S. et al., 2014).

En **Italia**, hasta 2008, no se habían observado casos de FNO en humanos pero, entre 2008 y 2011, se contabilizaron 43 casos en 5 regiones italianas, con un 16% de mortalidad, y en 2012, 28 casos nuevos de esta enfermedad (Di Sabatino, D. et al., 2014). En el verano de 2013, ocurrió un brote de FNO en la región de Lombardía, en el norte de Italia, al oeste de otros distritos afectados en años previos. Se diagnosticaron 18 casos de infección por el VNO en humanos, 10 de enfermedad neuroinvasiva y 8 de fiebre, y, además, en el mismo periodo, se detectó el virus en 11 caballos, en un cuervo y en mosquitos (Rovida, F. et al., 2015). En 2013, se contabilizaron en total 40 casos neuroinvasivos en humanos y, además, 30 personas resultaron positivas frente al VNO tras los análisis en distintas regiones del país. Se demostró la circulación simultánea de ambas líneas del VNO en Italia (Di Sabatino, D. et al., 2014) (Figura 29).

En Albania, en 2011, se detectaron 49 casos en humanos y se confirmó la línea 2 del VNO como el agente causal (Di Sabatino, D. et al., 2014).

En 2012, en los países Balcanes, Croacia, Serbia, Montenegro, Kosovo y Macedonia, se detectaron casos por el VNO en humanos, en algunos de ellos, por

## INTRODUCCIÓN

primera vez en su historia y, en años posteriores, se observaron casos nuevos. En Bosnia-Herzegovina, en 2012, se notificaron por primera vez casos de FNO en personas y, en 2013, se confirmaron 3 nuevos casos humanos en distintos cantones. En Serbia, en 2012 y 2013, se detectaron 373 casos en humanos y se descubrió que el agente causal era la línea 2 del VNO, muy relacionada con las cepas circulantes en países vecinos, como Grecia y Hungría (Di Sabatino, D. et al., 2014).

También se han detectado casos de FNO en humanos en Bulgaria, en 2012, y en Ucrania, entre 2011 y 2013, contabilizándose más de 20 casos (Di Sabatino, D. et al., 2014).

### El VNO en **España**:

Los primeros datos de presencia del VNO en España se remontan a la década de los 60. El primer estudio se llevó a cabo en el **norte** de España, descubriéndose mediante inhibición por hemoaglutinación que el 16,5% de las personas estudiadas presentaban anticuerpos frente al VNO (Marín, S. et al., 2007).

En un estudio realizado en el **delta del Ebro**, durante el año 1980, se analizaron 1.037 muestras de sangre procedentes de humanos residentes en la zona, detectándose mediante inhibición por hemoaglutinación que un 8% de las personas estudiadas presentaban anticuerpos frente al VNO (Lozano, A. y Filipe, A.R., 1998).

En la zona **suroeste** de España se analizó la prevalencia de infecciones pasadas y recientes por el VNO, así como los factores de riesgo asociados con la exposición al mismo, en una muestra representativa de la población humana. En este estudio se encontró una prevalencia del 0,6% mediante la técnica de seroneutralización, de un total de 504 sujetos estudiados (Sotelo, E. et al., 2012). Se comprobó que, principalmente, se vieron afectadas personas de edad avanzada que vivían en áreas rurales, así como aquellas con profesiones de riesgo (Bernabeu-Wittel, M. et al., 2007).

En octubre del año 2003, se describió un caso de FNO en un paciente en Francia, que viajó a Alicante en las dos semanas previas a la aparición de los signos clínicos (Marín, S. et al., 2007).

El **primer** caso de FNO en España tuvo lugar en septiembre de 2004. Un joven fue infectado por picadura de mosquito en un pueblo de Badajoz, en la misma época en que sucedía un brote de la enfermedad en Portugal (Marín, S. et al., 2007) (Sánchez, A. et al., 2013).

En septiembre de 2010, un hombre de 60 años, natural de Chiclana, fue ingresado con síntomas de meningitis en el hospital de Puerto Real (Cádiz), afectado por el VNO. Fue el primer caso en humanos confirmado en Andalucía y, por tanto, el **segundo** de España (Vega, S. et al., 2010).

## INTRODUCCIÓN

En Andalucía, en 2010 y en 2011, se contabilizaron finalmente dos casos no letales en humanos que cursaron con meningoencefalitis, ambos residentes en la zona afectada de Cádiz (Sánchez, A. et al., 2013), así como 42 casos en équidos, en los que sí hubo 10 muertes, siendo los primeros casos descritos en España (Pradier, S. et al., 2012) (Di Sabatino, D. et al., 2014) (Tabla 20).

### *1.2.4.3. Patogenia*

Los estudios serológicos sugieren que, mientras que la mayoría de infecciones por el VNO son **asintomáticas**, aproximadamente el 20-30% de los individuos infectados desarrollan un cuadro febril característico de la FNO (Petersen, L.R. y Marfin, A.A., 2002). En 1 de cada 150 afectados, se desarrolla enfermedad neuroinvasiva (Petersen, L.R. y Roehrig, J.T., 2001), siendo los individuos de mayor riesgo las personas de edad avanzada y los pacientes inmunodeprimidos (Nash, D. et al., 2001) (Bode, A.V. et al., 2006).

A partir de modelos desarrollados en ratón se ha podido comprender el mecanismo de diseminación y patogénesis del VNO. Tras la inoculación del virus por parte del vector, éste comienza a replicarse en las células dendríticas de Langerhans de la piel. Desde aquí se produce una diseminación hacia los ganglios linfáticos regionales y torrente sanguíneo, produciéndose una viremia y subsiguiente infección de los tejidos distantes, como el riñón y el bazo (Diamond, M.S. et al., 2003). Al final de la primera semana post-inoculación, el VNO es detectado en suero y órganos periféricos, produciéndose la infección del sistema nervioso central en algunos pacientes. Aunque la presencia del VNO en sangre suele ser de unos 5 días, se ha documentado una infección persistente en un paciente inmunodeprimido, el cual mostró una viremia de más de 60 días (Marín, S. et al., 2007). Los roedores que padecen infección con enfermedad neurológica desarrollan un cuadro similar al observado en seres humanos, incluyendo infección y lesiones del tronco cerebral, hipocampo y neuronas de la médula espinal (Diamond, M.S. et al., 2003) (Shrestha, B. et al., 2003). La infección por el VNO no se detecta de forma significativa en células del SNC no neuronales, ni en humanos ni en animales.

El mecanismo por el que el VNO y otros flavivirus neurotrópicos atraviesan la barrera hematoencefálica permanece aún **desconocido**. La penetración del virus en el sistema nervioso central parece seguida de una estimulación de receptores e incremento de los niveles de factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), el cual aumenta la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (Wang, T. et al., 2004). Es probable que, en la infección del VNO al SNC, al menos en parte, por diseminación vía hematogena, exista una relación directa entre la carga viral en suero y la entrada temprana del virus en el cerebro (Samuel, M.A. y Diamond, M.S., 2006).

## INTRODUCCIÓN

El VNO infecta directamente las **neuronas**, sobre todo, en el núcleo profundo y materia gris del cerebro, tronco cerebral y médula espinal (Guarner, J. et al., 2004) (Ceccaldi, P.E. et al., 2004). La destrucción colateral de células nerviosas circundantes puede contribuir a la aparición de parálisis. El daño tisular inmunomediado puede contribuir a la aparición de cambios patológicos en algunos casos (Leis, A.A. y Stokic, D.S., 2005). Tras la infección, se produce una respuesta inmunitaria, en el que están implicados los interferones tipo I (IFN- $\alpha$  y IFN- $\beta$ ), tipo II (IFN- $\gamma$ ) y tipo III (IFN- $\lambda$ ), que actúan como controles innatos del sistema inmunitario en infecciones virales, las moléculas inductoras de IFN, el sistema del complemento, la inmunidad celular y la respuesta humoral (Samuel, M.A. y Diamond, M.S., 2005) (Marín, S. et al., 2007).

Parece ser que muchas infecciones por VNO no fatales pueden estar relacionadas con la respuesta inmunitaria del hospedador, por ejemplo, en zonas donde existe presencia de otros flavivirus antigénicamente relacionados, que pudieran conferir cierta inmunidad frente al virus.

### **1.2.4.4. Cuadro clínico**

El espectro de sintomatología de la enfermedad varía según la cepa del virus que produzca la infección, el estado inmunitario del paciente, la edad y la especie infectada.

En la especie equina, normalmente la infección no suele manifestar síntomas clínicos.

En los cuadros clínicos, la **fiebre** puede preceder a la sintomatología nerviosa, pero también puede tratarse del único signo de la infección por el VNO en esta especie. En cualquier caso, se trata de un signo clínico poco significativo. En algunos casos, el periodo febril tampoco se observa, como ocurrió en el brote de Italia de 1998. El resto de los signos clínicos de la FNO en caballos son exclusivamente neurológicos, reflejando la patología en el SNC. Esta ocurre principalmente en el rombencéfalo, mesencéfalo y médula espinal, siendo la corteza cerebral menos afectada que en el caso de humanos (Marín, S. et al., 2007).

La **lesión** en la médula espinal suele ser variable, con signos de ataxia (simétrica o asimétrica) del tercio posterior o paresia, acompañadas de debilidad muscular (Wilkins, P.A. y Del Piero, F., 2004) (Figura 30). También se puede encontrar al caballo con tetraparesia y postración, que puede ser progresiva o presentarse de forma fulminante. Generalmente, en los animales con esta sintomatología se observa un movimiento característico de pedaleo, apareciendo lesiones en las extremidades debido al golpeo con el suelo (Cantile, C. et al., 2002).

Los caballos con afectación **neurológica** por VNO son muy sensibles a estímulos dolorosos, manifestando reacciones extremas ante estímulos táctiles. La sedación

## INTRODUCCIÓN

puede resultar dificultosa, ya que se suelen necesitar dosis superiores a las habituales, por lo que debe ser controlada con precaución (Wilkins, P.A. y Del Piero, F., 2004). Frecuentemente, se describen fasciculaciones musculares y tremores, con convulsiones de la cabeza, espalda y tronco, especialmente en casos graves (Wilkins, P.A. y Del Piero, F., 2004). A pesar de la gravedad de los signos, no suele haber afectación de los pares craneales y los animales que permanecen postrados suelen alimentarse y beber con normalidad. En algunos casos se ha señalado leve depresión del sensorio acompañada de ptosis labial (Cantile, C. et al., 2002) (Figura 31).



**Figura 30. Paresia en un caballo infectado por el VNO**  
(<http://www.ahsequilink.co.za/west-nile-virus>).

En determinados brotes de **EEUU** se llegaron a observar signos derivados de daño en la médula oblongada, puente, tálamo, formación reticular, cerebelo y corteza cerebral. Estos caballos presentaron ataxia, disimetría, estado mental anormal, desde somnolencia hasta hiperexcitación o agresividad, así como hiperestesia. Algunos animales presentaron parálisis facial, paresia de la lengua y disfagia, por daños en los pares craneales VII, XII y IX. Algunos caballos no se recuperaron de la infección y murieron espontáneamente, o fueron eutanasiados. La mortalidad en algunos brotes se estimó en valores muy elevados (Ostlund, E.N. et al, 2000) (Ostlund, E.N. et al, 2001) (Marín, S. et al., 2007).



**Figura 31. Estado de depresión sensorial en un caballo infectado.**

## INTRODUCCIÓN

En caballos, la evolución puede ser **favorable**, con una recuperación progresiva y completa de la función motora, o desfavorable, con tetraparesia y tetraplejia que culmina en decúbito irreversible, normalmente de 1 a 9 días tras la aparición de los signos neurológicos (Cantile, C. et al., 2002).

### ➤ Cuadro clínico en el ser humano

Tras la picadura del mosquito, se inicia un periodo de incubación de entre 2 y 15 días. Muchos de los casos de infección por el VNO son **asintomáticos**. En un 15-30% de los infectados, el paciente sufre una enfermedad febril moderada, generalmente caracterizada por brusca aparición de pirexia, cefalea, mialgia, malestar, anorexia, náuseas y vómitos. Esta sintomatología se puede prolongar entre 2 y 5 días (Nash, D. et al., 2001).

La máxima viremia aparece a los 4-8 días post-infección y es de corta duración. La recuperación suele ser **completa** y la infección confiere inmunidad duradera (Sánchez, A. et al., 2013).

Aproximadamente el 50% de los afectados sufre **erupción** roseolar o maculopapular que afecta principalmente a la cara y al tronco, y puede durar hasta una semana (Figura 32). En algunos casos, también se ha observado hepatitis fulminante, pancreatitis y miocarditis asociadas a infección por el VNO. En, aproximadamente, 1 de cada 150 casos, aparece enfermedad **neurológica**, estando involucrado el SNC. Los principales cuadros clínicos son meningitis, meningoencefalitis, encefalitis y/o mielitis, asociados con fiebre alta (Marín, S. et al., 2007). También se clasifica en 3 síndromes: encefalitis (55-60% de los cuadros de enfermedad neuroinvasiva), meningitis (35-40%) y pseudopolio mielitis (5-10%) (Sánchez, A. et al., 2013).



**Figura 32. Erupción maculopapular habitual en la FNO en humanos**  
(<http://www.mdpi.com/1999-4915/6/2/606/htm>).

Otras presentaciones neurológicas incluyen parálisis flácida aguda, ataxia y signos extrapiramidales, polirradiculitis, neuritis ocular y ataques epilépticos.

## INTRODUCCIÓN

La debilidad muscular es uno de los signos más comunes de los pacientes con encefalitis por VNO. Al principio, fue atribuida a un proceso de desmielinización en el cuerno espinal anterior, produciendo un síndrome asociado a poliomielitis.

Nuevos síndromes incluyen tremores, mioclonos, movimientos parkinsonianos y rabdomiolisis.

La **edad** avanzada es el factor más importante para desarrollar enfermedad neurológica.

Los pacientes sin enfermedad neurológica habitualmente se recuperan en 2-5 días. Si existe enfermedad neurológica, generalmente se produce una mortalidad del 10%, con una lenta recuperación de los pacientes que sobreviven a la infección, que, además, sufren secuelas en muchos casos (cefalea crónica, fatiga, pérdida de memoria, dificultad locomotora, debilidad muscular) (Marín, S. et al., 2007).

Se han descrito también, aunque con muy poca frecuencia, cuadros fulminantes de miocarditis, pancreatitis y hepatitis (Sánchez, A. et al., 2013).

### **1.2.4.5. Lesiones**

Las lesiones macroscópicas no son frecuentes en caballos. Si ocurren, en general, se limitan a pequeñas áreas multifocales de decoloración y hemorragia en la médula espinal, tronco cerebral y mesencéfalo. En los casos agudos, pueden estar congestionadas las meninges y también pueden presentar hemorragias. Son infrecuentes las lesiones tisulares macroscópicas, salvo las del **SNC**. Las lesiones histopatológicas se caracterizan por poliomeningoencefalitis linfocítica o histiocítica, con presencia de manguitos perivasculares de células mononucleares, degeneración neuronal, neuronofagia y gliosis focal. Estas lesiones se manifiestan principalmente en el tallo cerebral inferior y en la médula espinal, y también pueden aparecer en el cerebro medio. Son menos frecuentes en la corteza cerebral y cerebelosa. En algunos caballos se ha observado miocarditis no supurativa leve, hemorragias dispersas en la médula renal y depleción linfoide en el bazo (Vega, S. et al., 2010).

#### ➤ Lesiones en el ser humano

En los casos mortales, los hallazgos patológicos de encefalitis por VNO incluyen inflamación perivascular, nódulos microgliales, necrosis variable y pérdida de neuronas. En los pacientes con parálisis flácida se observa infiltración linfocitaria perivascular en la médula espinal, nódulos microgliales y pérdida de células del cuerno anterior. La inflamación de la médula espinal se observó en 17 de 23 personas que murieron por FNO con enfermedad neuroinvasiva.

## INTRODUCCIÓN

La inflamación endoneural mononuclear de las raíces de pares craneales se ha detectado en un pequeño porcentaje de pacientes. Los focos de desmielinización, gliosis e infiltrados perivasculares ocasionales se han encontrado en personas con cuadros clínicos prolongados.

Los hallazgos más característicos en pacientes sometidos a una RMN son anomalías **bilaterales** localizadas en los ganglios basales y en el tálamo, a nivel de T2, secuencias de recuperación inversa atenuada por el fluido (FLAIR, en sus siglas en inglés) y de imagen difusa peso-dependiente, indicando neurotropismo viral por estas estructuras grises profundas (Sejvar, J.J., 2014).

### **1.2.4.6. Tratamiento**

A pesar de que no existe tratamiento específico para la FNO, y de que la sintomatología puede ser muy severa, el hecho de que muchos animales puedan tener una curación total, hace **indicado** el tratamiento en ocasiones.

Al igual que en el caso de otra enfermedad con signos neurológicos graves, los animales necesitan cuidados intensivos, con alimentación forzada, retirada manual de heces, antibioterapia, antiinflamatorios, sedación y confinamiento en un box. Inicialmente, se debe tratar a los animales con corticoesteroides como la dexametasona o la prednisolona. Tras las primeras 48 horas y para evitar los efectos colaterales de los corticoides, se continuará con AINEs como la fenilbutazona o el flunixin meglumine. También es necesaria la terapia antibiótica para evitar infecciones secundarias y contaminación de las heridas provocadas por las convulsiones o úlceras de decúbito. Si aparecen convulsiones, se puede usar pentobarbital sódico, diazepam o fenobarbital (Marín, S. et al., 2007) (Furr, M. y Reed, S., 2008).

También se puede ensayar la terapia con **sueros** de anticuerpos anti VNO. Este producto contiene una alta cantidad de anticuerpos de tipo IgG neutralizantes, pudiendo ser utilizados en animales no vacunados, o bien en animales vacunados en periodo de incubación del virus o inmunodeprimidos.

La terapia es empírica y similar al tratamiento por otras causas de encefalomyelitis viral. Los casos leves, algunas veces, se recuperan sin tratamiento (Vega, S. et al., 2011).

Una de las aproximaciones terapéuticas más esperanzadoras es la **inmunoterapia**. Otras terapias prometedoras se basan en el empleo de oligómeros antisentido, inhibidores del péptido de fusión o de la glicosilación, y compuestos sintéticos derivados de búsquedas automatizadas en librerías químicas (Sotelo, E. et al., 2012).

## INTRODUCCIÓN

### ➤ Tratamiento en el ser humano

En humana, no se dispone de ningún tratamiento específico más que la terapia de **sostén**. En algunos casos, se puede requerir de terapia intensiva y asistencia respiratoria mecánica. Se están evaluando, en ensayos clínicos, diversos tratamientos como interferón, nucleótidos antisentido e inmunoglobina intravenosa. Únicamente existen algunas experiencias *in vitro*, que esperan poder confirmarse *in vivo*, como, por ejemplo, la ribavirina o el interferón-alfa 2b. También se ha descrito una mejoría importante tras la administración de un preparado de inmunoglobulinas en Israel, en el que después se demostró que existían anticuerpos frente al virus (Vega, S. et al., 2011).

### 1.2.4.7. Profilaxis y Salud pública

Existen cuatro vacunas para caballos y una para gansos domésticos, registradas en EEUU. De ellas, dos están basadas en virus inactivados, una es un virus vivo recombinante, otra un virus quimérico, y en la última, el inmunógeno consiste en ADN desnudo. En Europa, hay varias vacunas para el VNO, registradas en la Agencia Europea del Medicamento (para uso en caballos) (Sotelo, E. et al., 2012).

La prevención ideal es mediante **vacunas** de uso veterinario (Furr, M. y Reed, S., 2008) (Figura 33). En EEUU, se comercializan dos vacunas para caballos:

- West Nile-Innovator<sup>®</sup>, es una vacuna inactivada aprobada para su uso en caballos, la cual se utiliza en animales jóvenes y adultos.
- RecombiTEK<sup>®</sup>, una vacuna recombinante desarrollada para conferir protección frente a la infección en caballos, en el perro y en el gato (Grosenbaugh, D.A. et al., 2004).

En Europa, podemos encontrar diferentes vacunas para la prevención en caballos como, por ejemplo:

- Proteq West Nile<sup>®</sup>, que protege frente a los dos linajes del virus. Contiene virus Canaripox recombinante *West Nile*.
- Equilis West Nile<sup>®</sup>, que contiene el virus inactivado, concretamente, una cepa denominada virus del Nilo Occidental-Fiebre Amarilla (YF-WN).
- Equip WNV<sup>®</sup>, vacuna con el virus inactivado, cepa (VM-2).

Se recomienda que los animales reciban dos dosis de esta vacuna, con un intervalo de 3 a 6 semanas, durante el primer año de vacunación, revacunando con una dosis, anualmente. Debería realizarse la vacunación de los animales al principio de la estación estival. Para caballos no vacunados previamente se debe vacunar en los meses de marzo/abril con una serie de dos dosis, con intervalo de 3 a 4 semanas. Se debe evitar vacunar yeguas gestantes. Para la vacunación de animales jóvenes se

## INTRODUCCIÓN

comenzará a los 3 meses de edad, si la madre no fue vacunada, o a los 4-6 meses de edad, si la madre fue inmunizada previamente. Se utilizan 3 dosis con un intervalo de 3-4 semanas entre la primera y la segunda dosis, y de 6-8 semanas entre la segunda y la tercera.



**Figura 33. La vacunación frente al VNO.**

Para controlar al mosquito, es necesario **reducir** su número. La mayoría de especies transmisoras del VNO tiene un hábitat limitado, reproduciéndose normalmente en contenedores y objetos que contienen agua estancada. Las poblaciones de mosquitos se reducen limitando sus lugares de reproducción, al drenar las aguas estancadas o al eliminar todos aquellos residuos urbanos que puedan albergar pequeñas cantidades de agua.

El uso de **larvicidas**, en lugares donde no se pueda eliminar el agua estancada, también puede ser útil. *Bacillus thuringiensis* var. *israeliensis* y *Bacillus sphaericus* son dos larvicidas con acción biológica, que se utilizan habitualmente mezclados con metopreno, un regulador bioquímico que interfiere en la maduración del mosquito. Para el control de mosquitos adultos se emplean campañas de fumigación con organofosforados y piretrinas. Se suelen realizar estas fumigaciones en las zonas donde se ha iniciado un brote, para reducir la transmisión de la enfermedad a otros humanos o animales.

En algunas áreas se pueden abastecer los estanques de peces mosquito, *Gambusia affinis*, que se alimentan de larvas (Vega, S. et al., 2011).

En la mayoría de los casos, las infecciones por VNO se pueden prevenir evitando las picaduras de mosquito. Las personas y los caballos deben evitar la exposición a los mosquitos, especialmente durante el crepúsculo y al alba, cuando son más activos, los caballos manteniéndolos en el interior de los establos en esos momentos de mayor riesgo de picadura. Se recomienda también utilizar pantallas y repelentes contra insectos.

## INTRODUCCIÓN

Los programas de **vigilancia** de aves salvajes, aves centinela, aves muertas y mosquitos permiten a las autoridades competentes tomar las medidas apropiadas para proteger a los animales y al hombre. Se debe informar la aparición de aves muertas o enfermas, a los organismos de salud, agricultura o los que están relacionados con el control de mosquitos. Como las aves de la familia de los cuervos son muy sensibles, estos programas favorecen la notificación de los casos de cuervos muertos a fin de realizar las pruebas de detección (Figura 27). Los veterinarios, conservadores y biólogos de la fauna silvestre y otras personas en contacto con animales deben adoptar buenas prácticas de higiene y bioseguridad, se deben proteger las membranas mucosas y la piel del contacto con material infeccioso, y se debe usar ropa y guantes de protección al practicar necropsias. Los carnívoros no deben ser alimentados con carne que podría estar contaminada con VNO.

Muchos **desinfectantes** pueden destruir el VNO, entre ellos, soluciones de hipoclorito de sodio (500-5000 ppm de cloro disponible), peróxido de hidrógeno al 2-3%, glutaraldehído al 2%, formaldehído al 3-8%, etanol, yodo al 1% y yodóforos fenólicos. También se inactiva mediante luz ultravioleta, rayos gamma y con temperatura (30-56°C).

La FNO debe **notificarse** a la OIE. Los requisitos de notificación de la enfermedad a las naciones miembro de la OIE y las pautas de importación/exportación pueden encontrarse en el Código Sanitario para los animales terrestres de la OIE. Los veterinarios que encuentren un caso de la FNO deben seguir las normas nacionales y/o locales para la notificación y pruebas de diagnóstico de la enfermedad (Vega, S. et al., 2011).

En relación con el VNO, se recomienda a los centros de transfusión sanguínea que, como medida cautelar, procedan a la exclusión temporal durante 28 días, de potenciales donantes de sangre y otros componentes, provenientes de los lugares donde se están produciendo casos humanos, para evitar la vía **yatrogénica** de transmisión. Así mismo, en zonas de riesgo, se tomarán todas las medidas oportunas de anamnesis, control y seguimiento de los donantes, y se llevará a cabo el análisis de sus donaciones con el fin de evitar posibles contagios (Sánchez, A. et al., 2013).

### ➤ Vigilancia del VNO

Todos los países en los que se han detectado casos de la enfermedad, así como todos aquellos que tengan el riesgo de padecer la infección, bien debido a los patrones de migración de las aves como a la presencia de mosquitos vectores del virus (como es el caso de España), deben tomar **acciones** de vigilancia del VNO.

La vigilancia del VNO debe ser desarrollada a nivel local y concentrada en los puntos de mayor riesgo de aparición del virus. Casi todos los brotes epidémicos

## INTRODUCCIÓN

ocurridos en Europa han sucedido en áreas próximas a humedales, con abundantes poblaciones de aves migratorias y residentes, así como mosquitos, por lo que es en estas zonas donde se deben concentrar las tareas de vigilancia del VNO (Marín, S. et al., 2007).

Los équidos juegan un papel destacado como centinelas, ya que una alta exposición a la actividad del mosquito, hace que estos animales tengan mayor probabilidad de ser infectados que las personas.

Un estudio epidemiológico pasivo se llevó a cabo en España, entre 2010 y 2011, en équidos, para desarrollar un esquema de decisión diagnóstico-predictivo frente a la FNO. Se determinó que el mes de afectación y 4 signos clínicos, déficits en nervios craneales, parálisis en extremidades, fotofobia y descarga nasal, eran **presuntivos** de diagnóstico de FNO en caballos. El examen clínico de caballos con signos neurológicos y no vacunados frente al VNO proporciona claves importantes para la detección clínica precoz de la FNO y, por tanto, sirven como una alerta frente a posibles infecciones virales en humanos (Saegerman, C. et al., 2014).

La **vigilancia** del VNO se debe llevar a cabo en cuatro bloques:

- Vigilancia activa de mosquitos.

Dicha vigilancia se realiza mediante la recogida de muestras de mosquitos para su análisis y determinación de la presencia del VNO. Esto tiene tres ventajas fundamentales: monitorizar y cuantificar la amplitud de la infección, identificar vectores relevantes y conocer las medidas de control que se deben de tomar en cada zona, en un momento determinado.

- Vigilancia pasiva veterinaria.

De forma periódica se deben recoger muestras de suero de caballos que vivan en las áreas de riesgo, así como remitir muestras de cualquier animal con signos de enfermedad neurológica sin determinar. De la misma forma, debe realizarse para cualquier otra especie de mamífero sospechoso de padecer enfermedad neurológica.

- Vigilancia activa de aves.

En todas las zonas de riesgo, la vigilancia del VNO en aves se debe realizar de forma rutinaria y exhaustiva. Normalmente, se toman muestras de aves muertas, se realizan capturas de aves para estudios de seroprevalencia y se utilizan aves centinela para detectar el VNO en una zona determinada.

- Vigilancia pasiva en humanos.

Todos los casos de personas ingresadas en hospitales de zonas de riesgo, con cuadros febriles, con meningitis, encefalitis o meningoencefalitis aséptica, cuyo origen

## INTRODUCCIÓN

sea desconocido, deberían ser estudiados mediante la recogida de muestras de suero o líquido cefalorraquídeo para su posterior análisis en laboratorios de referencia.

### ➤ Medidas de protección humana

Para uso humano, se han desarrollado dos tipos de **vacunas** recombinantes. La primera de ellas se preparó utilizando un virus similar al VNO, pero sin el neurotropismo de éste. La vacuna se preparó con una cepa atenuada del virus del Dengue tipo 4, en el que se sustituyeron los genes inductores de anticuerpos neutralizantes por los genes equivalentes del VNO.

La segunda vacuna que se ha elaborado es la ChimeriVax-*West Nile*<sup>®</sup>. En modelos experimentales preclínicos, la vacuna induce niveles elevados de anticuerpos neutralizantes y se ha demostrado que protege frente a la exposición a cepas del VNO salvaje. Esta vacuna se ha preparado con una cepa de virus recombinante preparada a partir de la cepa atenuada 17D del virus de la Fiebre Amarilla, utilizada para las vacunas frente a esta infección. Existe otra vacuna de ADN que está todavía en fase experimental.

Dado que la FNO no tiene tratamiento y que actualmente la vacunación en seres humanos está en fase de ensayos experimentales y preclínicos, la mejor medida para prevenir la infección y reducir la morbilidad es impidiendo el **contacto** entre humanos y mosquitos potencialmente infectados por el VNO. Las principales herramientas de prevención son las medidas de protección personal y el control de la actividad del mosquito.

El **DEET** es un insecticida de amplio espectro efectivo contra muchas especies de mosquito y otros insectos picadores. Su utilización es muy segura, incluso, en niños mayores de dos meses y mujeres gestantes. Además de su uso sobre la piel y ropas, también se puede emplear sobre mascotas, mosquiteras y caballos.

La **permetrina** es un piretroide sintético que puede ser usado conjuntamente como adyuvante del DEET. La permetrina, eficaz contra garrapatas y otros insectos picadores, mantiene una larga actividad cuando se emplea sobre la ropa, pero se inactiva en contacto con la piel, por lo que no será útil para la aplicación cutánea (Marín, S. et al., 2007).

### 1.2.5. Arteritis viral equina

#### 1.2.5.1. Etiología

La arteritis viral equina (AVE) es una enfermedad causada por un virus ARN del género *Arterivirus*, familia *Arteriviridae* y del orden *Nidovirales* (*World Organisation for Animal Health*, 2013). Se trata de un virus recubierto de membrana, esférico, de

## INTRODUCCIÓN

cadena positiva de ARN, de 50-70 nm de diámetro (Figura 34). El virión comprende un núcleo isométrico rodeado por una membrana lipídica, de la que sobresalen espículas. El ARN genómico viral, encapsulado por una única proteína de nucleocápside, se incluye dentro de la partícula nuclear. Dentro de la membrana vírica, se integran, al menos, tres proteínas integrales de membrana. El virus recibe su nombre de la inflamación distintiva que provoca en la capa muscular de las pequeñas arterias en la fase aguda de la infección (Holyoak, G.R. et al., 2008). Es un virus no transmitido por artrópodos, clasificado como miembro del nuevo orden *Nidovirales*, junto con la familia *Coronaviridae*, y dentro de la familia *Arteriviridae*, junto con el virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino, con el virus de la fiebre hemorrágica de los simios, y con el virus elevador de la LDH (Del Piero, F., 2000).

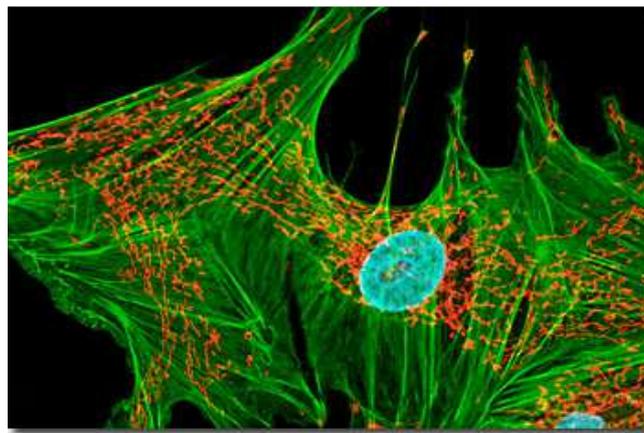


Figura 34. Imagen microscópica del VAE  
(<http://fluoview.magnet.fsu.edu/gallery/cells/nbl6/nbl6cells.html>).

Genéticamente, es similar a los coronavirus pero presenta una estructura viral diferente y un antígeno fijador del complemento, y, además, carece de hemoaglutininas. Existe **diversidad genética** entre las cepas aisladas en las distintas investigaciones. Estas cepas varían geográfica- y temporalmente en su virulencia y en su potencial para inducir abortos (Holyoak, G.R. et al., 2008) (CFSPH, *Iowa State University*, 2009). Sólo se ha reconocido un serotipo, la conocida como cepa *Bucyrus* (Del Piero, F., 2000). Las cepas del virus de la AVE de Norteamérica y de Europa comparten, al menos, el 85% de su identidad nucleótida, y, según análisis filogenéticos, estos virus se clasifican en dos grupos geográficos, el norteamericano y el europeo, (Holyoak, G.R. et al., 2008) en función de diferentes proteínas estructurales, como la ORF5, la más ampliamente utilizada para este tipo de análisis. A su vez, el grupo europeo se puede dividir en dos subgrupos llamados EU-1 y EU-2 (Miszczak, F. et al., 2012). El limitado análisis genético realizado sugiere que las cepas del virus de la arteritis equina (VAE), aisladas de burros de Sudáfrica, difieren significativamente de las cepas encontradas en Europa y Norteamérica (CFSPH, *Iowa State University*, 2009).

## INTRODUCCIÓN

### 1.2.5.2. Epidemiología

El virus de la AVE puede ser transmitido por la vía **respiratoria** o por la **venérea** (Figura 35). Los caballos afectados de manera aguda excretan el virus en las secreciones respiratorias y la transmisión vía aerosol es habitual cuando se reúnen muchos caballos en carreras, espectáculos, ferias y en otros acontecimientos. El virus también se ha encontrado en la orina y en las heces en la fase aguda de la infección. Se localiza en el tracto reproductivo de yeguas infectadas en la fase aguda y en el de sementales infectados, tanto en la aguda como en la crónica. En las hembras, el virus se puede encontrar en las secreciones vaginales y uterinas, así como en los ovarios y en los oviductos por un corto periodo de tiempo tras la infección. Las yeguas infectadas al final de la gestación pueden dar a luz potros infectados. Los sementales eliminan el virus en el **semen** y pueden ser portadores durante años. Algunos portadores pueden llegar a superar la infección y eliminarla. No se ha descrito el estado de portador real en yeguas, castrados ni en potros sexualmente inmaduros, sin embargo, sí que ocasionalmente se puede encontrar el virus hasta 6 meses en el tracto reproductivo de potros mayores prepúberes (CFSPH, *Iowa State University*, 2009).

El VAE se puede transmitir también mediante **fómites**, incluido el equipamiento, y puede ser diseminado mecánicamente por los humanos o los animales (CFSPH, *Iowa State University*, 2009).

La **supervivencia** del VAE depende de la temperatura. Aunque puede resistir sólo 20-30 minutos a 56 °C y, de 2 a 3 días, a 37 °C, puede sobrevivir hasta 75 días a 4 °C. Fluido de cultivo tisular o muestras tisulares que contengan el VAE se pueden conservar a -70 °C durante muchos años, sin perder su capacidad de infección. De todas maneras, el virus se puede inactivar fácilmente mediante disolventes lipídicos (éter y cloroformo), desinfectantes y detergentes comunes (Holyoak, G.R. et al., 2008).



Figura 35. Transmisión venérea del VAE.

## INTRODUCCIÓN

La AVE es una enfermedad, casi exclusivamente, de los **équidos**, y se han identificado anticuerpos contra el VAE en caballos, ponis, burros y cebras (CFSPH, *Iowa State University*, 2009). La enfermedad ocurre principalmente en caballos y ponis, aunque también se ha dado en burros infectados experimentalmente en Sudáfrica y en los EEUU. El VAE también se ha asociado a un caso de aborto en una alpaca en Alemania, basado en una reacción positiva a la prueba de la PCR (Holyoak, G.R. et al., 2008), por lo que también puede afectar a camélidos sudamericanos, como llamas y alpacas. El virus de la AVE no representa una amenaza para la salud humana (*World Organisation for Animal Health*, 2013).

La incidencia de seropositividad y de títulos de anticuerpos neutralizantes frente al VAE generalmente aumenta con la **edad**, sugiriendo que el virus circula dentro de la población equina (Glaser, A.L. et al., 1996). Cursa con elevada morbilidad y baja mortalidad, menor al 5% (Fortuny, J.P. y Gambini, A., 2008).

### ➤ Prevalencia de la AVE

Los muestreos serológicos han mostrado que la infección de la AVE ocurre en caballos de Norte- y Sudamérica, Europa, Australasia, África y Asia, con una variación considerable en la seroprevalencia de la infección entre países y dentro de la población equina en algunos de esos mismos países. Con respecto a esto, Islandia y Japón están aparentemente **libres** del virus, mientras que la infección es relativamente común en caballos de varios países europeos.

#### Prevalencia a nivel **mundial**:

En los **EEUU**, en 1984, tuvo lugar un brote de AVE que llegó a afectar a, aproximadamente, 40 explotaciones dedicadas a la reproducción. En 1993, ocurre otro brote de enfermedad, en este caso, en su variante respiratoria, que se originó en el hipódromo de Arlington en Illinois y se propagó posteriormente a Kentucky, Iowa y Nebraska (Barrandeguy, M., 2011).

En el 2000, se produce otro brote de enfermedad respiratoria en EEUU, en una yeguada de Kentucky, debido a la llegada de una yegua infectada de forma subclínica, y, en 2006, ocurre otro brote de la enfermedad en Nuevo Méjico que cursó principalmente con abortos (Barrandeguy, M., 2011).

Aunque las diferencias específicas entre razas podrían indicar diferencias genéticas inherentes que conferirían resistencia frente a la infección, son, más bien, un reflejo de los diferentes factores culturales y de manejo que existen entre las poblaciones equinas y entre razas. No existe ningún estudio que demuestre una susceptibilidad específica de raza, ni a la infección ni a la adquisición del estado de portador.

## INTRODUCCIÓN

El número de sementales **portadores** normalmente determina la prevalencia de la AVE dentro de las distintas razas y poblaciones equinas. El estado de portador, que ocurre en sementales infectados persistentemente, del 30 al 70% de aquellos expuestos, constituye la reserva natural del VAE, siendo los sementales portadores los transmisores del virus vía venérea a las yeguas susceptibles a través de la monta natural o mediante inseminación artificial (Figura 35). Esto es lo que tuvo lugar en los brotes de la enfermedad acaecidos en EEUU y en Francia. Lo que ocurre en los brotes de AVE es la emergencia y diseminación de variantes específicas del VAE, presentes en la población vírica localizada en el tracto reproductivo de sementales portadores individuales, sin embargo, se desconocen los mecanismos involucrados en la selección y emergencia de esas variantes víricas virulentas (Holyoak, G.R. et al., 2008).

En **Argentina**, el primer resultado serológico positivo fue en 1984, sin signos clínicos, dando negativo a las pruebas de aislamiento. En 1993, se declara otro caso de un semental importado seropositivo. Hasta 1994, Argentina era considerada libre de AVE y mantenía la prohibición de importación de équidos desde países con la enfermedad declarada. Es en el año 2001, mientras se realizan controles serológicos, cuando se detecta un semental seropositivo importado y se aísla el VAE por primera vez en Sudamérica a partir del semen de este caballo, dejando de ser Argentina país libre de AVE. Además, se detectó ácido nucleico viral en el plasma seminal mediante una técnica de PCR (Echeverría, M.G. et al., 2003). En 2002, se realizaron diferentes controles serológicos, resultando 14 positivos, de un total de 1.774 sementales evaluados. En dos haras relacionados con la explotación problema se llevaron a cabo análisis serológicos pareados de 439 muestras, resultando 8 positivas y correspondiendo a yeguas procedentes de la explotación origen del problema (Fortuny, J.P. y Gambini, A., 2008). Entre 2005 y 2008, se detectaron 31 muestras seropositivas frente a la AVE, de un total de 4.832 analizadas, de las que 27 pertenecían a caballos purasangres.

Así mismo, se llevó a cabo un estudio en **Colombia**, concretamente, en la región de Orinoquia, para determinar el estado actual de la AVE en su población equina. Se tomaron muestras de 100 caballos de diferentes municipios y se analizaron mediante la técnica de seroneutralización del virus, según las directrices de la OIE, obteniéndose una prevalencia del 0%, es decir, no había ningún caballo infectado en la población estudiada (Góngora, A. et al., 2014).

**Tabla 21. Prevalencias de AVE en distintos países del mundo.**

	Argentina	Brasil	Colombia	Argelia	Turquía
% Prevalencia	0,6	2	0	7,5	23,4

## INTRODUCCIÓN

En Australia se realizó, en 1998, un muestreo serológico en sementales, detectándose 22 individuos seropositivos importados desde EEUU, de los cuales 12 eran portadores asintomáticos (Barrandeguy, M., 2011).

En **Argelia**, entre 2009 y 2011, se tomaron 268 muestras de suero de caballos no vacunados y se analizaron mediante la prueba de neutralización del virus, obteniéndose una prevalencia del 7,46% (Laabassi, F. et al., 2014) (Tabla 21).

La AVE también se estudió en Turquía y, para ello, se analizaron 380 muestras de suero de caballos procedentes de tres regiones de dicho país. Mediante la técnica de ELISA se determinó que, prácticamente, uno de cada 4 caballos es seropositivo frente a la enfermedad en la región central de Anatolia, en Turquía (Bulut, O. et al., 2012) (Tabla 21).

La prevalencia en **Europa**:

En el continente europeo se han identificado caballos con títulos de anticuerpos neutralizantes frente al virus, prácticamente, en **todos** los países (Glaser, A.L. et al., 1996).

La seroprevalencia de la AVE se estimó en un 11,3% en caballos en Suiza y en un 2,3% en Inglaterra, a raíz de estudios realizados en 1973. De manera similar, en 1963 y en 1975, aproximadamente el 14% de los caballos holandeses eran seropositivos frente a la AVE. Un estudio de seroprevalencia realizado en 1990 en Alemania sobre un total de 739 muestras de suero equino reveló un 3,8% de positivos. El seguimiento y control de la enfermedad ha sido importante en Alemania, y así se demuestra con datos de diferentes años que reflejan una prevalencia del 6,8% en 1989 (Kaaden, O.R. et al., 1990).

La seroprevalencia de la AVE también es muy elevada en determinadas **razas**, como en sementales *Warmbloods* en algunos países europeos, como, por ejemplo, en Austria, donde un porcentaje muy elevado de los sementales de esta raza son positivos frente a anticuerpos de este virus.

En 1993, se da el primer brote de la enfermedad en el RU, que se produjo a raíz de una yegua cubierta por un semental infectado, **importado** de Europa continental, diseminándose posteriormente por el uso de semen infectado del mismo origen (Barrandeguy, M., 2011). Alrededor de unos 100 animales se infectaron en este brote (Wood, J.L. et al., 1995). Posteriormente se realizaron más muestreos de vigilancia y los análisis serológicos mostraron que, en 1995, la prevalencia de AVE era del 2% (Tabla 22).

## INTRODUCCIÓN

En Alemania tuvo lugar otro brote de enfermedad clínica con abortos en 1995. Se analizaron 5 animales y 3 resultaron seropositivos, y, además, se pudo aislar el VAE de un feto abortado (Eichhorn, W. et al., 1995).

En Eslovenia se llevó a cabo un estudio de la seroprevalencia en una yeguada en 1995, obteniéndose un 47,5%, en un total de más de 300 caballos. Posteriormente, se realizó otro estudio en la misma explotación en 2006, tras aplicar una serie de medidas de **control** para evitar la transmisión de la AVE, y todas las hembras hasta los 4 años y todos los machos hasta los 3 años de edad resultaron negativos frente a la AVE (Tabla 22). En los machos mayores de 3 años, la prevalencia era del 100% (Hostnik, P. et al., 2011).

**Tabla 22. Prevalencias de AVE en distintos países de Europa.**

	Reino Unido	Suiza	Países Bajos	Alemania	Eslovenia
% Prevalencia	0,5	11,3	14	3,8	47,5

En el año 2000, en una yeguada de caballos árabes y Shetland ponis, ocurrió el primer brote clínico registrado de AVE en Bélgica, siendo el aborto el único signo clínico observado. Se analizaron 89 muestras de suero mediante seroneutralización y se obtuvo una prevalencia del 95,5%, al resultar 85 ejemplares seropositivos (Van der Meulen, K. et al., 2001).

En 2007, en Normandía, **Francia**, se produce un brote de la enfermedad, cursando de forma respiratoria y afectando a un gran número de caballos. El origen del brote se asoció a una cepa del VAE presente en el semen de un semental portador persistentemente infectado y a la aparición de variantes nuevas del VAE en este tipo de portadores (Miszczak, F. et al., 2012). También ocurrieron brotes de AVE en Dinamarca y en Bélgica, en 2007 y en 2009, respectivamente, y en RU e Irlanda en 2010 (Barrandeguy, M., 2011).

La prevalencia en **España**:

En 1992 se registró el primer brote de enfermedad clínica de la AVE en España, (Monreal, L. et al., 1995).

Según la OIE, se han detectado casos de AVE en España en los años 2000, 2001 y 2002 (Cruz, F. y Newton, R., 2014).

En abril de 2013, el *International Collating Centre* del Reino Unido publicó que se había producido un brote de abortos por el VAE en una yeguada localizada en el sur de Castilla-León.

## INTRODUCCIÓN

En España, la mayoría de infecciones por el VAE eran casos esporádicos que, normalmente, **no** eran declarados. A pesar del plan de vigilancia publicado en la Orden APA/212/2003, que determinaba la comunicación y control de enfermedades como la AVE y el desarrollo de un programa de vigilancia de dicha enfermedad (BOE nº. 36, Orden APA/212/2003), hasta hace pocos años no existían estudios que hubiesen identificado o cuantificado la presencia de AVE en España (Cruz, F. y Newton, R., 2014).

### *1.2.5.3. Patogenia*

A las 24 horas de la infección o posteriormente, el virus invade el epitelio respiratorio y los macrófagos alveolares. A las 48 horas post-infección, el virus se puede encontrar en los ganglios linfáticos satélites, especialmente, en los bronquiales. A los 3 días de la infección, el virus se replica en los ganglios linfáticos broncopulmonares, endotelio y monocitos circulantes. A continuación, se produce la distribución **sistémica** del virus al localizarse dentro de los macrófagos y células dendríticas similares del tejido linfoide. Aproximadamente, entre los 6 y 8 días post-infección, el virus se localiza ya en el endotelio y en los miocitos mediales de los vasos sanguíneos y del mesotelio. A los 10 días, el daño más grave se produce en los vasos sanguíneos. A partir de los 10 días, hay un descenso en la presencia de antígeno del VAE en todas las localizaciones, a excepción de la túnica media de las arteriolas musculares. El último lugar invadido suele ser aparentemente el epitelio tubular renal, donde el virus puede persistir 2 semanas más. El virus infeccioso ya no es detectable en la mayoría de los tejidos a partir de los 28 días tras la infección experimental, excepto en el tracto reproductivo de algunos potros y sementales (Del Piero, F., 2000).

El daño **vascular** en la AVE parece resultar de la lesión directa virus-mediada al endotelio y a la capa muscular media de los vasos afectados. El VAE infecta y se replica en las células endoteliales, y causa un daño extenso al endotelio y a la lámina interna elástica subyacente, y así consigue acceder a la lámina media de los vasos afectados. La vasculitis se caracteriza por una necrosis fibrinoide marcada de las arteriolas musculares, con extravasación de eritrocitos y material proteínico hacia las túnicas media y adventicia, y tejidos perivasculares. El incremento de la **permeabilidad** vascular y la **infiltración** leucocitaria, resultante de la generación de factores quimiotácticos, llevan a la hemorragia y al edema alrededor de los vasos. Además de en las células endoteliales, el virus también se replica muy bien en los macrófagos de los caballos infectados. La infección de células endoteliales y macrófagos equinos cultivados conlleva su activación con una transcripción aumentada de genes, codificando mediadores proinflamatorios, que incluyen IL-1b, IL-6, IL-8 y TNF $\alpha$ . Es más, cepas virulentas y avirulentas del VAE inducen diferentes cantidades de TNF $\alpha$  y otras citoquinas proinflamatorias en ambos tipos de células. Estos estudios indicarían que los mediadores de las citoquinas, producidos por las células endoteliales y los macrófagos, tienen un papel principal en la patogénesis de esta enfermedad.

## INTRODUCCIÓN

Existe evidencia de que el aborto consecuente tras la infección experimental de una yegua preñada con la cepa virulenta *Bucyrus* del VAE, adaptada al caballo, puede ser el resultado de una infección letal del feto más que una miometritis y/o un daño a la placenta, impidiendo la síntesis de progesterona y pregnano, y conduciendo al fallecimiento o a la expulsión fetal (Holyoak, G.R. et al., 2008). Pero también existe la teoría de la miometritis, en la que la reducción del flujo sanguíneo hacia el feto se produciría debido a la compresión de los vasos sanguíneos por el edema endometrial o debido a la alteración del tono vascular por varios mediadores inflamatorios. La producción decreciente de progesterona por parte de una placenta hipóxica, combinada con la liberación local de prostaglandinas, desencadenaría el desprendimiento coriónico. La vasculitis, asociada con trombosis, también podría desempeñar un papel en la inducción de isquemia. Finalmente, se produciría el desprendimiento del corion y la expulsión de un feto, que puede estar infectado o no (Del Piero, F., 2000).

### 1.2.5.4. Cuadro clínico

El periodo de incubación puede variar entre 2 días y 2 semanas. Las infecciones transmitidas de manera venérea tienden a hacerse aparentes, aproximadamente, en una semana (CFSPH, *Iowa State University*, 2009).

Los signos clínicos son generalmente más graves en animales viejos o muy jóvenes, y en caballos inmunocomprometidos o en baja condición corporal (CFSPH, *Iowa State University*, 2009).



Figura 36. Edema en zona escrotal ([http://equine-reproduction.com/articles/EVA/Presentation/EVA\\_files/v3\\_slide0009.htm](http://equine-reproduction.com/articles/EVA/Presentation/EVA_files/v3_slide0009.htm)).

La mayoría de casos de infección aguda por el VAE es **subclínica**, aunque ciertas cepas del virus pueden causar enfermedad de severidad variable. Los casos típicos de AVE pueden presentarse con todos o cualquier **combinación** de los siguientes signos clínicos: fiebre, depresión, anorexia, leucopenia, edema, especialmente en las

## INTRODUCCIÓN

extremidades posteriores, prepucio y escroto en los sementales (Figura 36), conjuntivitis, descarga ocular, edema supra- o periorbital, fotofobia, rinitis, descarga nasal, urticaria local en cabeza y cuello, o general, un periodo de subfertilidad temporal en sementales con afección aguda, con reducida calidad del esperma y un bajo nivel de la libido, abortos, mortinatos, y, en raras ocasiones, una neumonía, enteritis o neumoenteritis fulminante en potros jóvenes, o, incluso, una muerte repentina, especialmente, si los neonatos no están protegidos por la inmunidad pasiva materna (Timoney, P. y McCollum, W., 1997) (Del Piero, 2000). Los **abortos** no son necesariamente precedidos de signos sistémicos. También puede causar rigidez en el paso, edemas en la región medio ventral y, en yeguas, en las glándulas mamarias. De forma más infrecuente, puede dar lugar a distrés respiratorio severo, ataxia, erupciones papulares en mucosas, linfadenopatía submaxilar y a edema intermandibular y en el hombro (Del Piero, F., 2000).

Independientemente de la severidad de los signos clínicos, los caballos afectados, casi invariablemente, se **recuperan** completamente. El porcentaje de animales muertos en los brotes de AVE es muy bajo. La mortalidad sólo se presenta habitualmente en potros muy jóvenes, hasta algunos meses de edad, particularmente, en aquellos infectados congénitamente por el virus y, muy pocas veces, en caballos adultos sanos (OIE, 2013). Un porcentaje variable de sementales infectados de forma aguda posteriormente se convierten en **portadores** de larga duración en el tracto reproductivo y eliminan constantemente el virus por el semen. La reducción de la calidad del esperma se atribuye al aumento de la temperatura escrotal y al edema (Figura 36), y puede persistir hasta 4 meses tras la fase aguda. La calidad del semen no se ve afectada en sementales portadores (CFSPH, *Iowa State University*, 2009). Este estado de portador es andrógeno-dependiente y se observa en los sementales, pero no en yeguas ni en castrados ni en potros sexualmente inmaduros (*World Organisation for Animal Health*, 2013).

No se han descrito brotes en burros o en mulas y, aunque se han detectado anticuerpos, existe poca información de los signos clínicos en estas especies. Suelen desarrollar signos de una forma más leve y pasar desapercibidos si no se monitorizan (CFSPH, *Iowa State University*, 2009).

Los hallazgos clínico-patológicos descritos en potros afectados incluyen hipoxia, hipercapnia, acidosis respiratoria, en ocasiones, complicada con acidosis metabólica, neutropenia-neutrofilia, linfopenia-linfocitosis, hiperfibrinogenemia y trombocitopenia.

En un estudio, caballos maduros experimentalmente infectados eran consistentemente leucopénicos, y presentaban leucopenia y neutropenia bifásica. En este grupo de caballos, también se observó linfopenia de manera consistente tras la infección (Del Piero, F., 2000).

## INTRODUCCIÓN

### 1.2.5.5. Lesiones

Las lesiones de mayor tamaño e histológicas asociadas con la AVE se han descrito en équidos infectados natural- y experimentalmente. Las cepas aisladas del VAE difieren en virulencia y consecuentemente inducen lesiones que varían en severidad (Del Piero, F., 2000).

Las lesiones macroscópicas son la expresión de los extensos cambios patológicos a nivel vascular. El VAE causa una **extensa vasculitis**, principalmente en las pequeñas arteriolas y vénulas (OIE, 2013). En casos agudos, las lesiones se caracterizan por edema, congestión y hemorragias de los tejidos subcutáneos, órganos viscerales y ganglios linfáticos. Estos cambios frecuentemente se encuentran en los tejidos subcutáneos de las extremidades y del abdomen, de los ganglios linfáticos torácicos y abdominales, y de los intestinos delgado y grueso, especialmente en ciego y colon, pero puede ocurrir por todo el cuerpo. Se pueden observar acúmulos de fluido claro amarillento en cantidad abundante o moderada en la cavidad peritoneal, pleura y pericardio. Los potros pueden presentar también edema pulmonar, neumonía intersticial, enfisema, infartos esplénicos y enteritis. En las yeguas que abortan, el endometrio puede estar inflamado y congestivo, y puede contener hemorragias. Los fetos abortados se encuentran muchas veces parcialmente **autolíticos**, aunque pueden estar bien preservados. En algunos fetos, las únicas lesiones macroscópicas pueden ser exceso de **fluido** en cavidades corporales y signos de neumonía intersticial interlobular (CFSPH, *Iowa State University*, 2009). Las lesiones microscópicas en los casos de abortos, si están presentes, se suelen observar con mayor frecuencia en la placenta, hígado, bazo y en los pulmones del feto (OIE, 2013).

Los vasos sanguíneos son el principal objetivo del VAE. Las lesiones más ligeras pueden incluir **edema** vascular y perivascular, con infiltrado linfocítico ocasional e hipertrofia celular endotelial. Los cambios patológicos más graves incluyen vasculitis con necrosis fibrinoide de la túnica media, abundante infiltración vascular y perivascular linfocítica y, en menor medida, granulocítica, con cariorrexis, pérdida frecuente de endotelio y formación de grandes trombos estratificados fibrinocelulares (Del Piero, F., 2000).

En los órganos linfáticos es posible observar necrosis folicular linfoide, edema y ligera hemorragia con eritrofagocitosis histiocítica. Los senos nodulares linfáticos pueden contener células histiocíticas, linfocitos prominentes y, en muchas ocasiones, altamente pleomórficos.

En los adultos se ha descrito distensión de los vasos linfáticos de la submucosa del intestino grueso, con ligera necrosis de las criptas y de la lámina propia. En los potros, se puede encontrar un síndrome neumointestinal con cambios patológicos,

## INTRODUCCIÓN

incluyendo las criptas, los vasos sanguíneos de la mucosa intestinal y el tejido linfático asociado al tracto gastrointestinal. Pueden presentarse infartos en ciego y colon.

Las glándulas adrenales pueden mostrar vasculitis multifocal, hemorragias e infartos.

Las lesiones renales pueden llegar a ser severas y ocurren cuando la infección se encuentra en un estado avanzado. Consisten en una necrosis tubular, nefritis intersticial linfocítica, desorganización del conjunto glomerular e hiper celularidad.

En la dermis se observa vasculitis, que puede estar asociada con trombosis y dermatitis ulcerativa (Del Piero, F., 2000).

En cuanto al tracto reproductivo de la **hembra** y los **fetos**, las lesiones en los fetos sólo se detectan ocasionalmente y, cuando están presentes, se observa un ligero infiltrado linfocítico perivascular y una ligera neumonía intersticial. En las yeguas, destaca la inflamación de las células epiteliales uterinas, con fragmentación de la red citosólica, inflamación mitocondrial granular, cuerpos residuales y fagolisosomas grandes con contenido celular y vesicular. La submucosa uterina puede estar edematosa, con infiltración de neutrófilos y macrófagos, y con inflamación de las células endoteliales. En el miometrio, se pueden observar miocitos necróticos y células endoteliales inflamadas (Del Piero, F., 2000).

Las lesiones producidas por el VAE en el tracto reproductivo de los **machos** consisten en edema difuso de los órganos genitales (Figura 36), con vasculitis necrotizante, afectando a los testículos, epidídimos, conductos deferentes, ampollas, próstata y glándulas, vesicular y bulbouretral. La vasculitis se caracteriza por una severa necrosis fibrinoide de las pequeñas arterias musculares, con edema y hemorragia (Del Piero, F., 2000).

### 1.2.5.6. Tratamiento

Como no existe ningún tratamiento específico antiviral para la AVE, el tratamiento debe ir enfocado hacia el **descanso** y, en casos determinados, la administración de **antibióticos** que disminuyen el riesgo de infecciones bacterianas secundarias (USDA, 2002). Estas infecciones pueden ser, en ocasiones, más graves que la infección vírica original (*Indiana State Board of Animal Health*, 1999). También se utilizan frecuentemente fármacos, como antipiréticos y antiinflamatorios, para controlar los síntomas, con más énfasis en el cuadro febril y edemas característicos, especialmente, en sementales y équidos deportivos en actividad, evaluando en estos últimos la caída de rendimiento competitivo y ajustando la terapia de sostén según este parámetro. En la actualidad, no se cuenta con tratamientos que cubran satisfactoriamente casos de neumonía o neumoenteritis en potrillos jóvenes, administrándose, en estos casos, antibioterapia preventiva ante las posibles

## INTRODUCCIÓN

infecciones secundarias (Fortuny, J.P. y Gambini, A., 2008). Los caballos adultos se recuperan **completamente** de la enfermedad clínica. Sin embargo, el virus habitualmente persiste en las glándulas accesorias de los sementales recuperados, de manera que eliminan el virus durante años y perduran como una fuente significativa de infección (USDA, 2002). Para sementales portadores, aún no se han desarrollado tratamientos que eliminen dicho estado, siendo este punto en el que están centrados los mayores esfuerzos en investigación acerca de la terapéutica de esta enfermedad (Fortuny, J.P. y Gambini, A., 2008). Aunque el descenso temporal de los niveles de testosterona circulante, empleando un antagonista de la GnRH o mediante inmunización con GnRH, parece haber conseguido la eliminación del estado de portador en algunos sementales, la eficacia de cualquiera de estas estrategias terapéuticas aún tiene que ser determinado. Existe la preocupación que este enfoque terapéutico podría ser usado deliberadamente para enmascarar la existencia del estado de portador (*World Organisation for Animal Health*, 2013).

### **1.2.5.7. Profilaxis y Control**

La AVE es una enfermedad **manejeable**. Se han diseñado estrategias efectivas para su control y prevención, entre las que se incluyen:

- Minimizar o eliminar el contacto directo o indirecto de caballos susceptibles con las secreciones o excreciones de animales infectados con el virus.
- Restringir la diseminación del virus en poblaciones de cría para prevenir brotes de abortos o de enfermedad en potrillos, así como para prevenir el establecimiento del estado de portador en sementales y en potros tras la pubertad.
- Establecer unos requisitos en la industria de la inseminación artificial (IA). Determinar el estado serológico y virológico del semen de todos los sementales empleados, que se refrigerará o se congelará, y se empleará, por tanto, para IA.
- Prevenir el establecimiento del estado de portador en sementales y en potros tras la pubertad. Vacunar a los potros después de los 6 meses y antes de los 12 meses de edad. Si se previene el estado de portador y la enfermedad, finalmente se eliminará.

Existen dos **vacunas** comerciales, efectivas y seguras frente a la AVE, derivadas de cultivos tisulares. Una es una vacuna viva modificada, preparada a base de virus atenuados para caballos mediante múltiples pases seriados en células renales primarias equinas y de conejo, y en una línea celular dérmica equina. Se ha confirmado segura y protectora en sementales y yeguas no gestantes. No se recomienda su uso en potros menores de 6 semanas de edad ni en yeguas gestantes en los 2 últimos meses de gestación. La otra vacuna es un producto inactivado preparado a partir de virus obtenidos de un cultivo celular equino y se puede emplear en caballos reproductores y

## INTRODUCCIÓN

no reproductores, aunque no se recomienda, a falta de datos de seguridad apropiados, su uso en yeguas gestantes (*World Organisation for Animal Health*, 2013). No existe evidencia alguna de que un **semental vacunado** pueda desarrollar el estado de portador con el virus vacunal. Se ha utilizado con éxito la vacunación para ayudar a controlar la diseminación de la enfermedad. La vacunación primaria consigue protección frente a la enfermedad clínica para varios años. Si los animales vacunados inicialmente se exponen al virus de campo por primera vez, de forma venérea o en forma de aerosol, probablemente presenten un ciclo limitado de reinfección y se conviertan en excretores a corto plazo del virus de campo hasta un máximo de 10 días, por lo que se aislarán de los animales susceptibles seronegativos durante 21 días. La revacunación normalmente se traduce en un incremento pronunciado de los títulos de anticuerpos neutralizantes y en protección frente a la enfermedad (Holyoak, G.R. et al., 2008).

Las **estrategias** de vacunación incluyen sólo vacunar animales sanos y no estresados. Si todos los caballos no son vacunados al mismo tiempo en la explotación, hay que aislar a los vacunados de los que no se vacunan (Timoney, P. y McCollum, W., 1997).

Entre las medidas a tomar se encuentran las de **aislar** nuevas adquisiciones de caballos en una explotación durante 3-4 semanas, y separar, si es posible, las yeguas preñadas de otros caballos, manteniendo esas yeguas en pequeños grupos en función de sus fechas previstas de parto. Antes de cada temporada de reproducción, se debe analizar a los nuevos sementales reproductores para descartar la infección por el VAE y, además, se tiene que cultivar el semen de todos los sementales no vacunados seropositivos para el virus. Se han de vacunar anualmente todos los sementales reproductores no portadores y todos los potros inmaduros entre los 6 y los 12 meses de edad (Holyoak, G.R. et al., 2008).

Se han de tomar precauciones para evitar la diseminación del virus a través de **fómites**. El virus se inactiva fácilmente mediante detergentes, desinfectantes comunes y disolventes lipídicos (CFSPH, *Iowa State University*, 2009).

Se han de **identificar** a los sementales portadores y sólo se emplearán para la cubrición de yeguas correctamente vacunadas o seropositivas por infección natural. De igual forma, el semen que contenga el VAE sólo debe usarse con estas yeguas. Las yeguas infectadas de forma natural y las que no se vacunan por primera vez son aisladas durante 24-48 horas para proteger otros caballos de los virus presentes en el semen. Las que son vacunadas por primera vez pueden eliminar virus de campo por un corto periodo de tiempo tras la exposición, por lo que estas yeguas se deben aislar de caballos seronegativos, en especial, yeguas gestantes, durante 3 semanas después de la cría (Timoney, P. y McCollum, W., 1997).

## INTRODUCCIÓN

Para erradicar la AVE, las principales medidas a tener en cuenta son la **notificación** obligatoria, los análisis anuales, la identificación de los sementales portadores y el control de la transmisión a partir de ellos, y la vacunación selectiva, como se empleó en Nueva Zelanda (CFSPH, *Iowa State University*, 2009).

La AVE se trata de una enfermedad objeto de comunicación **semestral** a nivel nacional y figura en la lista única de la OIE (BOE nº. 118, R.D. 617/2007). Se trata de una enfermedad de declaración obligatoria para animales terrestres y acuáticos, y figura en la lista única de la OIE en vigor para el año 2016, entre las enfermedades de los équidos.

### 1.2.5.8. AVE y Salud pública

No existe prueba ni indicación de que la AVE pueda infectar a la especie humana.

#### ➤ La AVE en el ámbito económico

La AVE puede llegar a tener unos efectos **económicos** muy considerables en la reproducción y en la industria equina. Cuando tiene lugar un brote de la enfermedad, las consecuencias económicas directas e indirectas para la yeguada o centro de reproducción, así como para la industria equina del país correspondiente, pueden llegar a ser devastadoras.

Las consecuencias directas de la infección están relacionadas con la patología reproductiva que producen en las yeguas, causando abortos, mortinatos y enfermedad en neonatos, y en los sementales, provocando un probable descenso transitorio en la fertilidad de los mismos.

Las consecuencias indirectas de un brote de AVE tienen que ver con el descenso en el valor de mercado y con la reducida demanda de sementales portadores, así como con la dificultad o imposibilidad de exportar dichos sementales, semen positivo frente al VAE, y, en algunos países, cualquier caballo seropositivo frente a la enfermedad. Y, finalmente, no hay que olvidar los **costes** relacionados con la implementación de medidas de control durante un brote, entre las que pueden figurar la interrupción del entrenamiento de los sementales, las cuarentenas, la restricción de movimientos, la toma de muestras y análisis de todos los caballos de la explotación, las vacunaciones, las medidas higiénico-sanitarias, etc. (Cruz, F. y Newton, R., 2014).

## INTRODUCCIÓN

### 1.3. Justificación del estudio

El sector equino en la CV tiene un papel destacado y está íntimamente ligado con la **historia** de la misma y de toda España. Tradicionalmente, la relación con los caballos venía determinada por su uso en las guerras y su empleo como herramienta de trabajo en los campos españoles. Con el paso del tiempo, y con la Revolución Industrial como telón de fondo, esta relación ha cambiado, aunque no por ello se ha hecho menos profunda. Simplemente ha evolucionado al mismo tiempo que lo hacían la economía y la sociedad, pasando los caballos de participar en guerras a estar en los campos, en fincas o explotaciones ganaderas, y de ser empleados como herramientas de trabajo a estar estabulados en clubes y dedicados a usos eminentemente sociales y de entretenimiento.

Son muchas personas y muchos sectores que, de una forma u otra, están relacionados con la **industria** ecuestre, formando un grupo heterogéneo que participan en la misma desde diferentes vertientes como son el terreno laboral, la formación de personas, la investigación y desarrollo, la vertiente deportiva y la del ocio. Las actividades relacionadas con el sector ecuestre en sus diferentes fases y ámbitos suponen un movimiento económico total de más de 3.300 millones de euros a nivel nacional. Este impacto directo provoca un efecto multiplicador en la economía española que hace aumentar esta cifra por encima de los 5.300 millones de euros, que constituye más del 0,5% del PIB español.

Las enfermedades que pueden afectar a los équidos suponen una **amenaza** para la salud de los mismos y, consecuentemente, para todo el sector ecuestre y sus diferentes ámbitos, e, incluso, pueden afectar a otras especies y repercutir en otros sectores. En muchas ocasiones, se tratan de zoonosis que pueden ser transmitidas al hombre y suponer un riesgo para la salud pública.

El estudio y el conocimiento de los resultados analíticos de ciertas enfermedades que pueden afectar al ganado equino en un territorio determinado permiten obtener una idea de la **situación** epidemiológica a la que está expuesta esa población y a partir de ahí poder actuar ante los riesgos reales. Así mismo, los datos obtenidos pueden extrapolarse y compararse con otras zonas a nivel nacional, europeo y mundial, de manera que se pueden determinar posibles relaciones y tomar las medidas preventivas oportunas.

La leptospirosis, la salmonelosis, la piroplasmosis, la fiebre del Nilo Occidental y la arteritis viral equina son enfermedades muy características de los équidos y, a su vez, muy distintas entre sí. Muchas de ellas son zoonosis emergentes o reemergentes. Todas ellas presentan características muy particulares, desde su etiología, pasando por su epidemiología, hasta su cuadro clínico, y pueden mostrar distintos aspectos a nivel

## INTRODUCCIÓN

sanitario de la población equina y, a su vez, reflejar el estado de salud de la especie equina de una manera global en una zona determinada como la CV.

La zona elegida para desarrollar nuestro estudio es la CV, área geográfica situada en el centro este de España, favorecida por su buen clima y donde podemos encontrar una población equina de alrededor de 24.500 caballos de distintas razas, y entre ellos, aproximadamente, unos 9.350 ejemplares de PRE. Así mismo, en esta región residen cerca de 5 millones de personas, compartiendo los mismos hábitats que los équidos, y todos ellos están expuestos a la acción, tanto de los agentes infecciosos y parasitológicos, como de sus vectores.

En la CV, apenas disponemos de estudios previos de seroprevalencia sobre estas enfermedades, por lo que necesitamos más datos que aporten información relevante sobre ellas. Los estudios previos de seroprevalencia realizados en **España** con respecto a cada enfermedad muestran valores más o menos elevados, según la zona de estudio, y la intención es averiguar cuál es el panorama sanitario de la población equina valenciana. Los escasos datos preliminares, disponibles hasta la fecha en la CV, indican la presencia de casos de infección por los distintos agentes patógenos sometidos a estudio, tanto en équidos como en humanos, en mayor o menor medida.

El **conocimiento** de la presencia de estos agentes podría ayudar en la explicación de determinados cuadros clínicos, tanto en medicina humana como en medicina veterinaria, que, en ocasiones, quedan sin diagnóstico etiológico preciso, debido, sobre todo, a que estos agentes infecciosos y parasitarios, en determinadas ocasiones, son difíciles de detectar y aislar, y desafortunadamente no se tienen en consideración.

El hecho de estudiar sólo estas 5 enfermedades también tiene un motivo económico y presupuestario.



## **2. OBJETIVOS**



## OBJETIVOS

Dos son los objetivos principales que nos hemos planteado con este trabajo:

1. Un estudio descriptivo de las cinco enfermedades más características en distintas poblaciones de caballos en la Comunidad Valenciana, dos bacterianas, dos víricas y una parasitosis, y valorar en qué estado sanitario se encuentran estas poblaciones.
2. Un estudio seroepidemiológico frente a leptospirosis, salmonelosis, piroplasmosis, fiebre del Nilo Occidental, arteritis viral equina, y determinar si existe relación, dentro de cada enfermedad estudiada, entre las prevalencias detectadas y variables como el sexo y la edad, aportando nuevos datos que ayuden a las autoridades competentes en su labor de vigilancia epidemiológica.



### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**



## MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1. Material animal

La elección del tamaño muestral fue realizado de manera aleatoria, considerándose una población estimada de 24.500 de caballos de distintas razas en la CV, y dentro de ella, una población de aproximadamente 9.350 ejemplares PRE. Nuestra población de estudio está formada por 965 caballos, de los que 782 individuos pertenecen a la PRE. En todas las enfermedades, salvo para el estudio de la salmonelosis, únicamente se analizaron muestras obtenidas de caballos PRE. Los distintos tamaños muestrales para las distintas enfermedades sólo obedecen a causas presupuestarias y, en algunos casos, no llegan a ser suficientemente grandes como para ser representativos pero sí para mostrar el estado sanitario de distintos subgrupos equinos en la CV y exponer cómo se encuentra la población equina en referencia a estas 5 enfermedades características de los caballos y estudiadas a nivel mundial.

#### 3.1.1. Leptospirosis equina

El autor del estudio, junto con la colaboración de otros compañeros veterinarios en determinadas ocasiones, tomó aleatoriamente muestras de suero de un total de **389** caballos PRE de diferentes explotaciones de la CV, de las provincias de Alicante, Castellón y Valencia (Figura 37). Se tuvieron en cuenta el sexo y la edad de los distintos ejemplares. El estado de salud general y reproductiva también se tuvo en consideración, prestando especial atención a cualquier signo de enfermedad relacionado o no con la leptospirosis en los caballos estudiados. Se registró el sexo de los distintos individuos y se dividieron también en grupos de edad. Todos los datos de los animales se apuntaban en hojas de registro, en las que figuraban fecha, nombre del animal, lugar, sexo y edad, tanto para ésta como para las otras enfermedades.

#### 3.1.2. Salmonelosis equina

En este caso, el tamaño de la muestra fue de **247** caballos de la CV, de los que el autor y su equipo de investigación extrajeron muestras de heces directamente del recto (Figura 37). Se incluyeron individuos de otras razas equinas, no sólo de PRE. También se clasificaron las muestras en función del sexo y la edad de los ejemplares. El estado general de salud de los animales estudiados se tuvo en cuenta y se registró cualquier signo de enfermedad asociado o no a la salmonelosis. El muestreo fue aleatorio.

#### 3.1.3. Piroplasmosis equina

Para esta enfermedad, se obtuvieron aleatoriamente un total de 192 muestras de suero de caballos PRE de diferentes explotaciones de las 3 provincias de la CV (Figura 37). El estado general de salud de los caballos analizados se tuvo en cuenta, remarcando cualquier signo de enfermedad pero, en especial, los relacionados con la

## MATERIAL Y MÉTODOS

piroplasmosis. Además, se registraron las muestras en función del sexo y de la edad de los mismos.

### 3.1.4. Fiebre del Nilo Occidental

En el caso de esta enfermedad, el tamaño muestral fue de **88** caballos PRE de la CV (Figura 37). El muestreo fue de manera aleatoria. Los ejemplares no presentaban ningún síntoma de enfermedad en el momento de la extracción sanguínea ni habían sido vacunados anteriormente frente a la enfermedad en cuestión. También se clasificaron las muestras en función del sexo y de la edad de los ejemplares.

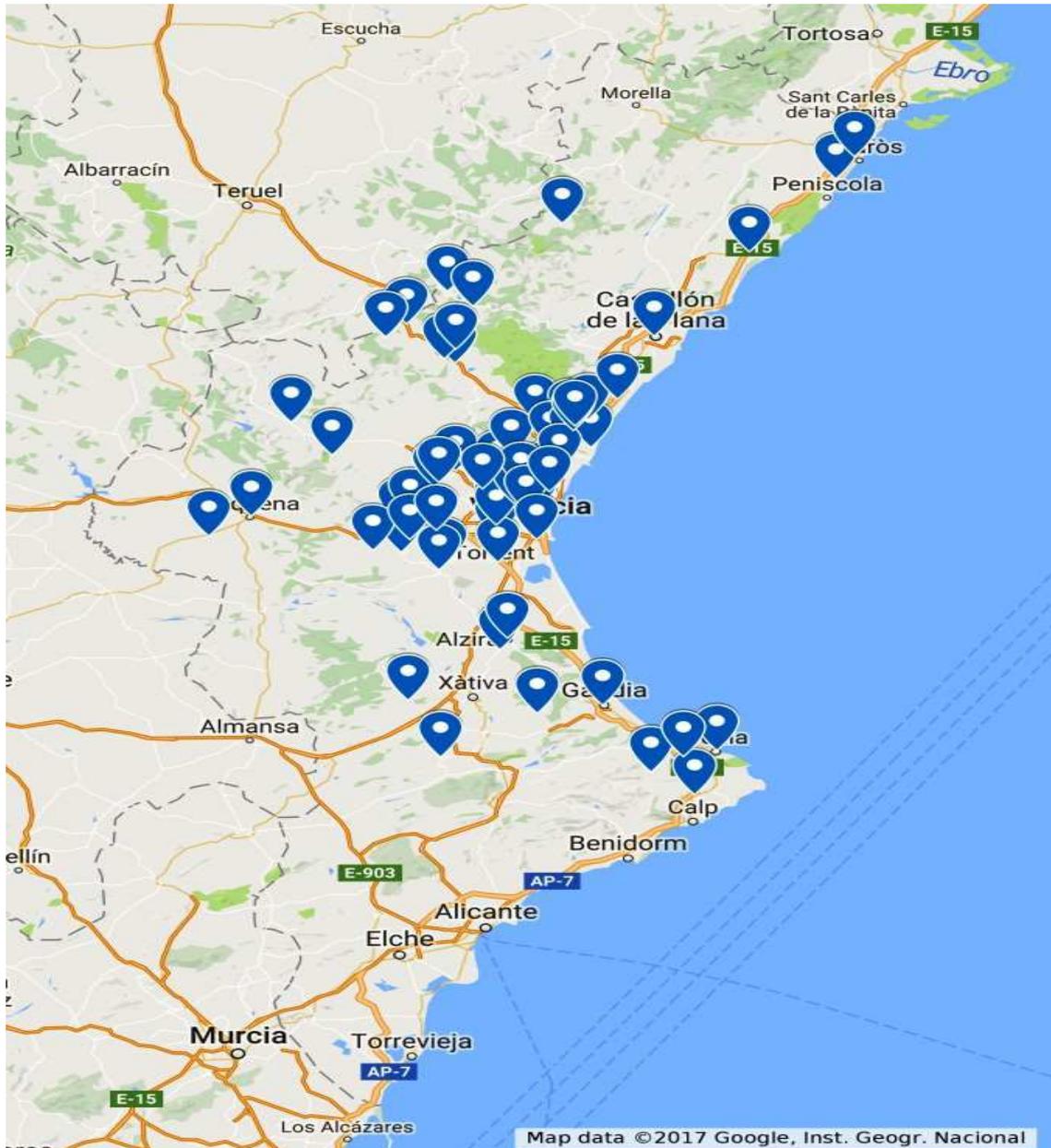


Figura 37. Mapa de la localización de los caballos analizados en el presente estudio en la CV.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1.5. Arteritis viral equina

El número de caballos que fueron analizados frente a la AVE fue de **49**, todos PRE de distintas explotaciones de la región (Figura 37), y fueron seleccionados de forma equiprobabilística. Los miembros del equipo de estudio prestaron especial atención a cualquier signo de enfermedad de los ejemplares investigados, no detectándose signos compatibles con la AVE. Los animales no habían sido vacunados anteriormente frente a la AVE. Se registró el sexo de los distintos individuos, así como si estaban castrados o en estado de gestación. También se tuvo en cuenta la edad de los animales para esta enfermedad.

### 3.2. Obtención y preparación de la muestra

#### 3.2.1. Leptospirosis, piroplasmosis, FNO y AVE

Desde el año 2011 hasta el 2014, se extrajeron muestras de **sangre** en cantidad de 10 ml de la vena yugular de los distintos caballos, vena de elección para la extracción de sangre en esta especie (Figura 38), previa limpieza y desinfección del surco de la yugular, lugar de emplazamiento de la citada vena.



**Figura 38. Extracción sanguínea de la vena yugular.**

Se emplearon agujas hipodérmicas Sterican 20G x 1 ½, de 0,90 x 40 mm, (Figura 40) y jeringas de dos cuerpos tipo Injekt de un solo uso y de 10 ml de capacidad (Figura 41), y se tomaron todas las medidas para que las muestras fueran recogidas de la forma más **estéril** posible y evitar cualquier contaminación que pudiera interferir con los resultados de los análisis. Se desinfectó la zona de extracción con gasa impregnada en alcohol de 96° y se usaron guantes de examen de látex Naturflex®, sin polvo y microtexturados (Figura 39).

## MATERIAL Y MÉTODOS



Figura 39. Guantes de examen de látex.



Figura 40. Agujas hipodérmicas empleadas.



Figura 41. Jeringa de 2 cuerpos tipo Injekt de 10 ml.

A continuación, se iba introduciendo la sangre en tubos tipo EUROTUBO de 8 ml, separadores de suero (Figura 42), correctamente identificados, y se mantuvieron a temperatura de **refrigeración** en nevera portátil de compresor, Cool Freeze CDF-11, Waeco<sup>®</sup> (Figura 43).



Figura 42. Tubo separador de suero.

## MATERIAL Y MÉTODOS



Figura 43. Nevera portátil Cool Freeze (<https://www.francobordo.com/html>).

En el mismo día de la recogida de las distintas muestras, se fue procediendo a procesar las mismas, centrifugando la sangre durante 10 minutos a 3.000 revoluciones por minuto en centrífuga angular Nahita® 12x15 ml, modelo 2650 (Figura 44), para obtener el **suero** de cada muestra.



Figura 44. Centrífuga empleada para separar el suero ([https://weblanau.com/13\\_nahita](https://weblanau.com/13_nahita)).

Estas muestras serológicas finales se fueron introduciendo con micropipeta monocalal Pipet-Lite XLS+ en tubos Eppendorf de 2 ml, correctamente identificados y refrigerados, y, en todo momento, manteniendo las **máximas** condiciones higiénico-sanitarias durante todo el proceso (Figuras 45 y 46).



Figura 45. Extracción del suero de las muestras para su congelación.

## MATERIAL Y MÉTODOS



Figura 46. Micropipeta Pipet-Lite XLS+.

Los tubos Eppendorf son pequeños contenedores cilíndricos de plástico, con un fondo cónico y con tapa unida al cuerpo del tubo, que pueden emplearse a **temperaturas** bajas de hasta  $-20^{\circ}\text{C}$  (Figura 47).



Figura 47. Tubo Eppendorf de 2 ml.

Tras la recogida diaria de muestras, los tubos Eppendorf con suero se **congelaban** y se mantenían constantemente en dicho estado hasta su envío final en cajas isotérmicas estándar de Neopor de Storopack® al Laboratorio Oficial de Referencia de Algete (Madrid) o, en su caso, para el diagnóstico de la FNO, al Laboratorio de la Unidad de Análisis de Sanidad Animal (UASA) de Valencia (Figura 48).



Figura 48. Caja isotérmica para el envío de muestras (<http://www.storopack.es/es/productos-soluciones/envases-de-temperatura-controlada/cajas-aislantes-y-cajas-isotermicas.html>).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.2.2. Salmonelosis equina

En el periodo de un año, concretamente en el 2012, se recogieron muestras de **heces** directamente del recto de los caballos objeto de estudio para esta enfermedad, con el fin de evitar al máximo la contaminación ambiental (Figura 49).



**Figura 49. Extracción rectal de las muestras.**

Se tomaron las muestras mediante extracción rectal con guantes de palpación Polysem® de 92 cms. / 36" y se depositaron en recipientes de recogida ACOFAR® de 100ml, de plástico, **estériles**, correctamente cerrados e identificados de forma individual (Figuras 49 y 50).



**Figura 50. Recipiente de recogida de heces.**

Posteriormente, se conservaron mediante **refrigeración** a una temperatura de 4 °C en nevera portátil de compresor y se analizaron antes de las 24h posteriores a su recogida en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Cardenal Herrera-CEU, de Moncada, Valencia.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.3. Análisis laboratorial

#### 3.3.1. Leptospirosis equina

Las muestras de suero de los 389 caballos se analizaron en el Laboratorio Central de Veterinaria de **Algete** mediante el test de aglutinación microscópica, empleándose diluciones séricas finales de 1/30 hasta 1/3000 y superiores en platillos de microtitulación. En nuestro estudio se ha partido de una dilución 1/30 y, a partir de ese valor basal, se han ido analizando las muestras de suero nuevamente con títulos iguales o mayores a 30 para obtener el título final por medio de diluciones consecutivas desde 1/30, pasando por 1/100, 1/300, 1/1000, hasta 1/3000 y más elevadas.

Las muestras seleccionadas deben cultivarse en Tween 80 BSA o en otro medio adecuado a  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  y el cultivo debe tener al menos 4 días, pero no más de 8. Como antígenos se usan cultivos con densidades aproximadas a 200.000.000 leptospiras por ml. La densidad del cultivo puede estimarse contando directamente las células en una cámara de recuento de bacterias en un microscopio de campo oscuro. Como alternativa, la densidad celular se puede establecer midiendo la transmitancia en un espectrofotómetro con filtro a 400 nm. El número de antígenos que se utilizan es determinado, y se puede realizar una selección con una dilución del suero de 1/50 (o una dilución de inicio diferente basada en el objetivo de la prueba). A cada pocillo se añade un volumen de cada antígeno, igual al volumen del suero diluido, para hacer una dilución final del suero de 1/100 en la prueba de selección. Las placas de microtitulación se incuban a  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 2–4 horas, y se examinan mediante microscopía de campo oscuro. El título de punto final se define como la dilución de suero que muestra un 50% de aglutinación, dejando libres un 50% de las células en comparación con un cultivo control diluido 1/2 en tampón fosfato salino. El resultado de la prueba puede indicarse como el punto final de la dilución del suero (1/100). Muchos laboratorios realizan una prueba de selección a una dilución final del suero de 1/100 y después vuelven a probar el suero con títulos de  $\geq 100$  para determinar un punto final mediante diluciones dobles del suero, empezando con 1/100 hasta 1/12,800 o mayor.

La identidad de los antígenos es un factor crucial al realizar la MAT. Los antígenos deben evaluarse respecto a su identidad utilizando sueros hiperinmunes de conejo o un método molecular que confirme los pases a lo largo del tiempo, preferiblemente cada vez que se realiza la prueba, pero al menos dos veces al año. El suero de conejo hiperinmune para este fin puede prepararse seleccionando conejos sanos con un peso entre 3–4 kg que no tengan anticuerpos antileptospiras detectables. A cada conejo se le administra una inoculación intravenosa de un cultivo vivo que haya crecido bien o de un cultivo clonado y tratado con formalina con una densidad aproximada de 200.000.000 leptospiras/ml en una vena marginal de la oreja. El cultivo

## MATERIAL Y MÉTODOS

debe hacerse en medio Tween 80 BSA o en otro medio apropiado. Se administran cinco inoculaciones de 1, 2, 4, 6 y 6 ml a intervalos de 7 días. Una semana después de la última inoculación, se determina el título del anticuerpo homólogo mediante la MAT. Si el título es  $\geq 1/12.800$ , se anestesia el conejo y se sangra mediante punción cardíaca 7 días más tarde. Si el título es  $< 1/12.800$ , se administra otra inoculación de 6 ml de cultivo y 7 días después de ésta se determina de nuevo el título homólogo. El procedimiento debe repetirse con otro conejo a no ser que el título sea  $\geq 1/12.800$ . Para la preparación de cada antisuero se utilizan dos conejos. Si los títulos son satisfactorios en ambos conejos, los sueros se pueden mezclar. Para mantener la potencia es preferible liofilizar el antisuero en volúmenes de 2 ml y conservarlo a 2–5°C. Alternativamente, el suero se puede conservar en volúmenes de 2 ml a –20°C. Todas las inoculaciones a los animales deben ser aprobadas y realizadas conforme a las normas establecidas para el bienestar animal. Debe comprobarse de forma regular la pureza de los antígenos utilizados en la MAT mediante el cultivo en agar sangre y en caldo de tioglicolato. Los cultivos base de antígenos se pueden almacenar a –70°C, a –80°C o en nitrógeno líquido. Puede que después de la liofilización haya una tasa de supervivencia baja de leptospiras. El pase repetido de antígenos en medio de cultivo da lugar a una pérdida de antigenicidad. En este caso, se debe hacer un nuevo cultivo líquido a partir del cultivo base (OIE, 2008).

Los antígenos empleados en el presente análisis serológico del MAT fueron cultivos vivos de leptospiras de 21 serovares distintos, pertenecientes a 18 serogrupos: *Hardjo* del serogrupo *Sejroe*, *Canicola* del serogrupo *Canicola*, *Grippotyphosa* del serogrupo *Grippotyphosa*, *Copenhageni* del serogrupo *Icterohaemorrhagiae*, *Pyrogenes* y *Zanoni* del serogrupo *Pyrogenes*, *Autumnalis* del serogrupo de su mismo nombre, *Ballum* y *Castellonis* del serogrupo *Ballum*, *Tarassovi* del serogrupo *Tarassovi*, *Bataviae* del serogrupo del mismo nombre, *Bratislava* y *Australis* del serogrupo *Australis*, *Patoc* del serogrupo *Semarang*, y *Pomona*, *Louisiana*, *Javanica*, *Panama*, *Djasiman*, *Celledoni* y *Cynopteri* de distintos serogrupos, con sus mismos nombres correspondientes.

El serovar *Castellonis* del serogrupo *Ballum* es una cepa española, concretamente la cepa es la Castellón 3, procedente del ratón de campo (*Apodemus sylvaticus*) (Faine, S. et al., 1999).

El **MAT** es específico para el serovar infectante o para serovares antigénicamente muy relacionados. Por tanto, se eligieron como antígenos una batería de serovares representativos de todos los serogrupos y, especialmente, los más habituales en la región donde se encuentran los animales de estudio, de tal forma que sea mayor la probabilidad de detectar los antígenos antileptospirales y conseguir una sensibilidad óptima.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Al realizar el estudio serológico en una zona no considerada endémica de leptospirosis por sus características climatológicas, como es la región de la CV, se determinó establecer un título igual o mayor a 100 como valor de referencia indicativo de caso de infección por leptospirosis, considerándose títulos inferiores como negativos o no infectivos. La magnitud de dicho **título de referencia** depende del nivel de exposición en la población y, por tanto, de la seroprevalencia.

### 3.3.2. Salmonelosis equina

Todas las muestras de heces recogidas fueron analizadas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Cardenal Herrera - CEU de acuerdo con el protocolo de trabajo establecido por la NORMA ISO **6579:2002** (Anexo D), “Detección de *Salmonella* spp. en heces de animales y en muestras ambientales en la etapa de producción primaria”.

Las **muestras** se preenriquecieron con agua de peptona tamponada (*Buffered peptone water*, Scharlau®) en proporción 1:10. A continuación, se homogeneizaron y se incubaron a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $18\pm 2$  horas. Posteriormente, se pesaron y se les añadió la misma cantidad de agua de peptona. Transcurridos quince minutos, se homogeneizaron por agitación y se tomaron 25 gramos. A esta cantidad, se le añadieron 225 ml de agua de peptona para conseguir la dilución 1:10 y seguidamente se incubaron. Una vez preenriquecidas las muestras, se inocularon 100  $\mu\text{l}$  del caldo preenriquecido de agua de peptona tamponada en tres gotas, distribuidas en tres puntos distintos de la superficie del medio semisólido: Rappaport Vassiliadis Semisólido Modificado (MSRV, Difco®). Las placas se incubaron, sin invertirlas, a  $41.5\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 24-48 horas. Se realizó una primera lectura a las  $24\pm 3$  horas y, posteriormente, de las placas que habían resultado negativas, se realizó una segunda lectura a las 48 horas. Las placas positivas mostraban una variación de color, con una zona turbia alrededor de la zona inoculada caracterizada por un halo blanco con un borde definido. A las 24 horas, el halo de migración de la bacteria era de, aproximadamente, 2 cm y podían llegar a ocupar toda la placa a las 48 horas. En las placas negativas, no se observaba ningún crecimiento.

En el caso de resultar positivo el medio anterior, el cultivo obtenido se homogeneizó y se transfirió a dos medios diferentes, Agar XLD (Xylose-lysine-deoxycholate agar, Liofilchem®, Valencia, España) y Agar ASAP (AES Laboratories®, Bruz Cedex, Francia). Las placas sembradas se incubaban a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $24\pm 3$  horas. Tras el periodo de incubación, había placas con colonias sospechosas que no se consiguieron aislar, así que se procedió a su selección y siembra en placas de agar nutritivo (*Nutritive agar medium*). Posteriormente, las placas de nutritivo se incubaron a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $24\pm 3$  horas. Por último, las colonias que seguían siendo sospechosas de ser *Salmonella* spp. se confirmaron bioquímicamente con el test API-20 (API-20®, bioMérieux, Francia).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.3.3. Piroplasmosis equina

Para el diagnóstico de la piroplasmosis en el presente estudio, se utilizó la técnica serológica **ELISA** y se llevó a cabo en el Laboratorio Oficial de Referencia de Algete.

Se ha descrito la producción de antígenos recombinantes para uso en técnicas ELISA. En *Escherichia coli* se ha producido la proteína recombinante (EMA-1) del merozoito de *T. equi*, y también en células de insectos mediante *baculovirus*. También se ha producido en *E. coli* como antígeno, el producto recombinante del gen Be 82 de *T. equi* fusionado con la proteína de la glutatión-S-transferasa. Igualmente, en *E. coli* se ha logrado producir un antígeno de *B. caballi* relacionado con la proteína del orgánulo secretor de estos parásitos (rhoptry). Los antígenos recombinantes, producidos en *E. coli* o por *baculovirus*, presentan la ventaja obvia de eliminar la necesidad de infectar caballos para la producción de antígenos y suponen una fuente lógica de antígeno para su distribución y estandarización a nivel internacional. Estos antígenos recombinantes se han utilizado en métodos ELISA indirectos y en métodos ELISA de inhibición competitiva (cELISA).

La **prueba** consiste en los siguientes pasos:

Se preparan placas de microtitulación, revistiendo los pocillos con 50  $\mu$ l de antígeno de *T. equi* o de *B. caballi* diluido en tampón de revestimiento de antígeno. Se determina la dilución usada por técnicas estándar de titulación serológica. La placa se sella con su tapadera, se guarda durante la noche a 4°C y se congela a -70°C.

La IgG anti-ratón marcada con biotina se diluye con agua estéril, siguiendo las indicaciones del fabricante, se guarda a 4°C y, al tiempo de ser usada, se diluye de nuevo hasta 1/200 con solución de lavado para cELISA, a la que se añade 2% (v/v) de suero equino normal. El conjugado enzimático avidina-fosfatasa alcalina se diluye al 1/43 (v/v) en solución de lavado para cELISA, y el substrato cromogénico para el enzima se mezcla siguiendo las instrucciones del fabricante.

Las placas se descongelan a temperatura ambiente, se decanta la solución de revestimiento, y se lavan dos veces con solución de lavado para cELISA. Se añade a los pocillos suero de caballo sin diluir (50 $\mu$ l/pocillo). El suero no debe ser precalentado. Cada suero se ensaya en pocillos **duplicados**. Las placas se incuban a 37°C durante 40 minutos en una cámara húmeda.

A continuación, todos los pocillos reciben 50 $\mu$ l/pocillo de líquido peritoneal murino (ascitis) monoclonal anti-*T. equi* o anti-*B. caballi*. Las placas se incuban 30 minutos a 37°C en una cámara húmeda, y luego se lavan 4 veces con solución de lavado para ELISA.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se añade a los pocillos una dilución de IgG anti-ratón marcada con biotina (50 µl/pocillo). Las placas se incuban 20 minutos a 37°C en una cámara húmeda y luego se lavan cuatro veces con solución de lavado para cELISA.

A todos los pocillos se añade el conjugado avidina-fosfatasa alcalina (50µl/pocillo). Las placas se incuban cubiertas durante 15 minutos a temperatura ambiente y luego se lavan cuatro veces con solución de lavado para cELISA.

Se añade a los pocillos el substrato **cromogénico** para el enzima (50µl/pocillo), y las placas se incuban a temperatura ambiente con agitación durante la aparición del color.

El desarrollo del color se detiene añadiendo a todos los pocillos 50µl de solución de parada con EDTA (2,5% [p/v] de una solución de EDTA en agua ultra pura), cuando los pocillos del control de suero negativo tengan una densidad óptica de 0,2-0,7 a una longitud de onda de 590 nm (OD590).

Las placas se leen a **590 nm**. Se calcula la OD590 media del par de pocillos para cada uno de todos los sueros. Para que un ensayo sea válido, la OD590 media del control positivo no debe exceder el 30% de la OD590 media del control de suero negativo, y los coeficientes de variación de los sueros control negativo y positivo no deben superar el 10%.

Si la OD590 media de las muestras es menor o igual que la OD590 del control positivo, el problema se considera positivo. Si la OD590 media de las muestras es mayor que la OD590 del control positivo, el problema se considera negativo. Si la OD590 promedio de las muestras está muy próxima a la del control positivo, las muestras se pueden catalogar como indeterminadas o sospechosas.

### 3.3.4. Fiebre del Nilo Occidental

Para el diagnóstico laboratorial de esta enfermedad vírica se empleó un kit de **ELISA indirecto**, registrado en la marca Ingenasa y conocido como Ingezim *West Nile* COMPAC / 10.WNV.K3, que detecta títulos bajos de anticuerpos en sueros infectados tanto de humanos como de otras especies, como los équidos. Está basado en el ELISA de bloqueo, donde el antígeno viral inactivado se fija en la placa de poliestireno. Cuando las muestras de suero son depositadas sobre la placa, en caso de contener anticuerpos específicos, se unirán al antígeno. Tras eliminar el material no unido mediante lavados, se añade un anticuerpo monoclonal específico del ectodominio de la glicoproteína E conjugado con peroxidasa. Si dichas muestras contienen anticuerpos frente al VNO, estos no permitirán la unión del conjugado, mientras que si las muestras no contienen dichos anticuerpos, el anticuerpo monoclonal conjugado se unirá al antígeno de la placa. Tras sucesivos lavados para eliminar el material no unido, podemos revelar las reacciones sucedidas en la placa mediante la adición de un

## MATERIAL Y MÉTODOS

sustrato adecuado que desarrollará reacción colorimétrica en presencia de peroxidasa. La aparición de una reacción coloreada indicará que la muestra ensayada no contenía anticuerpos específicos frente al VNO, y la ausencia de color indicará que la muestra es positiva y contiene dichos anticuerpos. Los resultados se considerarán positivos cuando el porcentaje de inhibición de la muestra  $[(PI) = 100 - [(DO \text{ muestra} / DO \text{ del control negativo} (1.467)) \times 100]]$  sea igual o superior al 40%.

Todas las muestras fueron leídas por un lector de ELISA con una longitud de onda de **450nm**. El diagnóstico se desarrolló en el Laboratorio de la UASA de Valencia.

### 3.3.5. Arteritis viral equina

La técnica de **seromicroneutralización** en presencia del **complemento** fue la empleada para el diagnóstico de la AVE en la población de caballos estudiada y, además, es la más utilizada a nivel internacional para determinar la infección por el VAE, para desarrollar estudios de seroprevalencia y para analizar caballos para su traslado. Los análisis se realizaron en el Laboratorio Central de Veterinaria de Algete.

Esta prueba se basa en la capacidad que poseen los **anticuerpos** para unirse a las proteínas víricas superficiales y así neutralizar el virus, inhibiendo la fijación del virus a la célula o su entrada subsiguiente. La determinación de los niveles de anticuerpos proporciona un mecanismo para inducir la respuesta de un antígeno durante el periodo tras la infección. Para esta técnica y esta enfermedad, la dosis de virus permanece constante y se mezcla con diluciones seriadas de suero. Una dilución de suero se considera positiva si existe una reducción estimada del 75%, o mayor, en la cantidad de efecto citopático (CPE) viral en los pocillos de suero problema, en comparación con la presente en los pocillos con la dilución más baja de virus control. Los títulos finales se calculan finalmente usando el método de Spearman-Kärber. Un título de  $\frac{1}{4}$  o mayor se considera un resultado positivo según la OIE. Un suero negativo debe mostrar sólo trazas (menos del 25%) o ninguna neutralización vírica a la dilución más baja ensayada.

Se recomienda realizar la prueba en **células RK-13**, utilizando como virus de referencia la **cepa** aprobada CVL-*Bucyrus* (Weybridge). Ésta deriva originalmente de la cepa *Bucyrus* prototipo del virus, aunque su historia completa de pases no está documentada. La sensibilidad de la prueba está muy influenciada por varios factores, en particular, por el origen y la historia de pases de la cepa vírica utilizada. La cepa CVL-*Bucyrus* (Weybridge) y la cepa vacunal MLV, muy atenuada del VAE, son de sensibilidad semejante para detectar sueros positivos de título bajo, especialmente, en caballos vacunados contra la AVE.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El **procedimiento** que se llevó a cabo fue el siguiente:

Los sueros se inactivan 30 minutos en agua a 56 °C. En placas de microtitulación para cultivo celular con 96 pocillos de fondo plano se realizan diluciones dobles seriadas del suero problema inactivado (volúmenes de 25 µl) con medio de cultivo libre de suero, comenzando con la dilución a ½ y utilizando filas duplicadas de pocillos para cada suero problema. Deben incluirse en cada prueba controles individuales de suero, así como controles negativos y positivos de título conocido, alto y bajo.

Se prepara una dilución del stock de virus que contenga en 25 µl de 100 a 300 DICT50 (dosis infectiva del 50% en cultivo de tejidos), utilizando, como diluyente, medio de cultivo celular sin suero que contenga antibióticos y complemento fresco de cobaya o de conejo a una concentración final del 10%.

A cada pocillo con 25 µl de cada dilución de suero se añaden 25 µl de la dilución apropiada del stock de virus, excepto en los pocillos de control del suero problema. Se incluye una re-titulación de la dilución de trabajo del stock de virus, utilizando cuatro pocillos por cada dilución decimal para confirmar la validez de los resultados de la prueba. Se cubren las placas y se agitan suavemente para facilitar la mezcla suero/virus.

Las placas se incuban durante 1 hora a 37°C en una atmósfera húmeda enriquecida con un 0,5% de CO<sub>2</sub>. Se prepara una suspensión de células RK-13 de cultivos de 3-5 días, cuya concentración asegure la formación de monocapas confluentes en los pocillos de las placas de microtitulación a las 18-24 horas de la siembra.

A cada pocillo se añaden 100 µl de la suspensión celular, se cubren las placas con sus tapas o se sellan con cinta aislante, y se agitan suavemente. Se incuban las placas a 37 °C en una atmósfera húmeda de 0,5% de CO<sub>2</sub> en aire.

Se observan las placas microscópicamente a las 12-18 horas para ECP no vírico y, de nuevo, a las 48-72 horas de incubación para el ECP vírico. La **validez** de la prueba se confirma estableciendo que la dilución de trabajo del stock de virus contenía de 30-300 DICT50 y que los títulos de los controles de suero positivo están dentro de 0,3 unidades logarítmicas decimales de sus títulos predeterminados.

## **4. RESULTADOS**



## RESULTADOS

### 4.1. Leptospirosis equina

Se realizó el análisis serológico sobre 389 muestras sanguíneas extraídas de caballos PRE de la CV, obteniéndose un porcentaje de casos positivos, es decir, con un título igual o superior a 1/100, del **65,04%** (Tabla 23).

Tabla 23. Incidencia de leptospirosis en función del sexo.

	Positivos	Negativos	Total
Machos	135	86	221
Hembras	114	44	158
Castrados	4	6	10
Total	253	136	389

Si consideramos el **sexo** de los animales, los porcentajes de seropositividad de cada grupo se reflejan en la Figura 51.

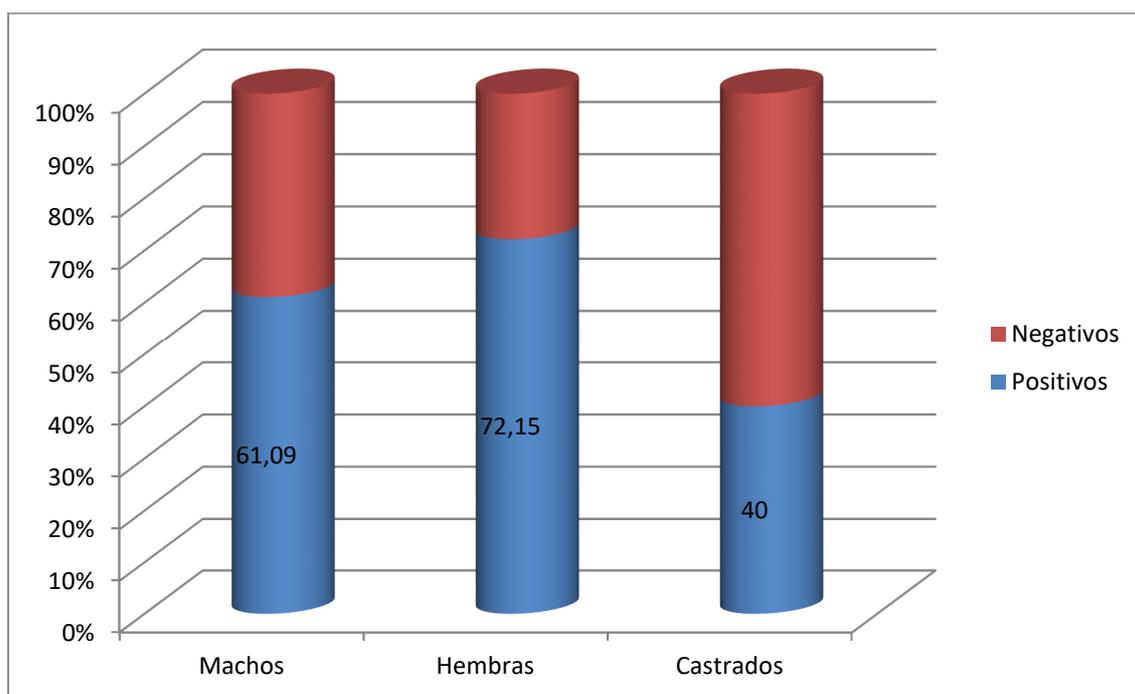


Figura 51. Porcentajes de seropositivos por leptospirosis dentro de cada sexo.

Si tenemos en cuenta la **edad** y dividimos la población estudiada en 4 grupos en función de la misma, obtenemos 112 animales hasta los 3 años, 99 entre los 4 y 6 años, 82 entre los 7 y 9 años, y 96 individuos con 10 o más años. En el grupo de los más jóvenes, hasta los 3 años de edad, la presencia de leptospirosis es menor que en los otros intervalos de edad, mientras que en los 3 grupos restantes, mayores de 3 años, se observan unos porcentajes muy similares (Figura 52).

## RESULTADOS

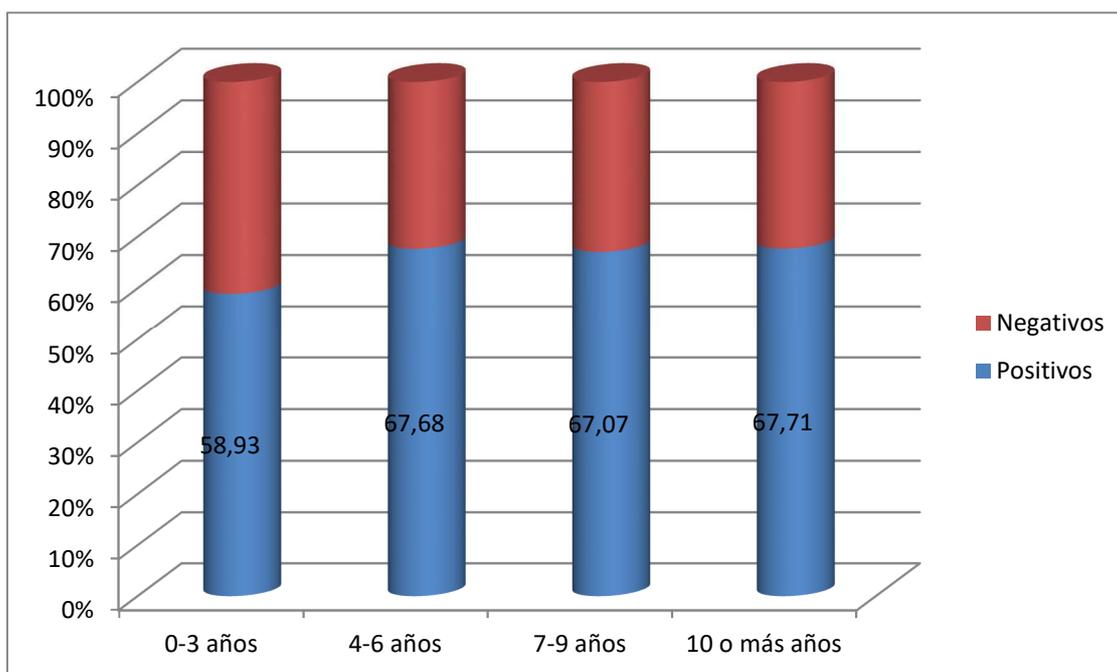


Figura 52. Porcentajes de leptospirosis en función de la edad.

Los porcentajes se mantienen relativamente **constantes** entre los distintos grupos de edad.

Si estudiamos la relación entre edad y sexo de los animales analizados, podemos observar que el mayor porcentaje de positivos se encuentra en el grupo de las yeguas entre 4 y 9 años, con un 78,72% de positivos entre los 4 y 6 años, y un 79,41% entre los 7 y 9 años. En cuanto a los machos, el mayor número de positivos se sitúa en el grupo de los individuos de 10 o más años, con un porcentaje del 69,35%.

También cabe destacar que, tanto en machos como en hembras, el **menor** porcentaje de positivos se encuentra en el intervalo de edad entre los 0 y 3 años, con un 56,06% en machos y un 63,04% en hembras, aunque en sementales también se aprecia un porcentaje similar entre los 7 y 9 años de edad, con un 56,52% de animales seropositivos. La población de castrados es demasiado pequeña como para sacar conclusiones, aunque llama la atención que todos los animales de edad comprendida entre los 7 y 9 años son positivos.

Si tenemos en cuenta los **serovares** empleados en la batería de antígenos, cabe destacar la presencia del serovar *Celledoni*, con un título igual o mayor a 1/100, en el 83% de las 253 muestras consideradas positivas (Figura 53). Le siguen en orden decreciente, de mayor a menor proporción, los serovares: *Cynopteri*, presente en un 37,15% de los individuos, *Bratislava* en un porcentaje del 20,16% y, ya en menor proporción, aparecen los serovares *Copenhageni*, *Javanica*, *Patoc*, *Australis* y *Pyrogenes*, con un 11,46%, 10,67%, 9,88%, 8,7% y 8,3%, respectivamente.

## RESULTADOS

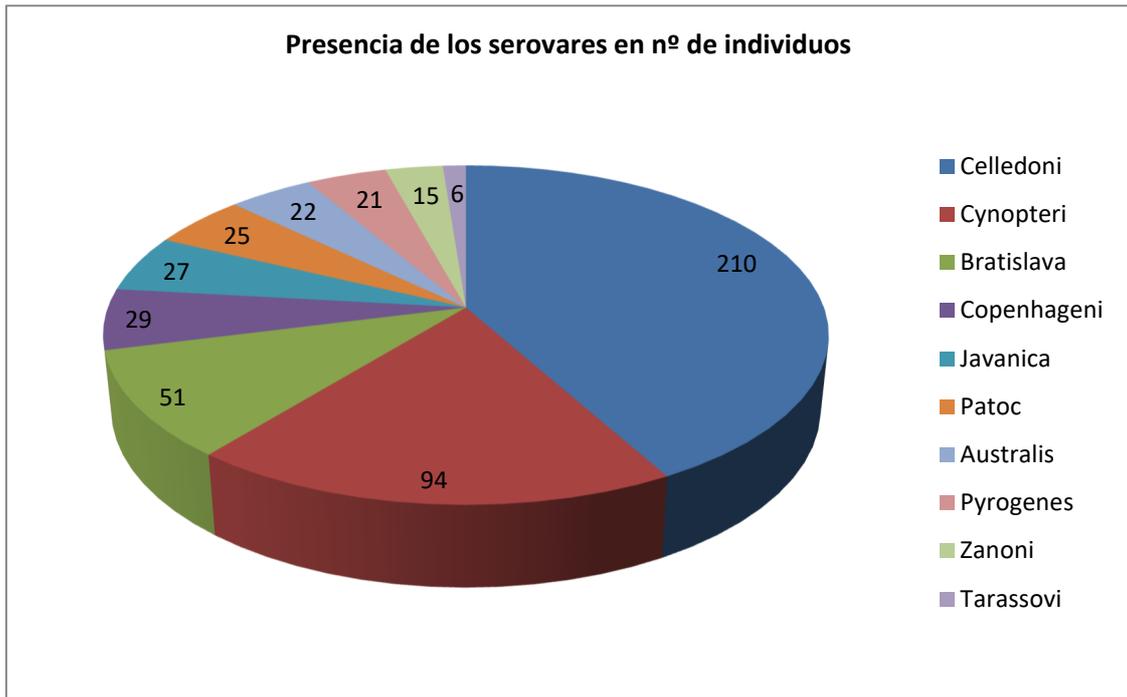


Figura 53. Incidencia de los diferentes serovares de *Leptospira*.

El serovar ***Celledoni*** se considera el principal agente infectante en el 49,8% de las muestras con resultado positivo (Figura 54). Como serovares principales infectantes le siguen a mucha distancia, en cuanto a porcentajes, los serovares *Cynopteri*, *Bratislava*, *Australis* y *Copenhageni*, y por ese orden, con unos valores más bajos, del 4,35%, 3,56%, 3,16% y 2,77%, respectivamente.

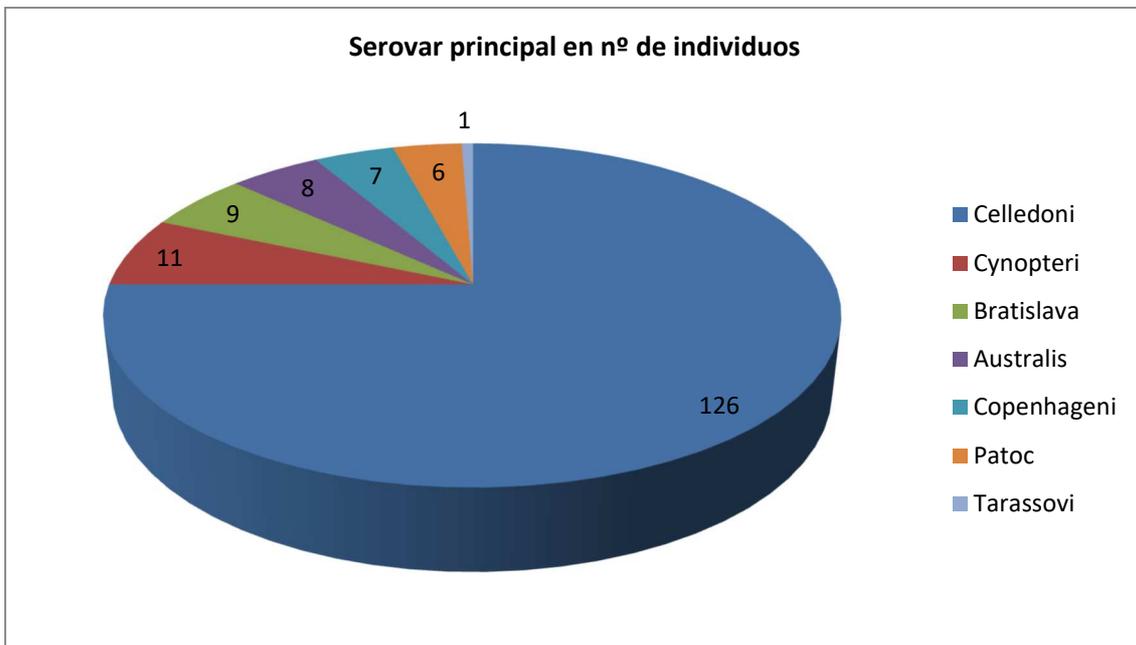


Figura 54. Incidencia como agente principal de los distintos serovares de *Leptospira*.

## RESULTADOS

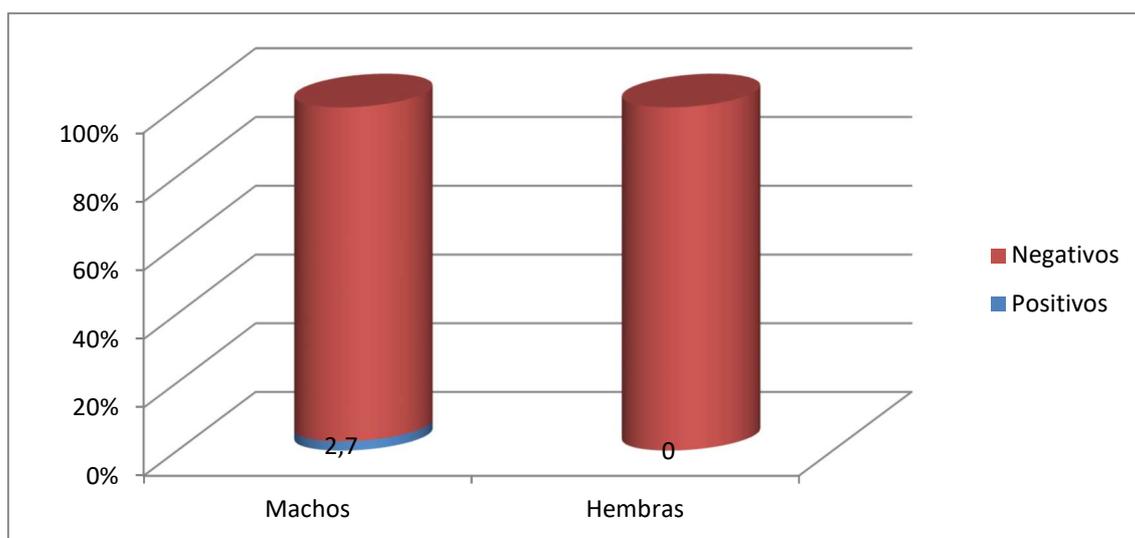
### 4.2. Salmonelosis equina

Tras los análisis realizados, los resultados que se obtuvieron revelaron un porcentaje de animales positivos a salmonelosis en la población estudiada del **2%** (Tabla 24).

**Tabla 24. Incidencia de salmonelosis, totales y en función del sexo.**

	Positivos	Negativos	Total
Machos	5	181	186
Hembras	0	61	61
Total	5	242	247

Las muestras positivas pertenecían en su totalidad a un solo sexo, a individuos **machos**. Si bien la mayor parte de las muestras procedían de caballos machos, el 75,4%, concretamente, y podría explicar que todos los positivos pertenecieran a dicho sexo, en las yeguas no se aisló ninguna colonia de sus heces, aun cuando las yeguas gestantes suelen ser más sensibles a esta bacteria. La presencia de salmonelosis entre los machos se refleja en la figura 55.



**Figura 55. Porcentajes de casos positivos por salmonelosis en función del sexo.**

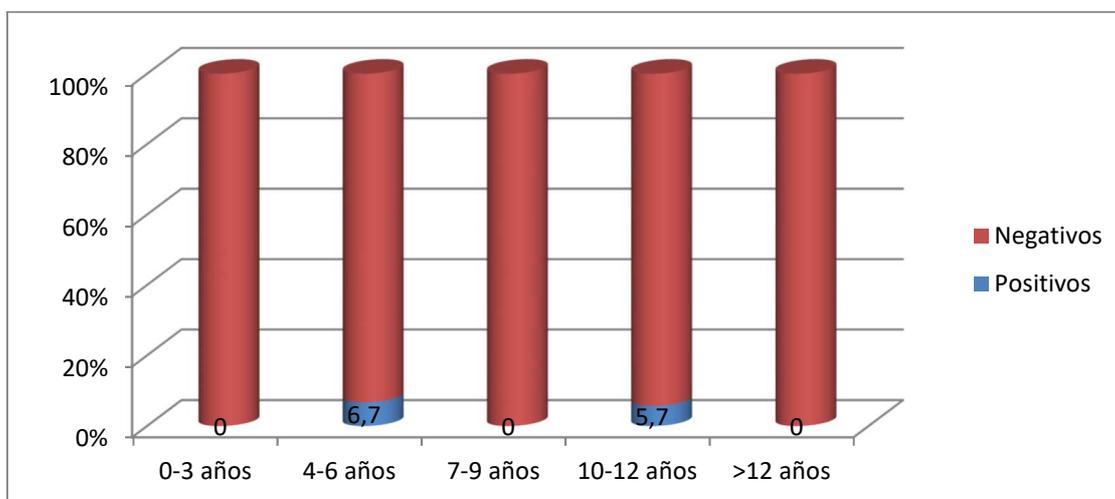
De los 5 ejemplares positivos, 2 se situaban en el rango de **edad** entre los 4 y 6 años, y 3 entre los 10 y 12 años. Los demás intervalos de edad no presentaron ningún individuo positivo (Figura 56) (Tabla 25).

**Tabla 25. Distribución de los animales por grupos de edad.**

Edad	0-3 años	4-6 años	7-9 años	10-12 años	>12 años
Machos	14	22	36	38	76
Hembras	4	8	13	15	21
Total	18	30	49	53	97

## RESULTADOS

En los rangos de edad fijados entre los 4 y 6 años y entre los 10 y 12 años, los valores de positividad frente a *Salmonella* obtenidos aparecen en la figura 56.



**Figura 56. Porcentajes de casos positivos por salmonelosis en función de la edad.**

En cuanto al factor **racial**, la población estudiada estaba formada por individuos de distintas razas y los individuos positivos también correspondieron a diferentes razas. En concreto, 2 caballos son de PRE, 1 es Hispano-árabe, 1 y otros 2 de raza cruzada, desconocida. Tampoco existe una relación entre la raza y la edad, ya que los 2 caballos de entre 4 y 6 años son de distinta raza e igual sucede con los 3 positivos del grupo de mayor edad.

### 4.3. Piroplasmosis equina

Un **7,3%** de los caballos PRE analizados frente a esta enfermedad resultaron seropositivos. Ninguno fue positivo frente a *Babesia caballi*, los 14 positivos fueron frente a *Theileria equi* (Tabla 27).

**Tabla 26. Incidencia de piroplasmosis en función del sexo.**

	Positivos	Negativos	Total
Machos	7	102	109
Hembras	7	76	83
Total	14	178	192

La seropositividad se repartía al 50% entre machos y hembras (Tabla 26). En la tabla 27 se muestra la mayor prevalencia registrada en el grupo de las yeguas en comparación con la de los machos.

## RESULTADOS

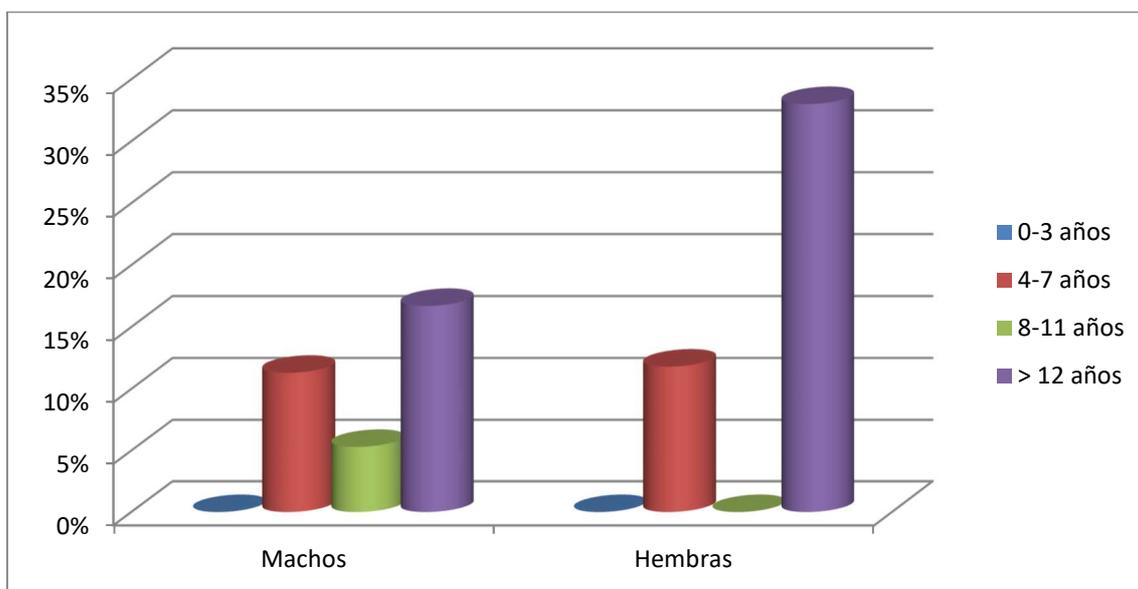
**Tabla 27. Porcentajes de piroplasmosis en función del sexo y del agente infectante.**

Seropositivos	<i>B. caballi</i>	<i>T. equi</i>
Hembras	0	8,4%
Machos	0	6,4%

En cuanto a **edades**, el grupo de edad más afectado fue el de más de 12 años, tanto en machos como en hembras, seguido del situado entre los 4 y 7 años de edad, que fue el que más prevalencia acumuló tras los animales mayores de 12 años (Figura 57) (Tabla 28).

**Tabla 28. Incidencia de piroplasmosis en función del sexo y de la edad.**

Edad	< 3 años	4-7 años	8-11 años	>12 años
Hembras	0	4	0	3
Machos	0	3	1	3
Total	0	7	1	6



**Figura 57. Porcentajes de seropositivos por piroplasmosis en función del sexo y de la edad.**

Uno de cada 5 caballos mayores de 12 años es positivo frente a la piroplasmosis (Figura 58). No se registró ningún animal seropositivo menor de 3 años (Figuras 57 y 58).

## RESULTADOS

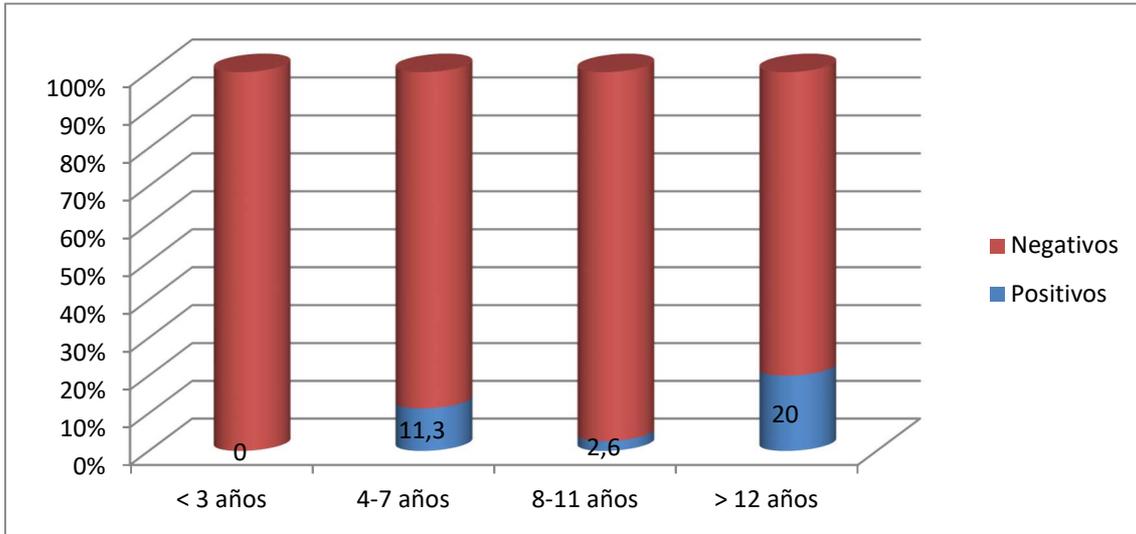


Figura 58. Porcentajes de seropositivos por piroplasmosis en función de la edad.

### 4.4. Fiebre del Nilo Occidental

Tras el análisis serológico para la detección de anticuerpos frente al VNO, se detectaron un **3,41%** de caballos seropositivos entre los 88 caballos PRE (Tabla 29). Las muestras se consideraron positivas con resultados de absorbancia menores al 0,880. La prevalencia por sexos se observa en la figura 59.

Tabla 29. Incidencia de FNO en función del sexo.

	Positivos	Negativos	Total
Machos	2	49	51
Hembras	1	36	37
Total	3	85	88

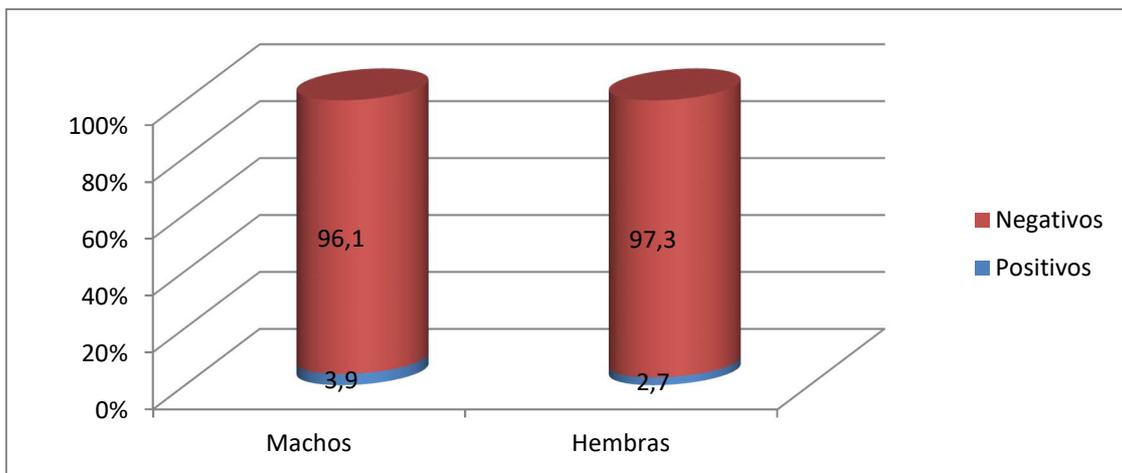


Figura 59. Porcentajes de FNO en función del sexo.

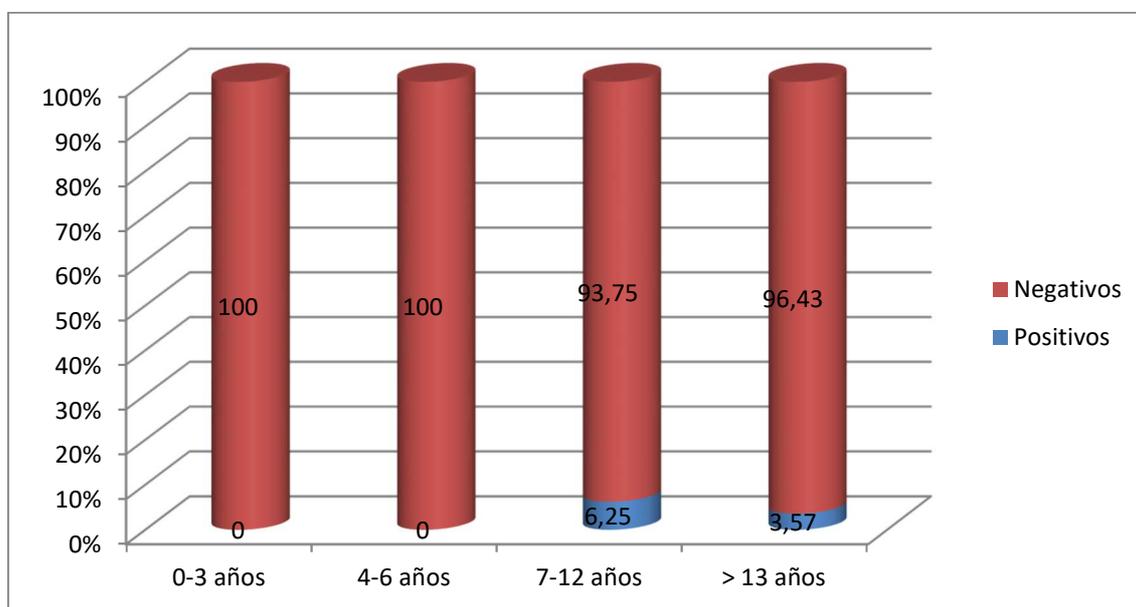
## RESULTADOS

En cuanto al factor de la **edad**, la yegua era la más joven con 7 años, mientras que los machos eran mayores, con 9 y 15 años.

**Tabla 30. Distribución de los individuos e incidencia de FNO en función de la edad y el sexo.**

	0-3 años	4-6 años	7-12 años	>13 años
Machos	4	11	17	19
Hembras	5	8	15	9
Total	9	19	32	28
Positivos	0	0	2	1

La mayor incidencia se encontró en el grupo de individuos entre los 7 y 12 años de edad (Tabla 30). Entre los caballos menores de 7 años no se detectó ningún individuo seropositivo (Figura 60).



**Figura 60. Porcentajes de seropositivos por FNO en función de la edad.**

### 4.5. Arteritis viral equina

La seroprevalencia de AVE obtenida tras los análisis realizados a los 49 caballos PRE fue de un **12,24%**, es decir, 6 caballos positivos en la población estudiada, 1 con un título de anticuerpos de 1/32, 1 con un título de 1/64, y 4 con valores de 1/128, considerándose positivo todo animal con un título igual o superior a  $\frac{1}{4}$  (Figura 61).

5 de los 6 individuos con resultado positivo fueron yeguas, mientras que tan solo 1 de las 6 muestras positivas correspondió a un macho (Figura 62).

## RESULTADOS

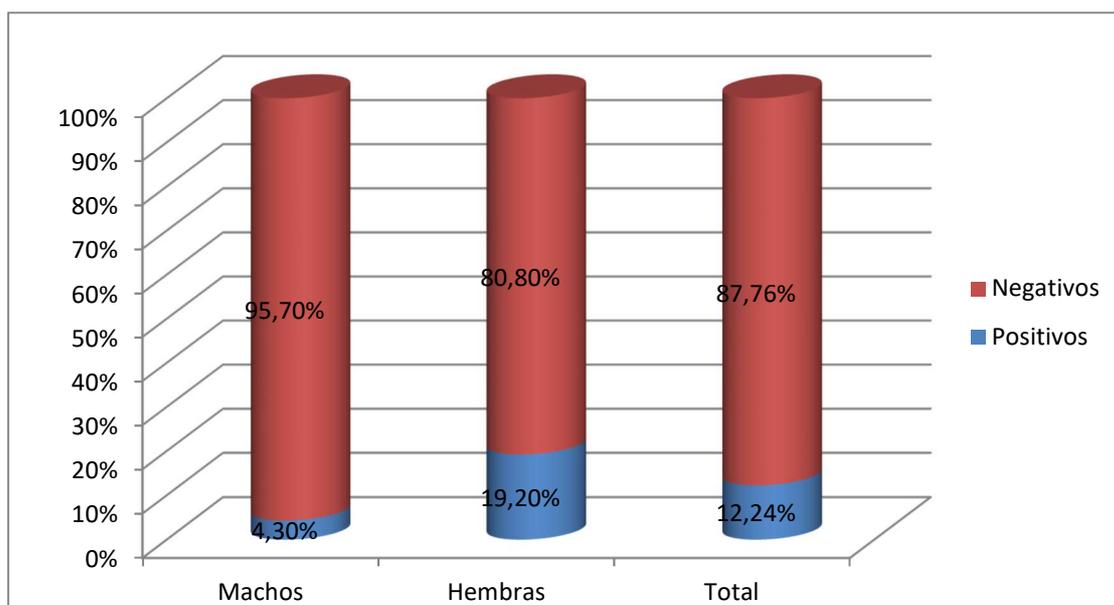


Figura 61. Porcentajes de AVE total y dentro del mismo sexo.

Casi una de cada 5 yeguas dio un resultado positivo frente a la enfermedad. Mientras que, en el caso de los machos, el porcentaje de seropositivos es mucho menor (Figura 61).

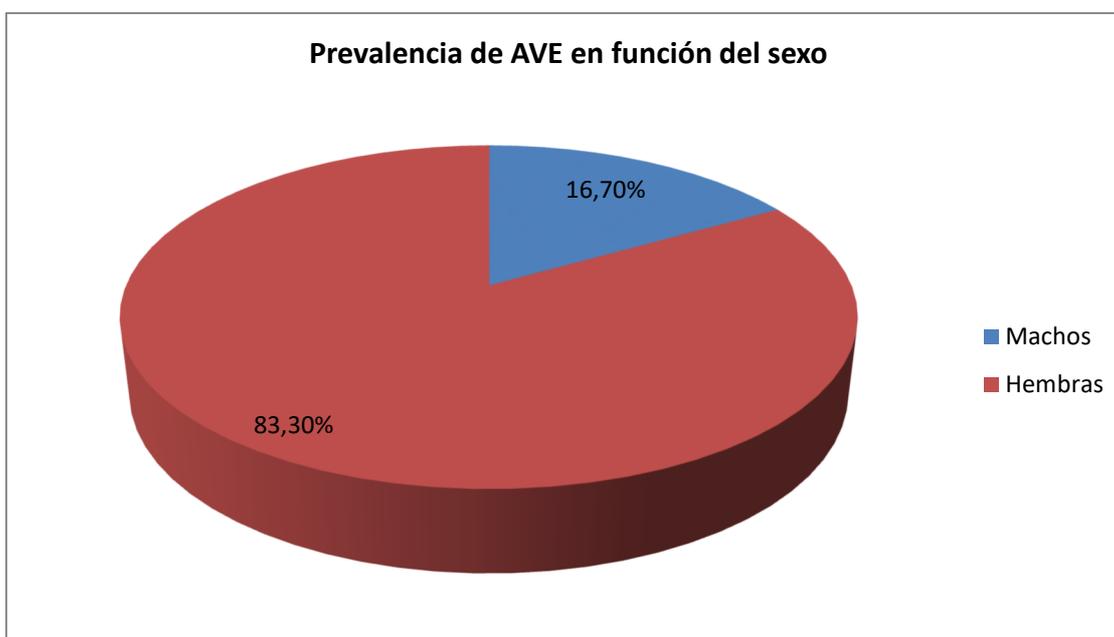


Figura 62. Porcentajes de seropositividad por AVE en función del sexo.

En cuanto a la **edad**, el grupo de caballos con una edad superior a **20 años** presentó la mayor prevalencia, con el 50% de individuos de este rango de edad dando resultado positivo frente a la AVE. Mientras que en el rango de edad comprendido entre los 16 y 20 años, no resultó ningún animal positivo (Figura 63).

## RESULTADOS

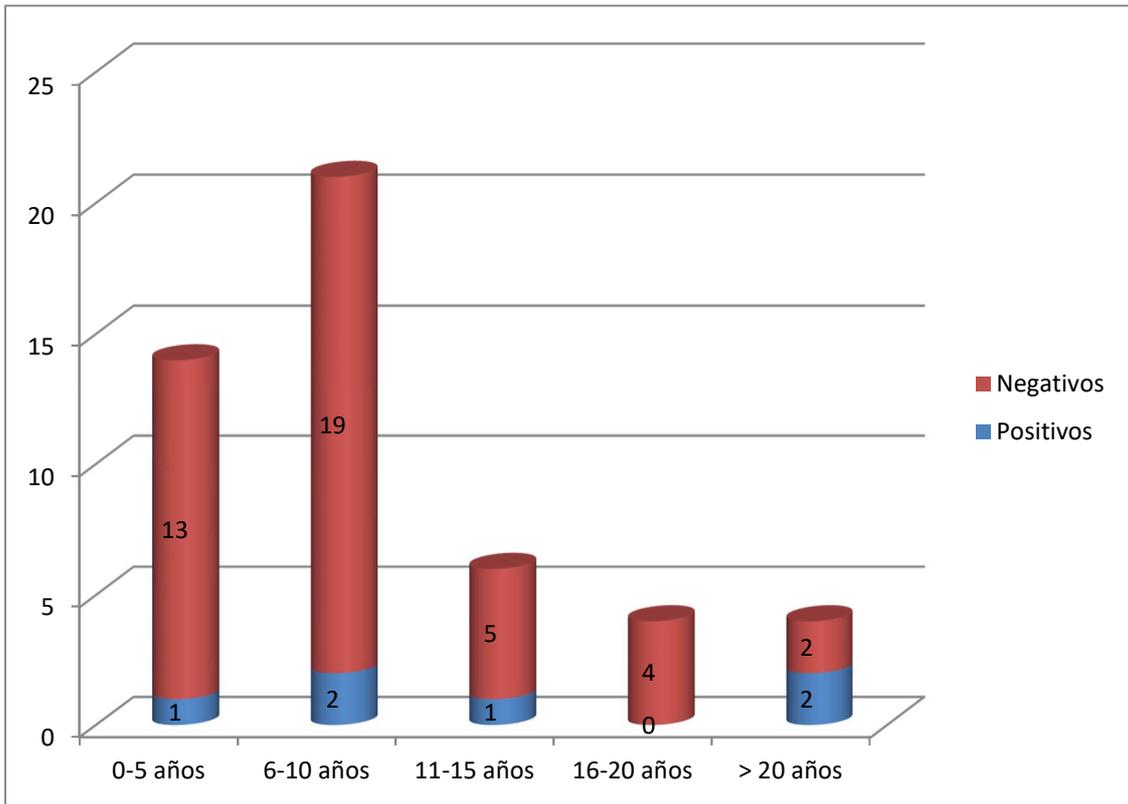


Figura 63. Incidencia de AVE en función de la edad.

Es destacable también, si no tenemos en cuenta el rango de 16 a 20 años de edad, que el porcentaje de seropositividad aumenta progresivamente con la edad. Se puede apreciar la tendencia ascendente en los porcentajes en la gráfica siguiente (Figura 64).



Figura 64. Seropositividad de AVE en función del grupo de edad.

## 5. DISCUSIÓN



## DISCUSIÓN

Las prevalencias obtenidas en las diferentes poblaciones de caballos dentro de la Comunidad Valenciana resultaron ser muy dispares para las 5 enfermedades estudiadas. La seroprevalencia de leptospirosis equina fue la más elevada en comparación con las otras enfermedades, presentando un valor del 65%, por encima de las seroprevalencias obtenidas para la arteritis viral equina y para la piroplasmosis, que alcanzaron valores del 12,2% y del 7,3%, respectivamente. Aún más bajos fueron los valores de prevalencia para las otras dos enfermedades, registrándose unos resultados del 3,4% y del 2%, para la fiebre del Nilo Occidental y para la salmonelosis, respectivamente.

Las muestras se recogieron de distintas poblaciones equinas para las 5 enfermedades. Ningún caballo se analizó para más de una enfermedad, con la intención de que los resultados fueran los más independientes posibles. Ninguno de los individuos analizados mostró signos de enfermedad compatibles con las patologías estudiadas.

El elevado porcentaje de caballos seropositivos frente a la **leptospirosis** llama mucho la atención. No existe otro estudio de esta enfermedad en caballos en España, aunque sí se realizó un estudio preliminar en 2010, en caballos PRE de la CV, obteniéndose una prevalencia del 49% (Gimeno, S. et al., 2010), menor a la registrada en este estudio.

En otros países europeos se han encontrado valores de seroprevalencia de leptospirosis equina muy variados. Así, en Irlanda del Norte y en los Países Bajos se registraron porcentajes del 89,1% y 79% en sendos estudios (Ellis, W.A. et al., 1983) (Houwens, D.J., 2010), mientras que en otros estudios, llevados a cabo en Portugal, Reino Unido e Italia, se descubrieron valores menores al de nuestro estudio, reflejando prevalencias del 43,4% en el primero (Rocha, T., 1998), un 25,2% en el segundo (Smith, K. y Dalley, C., 2006), y del 11,4% en el tercero (Cerri, D. et al, 2003).

En el resto del mundo, las seroprevalencias de esta enfermedad en los caballos también varían mucho. Los valores más elevados se detectaron en países como Méjico, en el que un estudio mostró una prevalencia del 86,5% en una población de caballos del ejército (Gómez Molina, T.G., 2005). En la década de los 70, un estudio describió una prevalencia del 64% en Barbados (Damude, D.F. et al., 1979), muy similar a la observada en la CV. Así mismo, en diferentes estudios epidemiológicos desarrollados en Brasil, entre 2007 y 2012, se evidenciaron prevalencias muy elevadas que alcanzaban el 87,8% (Pinna, M.H. et al., 2007). También, en Chile y Argentina, diversos estudios mostraron valores de seroprevalencia muy altos, alcanzando hasta el 63%, en el primero, (Moya, M., 2002) y hasta el 74,6% en caballos destinados para carne, en el segundo (Myers, D.M., 1976).

## DISCUSIÓN

La mayor seroprevalencia detectada en un país fue en Etiopía. En un estudio realizado en 1975, la seropositividad en caballos alcanzó el 91,3% (Moch, R.W. et al., 1975). En Nueva Caledonia, en Oceanía, también se descubrieron valores muy elevados de prevalencia en caballos, llegando al 80% de animales positivos (Roqueplo, C. et al., 2013).

Sin embargo, en otros estudios epidemiológicos llevados a cabo en países, como Irán, Corea del Sur y Australia, los resultados de prevalencia eran más bajos, con valores del 27,9%, 25% y 14,7%, respectivamente (Rahim, M. et al., 2005) (Jung, B.Y. et al., 2009) (Dickeson, D. y Love, D.N., 1993). Tampoco los resultados registrados en caballos destinados al transporte en Cuba superaron el 20% de seroprevalencia (Castillo, J.C. et al., 2007), mientras que, en estudios realizados en diferentes zonas de EE.UU. y Canadá, los resultados oscilaron mucho, desde el 5% en el noreste de los EEUU y Quebec hasta el 94,6% en la provincia de Alberta, en Canadá (Higgins, R. et al., 1980) (Smith, R.E. et al., 1976) (Lees, V.W. y Gale, S.P., 1994).

Los distintos valores de prevalencia de leptospirosis en las diferentes partes del mundo están muy influenciados por las condiciones climatológicas y medioambientales, así como por factores de manejo e higiene.

En cuanto a las variables de sexo, edad y raza, cabe destacar que se determinó un mayor número de casos positivos entre las yeguas en la CV, con un 72% de seropositivas frente a la leptospirosis, mientras que, en machos, la seropositividad se situó en un 61%. La prevalencia de leptospirosis es menor en los animales más jóvenes, pero a partir de los 4 años la seropositividad aumenta. Entre las hembras, la prevalencia es mayor entre los 4 y 9 años de edad, mientras que, en los sementales, es mayor a partir de los 10 años de edad.

La población equina estudiada para la leptospirosis constaba sólo de ejemplares de PRE, por lo que todos los datos obtenidos pertenecen a esta raza, pero se pueden extrapolar a otros individuos de la misma especie.

Entre las enfermedades víricas estudiadas, la **AVE** presenta una mayor prevalencia en la población equina en comparación con la FNO y, además, es la segunda con mayor prevalencia de las analizadas en este estudio en la CV.

En España, existe evidencia serológica de la presencia de AVE desde 1978 (Morailon, A. y Morailon, R., 1978), pero los estudios de prevalencia son escasos. En Cataluña, a raíz de un brote en 1992, se determinó un 17% de prevalencia en un club hípico de Barcelona (Monreal, L. et al., 1995). En las Comunidades de Castilla-León, Castilla-La Mancha y de Madrid, un estudio llevado a cabo entre 2011 y 2013 reveló un 17,3% de prevalencia en caballos PRE (Cruz, F. y Newton, R., 2014). Estos valores son ligeramente más altos pero similares a los registrados en el presente estudio.

## DISCUSIÓN

Al tratarse de una enfermedad muy relacionada con el manejo y el control en la cría y reproducción, así como con la raza, las prevalencias detectadas en Europa varían mucho de unos países a otros y, dentro del mismo país, en función de la raza equina. Los valores de prevalencia de AVE oscilan entre el 3,3%, que se detectó en Grecia en la primera década del siglo XXI (Mangana-Vougiouka, O. et al., 2013), y el 70,2%, que se determinó en 2002, en Eslovenia. En este último, la prevalencia era muy superior en machos con respecto a las hembras, 70,3% y 36,9%, respectivamente (Hostnik, P. et al., 2011).

En el RU, los análisis serológicos mostraron que, en 1996, la prevalencia de AVE era de un 0,52%. En ese año, el porcentaje de *Standardbreds* seropositivos era de un 18,5%, en contraste con sólo el 0,3% de los Pura Sangres (Newton, J.R. et al., 1999), lo que refleja la diferencia de prevalencias en distintas razas dentro de un mismo país.

En Austria, por ejemplo, la seroprevalencia de la AVE también es muy elevada en determinadas razas, como en sementales *Warmbloods*, donde el 55-93% de los sementales de esta raza son positivos frente al VAE. Y en Alemania, los estudios de vigilancia epidemiológica y de prevalencia reflejan valores que van variando con los años desde 1,8%, en 1987 y 1988, hasta un 20%, en 1994, por lo que las medidas de control y manejo de los caballos marcan mucho la tendencia en cuanto a variaciones en la prevalencia y en la aparición de brotes epidémicos (Gimeno, S. et al., 2011).

También en el resto del mundo, las prevalencias varían entre países, dentro del mismo país y según la raza equina. Así, en los EEUU, en 1998, un estudio reveló que sólo el 2% de los caballos no vacunados eran positivos frente al VAE. En California, el mismo porcentaje de caballos residentes no vacunados daban un resultado positivo, mientras que el 18,6% de los caballos importados, la mayoría *Warmbloods* europeos, eran seropositivos (Holyoak, G.R. et al., 2008). Así mismo, esto también se refleja, por ejemplo, entre caballos *Standardbreds* y Pura Sangres en los EEUU, donde la AVE es endémica entre los *Standardbreds* pero no entre los Pura Sangres, con unas prevalencias de AVE en torno al 77,5-84,3% y al 0-5,4%, respectivamente.

En otros países no existía ningún caso de AVE, como, por ejemplo, en Argentina hasta 1994, pero la autorización de importación de sementales y de semen, y el levantamiento de ciertas medidas preventivas, provocó la aparición de animales seropositivos y brotes en distintos años, alcanzándose, por ejemplo, un 98% de prevalencia en yeguas de una explotación tras la importación de semen infectado desde Holanda, en 2010 (Barrandeguy, M., 2011).

Sin embargo, otros estudios desarrollados en países sudamericanos demostraron valores de prevalencia muy bajos, como en Brasil, del 1,99% (Carvalho, P.R. et al., 2013).

## DISCUSIÓN

También en África, Asia y Oceanía se han detectado caballos seropositivos, con valores de prevalencia que oscilan entre el 3,22% de Taiwán (Yen, C.Y. y Wu, Y.L., 2013) y el 23,4% de Turquía (Bulut, O. et al., 2012). En Nueva Zelanda, durante años se habían detectado valores de prevalencia muy distintos entre razas, con valores muy elevados entre los *Standardbreds*, por ejemplo, de hasta el 54%. Pero, en 2014, se declaró el país libre de la enfermedad tras la aplicación de medidas higiénico-sanitarias durante años y la realización de 3.627 análisis serológicos entre 2012 y 2014 (McFadden, A.M. et al., 2013) (Pearce, T. et al., 2014).

Como se refleja en otros estudios epidemiológicos a nivel mundial, la prevalencia suele ser mayor entre los sementales por su capacidad para permanecer como portadores, como en Austria o Eslovenia, pero en el presente estudio realizado en la CV el 83% de los individuos seropositivos fueron yeguas, lo que puede tener explicación en el tamaño de la población analizada, pero también ocurre en brotes relativamente recientes como ocurrió en Argentina.

Así mismo, cabe señalar la mayor prevalencia de infección en individuos mayores de 20 años en este estudio, como en otro llevado a cabo en Argelia, donde se obtuvo una seroprevalencia superior al 20% en caballos mayores de 16 años (Laabassi, F. et al., 2014). Esto es debido a que la incidencia de seropositividad y de títulos de anticuerpos neutralizantes frente al VAE generalmente aumenta con la edad, sugiriendo que el virus circula dentro de la población equina (Glaser, A.L. et al., 1996).

Todos los individuos de la población analizada eran PRE, por lo que se tiene un reflejo del estado sanitario de la raza en relación a esta enfermedad en la CV y es comparable a otros resultados de la misma raza obtenidos en otras poblaciones, como en la zona central de España, donde se registró una prevalencia en PRE mayor pero similar.

La **piroplasmosis equina** es una enfermedad parasitaria muy presente en la población equina española, incluso, considerada endémica, al igual que en otras partes de Europa y del mundo. En este estudio realizado en la CV, la prevalencia obtenida es muy similar a otro estudio preliminar que se llevó a cabo anteriormente y en el que se registró un 7,5% de prevalencia en dos yeguas (Vega, S. y Domingo, R., 2012). Llama la atención que todos los caballos seropositivos lo fueron frente a *Theileria equi* en la región de estudio, lo que corroboraría que las infecciones por *T. equi* son más frecuentes que las causadas por *B. caballi* en zonas del sur de Europa (Zobba, R. et al., 2008).

En un estudio previo, realizado a nivel nacional en la década de los 90, se obtuvieron unas prevalencias del 52,5% para *T. equi* y del 21,3% para *B. caballi*, predominando la primera en toda España, excepto en la cornisa Cantábrica (Habela M.A. et al., 2000).

## DISCUSIÓN

Los valores de la CV son inferiores a los de referencia a nivel nacional y también a los de otras comunidades en las que se desarrollaron estudios similares. Así, en Extremadura se obtuvo la mayor prevalencia con un 78% frente a *T. equi* y un 23% frente a *B. caballi*, en Andalucía se registraron en dos estudios independientes valores muy elevados también, sin llegar a los de Extremadura, y en Galicia también predominó *T. equi* con un 40% de prevalencia, mientras que *B. caballi* apareció en un 28,3% de la población y ambos parásitos en un 20% de las muestras analizadas (Camacho, A.T. et al., 2005). Es importante destacar la mayor presencia de *T. equi* en una región de la zona norte, a pesar de lo apuntado en otros estudios respecto a la mayor prevalencia de *B. caballi* en la zona norte de España.

En otros países de Europa, la piroplasmosis también se encuentra presente, especialmente, en los países del sur de Europa. Entre ellos destaca Italia con valores de prevalencia que alcanzan valores superiores al 50% en diferentes regiones. En el norte predomina *B. caballi*, mientras que, en el resto del país, *T. equi* presenta mayor prevalencia, siguiendo la misma tendencia de España. En Portugal y Grecia, los valores registrados en estudios de prevalencia, 16,7% y 11,6%, respectivamente, son inferiores a los de España e Italia, pero aun así son superiores a los obtenidos en la CV (Baptista, C. et al., 2013) (Kouam Kenmogne, M. et al., 2010).

En países centroeuropeos, como Suiza y Hungría, se han detectado valores muy similares a los de la CV, con prevalencias del 7,3% y del 7,8%, respectivamente, destacando, en el segundo, la notificación de *B. canis* infectando a équidos por primera vez, lo que apoya la idea de que los piroplasmas no son tan específicos del hospedador (Hornok, S. et al., 2007). En Hungría, un estudio más reciente reveló una prevalencia del 32% frente a *T. equi* (Farkas, R. et al., 2013).

En países considerados libres de la enfermedad, como Irlanda o Países Bajos, o con escasa casuística, como Polonia, se han dado brotes en los últimos años, llegándose a calcular una prevalencia del 4% en los Países Bajos, con predominio de *B. caballi* (Butler, C.M. et al., 2012). Esto puede reflejar un fallo en el sistema de vigilancia y control de entrada de animales infectados, o también, la presencia o modificación en el hábitat de las garrapatas vectores.

A nivel mundial, la piroplasmosis se encuentra en numerosos países, especialmente, en aquellos que reúnen las condiciones climáticas para albergar a los vectores transmisores. Así, en Trinidad, Brasil y Venezuela, los estudios de prevalencia revelaron valores del orden del 70, 80 y 90%, con mayor predominio, habitualmente, de *B. caballi*. Sin embargo, estudios llevados a cabo en Colombia, Uruguay y Argentina mostraron valores de prevalencia que oscilaban entre el 2 y el 42 %, resultados inferiores a los anteriores. A los EEUU se les considera un país libre de la enfermedad, aunque, en ocasiones, se han dado brotes en Estados del sur.

## DISCUSIÓN

En el continente africano, la enfermedad registra elevada prevalencia y se demostró su presencia en estudios realizados en Nigeria, Sudán y Sudáfrica, con porcentajes que alcanzaban el 41,7%, 63,5% y hasta el 100%, respectivamente. *T. equi* es el parásito predominante en estos países.

En Asia también está presente la piroplasmosis, con prevalencias bajas en países como Corea del Sur y Tailandia, mientras que, en otros, la prevalencia es mayor, como en China, alcanzando valores del 40%, disparándose los valores en Mongolia. Siempre, en todos estos casos, con predominio de *T. equi* en las infecciones. En Oriente Próximo, las prevalencias de esta enfermedad no alcanzaban los valores de Mongolia, pero sí que se encontró en países como Irán, Jordania o Israel, con valores de entre el 25 y el 30% de prevalencia. Así mismo, se demostró su presencia mediante estudios epidemiológicos en Turquía y Arabia Saudí, con prevalencias inferiores a los anteriores países, pero superiores a los registrados en la CV. El agente causal predominante, en estos casos, también fue *T. equi*, de la misma manera que en la CV.

La población de estudio para esta enfermedad estaba compuesta por individuos PRE pero, por la prevalencia resultante y los valores alcanzados en este y otros estudios, no parece que el factor racial sea predisponente. El sexo tampoco es un factor predisponente para sufrir en mayor medida la infección como reflejaron los porcentajes de seropositivos en hembras y machos en la CV, 8,4% y 6,4%, respectivamente. Sin embargo, los animales mayores de 12 años sí que registraron valores de prevalencia más elevados, lo que puede indicar una mayor probabilidad de poseer anticuerpos, al haber sido infectado, cuanto mayor sea la edad del caballo. También basado en el hecho de que no se detectó ningún caballo seropositivo menor de 4 años de edad.

La **FNO** alcanza una prevalencia baja en la CV, con un 3,41%, similar a la obtenida en un estudio en Cataluña, 3,64% (Gorres, A., 2014), y por encima de los valores registrados en dos estudios en la zona central de España, 2,71% y 2,9% (Abad-Cobo, A. et al., 2016) (Abad-Cobo, A. et al., 2015). Todos estos datos se obtuvieron mediante técnicas de ELISA, y siempre se ha de tener en cuenta que en los casos positivos en este tipo de técnicas, es preciso confirmar el diagnóstico mediante seroneutralización, que diferencia entre diferentes flavivirus. La detección tanto de IgM como de IgG son pruebas muy sensibles, pero poco específicas, ya que tienen reacciones cruzadas con otros virus de la misma familia. De todas formas, nos sirven de referencia para comparar el grado de infección en diferentes zonas de España y del mundo. En otros estudios llevados a cabo en Andalucía, en 2005, y en la CV, en 2006, se registraron prevalencias más altas del 8,3% y del 9,9% (Bakonyi, T. et al., 2005) (Marín, S. et al., 2007), respectivamente. En el primer caso, se realizó mediante técnicas de seroneutralización, y en el segundo, mediante ELISA indirecto.

## DISCUSIÓN

En España, el primer foco de FNO en équidos se declaró en Andalucía, en 2010, y desde entonces han seguido apareciendo focos de infección y nuevos casos clínicos hasta el 2015, extendiéndose a otras Comunidades, como Castilla-La Mancha o Extremadura. En Andalucía, los valores de seroprevalencia determinados han sido superiores al resto de zonas analizadas de España, obteniéndose, en 2010, valores del 51,7% en los caballos no vacunados de las explotaciones infectadas, y del 11% en poblaciones de équidos no sospechosas en la zona afectada (García-Bocanegra, I. et al., 2012b).

En el resto de Europa han tenido lugar brotes a causa del VNO en numerosos países. En Francia, Portugal e Italia se han dado brotes de infección y se han obtenido prevalencias elevadas en las zonas afectadas. En Portugal se llegó a registrar una prevalencia del 29% en un estudio realizado en 1970 (Marín, S. et al., 2007) y en Italia se obtuvo un valor del 38% en un muestreo llevado a cabo en 1998 (Autorino, G.L. et al., 2002) (Cantile, C. et al., 2000). Posteriormente, en el 2008, en el país transalpino, se produjo una gran epidemia de la FNO en la zona noreste y desde entonces hasta la actualidad han ido apareciendo nuevos focos, casos clínicos y muertes todos los años, y ha ido extendiéndose la enfermedad a otras zonas del país. En Francia, ya en la década de los 60, se diagnosticaron casos clínicos y muertes por el VNO en la región sureña de la Camarga. En el 2000 se volvió a dar un brote de FNO en esta zona, con casos clínicos y muertes, y se calculó una seroprevalencia del 8,5% mediante ELISA (Durand, B. et al., 2002). Posteriormente, se han dado nuevos brotes de la enfermedad en esta y otras regiones del país. En Portugal, un estudio de prevalencia realizado entre 2004 y 2010 reveló un 3% de seropositivos mediante seroneutralización (Barros, S.C. et al., 2011), valor muy similar al de la CV.

En Grecia se registró una seroprevalencia del 4% en la primera década del siglo XXI, muy similar a los valores detectados en la CV (Mangana-Vongiouka, O. et al., 2013). En este país, posteriormente, en una de sus provincias, ocurrió un brote y se determinó una prevalencia del 33% y una tasa de mortalidad en équidos del 30% en 2010 (Bouzas, I.G. et al., 2015). Hasta 2013 han ido apareciendo nuevos casos y brotes de infección.

En otros países europeos se han realizado estudios de prevalencia y se han registrado valores superiores al de la CV, como en Eslovaquia, Chequia, Serbia, Ucrania y Albania. Cabe destacar también la notificación por primera vez de un brote de la FNO en Bulgaria, en 2010, como ocurrió en España en el mismo año.

En contraposición a estos valores de prevalencia, es importante señalar los registros de un estudio desarrollado en Alemania y que reflejaron, mediante técnicas de ELISA, una prevalencia muy inferior a la de la CV, siendo aún menor mediante seroneutralización.

## DISCUSIÓN

En África, la FNO se ha descrito en países tan distantes como Marruecos, con varios brotes en diferentes años, Egipto, Nigeria o Sudáfrica. El estudio llevado a cabo en Nigeria reveló un 90,3% de prevalencia del VNO en la población equina (Sule, W.F. et al., 2015). En otro estudio realizado en el África subsahariana, en el que se tomaron muestras de caballos de diferentes países, se detectó una seroprevalencia del VNO del 36% (Marín, S. et al., 2007). Estos valores se sitúan muy por encima de los observados en los estudios de la CV y de España.

En Oriente Próximo, en Israel, tuvo lugar un brote masivo en el año 2000 que afectó a équidos y humanos. Los datos de seroprevalencia de la FNO en équidos revelan un aumento en los porcentajes desde el año 1997, situándose la prevalencia en el año 2013 en el 85,5% (Aharonson-Raz, K. et al., 2014). En Irán, un estudio realizado entre 2008 y 2009 mostró unas prevalencias en caballos en algunas regiones de hasta el 88% (Chancey, c. et al., 2014). Valores más similares a los de la CV, pero, aun así, más altos, se registraron en un estudio en Turquía, que determinó una prevalencia en équidos del 12,3%(Ergunay, K. et al., 2014).

En América, cabe destacar el brote epidémico de FNO que tuvo lugar en la costa Este de los EEUU y que posteriormente se extendió a casi todo el país, a Méjico y a Canadá, afectando durante años a miles de caballos, aves, humanos y otras especies animales. Sólo en el año 2002 se infectaron casi 15.000 caballos en EEUU (Marín, S. et al., 2007). En Méjico, se llegó a registrar una seroprevalencia del 22% en una población de équidos aparentemente sanos. También se han descrito casos de infección por el VNO en équidos en el Caribe, en las Antillas francesas, El Salvador, Venezuela y Argentina. En Colombia, en 2004, un estudio desarrollado en varias regiones del país determinó un 9% de prevalencia en équidos aparentemente sanos (Marín, S. et al., 2007), mientras que, en otro estudio realizado en 2009 y 2010, en la zona centro-occidental de Brasil sobre una población de 724 équidos se observó un 3,2% de prevalencia frente al VNO (Pauvolid-Correa, A. et al., 2014), muy similar a la prevalencia de este estudio realizado en la CV.

En el estudio de la FNO en la CV, no se disponen de datos referentes al sexo ni a la edad de los caballos que componían la población analizada. Sin embargo, los caballos estudiados eran todos PRE, por lo que el resultado de prevalencia obtenido nos sirve como referencia para esta raza en la CV y a nivel mundial.

Las características del muestreo, el insuficiente número de animales analizados y la disponibilidad económica podrían ser las causas de no haber podido confirmar la presencia de anticuerpos neutralizantes frente al VNO en las muestras de suero de los caballos estudiados en la CV.

La **salmonelosis** es la enfermedad con menor prevalencia entre las que se investigaron dentro de la población equina de la CV. No se disponen de otras

## DISCUSIÓN

referencias a nivel nacional de estudios sobre prevalencia de esta enfermedad en poblaciones equinas aparentemente sanas. Es más habitual disponer de referencias relacionadas con brotes epidémicos puntuales en yeguas u hospitales, y, en estos casos, los porcentajes de individuos positivos aumentan considerablemente.

En Europa, tampoco son abundantes los estudios de prevalencia de salmonelosis equina. Destacan las prevalencias obtenidas en estudios llevados a cabo en Gran Bretaña y en los Países Bajos, donde se obtuvieron unos valores del 3,62% y del 18,38% (Slater, J., 2012) (Van Duijkeren, E. et al., 1995), respectivamente. En el estudio holandés, en un subgrupo de caballos sin sintomatología de salmonelosis la prevalencia se redujo al 6%. Este valor, junto con el británico, es más similar a la prevalencia resultante en la CV. Sin embargo, en otro estudio desarrollado en Croacia, en relación a un brote de abortos en una explotación equina, se obtuvo una prevalencia, en dicha explotación, del 55% (Madic, J. et al., 1997), un valor mucho más elevado que en el caso de estudios en poblaciones no sospechosas o aparentemente sanas.

En estudios de prevalencia realizados en países como Sudáfrica, India o Australia, los resultados son más elevados en los dos primeros, con valores del 34% (Van Rensburg, I.B.J. et al., 1995) y del 14% (Babu, N. et al., 2008), respectivamente, mientras que en Queensland, Australia, la prevalencia del 1,65% (Roberts, M.C. y O'Boyle, D.A., 1981) es baja, al igual que en la CV.

En los EEUU se llevaron a cabo muchos estudios de prevalencia, principalmente, en hospitales equinos universitarios, en poblaciones de animales hospitalizados, con o sin síntomas de cólico. En dos Universidades, de California y de Michigan, se analizó a la población equina de sendos hospitales y las prevalencias obtenidas fueron prácticamente iguales, del 5,5% (House, J.K. et al., 1999) (Ewart, S.L. et al., 2001). En otras dos Universidades, de Colorado y de Pensilvania, se estudiaron los caballos admitidos y hospitalizados con síntomas de cólico. Las prevalencias registradas fueron más altas, especialmente en Pensilvania, donde se alcanzó un 35,33% (Dallap-Schaer, B.L. et al., 2012), mientras que, en Colorado, la prevalencia fue del 9% en estos pacientes (Kim, L.M. et al., 2001). También se realizó un estudio más general para calcular la prevalencia de salmonelosis en la población equina a nivel nacional y se obtuvieron, tras la recogida de muestras fecales, valores muy bajos, con un porcentaje del 0,8% de los caballos excretando *Salmonella* (Traub-Dargatz, J.L. et al., 2000). Este valor, así como los obtenidos en las poblaciones hospitalizadas sin sintomatología, nos indica que el nivel de infección es bajo y similar al de la CV.

En el estudio de salmonelosis en la población equina de la CV, todos los individuos con resultado positivo eran machos, con edades comprendidas entre los 3 y los 12 años. Lo más habitual es que esta infección afecte más a individuos jóvenes, de mayor edad, gestantes o inmunodeprimidos, lo que no se cumple en este estudio. El

## DISCUSIÓN

24,6% de la población eran yeguas, la mayoría de ellas, gestante, pero ninguna dio resultado positivo. Además, ninguno de los animales analizados presentaba síntoma de enfermedad en el momento de la toma de muestras. En cuanto al factor raza, no se pudo observar ninguna correlación entre los individuos positivos ya que estos pertenecían a distintas razas.

La AVE es la única de las cinco enfermedades estudiadas que no es una zoonosis. Aunque el tamaño de la población estudiada no es muy grande, la prevalencia del 12,24% es relativamente alta en comparación con otros países y es indicativa del estado de salud del PRE, en especial, a nivel reproductivo. La prevalencia no es de las más elevadas en cuanto a raza, ya que hay razas, como los *Warmbloods* o *Standardbreds*, que presentan valores de prevalencia mucho más altos en diferentes países, pero es importante intentar seguir el ejemplo de Nueva Zelanda que, tras la ejecución de un plan de control y vigilancia sanitario de la cabaña equina durante años, consiguió declararse libre de la enfermedad en 2014. Esto significaría no sólo un avance en la mejora del estado sanitario del PRE y de la especie equina en general, sino que permitiría, al aumentar su calidad, mayores ganancias económicas mediante el incremento de las exportaciones.

Entre las otras zoonosis evaluadas en la CV, destaca la prevalencia de la leptospirosis equina, presentando un valor muy elevado en comparación con otras partes de Europa y del mundo, aunque no se dispone de otros valores de prevalencia de esta enfermedad en équidos de España para comparar. La incidencia de leptospirosis humana en España es baja en comparación con otros países europeos y vecinos, pero la mayoría de casos se da en las zonas noreste y este de España, por lo que se considera que la alta prevalencia en la cabaña equina de la CV supone un alto riesgo para la salud pública. La leptospirosis es probablemente la zoonosis más diseminada del mundo y su prevalencia sigue aumentando progresivamente en los últimos años, por lo que actualmente es considerada una enfermedad reemergente (Zavitsanou, A. y Babatsikou, F., 2008).

Al igual que la leptospirosis, aunque su prevalencia en caballos de la CV es baja, se considera a la FNO una zoonosis reemergente, que, desde 2010, sigue produciendo focos de enfermedad en Andalucía y extendiéndose a otras zonas de España. Lo mismo ocurre en otras partes del mundo donde cíclicamente se van dando casos clínicos provocados por el VNO, tanto en humanos, aves y caballos, por la diseminación de los vectores transmisores. Incluso, en otros países, donde nunca se había descrito, han aparecido los primeros casos, como es el caso de Bulgaria. En España, desde la década de los 60 existen estudios de prevalencia de la FNO, pero el primer caso clínico tuvo lugar en 2004 y, a partir de entonces, se han ido dando más casos en años sucesivos. Se trata de una enfermedad a tener en cuenta con un riesgo creciente para la salud pública.

## DISCUSIÓN

Aunque los seres humanos rara vez son infectados por los organismos causantes de la piroplasmosis equina, en zonas endémicas, tropicales y subtropicales, donde la prevalencia de la enfermedad es alta, se han detectado casos en humanos. No existen datos de babesiosis humana en la CV, pero la prevalencia de piroplasmosis equina detectada en la CV, aunque no sea de las más altas en comparación con otras zonas de España o del mundo, supone un riesgo para la salud pública que hay que tener en cuenta. En las dos últimas décadas del siglo XX, en las zonas templadas, la incidencia de babesiosis humana aumentó y, por tanto, en la actualidad se le considera como una importante zoonosis emergente.

La salmonelosis es la zoonosis del presente estudio que menor prevalencia registra en la población equina de la CV. A pesar de ello, el 2% de animales infectados subclínicamente supone un riesgo para el resto de la población equina susceptible y, principalmente, en determinadas condiciones de estrés o enfermedad. Así mismo, también representa un riesgo para las personas en contacto con la cabaña equina y para la que ingiere carne y subproductos de origen equino, costumbre bastante arraigada en la CV en comparación con otras regiones y partes del mundo. *Salmonella spp.* es el agente implicado con mayor frecuencia en los brotes de origen alimentario en España y constituye la segunda causa de gastroenteritis bacteriana desde el año 2006. Aunque el número de casos de salmonelosis humana ha descendido siguiendo la tendencia de descenso existente desde 2005, esta enfermedad permanece como la segunda zoonosis aislada con mayor frecuencia en la UE. A nivel mundial, *Salmonella* es una de las mayores causas de enfermedad de origen alimentario en humanos y constituye una gran preocupación para la salud pública y representa un coste significativo en muchos países. Por todo ello, a pesar de que su prevalencia es muy baja, no hay que olvidar el riesgo que supone esta enfermedad para las poblaciones equina y humana, y el coste económico que representa un brote de esta patología.

Según la OIE, el 60% de los patógenos humanos son de origen animal y el 75% de las enfermedades animales emergentes pueden transmitirse a los humanos. El número de enfermedades emergentes ha aumentado, aunque a un ritmo menor entre los humanos que en el mundo animal. En los últimos 30 años han aparecido más de 40 agentes patógenos, algunos de ellos causantes de enfermedades emergentes en humanos y animales, o compartidos. Parece ser el comienzo de una nueva era de enfermedades emergentes y reemergentes producidas por agentes biológicos, y cuyas consecuencias potenciales en la salud humana y animal han de tenerse en cuenta para evitar problemas graves (Badiola, J.J., 2016). Es importante tener en cuenta a la población equina.



## 6. CONCLUSIONES



## CONCLUSIONES

1. Los porcentajes de seropositividad encontrados para las cinco enfermedades son los siguientes: leptospirosis, 65%; salmonelosis 2%; piroplasmosis 7,3%; fiebre del Nilo Occidental, 3,4% y arteritis viral equina, 12,2%. De todas ellas la que muestra una presencia más elevada es la leptospirosis equina. Los resultados restantes reflejan valores bajos para la arteritis viral equina y la piroplasmosis, y muy bajos para la fiebre del Nilo Occidental y la salmonelosis. Salvo en el caso de la salmonelosis, los resultados son de referencia para caballos Pura Raza Española.
2. Los resultados de leptospirosis son ligeramente mayores en hembras que en machos en la población estudiada. De manera similar, es mayor en animales de más de 4 años. En el estudio de la salmonelosis, todos los individuos positivos fueron machos. Los resultados para la piroplasmosis fueron mayores en animales a partir de 12 años de edad y nula en los primeros 3 años de vida. Así mismo, en el estudio de la fiebre del Nilo Occidental, todos los caballos menores de 7 años son seronegativos y no se observa ninguna relación con el sexo. En cuanto a la arteritis viral equina, el 83% de los seropositivos fueron yeguas y, dentro de la población de hembras, los seropositivos se sitúa cerca de un 20%. Estos positivos de arteritis viral equina son mayores en animales de más de 20 años.



## **7. BIBLIOGRAFÍA**



## BIBLIOGRAFÍA

Abad-Cobo, A.; Llorente, F.; Clavero-Jiménez, M.A. (2015). Seroprevalencia del virus *West Nile* en caballos del área central de la Península Ibérica. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, vol. 9, nº. 2, p. 4.

Abad-Cobo, A.; Llorente, F.; Barbero, M.D.; Cruz-López, F.; Forés, P.; Jiménez-Clavero, M.A. (2016). Serosurvey reveals exposure to West Nile virus in asymptomatic horse populations in Central Spain prior to recent disease foci. *Transboundary and Emerging Diseases*, May 8.

Adaszek, L.; Górna, M.; Krzysiak, M.; Adaszek, M.; Garbal, M.; Winiarczyk, S. (2011). Identification of the piroplasms isolated from horses with clinical Piroplasmosis in Poland. *Wiad Parazytology*, nº. 57, vol. 1, p. 21-26.

Adler, B.; De la Peña Moctezuma, A. (2010). *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, nº. 140, p. 287-296.

AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición) (2011). Ministerio de Sanidad y Política Social e Igualdad. [www.aesan.msc.es](http://www.aesan.msc.es).

Aguirre, D.H.; Cafrune, M.M.; Rada, M.; Torioni de Echaide, S. (2004). Babesiosis clínica en equinos de Cerrillos, Salta, Argentina. *RIA*, nº. 33, vol. 3, p. 123-133.

Aharonson-Raz, K.; Lichter-Peled, A.; Tal, S.; Gelman, B.; Cohen, D.; Klement, E.; Steinman, A. (2014). Spatial and temporal distribution of West Nile virus in horses in Israel (1997-2013) – from endemic to epidemics. *PLoS ONE*, vol. 9, nº. 11, p. 1-8.

Alanazi, A.D.; Alyousif, M.S.; Hassieb, M.M. (2012). Seroprevalence study on *Theileria equi* and *Babesia caballi* antibodies in horses from Central Province of Saudi Arabia. *Journal of Parasitology*, nº. 98, vol. 5, p. 1.015-1.017.

Argenta Pescador, C.; Corbellini, L.G.; Loretto, A.P.; Wunder Junior, E.; Junges Frantz, F.; Driemeier, D.; (2004). Aborto equino por *Leptospira spp.*. *Ciência Rural*, nº. 34, vol. 1, p. 271-274.

Asgarali, Z.; Coombs, D.K.; Mohammed, F.; Campbell, M.D.; Caesar, E. (2007). A serological study of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Thoroughbreds in Trinidad. *Veterinary Parasitology*, nº. 144, vol. 1-2, p. 167-171.

Astorga, R.; Arenas, A.; Tarradas, C.; Mozos, E.; Zafra, R.; Pérez, J. (2004). Outbreak of peracute septicaemic salmonellosis in horses associated with concurrent *Salmonella* Enteritidis and *Mucor* species infection. *The Veterinary Record*, nº. 155, p. 240-242.

Australian Government. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry (2008). Exotic Animal Diseases Bulletin. Equine piroplasmosis. *Australian Veterinary Journal*, nº. 86, vol. 11, p. 20-21.

## BIBLIOGRAFÍA

- Autorino, G.L.; Battisti, A.; Deubel, V.; Ferrari, G.; Forletta, R.; Giovannini, A.; Lelli, R.; Murri, S.; Scicluna, M.T. (2002). West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 8, vol. 12, p. 1.372-1.378.
- Babu, N.; Singh, B.R.; Harishankar; Agrawal, R.K.; Chandra, M.; Vijo, T.V.; Srivastava, S.K.; Yadav, M.P. (2008). Prevalence of *Salmonella* in equids determined by microbiological culture, Standard Tube Agglutination test and PCR. *Haryana Vet*, nº. 47, p. 58-63.
- Badiola, J.J. (2016). Riesgos biológicos emergentes para la Sanidad Animal, Salud Pública y Seguridad de los Alimentos. *Información Veterinaria 2016*, nº. 3, p. 12-14.
- Bahrami, S.; Ghadrhan, A.R.; Pourmahdi Borujeni, M.; Vafayi Salarpur, M. (2014). Epidemiology of *Theileria equi* in Persian Arab horses from Iran. *Veterinarni Medicina*, nº. 59, vol. 9, p. 409-414.
- Baird-Parker, A.C. (1991). Foodborne salmonellosis. En: *Lancet*. Review of foodborne illness. Edward Arnold. London, United Kingdom.
- Bajk, G.J.; Roh, W.S. (1998). Estimates of cases and social economic costs of foodborne salmonellosis in Korea. *Journal Food Hygiene Safety*, nº. 13, p. 299-304.
- Bakonyi, T.; Hubalek, Z.; Rudolf, I.; Nowotny, N. (2005). Novel *Flavivirus* or New Lineage of West Nile virus, Central Europe. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 11, p. 225-231.
- Baptista, C.; Lopes, M.S.; Tavares, A.C.; Rojer, H.; Kappmeyer, L.; Mendonça, D.; da Câmara Machado, A. (2013). Diagnosis of *Theileria equi* infections in horses in the Azores using cELISA and nested PCR. *Ticks Tick Borne Diseases*, nº. 4, vol. 3, p. 242-245.
- Baranton, G.; Postic, D. (2004). Trends in leptospirosis epidemiology in France. Sixty six years of passive serological surveillance from 1920 to 2003. *International Journal of Infectious Diseases*, nº. 10, p. 162-170.
- Barragán Casas, J.M.; Álvarez Suárez, D.; Arroyo Burguillo, P.; Sánchez Fuentes, D. (2001). Leptospirosis: presentación de un caso y revisión epidemiológica en España. *MEDIFAM, Cartas al Director*, vol. 11, nº. 3, p. 171-173.
- Barrandeguy, M. (2011). Arteritis Viral Equina. *INTA Expone*, p. 1-22.
- Barros, S.C.; Ramos, F.; Fagulha, T.; Duarte, M.; Henriques, M.; Luís, T.; Fevereiro, M. (2011). Serological evidence of West Nile virus circulation in Portugal. *Veterinary Microbiology*, vol. 152, nº. 3-4, p. 1-12.
- Barrow, P.A. (1993). *Salmonella* control-past, present and future. *Avian Pathology*, nº. 22, p. 651-669.

## BIBLIOGRAFÍA

Barsoum, I.S.; Botros, B.A.B.; Morcos, M.B. (1978). Equine Leptospirosis with some clinical observations. *Animal Health Research Vet.*, nº.9, vol. 1, p. 115-118.

Barwick, R.S.; Mohammed, H.O.; Atwill, E.R.; McDonough, P.L.; White, M.E. (1998). The prevalence of equine leptospirosis in New York State. *Journal of Equine Science*, vol. 9, nº. 4, p. 119-124.

Bâverud, V.; Gunnarsson, A.; Olsson Engvall, E.; Franzén, P.; Egenvall, A. (2009). *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. *Acta Veterinaria Scandinavica*, nº.51, vol. 15.

Bay-Schmith Gonzalez, N.M.; López Martín, J. (2004). Prevalencia de leptospirosis equina en caballos jugadores de polo de la octava región de Chile. Memoria de título. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Concepción, Chillan, Chile, p. 1-46.

Bergey, D; Holt, J.G. (1994). Group 5: Facultatively anaerobic gram-negative rods. Genus *Salmonella*. En: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins. P.186-187.

Bernabeu-Wittel, M.; Ruiz-Pérez, M.; Del Toro, M.D.; Aznar, J.; Muniain, A.; De Ory, F.; Domingo, C.; Pachón, J. (2007). West Nile virus past infections in the general population of Southern Spain. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, nº. 25, vol. 9, p. 561-565.

Bernard, K.A.; Kramer L.D. (2001). West Nile Virus Activity in the United States. *Viral Immunology*, nº. 14, p. 319–338.

Berxholi, K.; Ziegler, U; Rexhepi, A.; Schmidt, K.; Mertens, M.; Korro, K.; Cuko, A.; Angenvoort, J.; Groschup, M.H. (2013). Indigenous West Nile virus infections in horses in Albania. *Transboundary and Emerging Diseases*, vol. 60, suppl. 2, p. 45-50.

Blitvich, B.J.; Fernández-Salas, I.; Contreras-Cordero, J.F.; Marlenee, N.L.; González-Rojas, J.I.; Komar, N. (2003). Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Coahuila State, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 9, p. 853–856.

Bode, A.V.; Sejvar, J.J.; Pape, W.J.; Campbell, G.J.; Marfin, A.A. (2006). West Nile virus disease: a descriptive study of 228 patients hospitalized in a 4-county region of Colorado in 2003. *Clinical Infectious Diseases*, nº. 42, vol. 9, p. 1.234-1.240.

Boletín Epidemiológico Semanal (BES) (2009). Infecciones por *Salmonella* no tifoidea de origen humano en España. Sistema de Información Microbiológica. Años 2000-2008. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Ciencia e Innovación. BES, nº. 17, vol. 17, p. 193-204.

Boletín Epidemiológico Semanal (BES) (2010). Microorganismos declarados al Sistema de Información Microbiológica en el año 2009. Centro Nacional de Epidemiología.

## BIBLIOGRAFÍA

Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Ciencia e Innovación. BES, nº. 18, vol. 3, p. 21-32.

Boletín Oficial del Estado (BOE) (2003). Orden APA/212/2003, de 5 de febrero, por la que se modifican determinados anexos del Real Decreto 2459/1996, de 2 de Diciembre, por el que se establece la lista de enfermedades de animales de declaración obligatoria y se da la normativa para su notificación.

Boletín Oficial del Estado (BOE) (2007). Real Decreto 617/2007, de 16 de mayo, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación.

Boletín Oficial del Estado (BOE) (2011). Real Decreto 804/2011, de 10 de junio, por el que se regula la ordenación zootécnica, sanitaria y de bienestar animal de las explotaciones equinas y se establece el plan sanitario equino.

Bosch, I.; Herrera, F.; Lentino, M.; Dupuis, A.; Maffel, J.; Jones, M.; Fernández, E.; Pérez, N.; Pérez-Emán, J.; Guimaraes, A. E.; Barrera, R.; Valero, N.; Riuz, J.; Velásquez, G.; Martínez, J.; Comach, G.; Komar, N.; Spielman, A., Kramer, L. (2007). *West Nile Virus*, Venezuela. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 13, vol. 4, p. 651-653.

Bouzalas, I.G.; Diakakis, N.; Chaintoutis, S.C.; Brellou, G.D.; Papanastassopoulou, M.; Danis, K.; Vlemmas, I.; Seuberlich, T.; Dovas, C.I. (2015). Emergence of Equine West Nile Encephalitis in Central Macedonia, Greece, 2010. *Transboundary and Emerging Diseases*, p. 1-9.

Bowmer, E.J. (1965). *Salmonellae* in food-a Review. *Journal of Food Protection*, nº. 28, p. 74-86.

Braga, J.; Hamond, C.; Martins, G.; Abreu, R.N.; Lilenbaum, W. (2011). Ophthalmic alterations in horses with leptospirosis by serovar *Icterohaemorrhagiae* in Rio de Janeiro, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, vol. 31, nº. 2, p. 147-150.

Brandt, J.; Geysen, D.; Vercammen, F. (2009). Equine Piroplasmosis. *European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians EAZWV Transmissible Disease Fact Sheet* nº. 119.

Brasseur, P.; Gorenflot, A. (1996). Human babesial infections in Europe. *Rocz Akad Med Białymst.*, nº. 41, vol. 1, p. 117-122.

Brüning, A. (1996). Equine piroplasmosis: an update on diagnosis, treatment and prevention. *British Veterinary Journal*, nº. 152, vol. 2, p. 139-151.

Bulut, O.; Yavru, S.; Yapici, O.; Kale, M.; Avci, O. (2012). The serological investigation of Equine Viral Arteritis infection in Central Anatolia of Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, nº. 11, vol. 7, p. 924-926.

## BIBLIOGRAFÍA

Bunning, M.L.; Bowen, R.A.; Cropp, C.B.; Sullivan, K.G.; Davis, B.S.; Komar, N.; Godsey, M.S.; Baker, D.; Hettler, D.L.; Holmes, D.A.; Biggerstaff, B.J.; Mitchell, C.J. (2002). Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 8, p. 380–386.

Burgess, B.A.; Morley, P.S. (2014). Managing *Salmonella* in equine populations. *Veterinary Clinic Equine*, nº. 30, p. 623-640.

Burgess, B.A.; Noyes, N.R.; Bolte, D.S.; Hyatt, D.R.; van Metre, D.C.; Morley, P.S. (2015). Rapid *Salmonella* detection in experimentally inoculated equine faecal and veterinary hospital environmental samples using commercially available lateral flow immunoassays. *Equine Veterinary Journal*, nº. 47, p. 119-122.

Butler, C.M.; Sloet van Oldruitenborgh-Oosternbaan, M.M.; Stout, T.A.E.; Van der Kolk, J.H.; Van den Wollenberg, L.; Nielen, M.; Jongejan, F.; Werners A.H.; Houwers, D.J. (2012). Prevalence of the causative agents of equine piroplasmosis in the South West of The Netherlands and the identification of two autochthonous clinical *Theileria equi* infections. *Veterinary Journal*, nº.193, vol. 2, p. 381-385.

Calderón, A.; Cardona, J.; Vergara, O. (2013). Frecuencia de *Babesia spp.* en caballos de Montería, Córdoba, Colombia. *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica*, nº. 16, vol. 1, p. 451-458.

California Department of Food & Agriculture (2015). *Animal Health and Food Safety Services. Animal Health Branch. Piroplasmosis equina-Preguntas frecuentes*, p. 1-2.

Callow, L.L. (1987). Equine Babesiosis. Pathology and Serology. *Australian Standard Diagnostic Techniques for Animal Diseases*, p.1-4.

Camacho, A.T.; Pallas, E.; Gestal, J.J.; Guitián, J.; Olmeda, A.S.; Kenny, M.;Telford, S.; Spielman, A. (2002). *Babesia microti*: ¿ una nueva forma de Babesiosis humana en Europa? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, nº. 20, vol. 8, p. 415-418.

Camacho, A.T.; Guitian, F.J.; Pallas, E.; Gestal, J.J.; Olmeda, A.S.; Habela, M.A.; Telford III, S.R.; Spielman, A. (2005). *Theileria (Babesia) equi* and *Babesia caballi* infections in horses in Galicia, Spain. *Tropical Animal Health and Production*, nº. 37, p. 293-302.

Campbell, G.L.; Ceianu, C.S.; Savage, H.M. (2001). Epidemic West Nile encephalitis in Romania: waiting for history to repeat itself. *Annals of New York Academic Science*, nº. 951, p. 94-101.

Cantile, C.; Di Guardo, G.; Eleni, C.; Arispici, M. (2000). Clinical and neuropathological features of West Nile virus equine encephalomyelitis in Italy. *Equine Veterinary Journal*, nº. 32, p. 31–35.

## BIBLIOGRAFÍA

Cantile, C.; Mazzei, M.; Arispici, M.(2002). “Encefalomielite da virus *West Nile* nel cavallo: segni clinici e neuropatologia”. *Malattie infettive emergenti di interesse medico e veterinario. Quaderni di igiene pubblica e veterinaria*, nº. 14, p. 67-71.

Carpio, M.M.; Iversen, J.O. (1979). A serological survey of *Leptospira interrogans* serotype *Pomona* in Saskatchewan Horses. *Canadian Veterinary Journal*, nº. 20, p. 127-130.

Carvalho, P.R.; Cassaro, E.V.M.; Cunha, E.S.; Lara, M.C.C.S.H. (2013). Seroepidemiology surveys of Equine Arteritis Virus in equids population of Central-West Region of Sao Paulo State, Brazil. *Global Veterinaria*, nº. 10, vol. 2, p. 223-232.

Castillo, J.C.; Cepero, O.; Silveira E.A.; Casanova, R.; González, Y. (2007). Prevalencia de leptospirosis en equinos de tracción en la ciudad de Santa Clara, Cuba. *Revista electrónica de Veterinaria*, nº7, vol. VIII, p. 1-4.

Castillo-Olivares, J.; Wood, J. (2004). West Nile virus infection of horses. *Veterinary Research*, nº. 35, p. 467-483.

Ceccaldi, P.E.; Lucas, M.; Despres, P. (2004). New insights on the neuropathology of West Nile virus. *FEMS Microbiology Letters*, nº. 233, p. 1–6.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2009). Surveillance report 2007. Foodborne Active Disease Surveillance Network (Foodnet). U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2010). Preliminary FoodNet Data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food. 10 States, 2009. U.S. Department of Health and Human Services. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, nº. 59, vol. 14, p. 418-422.

Cerri, D.; Ebani, V.V.; Fratini, F.; Pinzauti, P.; Andreani, E. (2003). Epidemiology of leptospirosis: observations on serological data obtained by a “diagnostic laboratory for leptospirosis” from 1995 to 2001. *New Microbiology*, nº. 26, vol. 4, p. 383-389.

Chaudhry, M.; Bin Rashid, H.; Khan, M.S.; Pervez, K. (2014). Comparative efficacy of various drugs used against naturally infected horses with Babesiosis. *Science International (Lahore)*, nº. 26, vol. 1, p. 267-271.

Chancey, C.; Grinev, A.; Volkova, E.; Rios, M. (2015). The global ecology and epidemiology of West Nile Virus. *Biomedical Research International*, nº. 2015, p. 1-20.

Chhabra, S.; Rajan, R.; Uppal, S.K.; Singla L.D. (2011). Transplacental transmission of *Babesia equi* (*Theileria equi*) from carrier mares to foals. *Journal of Parasitic Diseases*, p. 1-3.

## BIBLIOGRAFÍA

- Colville, J.L.; Berryhill, D.L. (2007) Leptospirosis. En: Handbook of Zoonoses. Identification and Prevention. Editorial Mosby Elsevier, St. Louis, Missouri, EEUU, p. 103-107.
- Connell, J.; Mckeown, P.; Garvey, D.; Cotter, S.; Conway, A.; O'Flanagan, D. (2004). Two linked cases of West Nile virus (WNV) acquired by Irish tourist in the Algarve, Portugal. *Eurosurveillance* weekly 8.
- Crowder, D.W.; Dykstra, E.A.; Brauner, J.M.; Duffy, A.; Reed, C.; Martin, E.; Peterson, W.; Carrière, Y.; Dutilleul, P.; Owen, J.P. (2013). West Nile Virus prevalence across landscapes is mediated by local effects of agriculture on vector and host communities. *PLoS One*, nº. 8, vol. 1, p. 1-8.
- Cruz, F.; Newton, R. (2014). Seroprevalence of equine infectious anemia, equine viral arteritis and equine *herpesvirus-1/-4* in the Spanish purebred horse population in central Spain: risk factors and association with reproductive problems. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. P. 1-295.
- Daemon Quest, Deloitte (2013). Estudio del impacto del sector ecuestre en España, p. 1-321.
- Dallap-Schaer, B.L.; Aceto, H.; Caruso, M.A.; Brace, M.A. (2012). Identification of predictors of *Salmonella* shedding in adult horses presented for acute colic. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, nº. 26, vol. 5, p. 1.177-1.185.
- Damude, D.F.; Jones, C.J.; Myers, D.M. (1979). A study of leptospirosis among animals in Barbados W.I.. *Trans R Soc Tropical Medical Hygiene*, nº. 73, vol. 2, p. 161-168.
- De Vera, M.; Guillén, A.T.; García, F.; Contreras, R.; Sierralta, A.; León, E. (2006). Seroprevalencia de la Babesiosis equina en caballos Purasangre de carrera alojados en los hipódromos La Rinconada y Nacional de Valencia, Venezuela. *Veterinaria Tropical*, nº. 31, vol. 1-2, p. 43-52.
- De Waal, D.T. (1992). Equine piroplasmiasis: a review. *British Veterinary Journal*, nº. 148, vol. 1, p. 6-14.
- Del Piero, F. (2000). Equine Viral Arteritis. Review Article. *Veterinary Pathology*, nº. 37, vol. 4, p. 287-296.
- Department for Environment Food & Rural Affairs. Public Health England (2013). Salmonellosis (*Salmonella* species). *Zoonoses Report UK 2012*, p. 54-59.
- Di Sabatino, D.; Bruno, R.; Sauro, F.; Danzetta, M.L.; Cito, F.; Iannetti, S.; Narcisi, V.; De Massis, F.; Calistri, P. (2014). Epidemiology of West Nile disease in Europe and in the Mediterranean Basin from 2009 to 2013. *BioMed Research International*, vol. 2014, p. 1-10.

## BIBLIOGRAFÍA

Diamond, M.S.; Shrestha, B.; Mehlhop, E.; Sitati, E.; Engle, M. (2003). Innate and adaptive immune responses determine protection against disseminated infection by West Nile encephalitis virus. *Viral Immunology*, nº.16, vol. 3, p. 259–278.

Dickeson, D.; Love, D.N. (1993). A serological survey of dogs, cats and horses in southeastern Australia for leptospiral antibodies (*Leptospira interrogans*). *Australian Veterinary Journal*, vol.70, nº.10, p. 389-390.

Divers, T.J.; Byars, T.D.; Shin, S.J. (1992). Renal dysfunction associated with infection of *Leptospira interrogans* in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, nº. 201, vol. 9, p. 1.391-1.392.

Divers, T.J.; Irby, N.L.; Mohammed, H.O.; Schwark, W.S. (2008). Ocular penetration of intravenously administered enrofloxacin in the horse. *Equine Veterinary Journal*, nº. 40, vol. 2, p. 167-170.

Domingo, R.; Vega, S. (2014). Tres nuevos focos de Fiebre del Nilo Occidental en Andalucía. Facultad de Veterinaria CEU Valencia. Servicio Clínico Equino, p. 1-7.

Donahue, J.M.; Smith, B.J.; Donahoe, J.K. (1992). Prevalence and serovars of *Leptospira* involved in equine abortions in Central Kentucky during the 1990 foaling season. *Journal of Veterinary Diagnosis and Investigation*, nº. 4, vol. 3, p. 279-284.

Donahue, J.M.; Smith, B.J.; Poonacha, K.B.; Donahoe, J.K.; Rigsby, C.L. (1995). Prevalence and serovars of *Leptospira* involved in equine abortions in central Kentucky during the 1991-1993 foaling seasons. *Journal of Veterinary Diagnosis and Investigation*, nº. 1, vol. 7, p. 87-91.

Durand, B.; Checalier, V.; Pouillot, R.; Labie, J.; Marendat, I.; Murgue, B.; Zeller, H.; Zientara, S. (2002). West Nile virus outbreak in horses, southern France, 2000: results of a serosurvey. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 8, vol. 8, p. 777-782.

Ebani, V.V.; Bertelloni, F.; Pinzauti, P.; Cerri, D. (2012). Seroprevalence of *Leptospira spp.* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Italian horses. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, vol. 19, nº. 2, p. 237-240.

Echeverría, M.G.; Pecoraro, M.R.; Galosi, C.M.; Etcheverrigaray, M.E.; Nosetto, E.O. (2003). The first isolation of equine arteritis virus in Argentina. *Revue Scientifique et Technique*, nº. 22, vol. 3, p. 1.029-1.033.

Eichhorn, W.; Heilmann, M.; Kaaden, O.R. (1995). Equine viral arteritis with abortions: serological and virological evidence in Germany. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B*, nº. 42, vol. 9, p. 573-576.

## BIBLIOGRAFÍA

Ellis, W.A.; O'Brien, J.J.; Cassells, J.A.; Montgomery, J. (1983). Leptospiral infection in horses in Northern Ireland: Serological and microbiological findings. *Equine Veterinary Journal*, nº. 15, vol. 4, p. 317-320.

Ergunay, K.; Gunay, F.; Kasap, O.E.; Oter, K.; Gargari, S.; Karaoglu, T.; Tezcan, S.; Cabalar, M.; Yildirim, Y.; Emekdas, G.; Alten, B.; Ozkul, A. (2014). Serological, molecular and entomological surveillance demonstrates widespread circulation of West Nile virus in Turkey. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, nº. 8, vol. 7, p. 1-10.

European Food Safety Authority (EFSA) (2007). The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006. *The EFSA Journal*, nº. 130, p. 3-352.

European Food Safety Authority (EFSA) (2008). Spain-2008 Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in Humans, Foodstuffs, Animals and Feeding Stuffs. Zoonoses monitoring. *The EFSA Journal*.

European Food Safety Authority (EFSA) (2011). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. *The EFSA Journal*, nº. 9, vol. 3, p. 2.090.

European Food Safety Authority (EFSA). European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2014). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. *EFSA Journal*, nº. 12, vol. 2, p. 1-312.

Evangelista, K.V.; Coburn, J. (2010). *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiology*, nº. 5, vol. 9, p. 1.413-1.425.

Ewart, S.L.; Schott II, H.C.; Robison, R.L.; Dwyer, R.M.; Eberhart, S.W.; Walker, R.D. (2001). Identification of sources of *Salmonella* organisms in a veterinary teaching hospital and evaluation of the effects of disinfectants on detection of *Salmonella* organisms on surface materials. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, nº. 218, vol. 7, p. 1.145-1.151.

Faber, N.A.; Crawford, M.; LeFebvre, R.B.; Buyukmihci, N.C.; Madigan, J.E.; Willits, N.H. (2000). Detection of *Leptospira spp.* in the Aqueous Humor of Horses with naturally acquired Recurrent Uveitis. *Journal of Clinical Microbiology*, nº. 38, vol. 7, p. 2731-2733.

Faine, S.; Adler, B.; Bolin, C.; Perolat, P. (1999). *Leptospira* and Leptospirosis, 2<sup>nd</sup> Edition. MediSci, Melbourne, Australia.

## BIBLIOGRAFÍA

- Farkas, R.; Tánzos, B.; Gyurkovszky, M.; Földvári, G.; Solymosi, N.; Edelhofer, R.; Hornok, S. (2013). Serological and molecular detection of *Theileria equi* infection in horses in Hungary. *Veterinary Parasitology*, nº. 192, vol. 1-3, p. 143-148.
- Fortuny, J.P.; Gambini, A. (2008). Antecedentes, estado actual y programa de control y prevención de la Arteritis Viral Equina en Argentina. *Albéitar Portal Veterinario*, nº. 2, p. 1-16.
- Franco, B.D.G.; Landgraf, M.; Destro, M.T.; Gelli, D. (2003). Foodborne diseases in Southern South America. En: M.D. Miliotis and J. Bier (eds.) *International handbook on foodborne pathogens*. New York, NY: Marcel Dekker, p. 733-743.
- Frellstedt, L. (2009). Equine recurrent uveitis: a clinical manifestation of leptospirosis. *Equine Veterinary Education*, nº. 21, vol. 10, p. 546-552.
- Fundación ONCE (2009). La *Salmonella*. Discapnet. Áreas temáticas. Salud. Enfermedades Endémicas.
- Furr, M.; Reed, S. (2008). West Nile Virus. En: *Equine Neurology*. Editorial Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, EE.UU., p. 178-180.
- García-Bocanegra, I.; Arenas-Montes, A.J.; Hernández, E.; Adaszek, L.; Carbonero, A.; Almería, S. (2012a). Seroprevalence and risk factors associated with *Babesia caballi* and *Theileria equi* infection in equids. *Veterinary Journal*, nº. 195, nº. 2.
- García-Bocanegra, I.; Jaén-Téllez, J.A.; Napp, S.; Arenas-Montes, A.; Fernández-Morente, M.; Fernández-Molera, V.; Arenas, A. (2012b). Monitoring of the West Nile virus epidemic in Spain between 2010 and 2011. *Transboundary and Emerging Diseases*, vol. 59, nº. 5, p. 448-455.
- García-Bocanegra, I.; Arenas-Montes, A.; Napp, S.; Jaén-Téllez, J.A.; Fernández-Morente, M.; Fernández-Molera, V.; Arenas, A. (2012c). Seroprevalence and risk factors associated to West Nile virus in horses from Andalusia, Southern Spain. *Veterinary Microbiology*, vol. 160, nº. 3-4, p. 341-346.
- Gimeno, S.; Domingo, R.; Vega, S. (2010). Estudio preliminar de la prevalencia de leptospirosis en caballos de la Comunidad Valenciana. *Actualidad Veterinaria. Boletín Informativo Veterinario Comunidad Valenciana*, nº. 93, p.21-23.
- Gimeno, S.; Fajardo, A.; Vega, S.; Martín, C.; Del Sur, E.; Domingo, R. (2011). Estudio preliminar de la seroprevalencia de Arteritis Viral Equina en caballos pura raza española de la Comunidad Valenciana. *Actualidad Veterinaria*, nº. 97, p. 20-23.
- Glaser, A.L.; De Vries, A.A.F.; Rottier, P.J.M.; Horzinek, M.C.; Colenbrander, B. (1996). Equine arteritis virus: A review of clinical features and management aspects. *Veterinary Quarterly*, nº. 18, vol. 3, p. 95-99.

## BIBLIOGRAFÍA

Gómez-Molina, T.G.; (2005). Serovariedades de *Leptospira* presentes en ganado de tres centros ecuestres pertenecientes al Ejército Mexicano. Revista de Sanidad Militar Mexicana, nº. 59, vol. 4, p. 260-264.

Góngora, A.; Barranteguy, M.; Ciuoderis, K. (2014). Serological survey for equine viral arteritis in several municipalities in the Orinoquia region of Colombia. Revista MVZ Córdoba, nº. 19, vol. 3, p. 4.269-4.276.

González, M.; Lainez, M.; Vega, S.; Marín, C. (2013). Epidemiología de *Salmonella spp.* en cerdos de engorde. Universidad Cardenal Herrera-CEU. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Tesis doctoral, p. 1-223.

Gorres, A. (2014). Active surveillance plan of West Nile Fever in horses in Catalonia. Trabajo Fin de Grado. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona.

Grandi, G.; Molinari, G.; Tittarelli, M.; Sassera, D.; Kramer, L.H. (2011). Prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infection in horses from northern Italy. Vector Borne Zoonotic Diseases, nº. 11, vol. 7, p. 955-956.

Grosenbaugh, D.A.; Backus C.S.; Karaca, K.; Minke, J.M.; Nordgren, R.M. (2004). The anamnestic serologic response to vaccination with a *canarypox* virus-vectored recombinant West Nile virus (WNV) vaccine in horses previously vaccinated with an inactivated WNV vaccine. Veterinary Therapeutics, nº. 5, vol. 4, p. 251-257.

Guarner, J.; Shieh, W.J.; Hunter, S.; Paddock, C.D.; Morken, T.; Campbell, G.L.; Marfin, A.A.; Zaki, S.R. (2004). Clinicopathologic study and laboratory diagnosis of 23 cases with West Nile virus encephalomyelitis. Human Pathology, nº. 35, vol. 8, p. 983-990.

Guerrant, R.L. (1989). Infecciones por *Salmonella*. En: Braunwald, E.; Isselbacher, K.J.; Petersdorf, R.G.; Wilson, J.D.; Martin, J.B.; Fauci, A.S. Harrison: Principios de Medicina Interna. 11ª edición. Madrid. McGraw-Hill. Tomo I. P. 729-738.

Haake, D.A.; Levett, P.N. (2015). Leptospirosis in humans. Current Topics in Microbiology and Immunology, nº. 387, p. 65-97.

Habela, M.A.; Sevilla, R.G.; Corchero, E.; Peña, J. (2000). Diagnóstico y tratamiento de la Piroplasmosis equina. Mundo Ganadero, nº. 11, p. 62-68.

Habela, M.A.; Gragera-Slikker, A.; Moreno, A.; Montes, G.; Sevilla, R. (2005). Piroplasmosis equina: conocimiento y grado de concienciación de los productores de caballos Pura Raza Española. Equinus, nº. 5, vol. 1, p. 7-24.

Hägglom, M.; Rantamäki-Latinen, L.; Vihinen, H. (2004). Equine sector comparison between the Netherlands, Sweden and Finland. MTT Agrifood Reserch Finland. Equine Life, p. 1-36.

## BIBLIOGRAFÍA

Hamond, C.; Martins, G.; Reis, J.; Kraus, E.; Pinna, A.; Lilenbaum, W. (2011). Pulmonary hemorrhage in horses seropositive to leptospirosis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, nº. 31, vol. 5, p. 413-415.

Hamond, C.; Martins, G.; Lilenbaum, W. (2012). Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. *Tropical Animal Health and Production*, nº. 44, vol. 8, p. 1.927-1.930.

Hamond, C.; Martins, G.; Medeiros, M.A.; Lilenbaum, W. (2013). Presence of Leptospiral DNA in semen suggests venereal transmission in horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, nº. 33, vol. 12, p. 1.157-1.159.

Hashimoto, V.Y.; Gonçalves, D.D.; Silva, F.G.; Oliveira, R.C.; Alves, L.A.; Reichmann, P.; Muller, E.E.; Freitas, J.C. (2007). Occurrence of antibodies against *Leptospira spp.* in horses of the urban area of Londrina, Paraná, Brazil. *Revista Instituto Medicina Tropical Sao Paulo*, nº. 49, vol. 5, p. 327-330.

Hatazoe, T.; Hobo, S.; Yamashita, N.; Komatsu, K.; Misumi, K. (2009). Case study of equine leptospirosis associated with renal failure. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, nº. 62, vol. 4, p. 303-307.

Hayes, C.G.(1989). *West Nile fever*. En: *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*. Editorial TP Monath, vol. V, p. 59-88.

Hernández Sarmiento, J.M. (2006). Babesiosis humana. *Revista Medicina Universidad Pontificia Bolivariana UPB*, nº. 25, vol. 2, p. 135-145.

Higgins, R.; Cayouette, P.; Hoquet, F.; De LaSalle, F. (1980). Serological studies on leptospirosis in domestic animals in Quebec. *Canadian Journal comp. Medicine*, nº. 44, p. 229-231.

Hines, M.T. (2007). Leptospirosis. En: Sellon D.C.; Long, M.T. eds.. *Equine Infectious Diseases*. St. Louis, Missouri, EE.UU. Editorial Saunders Elsevier. Sección III, Cap. 34, p. 301-309.

Hodgin, E.C.; Miller, D.A.; Lozano, F. (1989). *Leptospira* abortion in horses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, nº. 1, p. 283-287.

Hoelzer, K.; Moreno Switt, A.I.; Wiedmann, M. (2011). Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Veterinary Research*, nº. 42, vol. 34, p. 1-28.

Hofer, E.; Rodrigues, M.; Emery, A.; Camelo de Moura, A.M.; Lins de Araújo, H.; Didier, J.D.; Didier, M.D.; Januário da Silva, S. (2000). Sorovares do *Salmonella* em carne de eqüídeos abatidos no nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, nº. 20, vol. 2, p. 80-84.

## BIBLIOGRAFÍA

Holyoak, G.R.; Balasuriya, U.B.R.; Broaddus, C.C.; Timoney, P.J. (2008). Equine viral arteritis: Current status and prevention. *Theriogenology*, p. 1-12.

Hornok, S.; Edelhofer, R.; Földvári, G.; Joachim, A.; Farkas, R. (2007). Serological evidence for *Babesia canis* infection of horses and an endemic focus of *B. caballi* in Hungary. *Acta Veterinaria Hungary*, nº. 55, vol. 4, p. 491-500.

Hostnik, P.; Mankoc, S.; Toplak, I.; Klobucar, I.; Malovrh, T., Grom, J. (2011). Control of equine arteritis virus (EAV) on stud farm. *Veterinarski Arhiv*, nº. 81, vol. 2, p. 175-186.

House, J.K.; Mainar-Jaime, R.C.; Smith, B.P.; House, A.; Kamiya, D.Y. (1999). Risk factors for nosocomial *Salmonella* infection among hospitalized horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, nº. 214, vol. 10, p. 1.511-1.516.

Houwers, D.J. (2010). Agglutinating antibodies against pathogenic *Leptospira* in healthy dogs and horses indicate common exposure and regular occurrence of subclinical infections. *Veterinary Microbiology*, doi: 10.1016/ 2010.08.020, p. 1-3.

Hubálek, Z.; Halouzka, J. (1999). West Nile fever: a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 5, vol. 5, p. 643-650.

Hubálek, Z.; Halouzka, J.; Juricova, Z. (1999). West Nile fever in Czechland. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 5, p. 494-495.

Hubálek, Z.; Ludvikova, E.; Jahn, P.; Treml, F.; Rudolf, I.; Svobodova, P.; Sikutova, S.; Betasova, L.; Bires, J.; Mojzis, M.; Tinak, M.; Boldizar, M.; Citsonova, G.; Stassikova, Z. (2013). West Nile virus equine serosurvey in the Czech and Slovak republics. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, vol. 13, nº. 10, p. 733-738.

Hyatt, D.R.; Scott Weese, J. (2004). *Salmonella* culture: sampling procedures and laboratory techniques. *Veterinary Clinics Equine Practice*, nº. 20, p. 577-585.

Indiana State Board of Animal Health Technical Bulletin EQ-411.99. Equine Viral Arteritis, p. 1-2.

Johanson, S. (2010). The Horse in Europe. *European Horse Network*, p. 1-4.

Jung, B.Y.; Lee, K.W.; Ha, T.Y. (2010). Seroprevalence of *Leptospira spp.* in clinically healthy racing horses in Korea. *Journal of Veterinary Medical Science*, nº. 72, vol. 2, p. 197-201.

Kaaden, O.R.; Haas, L.; Klopries, M. (1990). Equine viral arteritis. *Tierärztliche Praxis*, nº. 18, vol. 3, p. 277-282.

Kamyngkird, K.; Yangtara, S.; Desquesnes, M.; Cao, S.; Adjou Moumouni, P.K.; Jittapalapong, S.; Nimsupan, B.; Terkawi, M.A.; Masatani, T.; Nishikawa, Y.; Igarashi, I.;

## BIBLIOGRAFÍA

- Xuan, X. (2014). Seroprevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in horses and mules from Northern Thailand. *Journal of Protozoology Research*, nº. 24, p. 11-17.
- Karatepe, B.; Karatepe, M.; Çakmak, A.; Karaer, Z.; Ergün, G. (2009). Investigation of seroprevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Nigde province, Turkey. *Journal of Tropical Animal Health and Production*, nº. 41, vol. 1, p. 109-113.
- Kaufmann, J. (1996). *Parasitic Infections of Domestic Animals: A Diagnostic Manual*. 1<sup>st</sup> Edition. Editorial Birkhauser Verlag, Berlin, p. 227-230.
- Kerber, C.E.; Labruna, M.B.; Ferreira, F.; De Waal, D.T.; Knowles, D.P.; Gennari, S.M. (2009). Prevalence of equine piroplasmiasis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil, *Revista Brasileira de Parasitología Veterinaria*, nº. 8, vol. 4, p. 1-8.
- Kim, D.; Kordick, D.; Divers, T.; Chang, Y.F. (2006). In vitro susceptibilities of *Leptospira spp.* and *Borrelia burgdorferi* isolates to amoxicillin, tilmicosin and enrofloxacin. *Journal of Veterinary Science*, nº. 7, vol. 4, p. 355-359.
- Kim, L.M.; Morley, P.S.; Traub-Dargatz, J.L.; Salman, M.D.; Gentry-Weeks, C. (2001). Factors associated with *Salmonella* shedding among equine colic patients at a veterinary teaching hospital. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, nº. 218, vol. 5, p. 740-748.
- Komar, N. (2000). West Nile viral encephalitis. *Rev Sci Tech.*, nº. 19, vol. 1, p. 166-176.
- Komar, N. (2003). West Nile Virus: Epidemiology and Ecology in North America. *Advances in Virus Research*, nº. 61, p. 185-234.
- Kouam Kenmogne, M.; Theodoropoulos, G.; Menegatos, I.; Oikonomopoulos, I. (2010). Equine Piroplasmiasis in Greece. Ph.D. Thesis, p. 1-194.
- Laabassi, F.; Amelot, G.; Laugier, C.; Zientara, S.; Nasri, A.M.; Hans, A. (2014). Prevalence of equine viral arteritis in Algeria. *Revue Scientifique et Technique*, nº. 33, vol. 3, p. 967-974.
- Lees, V.W.; Gale, S.P. (1994). Titers to *Leptospira* species in horses in Alberta. *Canadian Veterinary Journal*, vol. 35, p. 636-640.
- Leis, A.A.; Stokic, D.S. (2005). Neuromuscular manifestations of human West Nile virus infection. *Current Treatment Options in Neurology*, nº. 7, vol. 1, p. 15-22.
- Levett, P.N. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, nº. 14, vol. 2, p. 296-326.

## BIBLIOGRAFÍA

Levett, P.N. (2004). Leptospirosis: A forgotten zoonosis? *Clinical and Applied Immunology Reviews*, nº. 4, p. 435-448.

Levett, P.N.; Haake, D.A. (2009). *Leptospira* Species (Leptospirosis). En: Mandell, G.L.; Bennett, J.E.; Dolin, R. eds.. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7<sup>th</sup> Edition, Philadelphia, EE.UU. Editorial: Elsevier Churchill Livingstone, cap. 240.

Liljenstolpe, C. (2009). Horses in Europe. EU Equus 2009 conference, p. 1-27.

López Pérez, M.; Ortega Sánchez, C.; Atilano López, D.; De la Peña Moctezuma, A. (1998). Detección de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en equinos dedicados a la producción de sueros hiperinmunes. *Veterinaria México*, nº. 29, vol. 2, p. 173-179.

López, R.; Montenegro-James, S.; Toro, M. (1989). Seroprevalencia de la Babesiosis humana en Venezuela. *Veterinaria Tropical*, vol. 13, p. 93-101.

Lozano, A.; Filipe, A.R. (1998). Anticuerpos frente a virus *West Nile* y otros virus transmitidos por artrópodos en la población del Delta Del Ebro. *Revista Española de Salud Pública*, nº. 72, vol. 3, p. 245-250.

Lucchesi, P.M.; Parma, A.E. (1999). A DNA fragment of *Leptospira interrogans* encodes a protein which shares epitopes with equine cornea. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, nº. 71, vol.3-4, p. 173-179.

Lupulovic, D.; Martín-Acebes, M.A.; Lazic, S.; Alonso-Padilla, J.; Blázquez, A.B.; Escribano-Romero, E.; Petrovic, T.; Saiz, J.C. (2011). First serological evidence of West Nile virus activity in horses in Serbia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, vol. 11, nº. 9, p. 1.303-1.305.

Madic, J.; Hajsig, D.; Sostaric, B.; Curic, S.; Seol, B.; Naglic, T.; Cvetnic, Z. (1997). An outbreak of abortion in mares associated with *Salmonella Abortusequi* infection. *Equine Veterinary Journal*, nº. 29, vol. 3, p. 230-233.

Malekifard, F.; Tavassoli, M.; Yakhchali, M.; Darvishzadeh, R. (2014). Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* using microscopic and molecular methods in horses in suburb of Urmia, Iran. *Vet Res Forum*, nº. 5, vol. 2, p. 129-133.

Mangana-Vougiouka, O.; Boutsini, S.; Ntousi, D.; Patakakis, M.; Orfanou, E.; Zafiropoulou, K.; Dilaveris, D.; Panagiotatos, D.Nomikou, K. (2013). Epizootiological investigation of the most important infectious equine diseases in Greece. *Revue Scientifique et Technique*, nº. 32, vol. 3, p. 775-787.

Marín, S.; Vega, S.; Pérez, M.T.; García, A. (2007). Estudio de seroprevalencia del virus del Oeste del Nilo en aves y equinos, así como en su principal vector (*Culex* spp.) en la Comunidad Valenciana. Universidad Cardenal Herrera-CEU. Tesis doctoral, p. 1-216.

## BIBLIOGRAFÍA

Maskalyk, J. (2003). Typhoid fever. JAMC. Canadian Medical Association or its licensors, nº. 169, vol. 2, p. 132.

Matthews, A.G.; Waitkins, S.A.; Palmer, M.F. (1987). Serological study of leptospiral infections and endogenous uveitis among horses and ponies in the United Kingdom. Equine Veterinary Journal, nº. 19, vol. 2, p. 125-128.

Maynard, K.C., et al. (2007). Manual Merck de Veterinaria. Sexta Edición. Editorial Oceano. New Jersey, EE.UU., p. 20-22.

McFadden, A.M.; Pearce, P.V.; Orr, D.; Nicoll, K.; Rawdon, T.G.; Pharo, H.; Stone, M. (2013). Evidence for absence of equine arteritis virus in the horse population of New Zealand. New Zealand Veterinary Journal, nº. 61, vol. 5, p. 300-304.

McKenzie III, H.C.; Mair, T.S. (2009). Equine Salmonellosis. Infectious Diseases of the Horse, p. 172-186.

Mead, P.S.; Slutsker, L.; Dietz, V.; McCraig, L.F.; Bresse, J.S.; Shapiro, C.; Griffin, P.M.; Tauxe, R.V. (1999). Food-related illness and death in the United States. Emerging Infectious Diseases, nº. 5, vol. 5, p. 607-625.

Medic, S.; Van den Hoven, R.; Petrovic, T.; Lupulovic, D.; Nowotny, N. (2014). Serological evidence of West Nile virus infection in the horse population of northern Serbia. Journal of Infection in Developing Countries, vol. 8, nº. 7, p. 914-918.

Meléndez, R.D. (2000). Babesiosis: una zoonosis emergente en regiones templadas y tropicales. Una revisión. Revista Científica FCV-LUZ, nº. 10, vol. 1, p. 13-18.

Méndez, J.I.; Taylor, A.; López, A. (2012). Situación actual de la piroplasmosis equina en México. Universidad Veracruzana. Monografía, p. 1-77.

Miller, S.I.; Hohmann, E.L.; Peques, D.A. (1995). *Salmonella* (Including *Salmonella* Typhimurium). En: Mandell, G.L.; Bennett, J.E.; Dolin, R. (eds.). Mandell, Douglas and Bennett's principles and practices of infectious disease. Churchill Livingstone. New York, USA. P. 2.013-2.033.

Miszczak, F.; Legrand, L.; Balasuriya, U.B.R.; Ferry-Abitbol, B.; Zhang, J.; Hans, A.; Fortier, G.; Pronost, S.; Vabret, A. (2012). Emergence of novel equine arteritis virus (EAV) variants during persistent infection in the stallion: Origin of the 2007 French EAV outbreak was linked to an EAV strain present in the semen of a persistently infected carrier stallion. Virology, nº. 423, p. 165-174.

Moch, R.W.; Ebner, E.E.; Barsoum, L.S.; Botros, B.A. (1975). Leptospirosis in Ethiopia: a serological survey in domestic and wild animals. Journal of Tropical Medical Hygiene, vol. 78, nº. 2, p. 38-42.

## BIBLIOGRAFÍA

Monreal, L.; Villatoro, A.J.; Hooghuis, H. et al. (1995). Clinical features of the 1992 outbreak of equine viral arteritis in Spain. *Equine Veterinary Journal*, nº. 27, p. 301-304.

Moraillon, A.; Moraillon, R. (1978). Results of a serological survey of arteritis in France and in several European and African countries. *Proceedings of the 4th International Conference Equine Infectious Diseases*, p. 467-473.

Moretti, A.; Mangili, V.; Salvatori, R.; Maresca, C.; Scoccia, E.; Torina, A.; Moretta, I.; Gabrielli, S.; Tampieri, M.P.; Pietrobelli, M. (2010). Prevalence and diagnosis of *Babesia* and *Theileria* infections in horses in Italy: A preliminary study. *Veterinary Journal*, nº. 184, vol. 3, p. 346-350.

Motloang, M.Y.; Thekiso, O.M.M.; Alhassan, A., Bakheit, M.A.; Motheo, P.; Masangane, F.E.S. (2008). Prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in horses belonging to resource-poor farmers in the north-eastern Free State Province, South Africa. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, nº. 75, vol. 2, p. 141-146.

Moya, M. (2002). Prevalencia de leptospirosis equina en cuatro comunas de la provincia de Linares, VII región. Universidad de Concepción, Facultad de Medicina Veterinaria, Departamento de Ciencias Clínicas, p. 1-45.

Mújica, F.F.; Perrone, T.; Forlano, M.; Coronado, A.; Meléndez, R.D.; Barrios, N.; Álvarez, R.; Granda, F. (2011). Serological prevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in horses of Lara State, Venezuela. *Veterinary Parasitology*, nº. 178, p. 180-183.

Murgue, B.; Murri, S.; Zientara, S.; Durand, B.; Durand, J.; Zeller, H. (2001). West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: The return after 35 years. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 7, p. 692-696.

Murray, G.; Munstermann, S.; Lam, K. (2013). Benefits and challenges posed by the worldwide expansion of equestrian events- New standards for the population of competition horses and equine disease free zones (EDF) in countries. *World Organisation for Animal Health. World Assembly. 81<sup>st</sup> General Session*, p. 1-9.

Myers, D.M. (1976). Serological studies and isolations of serotype *hardjo* and *Leptospira biflexa* strains from horses of Argentina. *Journal of Clinical Microbiology*, nº. 3, vol. 6, p. 548-555.

Nasci, R.S.; Savage, H.M.; White, D.J.; Miller, J.R.; Cropp, B.C.; Godsey, M.S.; Kerst, A.J.; Bennett, P.; Gottfried, K.L.; Lanciotti, R.S. (2000). West Nile Virus in overwintering *Culex* mosquitoes, New York city, 2000. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 7, vol. 4, p. 1-3.

## BIBLIOGRAFÍA

Nash, D.; Mostashari, F.; Fine, A.; Miller, J.; O'Leary, D.; Murray, K.; Huang, A.; Rosenberg, A.; Greenberg, A.; Sherman, M.; Wong, S.; Layton, M. (2001). The outbreak of West Nile virus infection in the New York City area in 1999. *New England Journal of Medicine*, nº. 344, vol. 24, p. 1.807-1.814.

Newton, J.R.; Wood, J.L.; Castillo-Olivares, F.J.; Mumford, J.A. (1999). Serological surveillance of equine viral arteritis in the United Kingdom since the outbreak in 1993. *Veterinary Record*, nº. 145, vol. 18, p. 511-516.

Niczyporuk, J.S.; Samorek-Salamonowicz, E.; Lecollinet, S.; Pancewicz, S.A.; Kozdrun, W.; Czekaj, H. (2014). Occurrence of West Nile virus antibodies in wild birds, horses, and humans in Poland. *Biomed Research International*, nº. 2015, p. 1-5.

Ord, R.L.; Lobo, C.A. (2015). Human Babesiosis: Pathogens, Prevalence, Diagnosis and Treatment. *Current Clinical Microbiology Reports*, nº. 2, vol. 4, p. 173-181.

Ostlund, E.N.; Andresen, J.E.; Andresen, M. (2000). West Nile encephalitis. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice*, nº. 16, vol. 3, p. 427-441.

Ostlund, E.N.; Crom, R.L.; Pedersen, D.D.; Johnson, D.J.; Williams, W.O.; Schmitt, B.J. (2001). Equine West Nile encephalitis, United States. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 7, vol. 4, p. 665-669.

Pappas, G.; Papadimitriou, P.; Siozopoulou, V.; Christou, L.; Akritidis, N. (2008). The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *International Journal of Infectious Diseases*, nº. 12, p. 351-357.

Park, Y.G.; Gordon, J.C.; Bech-Nielsen, S.; Slemons, R.D. (1992). Factors for seropositivity to leptospirosis in horses. *Preventive Veterinary Medicine*, nº. 13, p. 121-127.

Pauvolid-Correa, A.; Campos, Z.; Juliano, R.; Velez, J.; Ribeiro Nogueira, R.M.; Komar, N. (2014). Serological evidence of widespread circulation of West Nile virus and other *flaviviruses* in equines of the Pantanal, Brazil. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol. 8, nº. 2, p. 1-11.

Pearce, J.W.; Galle, L.E.; Kleiboeker, S.B.; Turk, J.R.; Schommer, S.K.; Dubielzig, R.R.; Mitchell, W.J.; Moore, C.P.; Giuliano, E.A. (2007). Detection of *Leptospira interrogans* DNA and antigen in fixed equine eyes affected with end-stage equine recurrent uveitis. *Journal of Veterinary Diagnosis and Investigation*, nº.19, vol. 6, p. 686-690.

Pearce, T.; McFadden, A.; Van Andel, M. (2014). New Zealand declares freedom from Equine Viral Arteritis (EVA) to the OIE. *Surveillance*, nº. 41, vol. 3, p. 6-8.

Petersen, L.R.; Roehrig, J.T. (2001). West Nile virus: a reemerging global pathogen, *Emerging Infectious Diseases*, nº. 7, vol. 4, p. 611-614.

## BIBLIOGRAFÍA

Petersen, L.R.; Marfin, A.A. (2002). West Nile Virus: A primer for the clinician. *Annals of Internal Medicine*, nº. 137, vol. 3, p. 173-179.

Piantedosi, D.; D'Alessio, N.; Di Loria, A.; Di Prisco, F.; Mariani, U.; Neola, B.; Santoro, M.; Montagnaro, S.; Capelli, G.; Veneziano, V. (2014). Seroprevalence and risk factors associated with *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in donkeys from Southern Italy. *Veterinary Journal*, nº. 202, vol. 3, p. 578-582.

Pinna, A.E.; Martins, G.; Lilenbaum, W. (2012). Leptospirosis and embryo recovery rate in mares. *Veterinary Record*, nº. 170, vol. 2, p. 60.

Pinna, M.H.; Varges, R.; Abreu, R.; Lilenbaum, W. (2007). Outbreak of equine leptospirosis by *S. Bratislava*. *Journal of Veterinary Research*, vol. 11, nº. 3, p. 1-4.

Popoff, M.Y.; Le Minor, L. (2001). Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars. Institute Pasteur, WHO Collaborating centre for reference and research on *Salmonella*. Paris, Francia.

Pradier, S.; Lecollinet, S.; Leblond, A. (2012). West Nile virus epidemiology and factors triggering change in its distribution in Europe. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, nº. 31, vol. 3, p. 829-844.

Prochno, H.C.; Scorsin, L.M.; Rodrigues de Melo, F.; Baldani, C.D.; Falbo, M.K.; Thomaz de Aquino, L.C.; Lemos, K.R. (2014). Seroprevalence rates of antibodies against *Theileria equi* in team roping horses from central-western region of Paraná. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, nº. 23, vol. 1, p. 85-89.

Qablan, M.A.; Obornik, M.; Petrzekova, K.J.; Sloboda, M.; Shudiefat, M.F.; Horin, P.; Lukes, J.; Modry, D. (2013). Infections by *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Jordanian equids: epidemiology and genetic diversity. Cambridge University Press. *Parasitology*, p. 1-8.

Queensland Horse Council Inc. (2010). *Salmonellosis abortusequi*. Fact Sheet.

Quiroz, H. (2005). Babesiosis en equinos. En: *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. Editorial Limusa, S.A., Grupo Noriega Editores, México D.F., México. p. 199-201.

Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Hinchcliff, K.W.; Constable, P.D. (2007). Diseases caused by *Leptospira spp.* En: *Veterinary Medicine-A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th Edition. Editorial Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, EE.UU., p. 971-985.

Rahim, M.; Gorbanpour, M.; Haidari, M.; Abdollapour, G. (2005). Comparison of Leptospiral infection in the horse and donkey. *Bull Vet Inst Pulawy*, nº49, p. 175-178.

## BIBLIOGRAFÍA

Reglamento (CE) nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de noviembre de 2003, sobre el control de *Salmonella* y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos. Diario Oficial de la Unión Europea. L325, p. 1-15.

Robert Koch-Institut (2004). Fallbericht: Wahrscheinliche West-Nil-Erkrankung – dritter importierter fall in Deutschland. Epidemiologisches Bulletin, nº. 48, p. 417.

Roberts, M.C.; O'Boyle, D.A. (1981). The prevalence and epizootiology of salmonellosis among groups of horses in south east Queensland. Australian Veterinary Journal, vol. 57, nº. 1, p. 27-35.

Rocha, T. (1998). A review of leptospirosis in farm animals in Portugal. Revue Scientifique et Technique, nº. 17, vol. 3, p. 699-712

Rocha, T. (2004). Equine Leptospirosis in Portugal; Serological, immunological and microbiological studies. Tesis doctoral. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.

Rocha, T.; Ellis, W.A.; Montgomery, J.; Gilmore, C.; Regalla, J.; Brem, S. (2004). Microbiological and serological study of leptospirosis in horses at slaughter: first isolations. Research Veterinary Science, nº. 76, vol. 3, p. 199-202.

Rodríguez Morales, A.J. (2007). Epidemiología de la Babesiosis: Zoonosis emergente. Acta Científica Estudiantil, nº. 5, vol. 4, p. 132-138.

Romero Cabello, R. (2007). *Salmonella*. En: Microbiología y parasitología humana: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas. 3ª Edición. Editorial Médica Panamericana. P. 786-802.

Romero Falcón, F. (2004). Caracterización del sistema de explotación y determinación de las características socioeconómicas de las empresas ganaderas. Censo, distribución geográfica y análisis de los parámetros demográficos y reproductivos. Universidad de Sevilla. E.U.I.T.A. Departamento de Ciencias Agroforestales. Ponencia, p. 1-33.

Roqueplo, C.; Cabre, O.; Davoust, B.; Kodjo, A. (2013). Epidemiological Study of Animal Leptospirosis in New Caledonia. Research Article. Veterinary Medicine International, vol. 2013, p. 1-6.

Rothschild, C.M.; Knowles, D.P. (2007). Equine piroplasmiasis. En Equine Infectious Diseases, Editorial Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, EE.UU., p. 465-473.

Rothschild, C.M. (2013). Equine Piroplasmiasis. Journal of Equine Veterinary Science, nº. 33, vol. 7, p. 497-508.

## BIBLIOGRAFÍA

Rovid, A.; Allen, J.; Gaylon, J.; Lofstedt, J.; Victoria, M. (2010). Enfermedades emergentes y exóticas de los animales. 1ª Edición. A Iowa, EE.UU.. p. 256-258.

Rovida, F.; Sarasini, A.; Campanini, G.; Percivalle, E.; Gorini, G.; Mariani, B.; Pan, A.; Cuzzoli, A.; Possenti, S.; Manzini, L.; Castelli, F.; Bossini, N.; Grossi, P.A.; Castilletti, C.; Calzolari, M.; Lelli, D.; Piatti, A.; Baldanti, F. (2015). West Nile virus outbreak in the Lombardy region, northern Italy, summer 2013. *Vector Borne Zoonotic Diseases*, nº. 15, vol. 4, p. 278-283.

Rüegg, S.R.; Heinzmann, D.; Barbour, A.D.; Torgerson, P.R. (2007). Estimating the transmission dynamics of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses. University of Zurich manuscript.

Ruple-Czerniak, A.; Bolte, D.S.; Burgess, B.A.; Morley, P.S. (2014). Comparison of two sampling and culture systems for detection of *Salmonella enterica* in the environment of a large animal hospital. *Equine Veterinary Journal*, nº. 46, p. 499-502.

Saegerman, C.; Alba-Casals, A.; García-Bocanegra, I.; Dal Pozzo, F.; Van Galen, G. (2014). Clinical sentinel surveillance of equine West Nile fever, Spain. *Transboundary and Emerging Diseases*, vol. 63, nº. 2, p. 184-193.

Salib, F.A.; Youssef, R.R.; Rizk, L.G.; Said, S.F. (2013). Epidemiology, diagnosis and therapy of *Theileria equi* infection in Giza, Egypt. *Veterinary World*, nº. 6, vol. 2, p. 76-82.

Salim, B.O.M.; Hassan, S.M.; Bakheit, M.A.; Alhassan, A.; Igarashi, I.; Karanis, P.; Abdelrahman, M.B. (2008). Diagnosis of *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses in Sudan using ELISA and PCR. *Parasitology Research*, nº. 103, vol. 5, p. 1.145-1.150.

Samuel, M.A.; Diamond, M.S. (2006). Pathogenesis of West Nile Virus Infection: a Balance between virulence, innate and adaptative immunity, and viral invasion. *Journal of Virology*, nº. 40, vol. 19, p. 9.349-9.360.

Sánchez, A.; Amela, C.; Santos, S.; Suárez, B.; Simón, F.; Sierra, M.J. (2013). Informe de situación y evaluación del riesgo de la fiebre por virus del Nilo Occidental en España. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, p. 1-46.

Santana, L.; O'Shanahan, G.; García Martul, M.; Sánchez-Palacios, M. (2006). Fracaso renal agudo causado por Leptospirosis. *Nefrología*, nº. 26, vol. 4, p. 501.

Schmeling, M.F.; Arn, E.; De Marco, P.L.; Vanasco, N.B. (2009). Utilidad del serodiagnóstico de Leptospirosis en equinos aparentemente sanos. *Revista FAVE-Ciencias Veterinarias*, vol. 8, nº. 2, p. 55-60.

## BIBLIOGRAFÍA

Schott II, H.C.; Ewart, S.L.; Walker, R.D.; Dwyer, R.M.; Dietrich, S.; Eberhart, S.W.; Kusey, J.; Stick, J.A.; Derksen, F.J. (2001). An outbreak of salmonellosis among horses at a veterinary teaching hospital. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, nº. 218, vol. 7, p. 1.152-1.159.

Scoles, G.A.; Hutcheson, H.J.; Schlater, J.L.; Hennager, S.G.; Pelzel, A.M.; Knowles, D.P. (2011). Equine Piroplasmosis Associated with *Amblyomma cajennense* Ticks, Texas, EE.UU.. *Emerging Infectious Diseases*, nº. 17, vol. 10, p. 1.903-1.905.

Scott Weese, J.; Baird, J.D.; Poppe, C.; Archambault, M. (2001). Emergence of *Salmonella* Typhimurium definitive type 104 (DT104) as an important cause of salmonellosis in horses in Ontario. *Canadian Veterinary Journal*, nº. 42, p. 788-792.

Sedlák, K.; Zelená, H.; Krivda, V.; Satrán, P. (2014). Surveillance of West Nile Fever in horses in the Czech Republic from 2011 to 2013. *Epidemiologie Mikrobiologie Immunologie*, nº. 63, vol. 4, p. 307-311.

Sejvar, J.J. (2014). Clinical manifestations and outcomes of West Nile Virus infection. *Viruses*, nº. 6, vol. 2, p. 606-623.

Seo, M.G.; Yun, S.H.; Choi, S.K.; Cho, G.J.; Park, Y.S.; Kwon, O.D.; Cho, K.H.; Kim, T.H.; Jeong, K.S.; Park, S.J.; Kwon, Y.S.; Kwak, D. (2011). Seroprevalence of equine piroplasms in the Republic of Korea. *Veterinary Parasitology*, nº. 179, vol. 1-3, p. 224-226.

Sevinc, F.; Maden, M.; Kumas, C.; Sevinc, M.; Ekici, O.D. (2008). A comparative study on the prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in horse sub-populations in Turkey. *Veterinary Parasitology*, nº. 156, vol. 3, p. 173-177.

Shanahan, L.M.; Slovis, N.M. (2011). *Leptospira interrogans* associated with hydrallantois in 2 pluriparous Thoroughbred mares. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, nº. 25, p. 158-161.

Sharan, K.P.; Krause, P.J. (2000). Babesiosis. En: *Tickborne Infectious Diseases: Diagnosis and Management*, ed. Cunha, B.A. Editorial Taylor & Francis Group, Boca Ratón, Florida, EE.UU., p. 111-120.

Shrestha, B.; Gottlieb, D.; Diamond, M.S. (2003). Infection and injury of neurons by West Nile encephalitis virus. *Journal of Virology*, nº. 77, vol. 24, p. 13.203-13.213.

Shulman, S.T.; Phair, J.P.; Peterson and Warren (1999). *Enfermedades infecciosas*. Ed. McGraw-Hill, p. 265-275.

Sigg, L.U.; Gerber, V. (2009). Seroprevalence of equine piroplasmosis in the Swiss horsepopulation. *Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern. Inaugural-Dissertation*, p. 1-30.

## BIBLIOGRAFÍA

Slater, J. (2012). National Equine Health Surveys (NEHS) 2010-2012. AHT/ BEVA/ DEFRA Equine Quarterly Disease Surveillance Report, nº. 8, vol. 4, p. 11-15.

Smith, R.E.; Williams, I.A.; Kingsbury, E.T. (1976). Serologic evidence of equine leptospirosis in the northeast United States. Cornell Veterinary, nº. 66, vol. 1, p. 105-109.

Smith, K.; Dalley, C. (2006). How common is leptospiral infection in UK horses – preliminary serological observations. DEFRA/AHT/BEVA Equine Quarterly Disease Surveillance Report, vol. 2, nº. 3, p. 8.

Solari, M.A. (2008). Babesiosis equina: seroprevalencia, diagnóstico y control. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. XVII Reunión Científica Técnica, p. 46-48.

Sotelo, E.; Fernández-Pinero, J.; Jiménez-Clavero, M.A. (2012). La fiebre/encefalitis por virus *West Nile*: reemergencia en Europa y situación en España. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, vol. 30, nº. 2, p. 75-83.

Subdirección General de Productos Ganaderos (2014). El sector equino en cifras. Principales indicadores económicos en 2013, p. 1-36.

Steinman, A.; Zimmerman, T.; Klement, E.; Lensky, I.M.; Berlin, D.; Gottlieb, Y.; Baneth, G. (2012). Demographic and environmental risk factors for infection by *Theileria equi* in 590 horses in Israel. Veterinary Parasitology, nº. 187, vol. 3-4, p. 558-562.

Sule, W.F.; Oluwayelu, D.O.; Adedokun, R.A.; Rufai, N.; McCracken, F.; Mansfield, K.L.; Johnson, N. (2015). High seroprevalence of West Nile Virus antibodies observed in horses from southwestern Nigeria. Vector Borne Zoonotic Diseases, nº. 15, vol. 3, p. 218-220.

The Center for Food Security and Public Health. Iowa State University (2005). Salmonellosis, p. 1-8.

The Center for Food Security and Public Health. Iowa State University (2008). Equine Piroplasmiasis, p. 1-5.

The Center for Food Security and Public Health. Iowa State University (2009). Equine Viral Arteritis, p. 1-4.

The Merck Veterinary Manual. Salmonellosis in Horses. Digestive System. Intestinal Diseases in Horses and Foals, p. 1-3.

Thiemann, A.; Phipps, P. (2009). The Risk of Importation of Equine Piroplasmiasis into the United Kingdom. AHT/ BEVA/ DEFRA Equine Quarterly Disease Surveillance Report, nº. 5, vol. 3, p. 16-17.

## BIBLIOGRAFÍA

Threlfall, E.J., Frost, J.A.; Ward, L.R.; Rowe, B. (1994). Epidemic in cattle and humans of *Salmonella typhimurium* DT 104 with chromosomally integrated multiple drug resistance. *Veterinary Record*, nº. 134, vol. 22, p. 577.

Timoney, P.; McCollum, W. (1997). Understanding Equine Viral Arteritis. AEPP Convention Phoenix, Arizona, EE.UU., p. 1-3.

Traub-Dargatz, J.L.; Garber, L.P.; Fedorka-Cray, P.J.; Ladely, S.; Ferris, K.E. (2000). Fecal shedding of *Salmonella spp.* by horses in the United States during 1998 and 1999 and detection of *Salmonella spp.* in grain and concentrate sources on equine operations. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, nº. 217, vol. 2, p. 226-230.

Trock, S.C.; Meade, B.J.; Glaser, A.L.; Ostlund, E.N.; Lanciotti, R.S.; Cropp, B.C.; Kulasekera, V.; Kramer, L.D.; Komar, N. (2001). West Nile virus outbreak among horses in New York State, 1999 and 2000. *Emergent Infectious Diseases*, nº. 7, p. 745–747.

Turaki, U.A.; Kumsha, H.A.; Biu, A.A.; Bokko, P.B. (2014). Prevalence of piroplasmiasis amongst local horses in Northeastern Nigeria. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, nº. 7, vol. 12, p. 4-7.

Uilenberg, G. (2006). *Babesia*—a historical overview. *Veterinary Parasitology*, nº. 138, p. 3–10.

United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. Veterinary Services (2001). *Salmonella* and the U.S. Horse Population. Info Sheet, p. 1-2.

United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. Veterinary Services (2002). Equine Viral Arteritis. Factsheet, p. 1-2.

United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. Servicios Veterinarios (2008). Piroplasmiasis equina. Hoja informativa, p. 1-2.

Van den Ingh, T.S.; Hartman, E.G., Bercovich, Z. (1989). Clinical *Leptospira interrogans* serogroup *Australis* serovar *lora* infection in a stud farm in The Netherlands. *Veterinary Questions*, nº. 11, vol. 3, p. 175-182.

Van der Meulen, K.; Caij, A.; Nauwynck, H.; Pensaert, M. (2001). An outbreak of equine viral arteritis abortion in Belgium. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, nº. 70, p. 221-222.

Van Duijkeren, E.; Flemming, C.; Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan, M.; Kalsbeek, H.C.; Van der Giessen, J.W.B. (1995). Diagnosing Salmonellosis in horses. Culturing of multiple versus single faecal samples. *The Veterinary Quarterly*, nº. 17, vol. 2, p. 63-66.

## BIBLIOGRAFÍA

- Van Rensburg, I.B.J.; Jardine, J.E.; Carstens, J.H.; van der Walt, M.L. (1995). The prevalence of intestinal *Salmonella* infection in horses submitted for necropsy. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, nº. 62, p. 65-67.
- Vannier, E.; Gewurz, B.E.; Krause, P.J. (2008). Human Babesiosis. *Infectious Diseases Clinics North America*, nº. 22, vol. 3, p. 469.
- Vega, S.; Domingo, R.; Marín, C.; Cardells, J. (2010). Virus del Nilo Occidental, ¿estamos preparados? *Actualidad Veterinaria*, parte I., p. 21-33.
- Vega, S.; Domingo, R.; Marín, C.; Cardells, J. (2011). Virus del Nilo Occidental, ¿estamos preparados? *Actualidad Veterinaria*, parte II, p. 17-23.
- Vega, S.; Domingo, R. (2012). Study of the serological prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Pure Spanish Breed horses in the Valencian Community. *BulletinUSAMV, Veterinary Medicine*, nº. 69, vol. 1-2, p. 1-6.
- Ventura, J. (2015). El virus del Nilo Occidental reaparece en España y pone en guardia a la cabaña equina. *Argos Portal Veterinaria*, Octubre 2015, p. 1.
- Verma, A.; Stevenson, B.; Adler, B. (2013). Leptospirosis in horses. *Veterinary Microbiology*, nº. 167, p. 61-66.
- Veterinary Ireland Operations Executive (2009). Department Press Release.
- Walker, R.L.; Madigan, J.E.; Hird, D.W.; Case, J.T.; Villanueva, M.R.; Bogenrief, D.S. (1991). An outbreak of equine neonatal salmonellosis. *Journal of Veterinary Diagnosis and Investigation*, nº. 3, p. 223-227.
- Wang, T.; Town, T.; Alexopoulou, L.; Anderson, J.F.; Fikrig, E.; Flavell, R.A. (2004). Toll-like receptor 3 mediates West Nile virus entry into the brain causing lethal encephalitis. *Nature Medicine*, nº. 10, vol. 12, p. 1.366–1.373.
- Weese, J.S.; Baird, J.D.; DeLay, J.; Kenney, D.G.; Staempfli, H.R.; Viel, L.; Parent, J.; Smith-Maxie, L.; Poma, R. (2003). West Nile virus encephalomyelitis in horses in Ontario: 28 cases. *Canadian Veterinary Journal*, nº. 44, p. 469–473.
- Wilkins, P.A.; Del Piero, F. (2004) West Nile virus: lessons from the 21st century. *Journal of Veterinary Emergencies and Critical Care*, nº. 14, vol. 1, p. 2-14.
- Wilson D.A. (2012). *Clinical Veterinary Advisor: The Horse*. Editorial Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, EE.UU., p. 446-447.
- Wood, J.L.; Chirnside, E.D.; Mumford, J.A.; Higgins, A.J. (1995). First recorded outbreak of equine viral arteritis in the United Kingdom. *Veterinary Record*, nº. 136, vol. 15, p. 381-385.

## BIBLIOGRAFÍA

World Health Organization (WHO); Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2002). Evaluaciones de riesgos de *Salmonella* en huevos y pollos. En: Serie Evaluación de riesgos biológicos. Nº1. Ginebra, Suiza.

World Health Organization (WHO) (2005). Drug-resistant *Salmonella*. Fact sheet nº139.

World Organisation for Animal Health (2004). Piroplasmosis equina. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.5.6., p. 751-759.

World Organisation for Animal Health (2008). Leptospirosis. OIE Terrestrial Manual. Chapter 2.1.9., p. 251-264.

World Organisation for Animal Health (2009). Equine Piroplasmosis. OIE Technical disease cards, 1-4.

World Organisation for Animal Health (2013). Equine Viral Arteritis. OIE Terrestrial Manual. Chapter 2.5.10., p. 1-16.

World Organisation for Animal Health (2013). West Nile Fever . OIE Terrestrial Manual. Chapter 2.1.20., p. 1-12.

World Organisation for Animal Health (2014). Equine Piroplasmosis. OIE Terrestrial Manual. Chapter 2.5.8., p. 1-10.

Xuan, X.; Nagai, A.; Battsetseg, B.; Fukumoto, S.; Makala, L.H.; Inoue, N.; Igarashi, I.; Mikami, T.; Fujisaki, K. (2001). Diagnosis of Equine Piroplasmosis in Brazil by Serodiagnostic Methods with Recombinant Antigens. *Journal of Veterinary Medicine and Science*, nº. 63, vol. 10, p. 1.159-1.160.

Xuan, X.; Chahan, B.; Huang, X.; Yokohama, N.; Makala, L.H.; Igarashi, I.; Fujisaki, K.; Maruyama, S.; Sakai, T.; Mikami, T. (2002). Diagnosis of equine piroplasmosis in Xinjiang province of China by the enzyme-linked immunosorbent assays using recombinant antigens. *Veterinary Parasitology*, nº. 108, vol. 2, p. 179-182.

Yen, C.Y.; Wu, Y.L. (2014). Seroprevalence of Equine Viral Arteritis in horses in Taiwan in 2012. *Taiwan Veterinary Journal*, nº. 40 B, vol. S1, p. 7-14.

Zavitsanou, A.; Babatsikou, F. (2008). Leptospirosis: epidemiology and preventive measures. *Health Science Journal*, nº. 2, vol. 1, p. 75-82.

Ziegler, U.; Skrypnik, A.; Keller, M.; Staubach, C.; Bezymennyi, M.; Damiani, A.M.; Osterrieder, N.; Groschup, M.H. (2013a). West Nile Virus antibody prevalence in horses of Ukraine. *Viruses*, vol. 5, p. 2.469-2.482.

Ziegler, U.; Angenvoort, J.; Klaus, C.; Nagel-Kohl, U.; Sauerwald, C.; Thalheim, S.; Horner, S.; Braun, B.; Kenklies, S.; Tyczka, J.; Keller, M.; Groschup, M.H. (2013b). Use of

## BIBLIOGRAFÍA

competition ELISA for monitoring of West Nile Virus infections in horses in Germany. International Journal of Environmental Research and Public Health, vol. 10, p. 3.112-3.120.

Zobba, R.; Ardu, M.; Niccolini, S.; Chessa, B.; Manna, L.; Cocco, R.; Pinna Parpaglia, M. L. (2008). Clinical and laboratory findings in equine piroplasmiasis. Journal of Equine Veterinary Science, nº. 28, vol. 5, p. 301-308.



## **8. ANEXO 1: Hoja de registro de las muestras**





