

Presencia de anticuerpos a los Herpes Virus Equino 1 y 4 en la Orinoquia Colombiana

The presence of antibodies against equineherpes virus 1 and 4 in the Colombian Orinoco region

Presença de anticorpos contra Herpes Vírus Equino 1 e 4 no Orinoco Colombiano

Agustín Góngora -Orjuela, Jorge L. Parra -Arango², Karl A. Ciuoderis³

¹ MV, MSc, PhD, Universidad de los Llanos, Grupo de Investigación en Reproducción y Genética Animal.

² MV, MSc, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-Corpoica. Centro de Investigaciones la Libertad-Villavicencio, Meta

³ MVZ, Departamento de Ciencias Patobiológicas, Universidad de Wisconsin-Madison, Escuela de Medicina Veterinaria, Madison, WI 53706, USA

Email: agongora@unillanos.edu.co

Recibido: Septiembre 2 de 2013. Aceptado: Mayo 8 de 2014.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de anticuerpos a los Herpes virus equino 1 (EHV-1) y 4 (EHV-4) en las poblaciones de equinos de la Orinoquia Colombiana. Para tal efecto, se realizó un muestreo serológico transversal en equinos (n: 260) provenientes de 6 localidades de la región. Las muestras fueron analizadas mediante la prueba de ELISA usando un kit-comercial que discrimina anticuerpos frente a los dos virus. Se encontró una seropositividad en la población evaluada de 12.7% para EHV-1 y de 70.4% para EHV-4. Todos los equinos seropositivos a EHV-1 lo fueron también a EHV-4. La seropositividad para EHV-1 por municipio fue: San Martín (34.6%), Arauca (10.4%), Puerto López (8.7%), Yopal (6.3%), San José del Guaviare (4.9%), Puerto Gaitán (4.0%); mientras al EHV-4 fue 80.8%, 77.1%, 45.7%, 79.2%, 65.9%, 72.0% para los mismos municipios. Se identificó la presencia de anticuerpos contra los dos virus, siendo mayor la seropositividad para el EHV-4. Estos resultados demuestran la necesidad de estudios adicionales para comprender mejor la enfermedad, epidemiología y su comportamiento en la región.

Palabras clave: anticuerpos, equinos, EHV-1, EHV-4

Abstract

This study was aimed at evaluating the presence of equineherpes virus 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) antibodies in equine populations from the Colombian Orinoco region. Cross-sectional serological sampling was thus used on horses (n: 260) from 6 localities in the region. An ELISA test was used for analysing the samples, using a commercial kit which discriminated antibodies regarding both viruses; 12.7% seropositivity was found for EHV-1 and 70.4% for EHV-4. All the horses found seropositive for EHV-1 were also seropositive for EHV-4. EHV-1 seropositivity by municipality was as follows: San Martín 34.6%, Arauca 10.4%, Puerto López 8.7%, Yopal 6.3%, San José del Guaviare 4.9% and Puerto Gaitán 4.0%. EHV-4 seropositivity for

the same municipalities was 80.8%, 77.1%, 45.7%, 79.2%, 65.9%, 72.0%, respectively. The presence of antibodies against both viruses was identified, seropositivity being higher for EHV-4. These results showed the need for further studies aimed at a better understanding of the disease, its epidemiology and pattern in the aforementioned region.

Key words: Antibody, horse, EHV-1, EHV-4

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de anticorpos aos vírus do herpes equino 1 (EHV-1) e 4 (EHV-4) em populações de equinos de Orinoco colombiano. Para este fim, uma amostragem serológica transversal foi realizado em cavalos (n = 260) a partir de 6 locais na região. As amostras foram analisadas por ELISA, utilizando um kit de anticorpos comerciais para discriminar os dois vírus. Serorreatividade foi encontrada em 12,7 % para EHV - 1 e 70,4 % ao EHV-4. Todos os cavalos EHV- 1 seropositivos foram também ao EHV -4. A seropositividade ao EHV-1 por município é: San Martin (34,6%), Arauca (10,4%) , Puerto López (8,7%), Yopal (6,3%), San José del Guaviare (4.9), Puerto Gaitán (4,0%); enquanto a EHV-4 foi de 80,8 % , 77,1 % , 45,7 % , 79,2 % , 65,9 % , 72,0 % para os mesmos municípios. A presença de anticorpos contra os dois vírus foram identificados, sendo maior seropositividade de EHV-4 . Estes resultados demonstram a necessidade de estudos adicionais para compreender melhor a epidemiologia da doença e seu comportamento na região.

Palavras-chave: anticorpos, cavalos, EHV- 1, EHV- 4.

Introducción

La Rinoneumonitis Equina (RE), es una enfermedad infecciosa de amplia difusión, producida por dos tipos de virus que pertenecen a la familia herpesviridae, el herpes virus equino-1 (EHV-1) y herpes virus equino-4 (EHV-4). Estos son virus de doble cadena de DNA, con un tamaño entre 145-150 kb, cuyo genoma codifica para 76 genes, y pertenecen al subgrupo α -herpesvirus con una amplia distribución mundial (Harless y Pusterla, 2006). En los países en donde la enfermedad ha sido reportada, las pérdidas económicas son considerables y están representadas por la muerte de animales jóvenes a consecuencia de infecciones respiratorias y abortos en la gestación tardía, principalmente evidenciados en infecciones del EHV-1 (Allen *et al.*, 1999; Reed y Toribio, 2004), aunque ocasionalmente se han descritos efectos en la gestación temprana con daño a nivel de la placenta y algunos abortos. En algunos casos los signos clínicos más evidentes son los abortos asociados con mieloencefalopatías (Smith *et al.*, 2010, y Allen *et al.*, 2008; Fritsche y Borchers, 2011). La patogenicidad del EHV-4 se ha asociado comúnmente a problemas respiratorios en animales jóvenes, y en menor proporción como causa de abortos (Ostlund 1990; 1993).

Una característica importante de los virus herpes es la capacidad que tienen de permanecer en forma latente en los ganglios nerviosos especialmente en el trigémino, lo que favorece en un alto porcentaje que los

animales permanezcan infectados de por vida. En este estadio puede ocurrir la subsecuente reactivación de la latencia, ocasionada por condiciones de estrés, desencadenando la eliminación del virus al medio ambiente lo cual ocasiona nuevos brotes de la enfermedad (Hanzah, 2008).

En Colombia hasta el año 2001 no se tenía conocimiento de esta enfermedad. El primer reporte provino de una yegua importada de Argentina, que mostró signos de rinoneumonitis y aborto, caso del cual se aisló el herpes virus a partir de secreción nasal y de tejidos del feto abortado (Ramírez *et al.*, 2001), posteriormente por estudios morfológicos, serológicos, inmunocitoquímicos y moleculares el virus fue clasificado como EHV-1 (Cano *et al.*, 2008). Luego a este reporte, otros estudios han demostrado la presencia de EHV-1 y EHV-4 en poblaciones de caballos procedentes de los departamentos de Antioquia y Meta, teniendo en cuenta que estos lugares son distantes del sitio de donde se reportó por primera vez el virus (Ruiz *et al.*, 2008).

Con los antecedentes descritos y sumado a la gran movilidad y facilidad del desplazamiento de animales para la participación en ferias y eventos deportivos y además de la escasa restricción sanitaria, excepto para el virus de la Anemia Infecciosa Equina (VEIA), se planteó la hipótesis de que la enfermedad se haya extendido por la región de la Orinoquia y a otras regiones del país, con el agravante de que esta enfermedad

este siendo desconocida por la autoridades sanitarias y profesionales Médico Veterinarios del sector ecuestre. En la Orinoquia, históricamente los equinos han representado un recurso valioso en el desarrollo de la ganadería extensiva, así mismo en la actualidad, la población equina ha venido creciendo favorecida por el auge de las actividades deportivas y recreativas. Por tanto, el objeto de este estudio fue determinar la presencia de anticuerpos contra los herpes virus 1 y 4 en poblaciones de equinos en seis municipios de la Orinoquia Colombiana.

Materiales y métodos

Población y Municipios de Muestreo

Se realizó un muestreo por conveniencia donde se obtuvieron muestras de sangre de 260 equinos provenientes de los municipios de Arauca (n=48), San Martín (n=52), San José del Guaviare (n=41), Puerto López (n=46), Puerto Gaitán (n=25), y Yopal (n=48) (ver Figura 1). Tres de los municipios incluidos correspondían a las capitales de los departamentos de Arauca, Casanare y Guaviare. Las muestras se obtuvieron entre los meses de Junio-Septiembre de 2012

(n=46), Puerto Gaitán (n=25), y Yopal (n=48) (ver Figura 1). Tres de los municipios incluidos correspondían a las capitales de los departamentos de Arauca, Casanare y Guaviare. Las muestras se obtuvieron entre los meses de Junio-Septiembre de 2012

Obtención de muestras

De cada animal se obtuvieron 5 ml de sangre de la vena yugular en tubos vacutainer® estériles sin anticoagulante. Las muestras fueron centrifugadas a 5.000 RPM por 10 minutos y los sueros obtenidos se fraccionaron por duplicado en crioviales eppendorf® de 1.0 ml y conservados a -20°C hasta su análisis.

Serología

Para la detección de anticuerpos contra EHV1 y EHV4 se usó la técnica de ELISA indirecta, mediante un Kit comercial que discrimina los anticuerpos contra EHV1



Figura 1. Área del Muestreo en Municipios de Orinoquia: 1:Arauca, 2:Yopal, 3:Puerto Gaitán, 4:Puerto López, 5:San Martín, 6: San José del Guaviare

y EHV4 (Svanovir®, Svanova Biotech AB Uppsala, Suecia), siguiendo las especificaciones del fabricante. Las muestras de suero fueron diluidas 1:100 con el buffer de dilución. En las placas de 96 pozos se adicionaron 100 µl de los controles positivos y negativos, así como de las muestras de suero prediluidas a cada pozo. Las placas fueron incubadas por 2 horas a temperatura ambiente bajo agitación. Se lavaron 4 veces con el buffer PBS-Tween mediante lavado automático. Se adicionó seguidamente 100 µl del conjugado con peroxidasa e incubadas por 1 hora a temperatura ambiente bajo agitación. Nuevamente fueron lavadas 4 veces con el buffer PBS-Tween. Se adicionó 100 µl de la solución de sustrato e incubadas por 10 minutos a temperatura ambiente. Se añadió finalmente la solución de frenado y se realizó la lectura de las placas en un lector Dynex® a 450 nm, después de 15 minutos de haber adicionado la solución de frenado.

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva como distribución de frecuencias y una prueba de Chi cuadrado (χ^2) para determinar el grado de asociación o independencia entre el estado serológico con las variables sexo, edad y grupo etario.

Resultados

Luego del análisis serológico la prevalencia de anticuerpos en la población evaluada para la Orinoquia fue de 12.7% para EHV-1 y 70.4% para EHV-4. Todos los equinos seropositivos a EHV-1 también lo fueron para EHV-4.

Los resultados por localidad estuvieron asociado con la seropositividad, la cual fue variable con valores de prevalencia para el EHV-1 desde 4% en el municipio de Puerto Gaitán, hasta 36.4% para el municipio de San Martín ($\chi^2 = 29,202$; gl = 5; $P = 0,0001$). Se encontraron diferencias significativas en la seropositividad por municipio para ambos virus ($P \leq 0,05$).

Igual situación se presentó para el HVE-4 ($\chi^2 = 19,433$; gl = 5; $P = 0,002$). Con una menor variación corres-

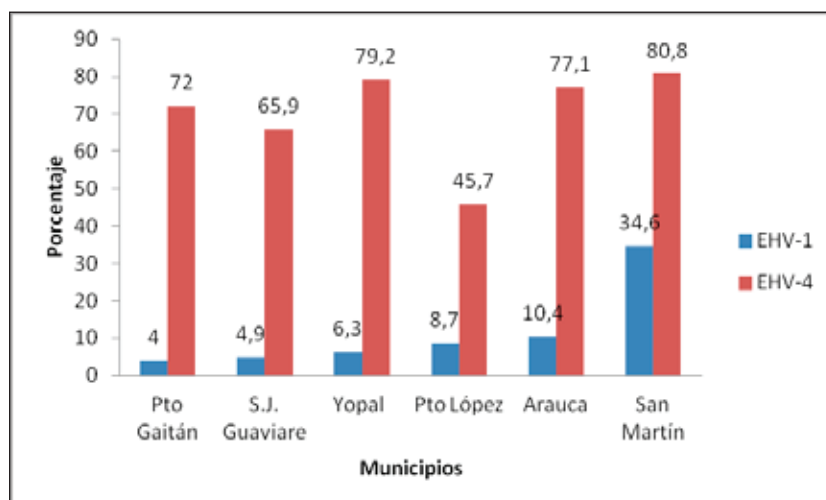


Figura 2. Seroprevalencia a EHV-1 y EHV-4 en Municipios de la Orinoquia Colombiana (n:260).

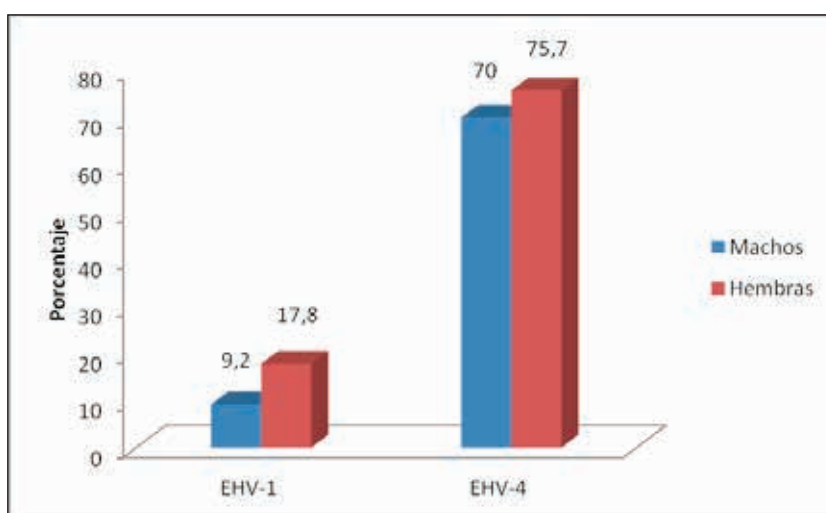


Figura 3. Seroprevalencia por sexo en equinos de la Orinoquia Colombiana (n:260)

poniendo el porcentaje más bajo para el municipio de Puerto Gaitán (45.7%) y con porcentajes muy similares para los otros municipios (65,9%-80,8%) (ver Figura 2).

La seropositividad de acuerdo con el sexo en ambos casos tanto para el EHV-1 y EHV-4 fue mayor en las hembras, sin embargo no se encontró diferencia estadística ($P > 0,5$) (ver Figura 3).

La seropositividad por grupo etario para el EHV-1 presentó una tendencia descendente desde el grupo de los potros (24%) hasta los adultos (15.7%) encontrando el menor valor en los jóvenes (6.1%). Para el EHV-4 la variación fue menor con una tendencia negativa y lineal desde jóvenes (78.6%) hasta los adultos (63.6%) (ver figura 4).

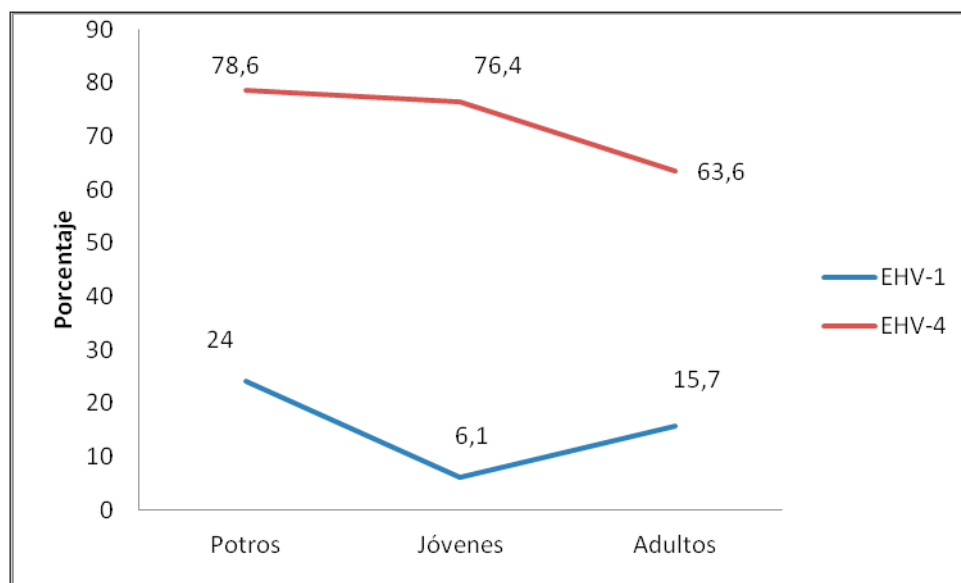


Figura 4. Seroprevalencia a EHV-1 y EHV-4 de acuerdo al grupo etario en equinos de la Orinoquia Colombiana (n:260).

Discusión

En este estudio, se detectó la presencia de anticuerpos contra los virus HVE-1 y 4, hecho que sugiere indirectamente la circulación activa de estos dos virus en la región. De igual forma cabe resaltar que los animales estudiados no tenían antecedentes de vacunación ya que en el país no se ha licenciado ningún tipo de vacuna por parte de las autoridades sanitarias para el control de esta enfermedad.

La seropositividad reportada en nuestro estudio para ambos virus fue mucho menor que la reportada previamente por Ruiz *et al.* (2008) mediante la misma prueba serológica en un estudio en equinos del departamento del meta (EHV-1 33.7% y EHV-4 96.6%). Este resultado contrasta con otro estudio en equinos en varios municipios del mismo departamento en donde no se encontraron reactores al EHV-1, aunque la prevalencia para el EHV-4 fue de 94.1%. Además de forma interesante ese estudio reporta una copositividad entre HVE-4 y el virus de la Anemia Infecciosa equina (EIAV) de 13.2% que sugiere que el efecto inmunosupresor del EIAV podría facilitar la reactivación del estado latente del EHV-4 favoreciendo la diseminación del virus (Ruiz *et al.*, 2008).

Los resultados que se presentan confirman igualmente una mayor seroprevalencia para el EHV-4, lo que coincide con los resultados reportados en otros países. Así en Turquía la prevalencia detectada fue de 3.7% y 56.9% para el EHV-1 y EHV-4 respectivamente. En USA, Gilkernson *et al* (1994) encontraron una seropo-

sitividad de 26.2% a EHV-1 y 99% a EHV-4. En forma similar Crabb y Studdet (1993) reportaron una positividad de 9% a EHV-1 y de 100% a EHV-4. Similares resultados se observaron en Polonia (EHV-1:13.5% EHV-4:91.8%) (Grádzki y Boguta, 2009). No se conocen con exactitud las causas por las cuales la prevalencia del HVE-4 es mayor que la del EHV-1, aunque podría estar asociado con las características propias del virus y las diferentes condiciones epidemiológicas en donde se realizan los estudios. Otro motivo de estas diferencias parece estar relacionado con el inicio de la infección más temprana durante la vida del animal para el caso del EHV-4 (Patel y Heldens, 2005).

Los resultados aquí encontrados sugieren además que ambos virus se han venido extendiendo por la región, posiblemente favorecido por la fácil movilización de animales infectados o incluso a través del uso de semen infectado, ya que es una vía importante de transmisión, a este respecto, el uso de esta biotecnología se ha venido incrementando y cada día es mayor la demanda por semen proveniente de otros departamentos. Otra fuente de infección puede estar relacionada con el posible ingreso de animales infectados latentemente provenientes de otros países especialmente Venezuela y Brasil con los cuales la región comparte una extensa frontera terrestre. La presencia de animales seropositivos en todos los sitios de muestreo sugiere además, que podrían tener una presentación endémica.

Los hallazgos obtenidos, permiten plantear la diseminación de ambos virus a otras regiones del país (por ejemplo, Antioquia) en donde se demostró la presencia

de ácidos nucleicos virales en células mononucleares y en ganglios trigéminos obtenidos de un matadero local (Ruiz, 2006), lo que requiere de nuevos estudios para hallar su relación con la presencia de casos clínicos.

La menor seropositividad en los animales criollos provenientes de los municipios más distantes de las capitales de departamento (Puerto Gaitán y San José del Guaviare) podría deberse a las condiciones geográficas de aislamiento, donde existe un menor contacto con equinos que viajan a participar en eventos feriales y cabalgatas. Es conocido que en estos eventos, la aglomeración de animales es alta, por lo tanto, las probabilidades de adquirir diversas infecciones es mayor, no solo para los virus objeto de este estudio.

La mayor presencia de hembras seropositivas parece no tener importancia epidemiológica, al parecer, el sexo no se considera un factor de riesgo para adquirir la infección. Estudios en el Perú mostraron que no existe asociación estadística entre los títulos a EHV-1 versus las variables sexo, actividad y procedencia de los animales (Ríos *et al.*, 2002) lo cual sugiere que el sexo del animal no es un factor de predisposición a la enfermedad.

Respecto a la mayor seropositividad encontrada en los potros, los resultados coinciden con otros estudios realizados en EU en donde el 85% de los animales evaluados seroconvirtieron al EHV-1 después del destete (Doll and Bryans, 1962, 1963b). De otro lado, se ha visto que la madres son la principal fuente de infección de estos virus para los potros, que se convierten en importantes reservorios para las poblaciones contiguas (Harless y Pusterla, 2006).

A pesar que los estudios tendientes a explicar las amplias diferencias en la prevalencia entre el EHV-1 y EHV-4 son escasos, en caballos de carreras en el Japón se encontró que las infecciones por EHV-1 ocurrían principalmente durante el invierno, mientras las producidas por el EHV-4 se presentaban durante todo el año (Matsumura *et al.*, 1992). Lo anterior sugiere que aunque en Colombia no se presentan las diferentes estaciones climáticas, se debe conocer en posteriores estudios el comportamiento epidemiológico a través del año y su asociación con factores ambientales, especialmente las condiciones que generan estrés (heladas, transporte, estrés nutricional etc.).

La presencia de reactores a ambos virus en la región, sugiere una vigilancia permanente a esta enfermedad dado al alto grado de latencia viral que desarrollan los animales infectados. En la central equina de Kentucky en USA, se detectó genoma viral de EHV-1 en nódulos linfáticos submandibulares en 54% de los animales evaluados, lo que indica infecciones latentes. A su vez 18%

se encontraron infectados por una cepa neuropatogénica (Allen *et al.*, 2008). La presencia de animales infectados latentemente hace que estos virus se perpetúen en los criaderos equinos. En otros países la prevalencia de animales infectados latentemente varía entre 54% a 88% dependiendo de la población y el método de detección del virus (Allen *et al.*, 2008; Lun *et al.*, 2009).

Recientemente ha aumentado la asociación entre los brotes de abortos con las cepas neuropatógenas. Los reportes actuales han surgido de países como Alemania (Walter *et al.*, 2013), Holanda (Goehring *et al.*, 2006), Francia (Pronost *et al.*, 2010; Pronost *et al.*, 2012), y USA (Smith *et al.*, 2010), situación que debe ser verificada en el país, para esto se debería contar con un buen apoyo diagnóstico y un monitoreo de la actividad viral, lo cual permita prevenir futuros brotes que serían devastadores para la producción equina nacional

Por lo anterior se hace necesario la identificación de casos clínicos y el diagnóstico e identificación molecular de las cepas virales actuantes. En un reciente brote en 61 animales infectados clínicamente se observó abortos en 6 de 7 yeguas preñadas y de igual forma ocho animales desarrollaron encefalomiелitis (Walter *et al.*, 2013). Otro motivo de interés para continuar con posteriores estudios radica en que el EHV-1 se considera un nuevo virus emergente que puede afectar otras especies de animales (Wohlsein *et al.*, 2011).

Se concluye a partir de este estudio, la existencia de anticuerpos a los virus EHV-1 y EHV-4 en la población muestreada, con una mayor prevalencia al EHV-4. Además, estos anticuerpos sugieren una respuesta a una infección activa debido al no uso de vacunas en Colombia. La presencia de reactores serológicos en todos los lugares de muestreo sugiere que ambos virus se han diseminado por toda la región, lo que obliga a una mayor atención por parte de las autoridades sanitarias y un mayor conocimiento por parte de los profesionales Veterinarios sobre los efectos de estos virus en la población equina, especialmente la identificación de casos clínicos, en donde los abortos se acompañen de meningoencefalitis.

Conflicto de intereses

Los autores manifiestan no tener conflicto de intereses.

Agradecimientos

A la Dirección General de Investigaciones y el Consejo Institucional de Investigaciones de la Universidad de los Llanos por la financiación de este proyecto. A las profesionales Leidy Reyes y Rocío Parra por el apoyo en el análisis de las muestras.

Referencias

- Allen GP, Kydd JH, Slater JD, Smith KC. Advances in understanding of the pathogenesis, epidemiology and immunological control of equine herpesvirus abortion. In: Wernery W, Mumford, Kaaden, editors. Equine infectious diseases, vol. VIII. Newmarket, England: R & W Publications; 1999. p. 129–146
- Allen GP, Bolin DC, Bryant U, Carter CN, Giles RC, Harrison LR *et al.* Prevalence of latent, neuropathogenic equine herpesvirus-1 in the Thoroughbred broodmare population of central Kentucky. *Equine vet J.* 2008; 40(2):105–110
- Cano A, Galosi CM, Martin Ocampos GP, Ramirez GC, Vera VJ, Villamil LC, *et al.* Equine herpesvirus 1: characterization of the first strain isolated in Colombia. *Rev Sci Tech Off Int Epiz.* 2008; 27 (3): 893–897
- Crabb BS, Studdert MJ. Epitopes of glycoprotein G of equine herpesviruses 4 and 1 located near the c-termini elicit type-specific antibody responses in the natural host. *J Virol*, 1993; 67: 6332–6338
- Crabb BS, Studdert MJ. Equine herpesviruses 4 (equine rhinopneumonitis virus) and 1 (equine abortion virus). *Adv Virus Res*, 1995; 45:153–190
- Doll ER, Bryans JT. Incubation periods for abortion in equine viral rhinopneumonitis. *JAVMA*, 1962; 1413: 351–354
- Doll ER, Bryans JT. Epizootiology of equine viral rhinopneumonitis. *JAVMA*, 1963b; 142:31–37.
- Fritsche AK, Borchers K. Detection of neuropathogenic strains of Equid Herpesvirus 1 (EHV-1) associated with abortions in Germany. *Vet Microbiol*, 2011; 147:176–180
- Goehring LS, van Winden SC, Van Maanen C, Sloet MM, Van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM. Equine Herpesvirus Type 1 Associated Myeloencephalopathy in The Netherlands: A Four-Year Retrospective Study (1999–2003). *J Vet Intern Med*, 2006; 20:601–607
- Gilkerson JR, Jorm LR, Love DN, Lawrence GL, Whalley JM. Epidemiologic investigation of equid herpesvirus 4 (EHV 4) excretion assessed by nasal swabs taken from Thoroughbred foals. *Vet Microbiol*, 1994; 39: 275–283
- Grádzki Z, Boguta L. Seroprevalence of EHV1 and EHV4 in the horse population of the southeastern part of Poland. *Medycyna Wet*, 2009; 65 (3):188–193
- Gür S, Yapici O. Equine Herpesvirus type 1 and 4 in Individually Reared Horses in Central and Western Turkey. *Acta Vet Brno*, 2008; 77: 609–613
- Hanzah H. Latent equine herpesvirus infections in horses. Tesis PhD. Murdoch University, 2008.
- Harless W, Pusterla N. Equine Herpesvirus 1 and 4 Respiratory Disease in the Horse. *Clin Tech Equine Pract*, 2006; 5:197–202
- Lunn DP, Davis-Poynter N, Flaminio MJ, Horohov DW, Osterrieder K, Pusterla *et al.* Equine herpesvirus-1 consensus statement. *J Vet Intern Med*, 2009; 23:450–461
- Matsumura T, Sugiura T, Imagawa H, Fukunaga Y, Kamada M. Epizootiological aspects of type 1 and type 4 equine herpesvirus infections among horse populations. *J Vet Med Sci*, 1992; 54:207–211
- Ostlund EN, Powell DG, Bryans JT. Equine herpesvirus-1: a review. *Proc Am Assoc Equine Pract*, 1990;36:387–95.
- Ostlund E. The equine herpesviruses. *Vet Clin N Am Equine Pract*, 1993; 9:283–94
- Patel JR, Heldens J. Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) epidemiology, disease and immunoprophylaxis: A brief review. *Vet J*, 2005; 170:14–23
- Pronost S, León A, Legrand L, Fortier C, Miszczak F, Freymuth F, Fortie G. Neuropathogenic and non-neuropathogenic variants of equine herpesvirus 1 in France. *Vet Microbiol*, 2010; 145: 329–333
- Pronost S, Legrand L, Pitel PH, Wegge B, Lissens J, Freymuth F *et al.* Outbreak of Equine Herpesvirus Myeloencephalopathy in France: A Clinical and Molecular Investigation. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2012; 59:256–263
- Ramírez GC, Chaparro JJ, Vera VJ, Villamil LC, Romero JR. Primer aislamiento de herpesvirus equino en Colombia. *Rev Col Cienc Pec.* 2001; 14:73.
- Reed SM, Toribio RE. Equine herpesvirus 1 and 4. *Vet Clin Equine*. 2004; 20:631–642
- Ríos P, Benito A, Rivera H. Rinoneumonitis equina en caballos del valle de lima. *Rev Inv Vet Perú.* 2002; 13(2): 66–71
- Ruiz J, Goez Y, Urcuqui-Inchima S, López-Herrera A. Infección por herpesvirus equino tipos 1 y 4 en células mononucleares de sangre periférica y ganglios trigéminos de equinos. *Acta Biol Colomb*, 2006; 11(2): 187
- Ruiz J, Góez Y, Urcuqui Inchima S, Góngora A, López A. Evidencia serológica de la infección por herpesvirus equino tipos 1 y 4 en dos regiones de Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu*, 2008; 21:251–258
- Ruiz J, Cruz A, Reyes E, López-Herrera A, Góngora A. Asociación serológica de la rinoneumonitis viral equina y la anemia infecciosa equina. *Rev MVZ Córdoba*, 2008; 13(1): 1128–1137
- Smith KC, Whitwell KE, Blunden AS, Bestbier ME, Scase TJ, Geraghty RJ, *et al.* Equine herpesvirus-1 abortion: atypical cases with lesions largely or wholly restricted to the placenta. *Equine Vet J*, 2004; 36 (1):79–82
- Smith KL, Allen GP, Branscum AJ, Cook RF, Vickers ML, Timoney PJ, Balasuriya UBR. The increased prevalence of neuropathogenic strains of EHV-1 in equine abortions. *Vet Microbiol*, 2010, 141:5–11
- Walter J, Seeh C, Fey K, Bleul U, Osterrieder N. Clinical observations and management of a severe equine herpesvirus type 1 outbreak with abortion and encephalomyelitis. *Acta Vet Scand*, 2013; 55:19
- Wohlsein P, Lehmbecke A, Spitzbarth I, Algermissen D, Baumgärtner W, Bo M, *et al.* Fatal epizootic equine herpesvirus 1 infections in new and unnatural hosts. *Vet Microbiol*, 2011; 149: 456–460