

## Single Radial Hemolysis assay (SRH) to evaluate immunity protection and factors that affect the immunity level against Equine Influenza Virus infection in horses in Uruguay

---

**Autores:** Castro ER<sup>1\*</sup>, Gil AD<sup>2</sup>, Arbiza J<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento Virología, División de Laboratorios Veterinarios “M.C.Rubino” (DILAVE-MGAP) Ruta 8 Km. 17.500. Montevideo -Uruguay. Posgrado Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Departamento de Bioestadísticas, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

<sup>3</sup>

Sección Virología, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

\*Autor para correspondencia: \*

[ercastro72@gmail.com](mailto:ercastro72@gmail.com)

[racastro@mgap.gub.uy](mailto:racastro@mgap.gub.uy)

**Recibido:** 26/11/2016

**Aceptado:** 2/6/2017



[ver versión PDF.](#)

[Introducción](#) | [Materiales y métodos](#) | [Resultados](#) | [Discusión](#) | [Conclusiones](#) | [Agradecimientos](#) | [Bibliografía](#)

## Resumen

El virus de la influenza equina del subtipo H3N8 ha sido considerado como el patógeno respiratorio más importante de los caballos, debido a su naturaleza altamente contagiosa y a su rápida propagación entre animales susceptibles. Se ha demostrado que el grado de protección determinado por las vacunas inactivadas, está estrechamente relacionado con el nivel de anticuerpos circulantes contra la hemaglutinina del virus de Influenza equina. El objetivo del presente trabajo es determinar la susceptibilidad de equinos de deporte en Uruguay a la infección por el virus de influenza equina mediante la cuantificación de anticuerpos SRH (hemólisis radial simple), y estudiar su asociación con factores como la edad, raza, sexo, e historia de vacunación. Se procesaron 1.532 sueros equinos de diferentes razas, sexo y estado de vacunación por la prueba de SRH, pero para el análisis estadístico se utilizaron 1.390 que contaban con la información para todas las variables. Se realizó un análisis univariado para observar el comportamiento de las frecuencias observadas de las pruebas SRH por los factores de riesgo, utilizando la prueba Chi<sup>2</sup> de Pearson. Se observó una baja cobertura de vacunación contra la Gripe Equina en los equinos de deporte (23%). Los niveles de protección virológica y clínica obtenidos por el ensayo de SRH fueron bajos (27% y 35% respectivamente). Se comprueba la mayor susceptibilidad a la infección por el virus H3N8, en equinos que no tienen vacunación vigente, en la raza árabe y cuarto de milla, en los equinos menores a 2 años de edad y en los machos castrados.

**Palabras clave:** Inmunidad SRH, Influenza equina, Uruguay.

---

## Summary

The equine influenza virus subtype H3N8 has been considered the most important respiratory pathogen of horses, due to its highly contagious nature and its rapid spread among susceptible animals. It has been shown that the degree of protection determined by inactivated vaccines, is closely related to the level of circulating antibodies against the virus hemagglutinin Equine influenza. The aim of this study is to determine the susceptibility of sport horses in Uruguay to infection by equine influenza virus by measuring antibodies SRH (single radial hemolysis), and study its association with factors such as age, horse breed, sex, and vaccination history. 1532 equine sera of different horse breed, sex and vaccination status by SRH were processed, and giving missing values only 1390 was considered for the statistical analysis. To observe the behavior of the observed frequencies of the SRH univariate analysis was performed Low coverage of vaccination against Equine Influenza in sport horses was observed (23%) and a very low level of virological and clinical immunity (27% and 35% respectively) against infection of H3N8 virus test determined by SRH test. Increased susceptibility to infection by the H3N8 virus was observed in horses without updated vaccination, Arab and Quarter mile breed horses, horses younger than 2 years old, and in castrated males horses.

**Keywords:** Immunity, SRH, Equine Influenza, Uruguay.

## Introducción

La Influenza equina (o Gripe Equina) es una enfermedad respiratoria aguda que afecta a los caballos, burros, mulas y cebras y es causada por los subtipos H7N7 y H3N8 del virus del género Influenza A de la familia Orthomyxoviridae. El subtipo H7N7 no ha sido aislado desde más de 30 años y el subtipo H3N8 es considerado como el patógeno respiratorio más importante de los caballos debido a su naturaleza altamente contagiosa y a su rápida propagación entre animales susceptibles (Timoney, 1996). En équidos muy susceptibles, los síntomas clínicos incluyen fiebre, tos seca seguida de descarga nasal mucopurulenta debida a infección bacteriana secundaria (Cullinane y col.,2013). En animales vacunados con inmunidad parcial, puede estar ausente uno o más de estos síntomas (Daly y col., 2004).

La Gripe Equina se presenta en el continente americano en forma endémica (Bryant y col., 2009). En el Uruguay, el primer diagnóstico de laboratorio se realizó en 1963 (Vallone y col., 1965) a partir de entonces se presenta en forma periódica, y desde el 2006 se notifica anualmente a la Organización Mundial de Salud Animal (OIE, 2012, 2013, 2014-2016).

El control y la prevención de la enfermedad dependen de la aplicación de planes de vacunación eficaces y prácticas de bioseguridad que reduzcan el riesgo de transmisión a la población susceptible y disminuyan la producción de grandes cantidades de aerosoles (Van Maanen, 2002).

Se ha demostrado en estudios epidemiológicos y experimentales, que el grado de protección inducido por la vacunación con vacunas inactivadas, está estrechamente relacionado con el nivel de anticuerpos circulantes contra la hemaglutinina (HA) del virus de Influenza medidos por la técnica de Hemólisis Radial Simple (en inglés significa Single Radial Hemolysis y se abrevia:SRH), siendo el área de hemólisis producida por los anticuerpos contra la HA del virus de Influenza, directamente proporcional al nivel de protección contra la infección viral (Morley y col., 1995, Townsend y col., 1999, Mumford, 2001, Wood y col., 2007). La HA es la mayor proteína de la envoltura viral, tiene la propiedad de aglutinar eritrocitos, y se sintetiza como un

único polipéptido que se desdobra en dos cadenas HA1 Y HA2 unidas por puentes disulfuro, durante la replicación viral. La misma se une a receptores que contienen ácido siálico a la membrana celular de la célula huésped. La HA es el principal blanco de la respuesta inmune protectora y por lo tanto es el componente fundamental a considerar en la formulación de las vacunas (Lewis y col, 2011). Los equinos que presentan valores menores a 50 mm<sup>2</sup> son susceptibles a la infección, mientras que los que tienen entre 50 y 85 mm<sup>2</sup> están parcialmente protegidos manifestando síntomas más leves y en un período más breve. Los que tienen área de hemólisis entre 85 y 140 mm<sup>2</sup> se encuentran clínicamente protegidos (protección clínica), y no manifiestan síntomas durante la infección viral, sin embargo, pueden eliminar virus infeccioso por aerosoles nasales (Mumford y col., 1994, Newton y col., 2000a, Mumford, 2001). Los que tienen valores mayores a > 140-150 mm<sup>2</sup>, están clínicamente y virológicamente protegidos (protección virológica), es decir no excretan virus durante la infección viral (Newton y col., 2000a). Los equinos que presentan niveles de anticuerpos menores a 50 mm<sup>2</sup>, tienen una probabilidad 15 veces mayor de ser casos índices ante la aparición de un brote de Gripe equina, lo cual representa un gran riesgo de infección para los equinos que están en contacto (Mumford, 2001).

Si bien la inmunidad celular es un componente importante en la respuesta inmune a la infección por el virus de Influenza, la misma no jugaría un rol importante cuando se usan vacunas inactivadas (Newton y col., 2000a). A su vez existen diversos factores de riesgo que afectan el nivel de anticuerpos contra la hemaglutinina, tales como la edad, sexo, el número total de vacunas administradas, tiempo transcurrido desde la última vacunación y edad del animal cuando se vacunó por primera vez (Newton y col., 2000b, Barquero y col., 2007).

En nuestro país, la vacunación contra la Influenza equina es obligatoria para todos los equinos con actividad deportiva, debiéndose revacunar cada 3 a 4 meses. La vacuna autorizada en Uruguay debe ser inactivada y contiene los subtipos H7N7 y H3N8 del virus de Influenza equina, aunque también se usan vacunas monovalentes al subtipo H3N8. Debido a que ya hace más de dos décadas que no se registran casos de Influenza equina causados por el subtipo H7N7, la OIE considera que ya no es necesario incluir esta cepa en la vacuna, y recomienda el uso de cepas representativas de los clados 1 y 2 del sublinaje Florida del virus H3N8. Sin embargo, la detección de anticuerpos para este virus es de gran utilidad porque permite diferenciar anticuerpos asociados a infección de los inducidos por la vacunación (Gildea y col., 2010).

En Uruguay, no se conoce el grado de nivel de protección de la población vacunada ni tampoco se sabe en qué medida están asociados a factores tales como la edad, raza, sexo e historia de vacunación.

El objetivo del presente trabajo es determinar la susceptibilidad de equinos de deporte en Uruguay a la infección por el virus de influenza equina mediante la cuantificación de anticuerpos SRH, y estudiar su asociación con factores como la edad, raza, sexo, e historia de vacunación.

( [Volver arriba](#) )

---

## **Materiales y metodos**

### *Sueros*

Se colectaron 1.532 sueros equinos ingresados al Laboratorio Oficial Veterinario (DILAVE “Miguel C. Rubino”) para realizar test de Anemia Infecciosa Equina en el período de enero a marzo del año 2014, reseñando la raza, edad, sexo y registro de vacunación realizada en un lapso no menor de 15 días ni mayor de 120 días. Durante el tiempo transcurrido en la recolección de las muestras no se reportaron diagnósticos de Influenza equina.

La totalidad de los sueros fueron procesados por la técnica de SRH para cuantificar anticuerpos para el virus de Gripe Equina subtipo H3N8

### *Virus*

Se usó la cepa H3N8 clado 1 sublinaje Florida Arg 2012 E2345/2012 1 aislada durante el brote de Gripe ocurrido en Argentina en el año 2012. El virus fue gentilmente cedido por la Dra. María Barranteguy (Laboratorio de Virología INTA-Castelar). El virus se propagó en huevos embrionados de pollo de 9-11 días de edad y los fluidos alantoideos fueron cosechados luego de incubar a 37°C durante tres días. Posteriormente se clarificaron por centrifugación y almacenaron a -70°C.

### *Prueba de Hemólisis Radial Simple (SRH)*

El procedimiento de la prueba se efectuó según lo establece el Manual de la OIE (OIE, 2014 ). El Virus de Influenza se adsorbió a eritrocitos de ovino con cloruro de cromo, y posteriormente se prepararon placas de Petri con gel de agarosa conteniendo los eritrocitos sensibilizados y complemento de cobayo. Se colocan 10 µl de las muestras de suero inactivado a 56°C durante 30 minutos, y se incuban 18-20 horas a 37°C. Los sueros controles positivos y negativos para el subtipo H3 de virus de Influenza equina fueron también cedidos por la Dra. María Barranteguy (Laboratorio Virología INTA-Castelar). Los diámetros se midieron con un calibre digital.

### *Análisis estadístico*

Se evaluaron las principales variables independientes y se eliminaron del análisis aquellos registros que tenían al menos una de las variables a analizar "missing". Los resultados de la prueba SRH se categorizaron de la siguiente manera: "Susceptibles" con valores menores a 50 mm<sup>2</sup>, "Parcialmente Protegidos" con valores entre 50 y 85 mm<sup>2</sup>, "Protegidos Clínicamente" 85 a 140 mm<sup>2</sup> y "Protegidos Clínica y Virologicamente" cuando los valores fueron superiores a 140 mm<sup>2</sup>. También se categorizaron estas variables en dos grupos hasta 50 mm<sup>2</sup> "Alto Riesgo" y mayores de 50 mm<sup>2</sup> "Menor Riesgo".

Se realizó un análisis univariado preliminar para observar el comportamiento de las frecuencias observadas de las pruebas SRH por raza, sexo, edad y estatus de vacunación, utilizando para las evaluaciones de las asociaciones la prueba Chi<sup>2</sup> de Pearson. Las variables que fueron seleccionadas por tener un valor de significación  $p < 0,10$  se utilizaron para construir un modelo de regresión logística. Para este modelo se utilizó como variable respuesta, la variable dicotómica que divide a los individuos como de alto riesgo "0" y menor riesgo "1" y como variables independientes los factores seleccionados en el análisis univariado. Se mantuvieron

en el modelo aquellas variables que estaban asociadas con un valor  $p < 0,05$ .

La totalidad de los test estadísticos se procesaron utilizando el software Stata (Versión 9.2 Stata-Corp, CollegeStation, Texas, USA).

( [Volver arriba](#) )

---

## Resultados

De un total de 1.532 sueros, se observaron que faltaban los datos con respecto a las siguientes variables: estatus de vacunación 67 (4%), razas 43 (3%), sexo 56 (4%) y edad 88 (6%). Es así que el registro está completo para 1.390 equinos y no fueron considerados 142 (9%) por tener datos "missing" al menos en una de las variables.

De los registros considerados, 321 (23%) de las muestras corresponden a equinos vacunados contra Influenza Equina en un plazo menor a los 4 meses y mayor a los 15 días de la toma de muestra de sangre.



La distribución de la muestra por razas nos muestra que las 2 principales son las cruas 570 (41%) y SPC 619 (45%). Con menor representación aparecen: criolla 98 (7%), árabe 67 (5%) y cuarto de milla 36 (3%).

La distribución por sexo es bastante uniforme entre los que tienen esa información: machos 545 (39%), hembras 504 (36%) y machos castrados 341 (25%).

En cuanto a las edades están distribuidos de la siguiente forma: menores o iguales a 2 años 345 (25%), 3 a 4 años 399 (29%), 5 a 9 años 548 (39%) y mayores o iguales a 10 años 96 (7%).

En el cuadro 1 se observa la relación entre la respuesta a la prueba SRH frente al virus H3N8 y la vacunación ( $\chi^2_{H3N8}=29.47$   $p < 0.05$ ).

En el cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos en el análisis univariado del riesgo de infección por virus H3N8 en relación a las variables: vacunación, edad, raza y sexo. Se comprueba, como es de esperar, mayor riesgo de infección frente al H3N8 en los animales no vacunados frente a los vacunados, 27% vs 17% respectivamente ( $p < 0.05$ ).

La raza criolla obtuvo la menor proporción de equinos con mayor riesgo (área de hemólisis < 50 mm<sup>2</sup>) a la infección por virus H3N8 (7%), mientras que la raza árabe presentó los mayores valores (31%) y los pura sangre tuvieron valores intermedios (26%). La raza estuvo asociada significativamente con la categoría de protección de estos virus ( $p < 0,05$ ).

Según se muestra en el cuadro 2, la proporción de equinos susceptibles a infección por H3N8, es mayor en el grupo etario de 0 a 2 años de edad (33%) que en los grupos mayores donde cae sistemática y significativamente con la edad ( $p < 0,05$ ).

En relación al sexo la proporción de equinos susceptibles a gripe equina es significativamente diferente entre ellos ( $p < 0,05$ ), mostrando que los machos castrados son los que tienen mayor riesgo.

Cuadro 1: Relación protección en vacunados y no vacunados frente a H3N8

**H3N8**

**Vacuna**

**No Vacuna**

**Total**

**Susc.**

14%

(n=44)

23%

(n=247)

21%

(n=291)

**PP**

15%

(n=47)

17%

(n=187)

17%

(n=234)

**PC**

34% (n=108)

35%

(n=378)

35%

(n=486)

**PCyV**

38%

(n=122)

24%

(n=257)

27%

(n=379)

**Total**

100% (n=321)

100% (n=1069)

100% (n=1390)

Susc. : Categoría Susceptible; PP: Categoría Parcialmente Protegido; PC: Categoría Protección Clínica; PCyV: Categoría Protección Clínica y Viroológica

Cuadro 2. Riesgo de infección para H3N8 en relación a las variables vacuna, edad, raza y sexo.

Mayor Riesgo  
Menor Riesgo  
total  
Pearson chi2

**Variable**

**Vacuna**

14,1

**No vacunado**

27%

(n=286)

73%

(n=783)

100%

(n=1069)

**Vacunado**

17%

(n=53)

83%

(n=268)

100%

(n=321)

**edad**

43,1

**0-2**

37%

(n=129)

63%

(n=218)

100%

(n=347)

**3-4**

23%

(n=90)

77%

(n=309)

100%

(n=399)

**5-9**

19%

(n=103)

81%

(n=445)

100%

(n=548)

**>= 10**

12%

(n=17)

82%

(n=79)

100%

(n=96)

**Raza**

18,6

**arabe**

31%

(n=21)

69%

((n=46)

100%

(n=67)

**criolla**

7%

(n=7)

93%

(n=91)

100%

(n=98)

**cruza**

25%

(n=142)

75%

(n=428)

100%

(n=570)

**cuarto de milla**

22%

(n=8)

78%

(n=28)



100%

N=36)

**spc**

26%

(n=161)

74%

(n=458)

100%

(n=619)

████████████████████

████████████████████

████████████████████

████████████████

**sexo**

8,0

**hembra**

████████████████████

████████████████████

████████████████████

24%

(n=119)

76%

(n=385)

████████████████████

100%  
(n=504)

**macho**

22%  
(n=118)  
78%  
(n=427)

100%  
(n=545)

**macho castrado**

30%  
(n=102)  
70%  
(n=239)

100%  
(n=341)

n= número de equinos

Cuadro 3. Regresión logística protección (menor riesgo) para H3N8 en relación a las variables independientes de vacuna, edad, raza y sexo

**H3N8**

**Variable**

**OR**

**Std. Err.**

**z**

**P**

**Vacuna**

1,60

0,28

2,72

<0,05

**3 - 4**

2,21

0,38

4,63

<0,05

**5 - 9**

3,58

0,68

6,69

<0,05

**>=10**

4,43

1,41

4,70

<0,05

**Criolla**

8,90

4,35

4,47

<0,05

**Cruza**

1,75

0,51

■ 1,93

■ <0,05

**C. Milla**

1,39

0,69

0,66

NS

**SPC**

1,99

0,62

■ 2,19

■ <0,05

**Macho**

1,16

0,18

0,94

NS

**M. castrado**

0,55

0,10

-3,17

<0,05

**cons**

0,74

0,24

-0,92

NS

NS = No Significativo

Variable respuesta 0=Alto Riesgo 1=Menor Riesgo

El modelo de regresión logística para las variables de respuesta de menor riesgo (más de 50 mm<sup>2</sup> de SRH) de infección frente al virus H3N2 (Cuadro 3) muestran que los OR de las variables están asociados significativamente controlando por el efecto de confusión que podría ejercer alguna de las variables independientes sobre las otras. La vacunación disminuye el riesgo así como el incremento de edades en forma consistente. La raza utilizada como referencia fue la árabe y las otras razas con la excepción del cuarto de milla muestran menor riesgo. Fundamentalmente la cría. Las diferencias en sexo macho vs hembra no son significativas, pero los machos castrados significativamente presentan mayor riesgo.

( [Volver arriba](#) )

---

## Discusión

La Influenza equina es una enfermedad muy contagiosa y se considera que un equino infectado puede infectar a otros 10 equinos que están en contacto con él (Glass y col., 2002). Por lo tanto la identificación de la población susceptible permite establecer planes de vacunación más eficaces que tengan como finalidad reducir el impacto de un brote con la consecuente interrupción de eventos ecuestres (Gildea y col., 2010). Los equinos que presentan niveles de anticuerpos menores a 50 mm<sup>2</sup> representan a la población con mayor riesgo de infección (Mumford, 2001).

La mayor proporción de muestras pertenecen a la raza Pura Sangre de Carrera encabezando el grupo más importante de las razas equinas que participan en actividades de deporte en el Uruguay, lo cual coincide con lo descrito por otros autores (Ferrari, 2012).

Se pudo constatar una baja cobertura de vacunación contra influenza equina, ya que solo el 23% de la población estudiada presentaba registros de vacunación vigentes (lapso no mayor a los 4 meses ni menor a los 15 días). Se considera que la cobertura de vacunación debería alcanzar el 70% para evitar o controlar la aparición de un brote (Baker, 1986), e incluso otros autores sostienen que para asegurar la inmunidad poblacional, la misma tendría que ser mayor al 83%-94% (Satou, 2006).

Según lo establecido por diversos autores, se requieren valores de SRH entre 85-140 mm<sup>2</sup> y mayores a 140 mm<sup>2</sup> para alcanzar los niveles de protección clínica y virológica respectivamente (Gildea y col., 2010, Mumford, 1992, Mumford y col., 1994, Mumford, 2001). Solo el nivel de protección virológica evita la excreción del virus durante la infección viral, impidiendo el contagio y la infección a otros equinos y la expansión de un posible brote. En tal sentido, solo el 27 y el 35% de la población estudiada presenta un nivel de protección virológica y clínica respectivamente, frente a la infección por el virus H3N8. La inmunidad parcial solo lograría evitar la aparición o atenuar los síntomas clínicos, pero no evitaría la excreción viral exponiendo al resto de la población susceptible a la infección viral. Esto representa un riesgo importante para la introducción y/o expansión de la enfermedad, ya que podrían ingresar equinos clínicamente sanos, pero portadores del virus infeccioso con la amenaza potencial de infectar a equinos susceptibles. Por ejemplo, el brote ocurrido en Australia en el 2007, que causó pérdidas de aproximadamente un billón de dólares para la industria equina, se debió a la importación de equinos vacunados con infección subclínica por virus H3N8 tipo Florida clado 1 (Gildea y col., 2010). Dichos equinos fueron importados de Japón donde fueron vacunados con vacunas elaboradas con cepas de virus no actualizadas y por lo tanto las mismas no conferían niveles de protección suficientes para proteger frente a la infección inducida por las cepas de virus de campo actuante en el momento del brote (Paillot, 2014).

En otro estudio realizado en Argentina (Carosino y col., 2014) se comprobó que un 97% y 74% de la población de equinos del hipódromo de Palermo, y un 88.5% y 89% de la de San Isidro presentaban niveles de anticuerpos altos e intermedios en 2012 y 2013 respectivamente, concluyendo que el riesgo de padecer un brote epizootico de Influenza equina tras una re-introducción del virus en estas poblaciones era bajo, a pesar que en el hipódromo de Palermo se observó un incremento en el número de equinos con bajos niveles de anticuerpos en el muestreo de 2013, lo que por consiguiente aumentaría el riesgo de infección en dicha población

Solo el 63% de los equinos menores de 2 años presentan niveles de anticuerpos para el virus H3N8 mayores a 50 mm<sup>2</sup> que se asocian a una población con menor riesgo de infección frente a este virus. El valor promedio del área para esta categoría de edad fue de 77 mm<sup>2</sup> que es un valor intermedio y similar a los hallados en Reino Unido por Newton y col., (2000a), valores promedio de 64 mm<sup>2</sup> y 115 mm<sup>2</sup> para equinos de 1 y 2 años respectivamente. A su vez, en Irlanda (Gildea y col., 2010), los valores promedio hallados, fueron de 94 mm<sup>2</sup>, para equinos de un año de edad. Estos hallazgos estarían indicando que el nivel de protección frente a la infección de virus H3N8 sería un poco más bajo que el encontrado en estos países y quizás tendríamos que diferenciar entre los valores de 1 y 2 años lo cual no es posible comprobar con los datos disponibles.

Al igual que lo descrito por otros autores (Newton y col., 2000b, Gildea y col., 2010) en este estudio se encontró que la proporción de equinos susceptibles a infección por H3N8, es mayor en el grupo etario de 0 a 2 años de edad que en los grupos mayores donde cae sistemática y significativamente con la edad ( $p < 0,05$ ). Esta asociación entre la edad y la susceptibilidad es confirmada por el modelo de regresión logística, el cual al ajustar por raza, sexo y estatus de vacunación demuestra que no se trata la misma de un efecto de confusión por las otras variables.

Esto determina que los equinos más jóvenes, sean más susceptibles a la infección viral, en especial los que están alojados en ambientes poco ventilados, con gran concentración de animales, como por ejemplo lo son los lugares de venta, o de entrenamiento (Newton y col., 2000b).

La falla de la inmunidad estaría vinculada a la baja cobertura de vacunación, baja potencia de las vacunas, pobre respuesta inmune y diferencias antigénicas entre el virus vaccinal y de campo (Newton y col., 2000a y 2000b, Gildea, y col., 2011).



Según los resultados del análisis de regresión logística, todas las variables estudiadas están asociadas significativamente. El análisis estadístico de regresión logística permite ponderar la variable en estudio (nivel de anticuerpos SRH) con los diferentes factores de asociación (vacunación, edad, raza, sexo) estableciendo asociaciones entre ellos significativas. La raza criolla obtuvo mayor nivel de protección virológica que las otras razas, y los factores como la vacunación vigente y el aumento de la edad disminuyen el riesgo de infección por el virus H3N8. Una causa probable de que la raza criolla haya presentado niveles de protección virológica mayores que las otras razas puede ser que la misma haya sido sometida a planes más rigurosos de vacunación contra Influenza Equina. Sin embargo es muy difícil tener información confiable acerca de los antecedentes de vacunaciones y revacunaciones correspondientes. Considerando que el efecto de la raza en el modelo está controlado por la edad, sexo y estatus de vacunación es posible que la misma se pueda explicar por factores genéticos, pero para demostrarlo sería necesario confirmarlo con otros estudios.

En relación al sexo, no se halló una diferencia significativa entre los grupos macho y hembra, pero los machos castrados presentan mayor riesgo a la infección una vez controlado los efectos de la raza, edad y estatus de vacunación. No se pudo comparar nuestros resultados con los hallados por otros autores debido a que se clasificaron los sexos en forma diferente. En este estudio se definieron tres grupos, machos, machos castrados y hembras. Al no estar incluida la categoría macho castrado en lo reportado por otros autores, es difícil hacer comparaciones con los hallazgos obtenidos. Si se consideraran a los machos castrados como machos, entonces en el análisis estadístico no se encontrarían diferencias significativas entre las categorías hembra y macho. Otros autores han encontrado que el sexo macho está asociado a un mayor riesgo frente a la infección del virus H3N8. Por ejemplo, Barquero y col. (2007) sostienen que existe dimorfismo sexual, siendo los machos más susceptibles a la infección debido a mecanismos inhibitorios de la testosterona en la respuesta inmune. Por otro lado Ryan y col. (2015) , encontraron diferencias significativas en los niveles de anticuerpos SRH entre machos y hembras un mes post revacunación. Las hembras presentaban una respuesta superior, posiblemente debida a una mayor producción de linfocitos CD4+ inducida por la revacunación contra la Influenza equina. Sin embargo, estos autores también incluyen a los machos castrados, en la categoría de los machos. Por lo tanto sería necesario realizar otros estudios que confirmen estos hallazgos utilizando categorías de sexo bien definidas.

( [Volver arriba](#) )

## Conclusiones

· Se observó una baja cobertura de vacunación contra la Gripe Equina en los equinos de deporte. Además se comprobó un nivel muy bajo de protección clínica y virológica frente a la infección de virus H3N8 determinado por la prueba SRH. El nivel de protección contra el virus de Influenza equina H3N8 está asociado a factores como la raza, edad, sexo y la vacunación. El análisis estadístico de regresión logística permite inferir una mayor susceptibilidad a la infección por el virus H3N8, en equinos que no tienen vacunación vigente, en la raza árabe y cuarto de milla, en los equinos menores a 2 años de edad y en los machos castrados. Sería importante confirmar estas asociaciones con otros estudios y poblaciones que puedan confirmarlas o desecharlas.

Por otro lado se debería fortalecer la vigilancia epidemiológica y los programas de vacunación especialmente en las poblaciones con mayor riesgo de infección, a los efectos de prevenir y reducir el impacto económico-social de nuevos brotes epidémicos de Influenza equina.

A tales efectos, la prueba de SRH podría ser una herramienta útil para monitorear el nivel de inmunidad de la población equina, y para establecer programas de vacunación, en base a evidencias científicas, más eficaces.

( [Volver arriba](#) )

---

## Agradecimientos

Los autores desean agradecer a la Dra. Maria Barrandeguy y a la Lic. Aldana Vissani por el envío de los reactivos de referencia y por su apoyo en el desarrollo del trabajo. También agradecen a la Dra. Helena Guarino y al Dr. Néstor D´Anatros por facilitar la recolección de muestras del Banco de Sueros. También expresan su agradecimiento a los veterinarios en el ejercicio liberal especialistas en equinos y a las secretarias de DILAVE, Adriana Barrios y Elisa Ferreira, por su colaboración en la búsqueda de datos de identificación de las muestras. También desean agradecer a la Dra. Alicia von Gehlenpor su apoyo en el análisis estadístico y a la Lic. Ruth Santestevan por su colaboración en la revisión de las referencias bibliográficas.

El trabajo fue financiado por el Programa de Posgrados de la Facultad de Veterinaria de UdelaR y por el Proyecto JICA- DILAVE-MGAP

---

## **Bibliografía**

1. Baker, D. (1986) Rationale for the use of influenza vaccines in horses and the importance of antigenic drift. *Equine Vet. J* 8: 93-96.
2. Barquero N, Daly JM, Newton JR. (2007) Risk factors for Influenza in vaccinated racehorses: lessons for an outbreak in Newmarket, UK in 2003. *Vaccine* 25:7520-7529.
3. Bryant NA, Rash AS, Russell CA, Ross J, Cooke A, Bowman S, MacRae S, Lewis NS, Paillot R, Zanoni R, Meier H, Griffiths LA, Daly JM, Tiwari A, Chambers TM, Newton JR, Elton DM.(2009) Antigenic and genetic variations in European and North American equine influenza virus strains (H3N8) isolated from 2006 to 2007. *Vet.Microbiol.* 138:41-52.
4. Carossino M, Olguín PC, Miguens SA, Vissani A, Becerra L, Duffy SJ, Campodónico R, Arcuri C, Costa A, Zambruno T, Elgue F, Gómez MS, Zabal O, Barrandeguy ME (2014) Estimación de los niveles de protección contra Influenza equina en caballos en entrenamiento y competencia . *La especie equina* 45:36-43.

5. Cullinane A, Newton JR. (2013) Equine influenza—A global perspective, *Vet.Microbiol.*167: 205-214.
6. Daly JM, Newton JR, Mumford JA. (2004) Current perspectives on control of equine influenza. Review article. *Vet. Res.* 35:411–423.
7. Ferrari A (2012) Caracterización y potencialidades del sector ecuestre en Uruguay. Informe final. Montevideo, Uruguay XXI. 150 p.
8. Gildea S, Arkins S, Cullinane A. (2011) Management and environmental factors involved in Equine Influenza outbreaks in Ireland from 2007 to 2010. *EquineVet.J.* 43:608617.
9. Gildea S, Arkins S, Cullinane A. (2010) A comparative antibody study of the potential susceptibility of thoroughbred and non-thoroughbred horse populations in Ireland to equine influenza virus. *Influenza Other Respir. Viruses* 4:363-372.
10. Glass K, Wood JL, Mumford JA, Jesset D, Grendell BT. (2002) Modelling equine influenza 1: a stochastic model of within-yard epidemics. *Epidemiol. Infection.*128:491-502.
11. Lewis NS, Daly JM, Russell CA, Horton DL, Skepner E, Bryant NA, Burke DF, Rash AS, Wood JLN, Chambers TM, Fouchier RAM, Mumford JA, Elton DM, Smith DJ (2011) Antigenic and genetic evolution of equine influenza a (H3N8) virus from 1968 to 2007. *J.Virol.* 85(23):12742– 9.
12. Morley PS, Hanson LK, Bogdan JR, Townsend HGG, Appleton JA, Haines DM. (1995) The relationship between single radial hemolysis, antibodies specific for equine influenza viruses. *Vet.Microbiol.* 45:81-92.

13. Mumford JA. (2001) Biology, epidemiology and vaccinology of equine influenza. Proceedings. International Symposium, 10-11 December. Budapest, Hungary. pp.7-12.
  
14. Mumford JA, Jessett DM, Dunleavy U, Wood J, Hannant D, Sundquist B, Cook RF. (1994) Antigenicity and immunogenicity of experimental equine influenza ISCOM vaccines. *Vaccine* 12:857-863.
  
15. Mumford JA, Wood J. (1992) .Establishing an acceptability threshold for equine influenza vaccines. *Dev. Biol. Stand.* 79:137-146.
  
16. Newton JR, Townsend HG, Wood JL, Sinclair R, Hannant D, Mumford JA. (2000a) Immunity to equine influenza: relationship of vaccine-induced antibody in young Thoroughbred racehorses to protection against field infection with influenza A/equine-2 viruses (H3N8). *Equine Vet. J.* 32:65-74.
  
17. Newton JR, Lakhani KH, Wood JL, Baker DJ. (2000b) Risk factors for equine influenza serum antibody titres in young thoroughbred racehorses given an inactivated vaccine. *Prev. Vet. Med.* 46:129-141.
  
18. OIE (2014) Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres.OIE-Organización Mundial de Sanidad Animal. Disponible en: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/> / Fecha de consulta: 22/10/15.
  
19. OIE (2014-2016) World Organisation for Animal Health. World Animal Health Information System. WAHIS Interface. Disponible en: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail/](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail/) / Fecha de consulta: 20/8/16.
  
20. OIE (2013) World Organisation for Animal Health. World Animal Health Information System WAHIS Interface. Disponible en: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail/](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail/) Fecha de consulta: 20/08/16

21. OIE (2012) World Organisation for Animal Health. World Animal Health Information System WAHIS Interface. Immediat enotification report. Disponible en: [https://web.oie.int/wahis/reports/en\\_imm\\_0000011825\\_20120402\\_113639.pdf](https://web.oie.int/wahis/reports/en_imm_0000011825_20120402_113639.pdf) En línea: Fecha de consulta: 20/8/16.

22. Paillot R. (2014) A systematic review of recent advances in Equine Influenza Vaccination. *Vaccines(Basel)* 2:797-831.

23. Ryan M, Gildea S, Walsh C, Cullinane A. (2015)The impact of different Equine Influenza vaccine products and other factors on Equine Influenza antibody levels in thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J.* 47:662-666.

24. Satou K, Nishiura H. (2006) Basic reproduction number for equine-2 influenza virus a (H3N8) epidemic in racehorse facilities in Japan, 1971. *J EquineVet. Sci.* 26:310-316.

25. Timoney PJ. (1996) Equine influenza. *Comp.Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 19:205-211.

26. Townsend HGG, Morley PS, Newton JR, Wood JLN, Haines DM, Mumford JA. (1999) Measuring serum antibody as a method of predicting infection and disease in horses during outbreaks of influenza. *Equine Infectious Diseases VIII Proceedings. International Conference on Equine Infectious Diseases 8º.* Newmarket, UnitedKingdom. pp. 33-37.

27. Vallone EF, Canto RM, Bauzá CA, Somma RE, Tosi HC. (1965) Localización del virus de influenza Aequi/Uruguay/540/1963 en membrana corioalantoidea por el método de inmunofluorescencia. *An.Fac.Med.Univ.Repub. Montev.Urug.* 50:107-113.

28. Van Maanen C, Cullinane A. (2002)Equine influenza virus infections: an update. *Vet. Q.* 24:9-94.

29. Wood JLN, Mumford JA, Mair TS, Slater J. (2007) Boosting in equine influenza vaccination schedules: timing and time for a re-evaluation of requirements of national and international authorities. Vet. J. 174:449-450.