

Artículo original

Brote atípico de ectima contagioso en ovinos Merino de la Patagonia Argentina

Carlos Robles^{1*}; Andrea Peralta^{2,3}; Lucía Álvarez^{1,3}; Agustín Martínez¹¹ Grupo de Salud Animal, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria- INTA, CC: 277 (8400) Bariloche, Argentina² Instituto de Biotecnología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-INTA, de los Reseros y Nicolás Repetto (1686) Hurlingham, Buenos Aires, Argentina³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Godoy Cruz 2290 (1425). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

*email: robles.carlos@inta.gob.ar

(Recibido 15 de diciembre 2016; aceptado 26 de marzo 2017)

Parte de la información de este trabajo fue previamente presentada en formato de poster en la Reunión Científico Técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (AAVLD), 27 al 29 de noviembre de 2014, Tucumán.

RESUMEN

El ectima contagioso es causado por el virus ORF afectando mucosas y piel de ovinos y caprinos. En este trabajo se describe un brote de ectima contagioso que comienza en el mes de junio en un establecimiento donde no se habían detectado brotes de ectima en los últimos 5 años, en animales de entre 8 y 9 meses de edad. Se revisaron clínicamente 183 corderos Merino que conformaban el lote problema. Se tomaron muestras de costras de 9 animales afectados para la identificación molecular del virus. A la revisión clínica se detectaron costras en morro (97.8%), conjuntivitis (51.4%), costras en rodete coronario (14.8%), moco en narices (13.1%), congestión de conjuntiva ocular (6.0%), lagrimeo (2.7%) y llagas en encías (2.2%). Mediante la técnica de amplificación por PCR se confirmó la presencia del genoma del virus ORF en todas las muestras analizadas. Llamativamente, el brote presentó características atípicas, como haberse iniciado en el mes de junio (invierno) y haber afectado a animales de entre 8 y 9 meses de edad. Se hipotetiza que el origen del brote pudo haberse debido a la introducción de 32 ovejas nuevas con lesiones residuales de ectima. El presente caso alerta sobre la necesidad de revisar cuidadosamente cada vez que se introducen animales a establecimientos libres de la enfermedad, como así también la necesidad de disponer de una vacuna efectiva para mantener protegidas a las majadas.

Palabras clave: ovinos, ectima contagioso, virus ORF, PCR, Patagonia

INTRODUCCIÓN

El ectima contagioso es una enfermedad infecciosa de la piel y mucosas de los ovinos y caprinos, altamente contagiosa y debilitante, causada por un virus Pox epiteliotrópico, conocido como virus ORF¹.

El cuadro clínico se inicia con un eritema local en la piel, que

SUMMARY

Atypical outbreak of contagious ecthyma in Merino sheep in Patagonia region, Argentina

Contagious ecthyma, caused by the ORF virus, affects sheep and goats. Clinically it is characterised by the presence of crusty lesions on the lips and nose. Here we report an outbreak of contagious ecthyma, in a sheep farm free of the disease for at least five years. One hundred eighty three Merino lambs were clinically examined. Crust samples were taken from the lips of 9 clinically affected animals for molecular analysis. Crust in lips and nose (97.8%) conjunctivitis (51.4%), crusts in coronets (14.8%), nasal secretion (13.1%), congestion of ocular conjunctiva (6%), lacrimation (2.7%) and sores in gums (2.2%) were detected after clinical examination. PCR confirmed the presence of DNA of ORF virus in the 9 samples analysed. The age of the affected lambs, (between 8 and 9 month old) and the month of the onset of the outbreak (June) were considered atypical. We hypothesize that the origin of the outbreak could have been the admission to the flock of 32 new ewes with residual lesions of ecthyma. The present case alerts about the need of performing a carefully clinical examination when animals are introduced to a farm free of the disease, and also the need of having an effective vaccine to keep animals protected.

Key words: sheep, contagious ecthyma, ORF virus, PCR, Patagonia

evoluciona dando lugar a la formación de pápulas, luego a vesículas, éstas a pústulas para terminar en la formación de costras que cubren boca y narices. Eventualmente se pueden observar lesiones en otras áreas del cuerpo como vulva, escroto, prepucio, ubre, pezones y rodetes coronarios².

La enfermedad tiene un comportamiento epidémico,

produciendo brotes anuales siendo más frecuente en animales jóvenes, aunque bajo ciertas circunstancias los animales adultos también pueden verse afectados^{2,3}.

Su distribución es mundial, afectando tanto a ovinos como a caprinos³⁻⁷, aunque puede afectar a otras especies animales tanto domésticas como silvestres⁸⁻¹⁰ y además constituye una zoonosis¹¹.

En la Argentina la presencia de la enfermedad ha sido reportada por Suarez y Buseti (2009) en una encuesta sanitaria realizada sobre 19 establecimientos ovejeros de leche en diferentes provincias. Asimismo, Bedotti y Rossanigo (2011) reportan la presencia de la enfermedad en caprinos de La Pampa y San Luis^{12,13}.

En la Patagonia, se la conoce bajo el nombre de “boquera” o “chamahuin”, está ampliamente difundida en ovinos y caprinos y produce brotes epidémicos de manera estacional en primavera/verano generando un deterioro de la condición corporal de los animales afectados^{14,15}.

En este trabajo se presenta la información resultante del estudio de un brote de ectima contagioso con algunas características atípicas, ocurrido en ovinos de la raza Merino en un establecimiento ganadero en la Patagonia Argentina.

PRESENTACIÓN DEL CASO

El brote se inició al comienzo del invierno en el mes de junio de 2013, afectando un lote de ovinos Merino jóvenes, en un establecimiento donde no se había presentado la enfermedad en al menos los últimos 5 años.

El establecimiento, dedicado a la cría mixta de ovinos y caprinos, está ubicado en el departamento de Pilcaniyeu (-41.0317°, -70.5892°), provincia de Río Negro, Argentina, dentro del área ecológica de Sierras y Mesetas Occidentales. La vegetación en los sectores húmedos o de mallín está conformada principalmente por *Festuca pallescens* y *Juncus sp.*, mientras que en las áreas de pampa predomina una vegetación de arbustos (*Mulinum spinosum*) y gramíneas perennes (*Stipa speciosa var. speciosa*).

El lote estaba compuesto por un total de 183 ovinos (152 borregas y 31 borregos), todos ellos diente de leche, de la raza Merino de entre 8 y 9 meses de edad. Ninguno había sido vacunado contra ectima contagioso previamente y tampoco sus madres.

Se revisó clínicamente el total de los animales del lote, en busca de lesiones en orejas, ojos, nariz, boca, labios y encías, en los miembros a nivel del rodete coronario, en la zona perineal y en los órganos genitales: vulva, ubre y

pezones en hembras y prepucio y escroto en machos. Las observaciones de cada animal, realizadas por dos de los autores, fueron registradas en una planilla de campo.

De 9 animales con síntomas y lesiones inequívocos de la enfermedad se tomaron muestras de costras de las lesiones presentes en morro, por desprendimiento de las mismas de la piel, mediante el uso de pinza y bisturí. Las muestras obtenidas, fueron conservadas refrigeradas en una solución de buffer fosfato (PBS) adicionada de 10.000U/ml de penicilina, 10mg/ml de estreptomycin y 25ug/ml de anfotericina B hasta su arribo al laboratorio, donde fueron congeladas a -80°C hasta su procesamiento. En el laboratorio se procedió a la purificación del ADN y a la realización de una reacción de PCR con la finalidad de confirmar el diagnóstico clínico de campo. Brevemente, la mezcla para la reacción de PCR contenía 10ul de 5x de buffer GoTaq green, 1 ul de mM dNTPs mix, 0.2 ul de Polimerasa GoTaq DNA (Promega), 100 ng del ADN extraído de las muestras y 25 pmol de los cebadores específicos para amplificar una región interna del gen ORF045 del virus. El producto de la PCR fue evaluado mediante electroforesis utilizando un gel de agarosa 1.2%, teñido con bromuro de etidio y visualizada bajo luz ultravioleta¹⁶.

Con la información obtenida de la revisión clínica se realizó un análisis de los datos utilizándose el programa MedCalc¹⁷ a fin de calcular el porcentaje de aparición de las diferentes lesiones y las *Odds Ratios* para determinar si el sexo del animal constituye un factor de riesgo para la presentación de los diferentes tipos de lesiones en los animales afectados.

RESULTADOS

Clínicamente la lesión más llamativa fue la presencia de costras gruesas cubriendo los labios y los bordes de las fosas nasales, de color blanco-grisáceo, aunque en algunos casos eran de color marrón oscuro, seguramente por el sangrado de los tejidos por desprendimiento de costras (Figura 1). Las costras al intentar despegarlas, dejaban al descubierto una mucosa inflamada y muy sangrante (Figura 2). En algunos casos se detectaron lesiones costrosas en el rodete coronario de los miembros, tanto delanteros como traseros. En un alto porcentaje (51.4%) se detectó conjuntivitis caracterizada por lagrimeo intenso y congestión de la conjuntiva (Figura 3), y la presencia de moco en ollares. Finalmente en algunos animales se detectaron llagas y lesiones sangrantes en encías (Figura 4).



Figura 1: Morro de un animal afectado de ectima contagioso con abundante cantidad de formaciones costrosas típicas de la enfermedad.



Figura 2: Morro de un animal afectado con desprendimiento de costras y lesiones sangrantes en la mucosa y piel.



Figura 3: Congestión de la conjuntiva ocular y palpebral con abundante lagrimeo.



Figura 4: Llagas en las encías y lesiones sangrantes en los labios de un animal afectado.

Tabla 1: Cantidad de animales y porcentajes de presentación de las diferentes lesiones y signos clínicos registrados durante la revisión clínica de los 183 ovinos durante el brote de ectima contagioso.

Lesiones/Área con lesiones	Animales afectados	
	(n)	(%)
Costras en morro	179	97.8
Conjuntivitis	95	51.4
Lesiones en rodete coronario	27	14.8
Moco en narices	24	13.1
Congestión conjuntiva ocular	11	6.0
Lagrimeo	5	2.7
Llagas en encías	4	2.2

El detalle de las lesiones y signos registrados a la revisión clínica se pueden observar en la tabla 1.

No se detectaron lesiones en periné, vulva, prepucio, escroto, ubres y pezones, si bien se buscaron en todos los animales examinados.

Al momento del relevamiento del brote, 179 de los 183 corderos que componían el lote estaban afectados, lo que arrojó una morbilidad del 97.8%. Sin embargo el total logró recuperarse por lo que la mortalidad y la letalidad fueron de 0%.

En el caso de las lesiones o signos de mayor presentación como fueron las costras en el morro y la presencia de conjuntivitis y dependiendo del grado de afectación, los animales fueron clasificados de manera subjetiva en 4 categorías asignándose el 0 a los que no presentaban lesiones, el 1 a los levemente afectados (una lesión o lagrimeo leve), 2 a los que presentaban más de una lesión costrosa y conjuntivitis incipiente, y el grado 3 a los animales severamente afectados con abundantes lesiones costrosas y conjuntivitis severa. Los resultados de este análisis pueden observarse en la Tabla 2.

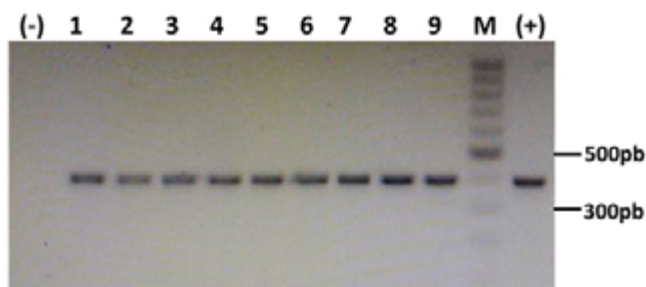


Figura 5: Amplificación por PCR del gen ORF045 del virus ORF

Electroforesis de los productos de la PCR realizada a partir de muestras de costras de los nueve animales afectados. El tamaño esperado para este amplicón es de 392pb. Referencias: calle (-) control negativo, calles 1 a 9: amplificación de las muestras de los nueve animales afectados; calle M: marcador de peso molecular 100pb (INBIO), calle (+): control positivo.

Tabla 2: Grado de severidad de las lesiones costrosas en morro y de la conjuntivitis, observados a la revisión clínica de los 183 ovinos durante el brote de ectima contagioso.

Severidad de la lesión	Costras en morro		Conjuntivitis	
	n	%	n	%
0	4	2.2	89	48.6
1	68	37.2	10	5.5
2	60	32.8	83	45.4
3	51	27.9	1	0.5
Total	183	100	183	100

Tabla 3: Cálculo de *Odds Ratios* (OR), intervalo de confianza (95% IC) y nivel de significancia de algunos signos clínicos y lesiones observadas, respecto al sexo de los animales del lote en estudio.

Signo/Lesión	OR	95% IC	Nivel de significancia
Conjuntivitis	1.8548	0,8418 a 4,0867	P = 0,1253
Costras en morro	1.6556	0,1665 a 16,4625	P = 0,6671
Costras en rodete coronario	0.3492	0,1402 a 0,8697	P = 0,0238*
Moco en nariz	1.0227	0,3236 a 3,2319	P = 0,9695
Llagas en encías	1.9091	0,1002 a 36,3652	P = 0,6671
Lagrimo	2.3492	0,1266 a 43,5807	P = 0,5665

* Valor de P que indica diferencias entre sexos.

En la Tabla 3 se presentan los resultados del cálculo de las *Odds Ratios*, para determinar si el sexo de los animales constituyó un factor de riesgo respecto a la presentación de los diferentes signos clínicos y lesiones de la enfermedad en el brote. El análisis arrojó resultados bajos de OR y niveles de significancia por encima de 0.05, determinando que el sexo no tendría efecto sobre los porcentajes de presentación de las lesiones y signos clínicos observados, con excepción de las lesiones en rodetes coronarios donde los resultados estarían indicando que sí habría una influencia del sexo en el porcentaje de presentación de dicha lesión.

La presencia de ADN del virus ORF fue confirmada mediante PCR sobre el gen ORF045 en las muestras de costras tomadas de los 9 ovinos seleccionados (Figura 5).

DISCUSIÓN

Dos situaciones llamaron la atención de este brote de ectima contagioso: por un lado, que comenzara en junio, ya que lo usual es observar este tipo de eventos en la primavera tardía en las semanas posteriores al parto o durante el verano, posteriormente al destete, y segundo, la edad de los animales enfermos, que en su mayoría contaban entre 8 y 9 meses de edad, ya que lo usual es que se afecten animales

de entre los 2 y 5 meses de edad² (Robles, observación personal).

La posible causa del brote surgió al realizar la anamnesis del caso. Allí se consignó que en el mes de marzo se había realizado la compra de un lote de 32 ovejas con crías, provenientes de la zona de Valcheta, localidad ubicada en el este de la provincia de Río Negro a 380 km del establecimiento problema. Los 31 corderos/as nacidos de ese lote, fueron juntados con los corderos/as locales en un mismo potrero, conformando el lote de 183 borregos/as analizado en este estudio. Se pudo saber que las ovejas madres ingresadas tenían lesiones residuales de ectima, por lo que se estima que fueron esas ovejas las que ingresaron la enfermedad al establecimiento y desencadenaron el brote a través de alguna de las dos vías de contagio que se describen para la enfermedad, como son el contacto directo con animales afectados o a través del contacto con materiales infectados con el virus². Este ingreso de animales portadores también justificaría la edad avanzada en que fueron afectados los animales propios del establecimiento.

La alta morbilidad observada, con nula mortalidad, coincide con lo descrito en otros países^{6,10,18,19} si bien hay reportes de casos severos con mortalidad elevada en casos con infecciones concurrentes o secundarias^{2,20}.

El alto porcentaje de animales afectados con la lesión

clásica de costras en el morro (97.8%) y en menor medida en otras localizaciones puede explicarse por la alta sensibilidad de los animales del lote (borregas y borregos) porque no tuvieron exposición previa a la enfermedad ni fueron vacunados previamente contra el ectima contagioso. La conjuntivitis (51.4%), congestión de la mucosa ocular (6%), lagrimeo (2.7%), secreción nasal (13.1%) y llagas en encías (2.2%), son signos y lesiones que no son descriptos frecuentemente para esta enfermedad. En futuros eventos, deberían registrarse para discriminar si son signos propios del ectima o de otra enfermedad concomitante de ocurrencia en época invernal, como la queratoconjuntivitis, que produce abundante lagrimeo²¹ o el parasitismo nasal por *Oestrus ovis*, que produce un aumento de la secreción nasal²².

A partir de que algunos ganaderos señalan que las hembras suelen afectarse en mayor proporción que los machos (Robles, comunicación personal), se calcularon los *Odds Ratio* de cada lesión o síntoma clínico respecto al sexo, sin encontrarse diferencias significativas al respecto, con excepción de las lesiones en patas y rodetes coronarios, que dieron una OR por debajo de uno (0.3492) y un valor de $p = 0.0238$, lo que en este caso estaría indicando que el sexo macho estaría actuando como factor protector para la presentación de dichas lesiones. Para el resto de los factores estudiados, el sexo del animal no estaría influyendo mayormente en el porcentaje de presentación de cada signo o lesión. Sería interesante repetir este tipo de mediciones en brotes con la presentación típica de la enfermedad y con un mayor equilibrio en la distribución de los sexos de los animales, en razón de que en este caso, solo el 17% de los animales eran machos.

Si bien hay técnicas de laboratorio para diagnosticar la enfermedad como la microscopía electrónica, test de Elisa, PCR y Real Time PCR¹⁰, usualmente la enfermedad se diagnostica por las características de las lesiones presentes, categorías afectadas y época de presentación. En este caso sería la primera vez que se logra confirmar un brote de ectima contagioso en la Patagonia, mediante una reacción de PCR específica para el gen ORF045, la que ha demostrado ser una técnica rápida y efectiva^{16,23}, facilitando así una pronta respuesta al productor y la implementación del tratamiento sintomático de los animales afectados ayudando a prevenir el contagio a otros lotes de animales del campo.

Atentos a que nuestro país esta libre de viruela ovina y caprina producida por el virus *Capripoxvirus*, y sabiendo que esta enfermedad produce lesiones muy similares a las del ectima contagioso²⁴, el uso de una PCR específica, como la reportada en este caso, permite no solo confirmar por laboratorio los diagnósticos clínicos de ectima contagioso, sino reafirmar la ausencia de viruela en nuestras majadas.

CONCLUSIONES

En nuestro conocimiento, este es el primer reporte confirmado de ectima contagioso en ovinos en Argentina, cuyo diagnóstico presuntivo alcanzado mediante la observación clínica de signos y lesiones es confirmado por la presencia del virus ORF en costras de animales afectados, mediante el uso de la técnica de amplificación del ADN por PCR.

Lo ocurrido en este caso, alerta sobre la necesidad de revisar cuidadosamente cada vez que se compran animales en establecimientos de los cuales se desconoce el estatus sanitario, y proceder a la cuarentena de los animales ingresados hasta tanto se demuestre que no estaban incubando alguna enfermedad altamente contagiosa, como se infiere que ocurrió en este caso con animales portadores del virus del ectima contagioso.

Asimismo, debería considerarse el desarrollo de vacunas efectivas a partir de las cepas que están circulando en nuestro país entre las poblaciones de ovinos y caprinos²⁵ a fin de poder implementar medidas de prevención de la enfermedad y poder evitar brotes como el que se describe en este caso.

Agradecimientos

Al personal del establecimiento ganadero por la colaboración en el manejo de los animales durante los trabajos de revisión clínica y muestreo. A Gabriela Calamante y Guido König del Instituto de Biotecnología del INTA Castelar, por la revisión del trabajo y al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), por la financiación del trabajo mediante los proyectos PNSA 1115055 y PNBIO 1131032.

Conflictos de interés

Ninguno para declarar.

BIBLIOGRAFÍA

- Fenner F, Gibbs E, Murphy F, Rott R, Studdert M, White D. *Veterinary Virology*. Ed. by Academic Press, 2nd edition, USA, 1993, 666 pág.
- Reid H W, Rodger S M. ORF. En: *Diseases of sheep*. Ed. por I. D. Aitken. Blackwell Publishing, United Kingdom. 2007: 297-302. ISBN-13: 978-14051-3414-9.
- Yeruham I, Perl S, Abraham A. Orf Infection in Four Sheep Flocks. *Vet J*, 2000, 160:74-76.
- Asawaka Y, Imaizumi K, Tajima Y. Studies on a Contagious Ecthyma-like disease observed among the sheep. *Jpn J Med Sci Biol*, 1952, 5:475-486.
- Nóbrega J, Macedo J, Araujo J, Dantas A, Soares M, Riet Correa F. Ectima contagioso em ovinos e caprinos no semi-árido da Paraíba. *Pesq Vet Bras*, 2008, 28:135-139.
- Scagliarini A, Piovesana S, Turrini F, Savini F, Sithole F, McCrindle CM. Orf in South Africa: Endemic but neglected'. *Onderstepoort J Vet Res*, 2012, 79:1-8.
- Onyango J, Mata F, McCormick W, Chapman S. Prevalence, risk factors and vaccination efficacy of contagious ovine ecthyma (ORF) in England. *Vet Rec*, 2014, 175:326. doi: 10.1136/vr.102353.
- Samuel W, Chalmers G, Stelfox J, Loewen A, Thomsen J. Contagious Ecthyma in bighorn sheep and Mountain goat in Western Canada. *J Wildl Dis*, 1975, 11:26-31.
- Lance WR, Hibler CP, DeMartini J. Experimental contagious ecthyma in mule deer, white-tailed deer, pronghorn and wapiti. *J Wildl Dis*, 1983, 19:165-9.
- Nandi S, Ujjwal K, Choudhury S. Current status of contagious ecthyma or Orf disease in goat and sheep – A global perspective. *Small Rumin Res*, 2011, 96:73-82.
- Groves R, Wilson-Jones E, MacDonald D. Human Orf and milkers nodule: A clinicopathologic study. *J Am Acad Dermatol*, 1991, 25:706-711.
- Suarez V, Buseti M. Health management practices and disease prevalence in dairy sheep systems in Argentina. *Pesq Vet Bras*, 2009, 29:931-937.

13. Bedotti D, Rossanigo C. Manual de reconocimiento de enfermedades del caprino. Publicación técnica N° 82, Septiembre 2011. Ed. por INTA. 27 pág.
14. Robles CA, Olaechea FV. Capítulo 11: Salud y enfermedades de las majadas. En: Ganadería ovina sustentable en la Patagonia Austral. Ed Borrelli P y Oliva G. Ediciones INTA, 2001:225-243.
15. Robles CA. Chapter 71: South America: Patagonia. En: Diseases of sheep. Ed. por I. D. Aitken. Blackwell Publishing, United Kingdom. 2007: 524-534. ISBN-13: 978-14051-3414-9.
16. Kottaridi C, Nomikou K, Lelli R, Markoulatos P, Mangana O. Laboratory diagnosis of contagious ecthyma: Comparison of different PCR protocols with virus isolation in cell culture. J Virol Methods, 2006, 134:119-124.
17. MedCalc Statistical Software, Version 16.4.3. MedCalc Software Bvba, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2016.
18. Kumar N, Wadhwa A, Chaubey KK, Singh SV, Gupta S, Sharma S, Sharma DK, Singh MK, Mishra AK. Isolation and phylogenetic analysis of an ORF virus from sheep in Makhdoom, India. Virus Genes, 2014, 48:312–319.
19. Li W, Ning Z, Hao W, Song D, Gao F, Zhao K, Liao X, Li M, Rock DL, Luo S. Isolation and phylogenetic analysis of orf virus from the sheep herd outbreak in northeast China. BMC Vet Res, 2012,8:229. <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/8/229>.
20. Gumbrell RC, McGregor DA. Outbreak of severe fatal Orf in lambs. Vet Rec, 1997, 141:150-151.
21. Hosie BD. Ocular diseases: Infectious keratoconjunctivitis. En: Diseases of sheep. Ed. por I.D. Aitken. Blackwell Publishing, United Kingdom. 2007: 342-347. ISBN-13: 978-14051-3414-9.
22. Matos V, Rodríguez J, Pastor A, Olivares J. *Oestrus ovis* (Diptera: Oestridae): un importante ectoparásito de los ovinos en Cuba. Rev Salud Anim, 2013, 35:79-88.
23. Peralta A, Robles C, Martínez A, Álvarez L, Valera A, Calamarte G, König G. Identification and molecular characterization of Orf virus in Argentina. Virus Genes, 2015, 50:381-388.
24. Kitching RP. Sheep pox. En: Diseases of sheep. Ed. por I. D. Aitken. Blackwell Publishing, United Kingdom. 2007: 302-306. ISBN-13: 978-14051-3414-9.
25. Musser JM, Waldron DF, Taylor CA. Evaluation of homologous and heterologous protection induced by a virulent field strain of Orf virus and an Orf vaccine in goats. Am J Vet Res, 2012, 73: 86-90.