



Mayo 27 de 2015

Serología positiva a Muermo (*Burkholderia mallei*) en caballos argentinos exportados a Chile

Paso a detallar todo lo actuado al respecto:

- 1) De acuerdo a lo informado por las autoridades del SAG, Ministerio de Agricultura Chileno, de un grupo de 27 animales SPC importados desde Argentina el 22/4/2015, el 5 de Mayo 3 animales reaccionaron POSITIVO a la serología de Muermo, y el 6 otros 2 , más 2 animales chilenos. En vista a lo descripto, se dispone el sacrificio de los 27 caballos argentinos, más 10 chilenos.

Servicio Agrícola y Ganadero

Región Metropolitana

(IdDO 907274)

DETERMINA PRESENCIA DE ENFERMEDAD QUE INDICA Y AUTORIZA SACRIFICIO SANITARIO DE EQUINOS PRESENTES EN CUARENTENA DE IMPORTACIÓN DE FUNDO EL MAITÉN

(Resolución)

Núm. 1.406 exenta.- Santiago, 19 de mayo de 2015.

Vistos:

Lo dispuesto en la ley 18.755, Orgánica del Servicio Agrícola y Ganadero; el DFL RRA Nº 16 de 1963, sobre Sanidad y Protección Animal; el decreto Nº 318, de 1925, que establece el Reglamento para la aplicación de la Ley de Policía Sanitaria Animal; decreto 389, de 2014, que Establece Enfermedades de Declaración Obligatoria para la Aplicación de Medidas Sanitarias, del Ministerio de Relaciones Exteriores, que promulga el "Acuerdo de Marrakech", por el que se establece la Organización Mundial del Comercio y los Acuerdos Anexos, entre éstos, el de aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias; las Recomendaciones del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).

Considerando:

1. *Que, es función del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) velar por la Sanidad y Protección Animal.*
2. *Que corresponde al Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) adoptar las medidas que estime convenientes para evitar la introducción al país y la propagación dentro del territorio nacional, de las enfermedades de los animales, y combatir las existentes.*
3. *Que, mediante resolución exenta Nº 1.077 del año 2015, se autoriza como*

lugar de cuarentena de importación al Fundo El Maitén, en la comuna de Talagante, para 27 equinos provenientes de Argentina del consignatario Agrícola Ganadera Haras Carioca.

4. Que, en base a informe técnico emitido por la Encargada Regional de Trazabilidad de la Dirección Regional Metropolitana, de fecha 12 de mayo del presente año, se establece que tras la importación de los mencionados equinos provenientes desde Argentina, y su muestreo respectivo, “Los resultados serológicos del Depto. de Laboratorios y Estaciones Cuarentenarias de Lo Aguirre, protocolo N° 2802 de fecha 05/05/2015 muestra que tres ejemplares importados son positivos a prueba de fijación de complemento para *Burkholderia mallei* y el protocolo N° 3130 de fecha 06/05/2015 refleja cinco ejemplares importados positivos y 2 equinos nacionales positivos a la misma prueba serológica; esto hace suponer sin lugar a duda razonable la existencia de la enfermedad denominada Muermo equino”.

5. Que, lo anteriormente expuesto es confirmado por los resultados de laboratorio de referencia de la OIE en Alemania Friedrich-Loeffler-Institut. Ref. N° 15RRR3085-3087 de fecha 19 de mayo de 2015 dan como positivos a Muermo.

6. Que, la enfermedad en comento es una zoonosis mortal para la cual no existe vacuna, poco frecuente en el hombre, a lo cual se adiciona que los animales infectados asintomáticos son de alto riesgo para la salud humana.

7. Que, a lo señalado precedentemente, se agrega en informe antes citado: “Por esta razón el plantel en su conjunto presenta una situación epidemiológica que hace indispensable eliminar todos los posibles medios de transmisión de la enfermedad con la mayor celeridad posible”.

8. Que, en concordancia a lo expresado con antelación, y atendidas las facultades en orden sanitario que poseen los Directores Regionales según lo establecido en la propia Ley Orgánica del Servicio, así como en el DFL RRA N° 16, y demás normas legales, es necesario adoptar medidas que eviten la difusión de la enfermedad a otras explotaciones pecuarias.

9. Que, el decreto 389 de 2014, establece como enfermedad de declaración obligatoria el Muermo equino (*Burkholderia mallei*).

Resuelvo:

1. Declárese la presencia de la enfermedad de Muermo en los equinos cuarentenados en el Fundo El Maitén, RUP 13.6.01.0067 ubicado en Av. Talagante Paradero 4^{1/2} s/n, Parcela N°0337, Interior Fundo El Maitén, de la comuna de Talagante, Región Metropolitana.

2. Sacrifíquese la totalidad de los equinos presentes en Haras y animales susceptibles, así como la destrucción de los productos de desechos y materiales en contacto con animales que se encuentran en el recinto ya individualizado, observando las recomendaciones que mitiguen al máximo el sufrimiento de los animales y según los estándares internacionales.

3. Los sacrificios se ejecutarán en el mismo predio, así como la destrucción de los productos.

4. Que, posterior a la aplicación de las medidas sanitarias, se deberá realizar desinfección de las instalaciones.

5. Cumplida la medida sanitaria de sacrificio y destrucción, se extenderá acta de la que se otorgará copia a la empresa.

6. El costo de las medidas sanitarias que decreta el SAG, para el control y erradicación del Muermo equino en la zona de control sanitario, será de cuenta de los propietarios o tenedores de los animales respectivos.

Anótese, comuníquese y publíquese.- Óscar Enrique Concha Díaz, Director Regional Servicio Agrícola y Ganadero Región Metropolitana de Santiago

Adicionalmente, las muestras positivas fueron enviadas al Friedrich-Loeffler Institute, Jena, Germany, y de acuerdo a la versión chilena, dieron POSITIVO.

2) El Muermo es una enfermedad bacteriana, que afecta principalmente a los caballos, burros y mulas, pero se han registrado infecciones en perros, osos y otros animales, e incluso en el hombre. Es muy contagiosa y puede ser mortal. En el caballo las principales manifestaciones clínicas posibles son úlceras y nódulos en la cavidad nasal, con secreciones purulentas, abscesos pulmonares y nódulos y abscesos cutáneos asociados a los vasos linfáticos.

3) Es necesario aclarar que hasta la fecha, las autoridades chilenas solo exigían caballos serológicamente libres de AIE y piroplasmosis. Nunca han requerido pruebas NEGATIVAS a MUERMO. Se ignora porqué se sometió a esta prueba a los caballos argentinos, incluso lo pregunté personalmente a un técnico del SAG, y no recibí una respuesta consistente.

4) De esta manera, estos 27 caballos fueron exportados a Chile sin un control previo de Muermo hecho en Argentina.

5) Todos estos hechos están siendo analizados junto a las autoridades de SENASA, la Dra Rosa Debenedetti (Enfermedades Exóticas-DILAB), Dr Eduardo Saint Jean (Coordinador Regional de Sanidad Animal) y Dr Esteban Durante (Programa de équidos), exportadores y el Dr I. Pavlovsky (h),(Autoridad del Hipódromo de Palermo).

6) En vista a todo lo acontecido, se dispuso el control serológico de los 27 sueros de los caballos exportados a Chile, en nuestro laboratorio de Clínica Equina y en el laboratorio del DILAB el SENASA, arrojando en ambos laboratorios un mismo resultado: todos NEGATIVO

7) Es indispensable dejar en claro que la República Argentina es un país LIBRE DE MUERMO. Jamás se ha presentado la enfermedad en ninguna de sus formas.

8) Nuestro laboratorio CLINICA EQUINA, autorizado por SENASA para emitir certificados oficiales para diversas enfermedades del caballo (AIE,

Piroplasmosis, Durina y Muermo), y acreditado bajo la Norma ISO 17025 por el OAA, y con acreditaciones del USDA, viene realizando el control serológico de la mayoría de los caballos que se exportan e importan. Desde hace más de 25 años la Argentina ha exportado más de 80.000 caballos a todo el mundo, USA, Unión Europea, Países Arabes, etc, y jamás han sido detectado caballos exportados que estén infectados con Muermo. Sólo existieron un par de casos de caballos reactivos, que jamás manifestaron síntomas, y que solo se trató de falsos positivos. El problema de los FALSOS POSITIVOS en la prueba de fijación de complemento del MUERMO es algo reconocido y citado abundantemente en la bibliografía.

9) **SEROLOGIA DE MUERMO, y discrepancia de resultados:**

Por qué razón existe una discrepancia de resultados entre lo obtenido por el SAG Chile, y nosotros ?

El único test prescrito por la OIE para GLANDERS (MUERMO) es la fijación de complemento. El MANUAL DE LOS ANIMALES TERRESTRES DE LA OIE describe la prueba, y como debe obtenerse el antígeno.

El laboratorio DBL, del NVSL, USDA prepara su antígeno y realiza la pruebas siguiendo todos los lineamientos de la OIE. Tanto el laboratorio del DILAB como CLINICA EQUINA realiza exactamente la misma prueba que el USDA, con sus mismos reactivos.

La prueba de fijación de complemento para el MUERMO ha sido un instrumento utilizado en los últimos 30 años para controlar con bastante éxito la enfermedad en el movimiento internacional de caballos, entre ellos, la erradicación de la enfermedad de USA. Es capaz de detectar infecciones tempranas, debido a que utiliza IgM, y también infecciones crónicas. Sin embargo, sus puntos débiles son algunos falsos positivos y una sensibilidad menor a otros tests más modernos, como el CELISA o iELISA.

El día 25 de Mayo me comuniqué con la Dra A. Pezoa, profesional chilena responsable del laboratorio de serología, para consultarla sobre las serologías

POSITIVAS a Muermo en Chile. La Dra Pezoa, que me pareció una profesional competente y muy informada, me manifestó lo siguiente:

- Que la prueba realizada por el SAG es FC, PERO, que ellos utilizan un antígeno alemán, que es diferente al del USDA.
- Que los resultados fueron POSITIVOS.
- Que desde hace un tiempo dejaron de usar los reactivos del USDA, y comenzaron a usar los de Alemania, debido a una exigencia durante una auditoria del Mercado Comun Europeo.

10) **Porqué La Unión Europea y USA utilizan antígenos diferentes ?**

Siempre existió una disputa entre el USDA y la UE sobre cuales técnicas o antígenos deben usarse. En este caso en particular, hace ya unos años que trabajos alemanes objetaban la sensibilidad del antígeno del USDA. Así lo demuestra un trabajo del Dr Neubauer:

Comparative evaluation of three commercially available complement fixation test antigens for the diagnosis of glanders

I. Khan, L. H. Wieler, F. Melzer, M. Gwida, V. L. de. A. Santana, M. M. A. de Souza, M. Saqib, M. C. Elschner, H. Neubauer

The sensitivity and specificity of three commercially available complement fixation test (CFT)

antigens from c.c.pro (c.c.pro), Central Veterinary Institute of Wageningen UR (CIDC) and the United States Department of Agriculture (USDA) were comparatively evaluated by testing 410

sera collected from glanders-endemic and non-endemic areas (200 true-negative randomly collected sera and 210 sera collected from experimentally immunised animals (12 rabbits, 19 horses), clinically positive (135) and culture-positive (44) horses, donkeys and mules). Immunoblotting (IB) was used as the gold standard test. Highest sensitivity was shown for the CIDC antigen (100 per cent) followed by the c.c.pro antigen (99.39 per cent). However, the USDA antigen showed substantially less ($p < 0.05$) sensitivity (62.19 per cent). Highest specificity was found for the USDA antigen (100 per cent) followed by the CIDC (97.5 per cent) and c.c.pro antigen (96.5 per cent). Positive and negative predictive values (assumed glanders prevalence of < 0.1 per cent) for each antigen were calculated to be 95.88 and 99.48 (c.c.pro), 97.04 and 100 (CIDC), 100 and 76.33 per cent (USDA), respectively. Almost perfect agreement (0.96) was found between CFT using either c.c.pro or CIDC and IB.

Sin embargo, debe notarse que el antígeno alemán tiene menor especificidad que el del USDA.

De esta manera, en Europa, Chile y probablemente en países Árabes y Medio Oriente se está utilizando el antígeno alemán.

11) Que dice el USDA al respecto ?

En el día de la fecha recibí una respuesta de una profesional a cargo en el NVSL, USDA:

De: Grause, Juanita F - APHIS [<mailto:Juanita.F.Grause@aphis.usda.gov>]

Enviado el: Martes, 26 de Mayo de 2015 11:13 p.m.

Para: Teótimo Becú - Clinica Equina SRL; Kinker, David R - APHIS; 'David R. Kinker'

CC: Capsel, Randal T - APHIS; Lewis, Charles E - APHIS

Asunto: RE: Glanders

Dr. Becu,

I apologize for being unable to respond earlier. As Dr. Kinker mentioned I've been deployed to Minnesota to assist with the avian influenza outbreak. I'm sorry to hear that all of those horses were euthanized.

As you know the German lab in Jena is an OIE reference laboratory for glanders. Recently they published an article comparing the USDA glanders CFT antigen with other commercially available antigens. I've attached it so you can read it. Basically, in their hands, the USDA antigen did not perform well in regards to diagnostic sensitivity. Many positive sera were erroneously called negative using the USDA antigen. Based on this information we initiated a study to compare the antigens in our hands. Unfortunately, we also found that the USDA antigen did not perform as well as other commercially available antigens, and we also saw many false negatives. Because of this research, we have switched from using the USDA antigen to ccPro. The ccPro antigen is a whole cell antigen, instead of the primarily LPS formulation of the USDA antigen.

The literature has a number of references of cross reacting organisms on the glanders CFT. The OIE reference laboratory in Germany recommends a two test approach for glanders. The immunoblot is used to confirm and CFT reactors, since we know there are false positives.

We are working to develop a cELISA test for glanders based on the one that Dr. Katz had developed. We know the antigen that was used in that test is not the best choice for a good, sensitive ELISA. I do not have experience with the iELISA you mentioned. I will take a look at the literature. I believe most countries, including Germany, are still performing

CFT, though I know there are some commercially available ELISA kits, a couple of which we've tried. Some are definitely better than others.

I can't speak to where Chile purchases their antigen. Hopefully Randy can comment on that.

Please let me know if you have any more questions.

Take care,

Nita

Nita Grause

Microbiologist

Serology Testing Section, Diagnostic Bacteriology Lab

National Veterinary Services Laboratories

1920 Dayton Ave

Ames, IA 50010

Office Phone: (515) 337-7094

Cell Phone: (515) 231-9825

FAX: (515) 337-6895

juanita.f.grause@aphis.usda.gov

Lamentablemente, ellos mismos reconocen que su antígeno de Muermo no tiene una sensibilidad similar al del comercial alemán. De todas maneras, esto no garantiza necesariamente que los caballos positivos argentinos hallados estén verdaderamente infectados con *Burkholderia mallei*. Este test dá un 3 % de falsos positivos.

12) Según lo que se desprende de la carta de la Dra Grause, el antígeno alemán es un atígeno "whole cell", es decir hecho con la totalidad de la célula bacteriana. Esto se contrapone con la descripción de la preparación del antígeno de Muermo que indica la OIE, que es un filtrado crudo de cultivo de *Burkholderia mallei*, compuesto principalmente por LPS (lipopolisacáridos) solubles

13) Se realizó también una consulta al Dr Neubauer, al Friedrich-Loeffler Institute, Jena, Germany. Estamos esperando una respuesta

14) CONCLUSION FINAL –MEDIDAS A TOMAR

- a) Argentina es un país libre de Muermo, y así lo atestigua la ausencia de casos clínicos, como así también la serología NEGATIVA durante 25 años.
- b) Argentina utiliza una técnica y un antígeno aprobado por la OIE.
- c) Chile utiliza un antígeno diferente, producido de una manera diferente, que, según entiendo, no esta contemplado por la OIE. De todas maneras, esto debo confirmarlo bien.
- d) El USDA cambia de antígeno y no nos avisa nada ¡!, esto hay que tratarlo con ellos, y disponer de inmediato de los mismos reactivos, al menos para aquellos países que usen el antígeno alemán.
- e) El uso de reactivos diferentes en distintos países es un problema grave, ya que pueden dar lugar a conflictos como el presente. Esto hay que resolverlo a la brevedad !
- f) Es sospechoso que también se hallan sacrificado 10 caballos chilenos. La pregunta del millón es:cuales caballos fueron los primeros en seroconvertir, los argentinos o los chilenos ?, pudieron haber seroconvertido los argentinos DESPUES de ingresar a la Cuarentena ?
- g) SENASA debe presentar una protesta enérgica por lo sucedido, reclamando la aclaración de todos estos interrogantes.



Teótimo Becú, M.V.

CLINICA EQUINA SRL

Director

Laboratorio de Diagnóstico

Laboratorio de Producción de Biológicos

Tel-fax: 02478-481658/481764

E-mail: t-becu@redsarmiento.com.ar

Web: www.clinicaequina.com.ar