

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias

**SEROPREVALENCIA DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA EN EL MUNICIPIO DE
MEXICALI, BAJA CALIFORNIA.**

TESIS

Para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista

Presenta:

Giber Alain Sandoval Milán

Directo de tesis:

M.C. Luis Mario Muñoz Del Real

Asesores:

M.C. Alfonso De la Mora Valle

M.C. Gilberto López Valencia

Dr. Tomás Benjamín Rentería Evangelista

Contenido

	Pág
Lista de Cuadros	i
Lista de Figuras	ii
Introducción	1
Revisión de Literatura	3
<i>Historia</i>	3
<i>Etiología</i>	3
<i>Transmisión</i>	7
<i>Patogenia</i>	9
<i>Signos y hallazgos clínicos</i>	12
<i>Fase aguda</i>	13
<i>Fase subaguda</i>	13
<i>Fase crónica</i>	13
<i>Portadores inaparentes</i>	14
<i>Signos neurológicos</i>	14
<i>Epidemiología</i>	15
<i>Diagnóstico</i>	23
<i>Inmunodifusión en agar gel (AGID) o Coggins</i>	24
<i>Ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas (ELISA) y ensayo inmunoenzimático competitivo ligado a enzimas (C-ELISA)</i>	25
<i>Ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas con antígeno sintético (SA-ELISA II)</i>	28
<i>Pruebas de laboratorio complementarias</i>	28
<i>Tratamiento</i>	29
<i>Prevención, control y erradicación</i>	29
Materiales y Métodos	32
<i>Lugar de estudio</i>	32
<i>Selección de muestras</i>	32
<i>Análisis de laboratorio</i>	35

<i>Análisis estadístico</i>	39
Resultados	40
Discusión	45
Conclusiones y Recomendaciones	48
Literatura Citada	50

Lista de Cuadros

Cuadro		Pág
1	Resultados de la prueba de AGID en potros	10
2	Prevalencia de AIE en ocho departamentos en la región noroeste de la provincia de Corrientes, Argentina, durante el año 2000	17
3	Prevalencia de AIE en once departamentos en la región noroeste de la provincia de Corrientes, Argentina durante el año 2001	18
4	Información oficial disponible sobre prevalencia de AIE en México durante los años 2002 y 2004	22
5	Sensibilidad (se) y especificidad (sp) (IC 95%) de dos kits de AGID para la detección de AIE en relación al kit AGID de referencia (Diasystems EIA-AGID; IDEXX Laboratories)	26
6	Sensibilidad (se) y especificidad (sp) (IC 95%) de cuatro kits de ELISA para la detección de AIE en relación al kit AGID de referencia (Diasystems EIA-AGID; IDEXX Laboratories)	27
7	Formato para el registro de datos de los caballos muestreados	34
8	Identificación de las muestras de suero en las cajas de petri durante la prueba de inmunodifusión en agar gel	38
9	Distribución de la muestra según los criterios de Fin Zootécnico y Raza. Entre paréntesis el número de positivos para ese grupo y su sexo	41

Lista de Figuras

Figura		Pág
1	Estructura esquemática del virión del VAIE (A) y genoma proviral (B). La organización detallada de la glicoproteína de superficie gp90 (C) se describe con la posición de las regiones variables	5
2	Ciclo retroviral. Representación esquemática del ciclo del VAIE dentro de la célula huésped	6
3	Vista satelital de Mexicali y su valle agrícola. En verde la frontera internacional con los EU; en blanco el límite estatal; en amarillo las carreteras federales y estatales	33
4	Llenado de las cajas de petri con gel de agarosa al 0.8%	36
5	Molde empleado para hacer los pocillos en el gel de agarosa	36
6	Esquema de las cajas de petri utilizadas para la prueba de AGID - AIE durante el presente estudio	36
7	Lectura de resultados a las 48 horas. Las tres muestras fueron negativas. Ag) Antígeno purificado; C+) Control Positivo; Neg) Muestra negativa	37
8	Lectura de resultados a las 48 horas. Dos muestras fueron positivas y una resultó negativa. Ag) Antígeno purificado; C+) Control Positivo; Neg) Muestra negativa; Pos) Muestra positiva	37
9	Distribución de los animales en la población mostrada para AIE de acuerdo a su clasificación por sexo	42
10	Distribución de los animales en la población mostrada para AIE de acuerdo a su clasificación por raza.	43
11	Distribución de los animales en la población mostrada para AIE de acuerdo a su clasificación por fin zootécnico	44

Introducción

La anemia infecciosa equina (AIE) es una enfermedad multisistémica causada por un virus ARN clasificado en la familia *Retroviridae*, dentro de la subfamilia *Lentiviridae* y el cual se encuentra emparentado a otros virus causantes de inmunodeficiencia en varias especies, entre ellos el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH).

A pesar de ser una enfermedad infecciosa no se considera contagiosa. La transmisión ocurre principalmente de forma horizontal a través de insectos hematófagos y objetos contaminados (principalmente agujas reutilizadas). Los potros provenientes de madres infectadas no suelen presentar la enfermedad aunque muestren reacción positiva al antígeno en las pruebas de laboratorio, en caso de ocurrir, la transmisión se considera vertical.

La aparición clínica de la AIE se clasifica en forma aguda, subaguda, crónica y latente, estos cuadros se intercambian y sobreponen durante el curso de la enfermedad caracterizándose inicialmente por la aparición de una anemia hemolítica inmunomediada y una tasa de mortalidad hasta del 80% en la fase aguda. En aquellos que sobreviven los signos típicos incluyen fiebre, depresión, anorexia, pérdida de peso, hemorragias petequiales, ictericia, edema de los miembros y abdomen ventral, aunque pueden presentarse otros como cólico, ataxia, abortos e infertilidad (Morris, 1998).

El diagnóstico inicial se realiza en base a la identificación de los signos y a una historia clínica detallada con énfasis en las movilizaciones y exposición a animales sospechosos. Este se complementa con pruebas de laboratorio básicas como la biometría hemática y química sanguínea (en casos crónicos), sin embargo, la confirmación se hace mediante una prueba de inmunodifusión en agar gel (agar gel immunodiffusion, AGID) la cual es referida comúnmente como prueba de Coggins. En años recientes se han desarrollado nuevos métodos diagnósticos como el ensayo inmonoenzimático ligado a enzimas, reacción en cadena de la polimerasa y pruebas de fluorescencia polarizada.

Una vez que ha sido infectado el caballo se convierte en un reservorio permanente del virus y lo elimina constantemente a través de sus secreciones corporales. Esto, aunado a la falta de un tratamiento terapéutico o profiláctico efectivo, convierte a la AIE en una enfermedad de gran importancia en el área de la medicina equina y vuelve necesaria la implementación de medidas de control.

El transporte de equinos es único en comparación al de otros animales ya que los requerimientos estatales y la forma de identificación son comúnmente ignorados o inexistentes y no parece haber interés por parte de las autoridades para establecer un marco jurídico que regule dicha situación. El transporte indiscriminado facilita la diseminación de la enfermedad y dificulta la realización de estudios epidemiológicos así como el posible establecimiento de medidas de control o erradicación.

En la actualidad no existen datos disponibles sobre la prevalencia de AIE en el municipio de Mexicali. En base a lo anterior se planteó el siguiente objetivo: Determinar mediante la prueba de Coggins (AGID) la seroprevalencia de Anemia Infecciosa Equina en el municipio de Mexicali, Baja California.

Revisión de Literatura

Historia

La anemia infecciosa equina ha sido reconocida como una importante causa de mortalidad desde mediados del siglo XIX, cuando en 1843 Lignéé describió por primera vez el cuadro clínico y atribuyó el padecimiento a causas nutricionales. En años posteriores, entre 1859 y 1861, Anginiard logró demostrar el carácter contagioso de la enfermedad mediante la transmisión experimental a partir de sangre de un caballo enfermo a otro sano (Knowles, 1969; Richter, 1987; Rooney y Robertson, 1996). En el continente americano se presenta por primera vez en el año de 1881 en Maniotota, Canadá, y cinco años más tarde, en 1986, se describe la enfermedad en los Estados Unidos bajo el nombre de “fiebre recurrente equina”. Fue hasta 1904 cuando Vallée y Carré evidenciaron que el agente causal era un virus y en 1917 fue establecida la habilidad de los tábanos para transmitirlo mecánicamente. Para 1928 se había reportado la presencia de la AIE en 17 estados de los Estados Unidos, cifra que para 1941 alcanzó los 29 estados afectados (Kemmen et al., 1978; Knowles, 1969 y 1984).

En Hong Kong la AIE ha sido enzótica desde que se reanudaron las carreras de caballos al terminar la segunda Guerra Mundial (Coggins y Auchnie, 1977); Monteverde, citado por Jacobo et al. (2001; 2002-1) describe clínicamente la enfermedad en Argentina durante 1964 y en 1968 se confirma por primera vez su presencia en los estados de Rio Grande do Sul y Rio de Janeiro, en Brasil (Silva et al., 2001).

En 1969 Konno logró multiplicar el virus de la anemia en cultivos de leucocitos, y un año más tarde, Konno y Yamamoto la consideraron ya la enfermedad más importante en los equinos (Rooney y Robertson, 1996) a pesar de que el número de caballos infectados asintomáticos era solo estimado y no fue totalmente apreciado hasta el desarrollo y uso extenso de la prueba de AGID a partir de 1970 (Coggins, 1984).

Etiología

De acuerdo a Tizard (2002), la capacidad de un virus para sobrevivir a las respuestas inmunitarias suele guardar una relación inversa con su virulencia, por ejemplo: cuando la

adaptación entre el virus y el huésped es deficiente, la enfermedad suele ser muy grave y derivar en la muerte del huésped (rabia, panleucopenia felina, parvovirus canino 2); cuando se presenta mejor adaptación si bien la enfermedad puede ser grave, la mortalidad no necesariamente es alta y el virus suele persistir (glosopeda e influenza); finalmente, algunos virus mejor adaptados producen infecciones persistentes, el sistema inmunitario parece incapaz de eliminarlos y el virus puede incluso mutar durante estas infecciones y por tanto eludir de manera constante al sistema inmunitario. Entre las enfermedades de este último grupo se encuentra la AIE.

El virus de la AIE (VAIE) pertenece a la familia *Retroviridae*, subfamilia *Lentiviridae* y es causante de infecciones persistentes, las cuales tornan a los animales infectados en permanentes fuentes de infección (Heinemann et al., 2002). Se encuentra relacionado a virus como el de la artritis y encefalitis caprina, el virus *maedi-visna* de los ovinos, Virus de Inmunodeficiencia Humano (VIH) y felino (VIF), con los cuales comparte algunas secuencias de nucleótidos e incluso se ha reportado reacción cruzada entre el VAIE, VIH y VIF, sin embargo solo es considerado patógeno para los équidos (OIE, 2007; Turan et al., 2002).

Debido a sus características de replicación Wise y Carter (2005), lo describen como un virus ARN de una sola cadena, sentido positivo, con transcriptasa reversa. El diámetro del virus varía de 90 a 140 nm, la envoltura tiene un grosor aproximado de 9 nm y presenta una forma esférica con tendencia al pleomorfismo. Conserva su capacidad de infección durante unos siete meses a temperatura ambiente en sangre seca; en el suelo se conserva unas 27 semanas; en la orina y heces aproximadamente dos meses y medio; en el suero y porciones de órganos a 10° C, por lo menos cuatro años; en suero liofilizado no menos de seis años, pero en estiércol amontonado, menos de 30 días. El frío no influye sobre el virus de la anemia; en cambio, la luz solar directa lo inactiva en pocas horas y a 56° C se inactiva en 60 minutos según Richter (1987).

Mientras que la estructura y función de la partícula del VAIE (Figura 1) son similares a las de otros lentivirus, la organización y la réplica de su material genético son menos complejas (Figura 2). La replicación en la mayoría de los virus ARN ocurre estrictamente en

el citoplasma de las células y es independiente de la maquinaria nuclear, sin embargo, son excepciones los ortomixovirus (bunyavirus) y los retrovirus, replicándose estos últimos por vía de un intermediario de ADN. En general, el anclaje es una interacción electrostática entre los viriones y los receptores celulares específicos, los virus entran entonces por endocitosis mediada por receptores o por fusión con la membrana celular o con la vesícula endocítica (virus envueltos). Los retrovirus tienen la enzima transcriptasa reversa (ADN polimerasa dependiente de ARN) que permite la formación de un intermediario de ADNds (ADN provirus), el cual es en última instancia integrado en el cromosoma del hospedero por la enzima viral integrasa. Una vez integrado en el cromosoma del hospedero, el ADNds permanece latente hasta que es "disparado" a producción activa de viriones, entonces el provirus es transcrito a ARNm por la ARN polimerasa celular II (Wise y Carter, 2005).

Los lentivirus presentan una alta tasa de mutación y existen “*in vivo*” como poblaciones de genotipos virales estrechamente relacionadas, llamadas comúnmente *cuasiespecies*. La estructura de una población de *cuasiespecies* consiste en una secuencia maestra (el genotipo dominante) y un espectro mutante, que incluye reservorios de variantes genotípicas y fenotípicas con el potencial de volverse dominantes al encarar un cambio hostil en el hábitat. La estructura de *cuasiespecies* es característica de complejos sistemas de adaptación y contribuye a la alta tasa de evolución de los lentivirus (Baccam et al., 2003). Esta capacidad del virus para variar antigénicamente, es decir, cambiar su cubierta proteínica, hace difícil conseguir un desarrollo efectivo de anticuerpos dificultando el desarrollo de una vacuna efectiva contra el VAIE (Wright, 1989).

Transmisión

La AIE es causado por la invasión y la multiplicación del VAIE en los tejidos del equino, por lo cual se cataloga como una enfermedad infecciosa, sin embargo no se considera contagiosa debido a que la infección no se transmite directamente de un equino a otro, sino que debe diseminarse mediante la intervención de vectores. En la actualidad el referirse a la AIE como enfermedad contagiosa; la perpetuación de este mito, o el uso impreciso de los términos "contagioso" e "infeccioso," conduce indudablemente al miedo creciente en cuanto a la transmisión de la enfermedad (Cordes et al., 2004).

En forma general se acepta que la transmisión ocurre en forma mecánica a través de sangre infectada por medio de vectores siendo los insectos picadores el principal medio por vía natural. En este proceso el insecto no es infectado sino que solo sirve como transporte para el material infectivo, mientras que en la transmisión biológica (como el caso de la encefalitis equina del oeste por mosquitos) el virus se replica dentro del mismo mosquito produciendo una infección permanente en el insecto. Debido a que la transmisión ocurre principalmente en los meses de verano en regiones húmedas y pantanosas, se llegó a reportar que los *tabanidae*, *stomoxis* e incluso *culicoides* podrían servir como vectores para el VAIE; de estos tres en la actualidad se considera al tábano como el vector más eficiente debido a su capacidad para transportar grandes cantidades de sangre infectada en relación a los otros insectos de menor tamaño (Fenner et al.; 1993 Kemmen et al., 1978; Hawkins et al., 1976; Tashjian, 1984; Umphenour et al., 1974).

Según Hawkins et al. (1976), los tábanos pueden volar más de cuatro millas en busca de un animal que les sirva para alimentarse. La picadura resulta dolorosa por lo cual son constantemente interrumpidos cuando el caballo se sacude o mueve la cola. Siendo comedores persistentes, los tábanos regresan casi inmediatamente para continuar su alimentación. La transmisión ocurre entonces cuando el tábano empieza a alimentarse de un caballo infectado, es interrumpido o retirado, y continúa el proceso en un caballo cercano y sano con la probóscide contaminada por sangre fresca. Se ha demostrado además la diseminación del VAIE a través de forma iatrogénica, por lo cual recientemente se ha puesto un mayor énfasis en el uso de agujas, instrumental quirúrgico, piezas de higiene o limado dental o cualquier otro objeto inanimado que entre en contacto con la sangre de los equinos y que regularmente son de uso comunitario (Kemmen et al., 1978, Sellon, 1997).

El virus puede ser transmitido transplacentariamente y existe mayor posibilidad de que el potro resulte infectado si la madre sufre ataques febriles (con el esperado aumento de la viremia) durante la gestación. A pesar de esto, solo un 10% de los potros provenientes de yeguas sin signos clínicos de AIE nacen infectados (Sellon, 1997). La respuesta positiva a la prueba de AGID por parte de potros menores a seis u ocho meses nacidos de madres infectadas no se considera evidencia concluyente de transmisión, debido a que el calostro de

estas yeguas es rico en anticuerpos contra AIE (detectables mediante AGID) los cuales forman parte de la inmunidad pasiva que recibe el potro, y rara vez se determina la presencia del virus como para considerarlo infectado o infectivo. El tiempo que tarda en desaparecer esta reacción fue determinada en 20 potros por Burns (1974), el rango osciló entre 65 y 1802 días (Cuadro 1). De estos 20 potros solo dos fueron detectados por pruebas posteriores como seropositivos (sin determinar la vía de transmisión). En otros trabajos de investigación se logró la infección a partir de la inyección subcutánea de 20-30 ml de semen proveniente de caballos con AIE crónica, así como mediante la administración también subcutánea de calostro infectado o por vía oral en el caso de potros de yeguas con AIE, sin embargo, la mayoría de estos trabajos no pudieron ser reproducidos exitosamente durante estudios posteriores e incluso en un mismo trabajo se obtuvieron resultados contradictorios, por lo cual en la actualidad se considera que la transmisión a través de la leche materna, saliva, semen u orina es extremadamente rara, al igual que la sugerencia de que pueda ocurrir de forma venérea (reportada mas comúnmente en casos donde ocurre desgarró vaginal y el gargañón es positivo a AIE, pero no en casos donde este es seronegativo y la hembra seropositiva) (Tashjian, 1984; Umphenour et al., 1974; Wise et al., 2005).

Patogenia

El VAIE infecta los monocitos, macrófagos y células de Kupffer, por lo que el provirus puede ser transportado a través de todo el cuerpo. Debido a esta característica, en lugar de plantarse una respuesta inmune efectiva frente al antígeno viral, el virus persiste como provirus dentro de las células infectadas. Como con otros retrovirus, muchas variantes del virus son producidas debido al proceso de replicación tan propenso a “errores”. En el caso del VAIE, la liberación de estas variantes puede ser rastreada a través de periodos febriles intermitentes. La respuesta humoral a la presencia de antígeno viral estimula la producción de anticuerpos no-neutralizantes. Estos anticuerpos se unen al antígeno viral, resultando en la formación de complejos inmunes. Una vez formados, estos complejos inmunes disparan la cascada del complemento, que lleva a la aparición de fiebre, anemia, trombocitopenia y glomerulonefritis. La anemia hemolítica inmunomediada se considera secundaria a los efectos combinados de hemólisis y fagocitosis de eritrocitos por la adhesión de complejos inmunitarios a la superficie del eritrocito vía la hemaglutinina viral, así como la disminución

en la eritropoyesis de la médula ósea. La respuesta continua del sistema inmune se debe a la producción viral continua, resultando en hiperplasia linfocítica e hipergammaglobulinemia heterogénea con aumento en los niveles de IgG, IgM e IgG(T) en aquellos animales infectados crónicamente. En la superficie plaquetaria suelen encontrarse altas concentraciones de IgG e IgM sugiriendo que procesos inmunomediados colaboran con su destrucción así como en el desarrollo de la vasculitis y glomerulonefritis (Fenner et al., 1993; Morris, 1998; Sellon, 1997; Wise et al., 2005).

Ya que la trombocitopenia es comúnmente la primera y más consistente anomalía observada en animales febriles, es utilizada para monitorear a los animales durante infecciones experimentales. Esta manifestación puede ser debida a una disminución en la proliferación de progenitores de megacariocitos o inhibición de la maduración de estos, aunque también puede ser explicada por la deposición de complejos inmunes y subsiguiente degradación de fagocitos mononucleares. La disminución plaquetaria drástica en caballos con inmunodeficiencias combinadas severas (con ausencia de linfocitos T y B funcionales) sugiere que algún mecanismo no inmunomediado podría estar involucrado durante la trombocitopenia asociada a AIE. Los desordenes en la producción plaquetaria podrían estar bajo el control de factores circulantes liberados por los macrófagos infectados. El factor de necrosis tumoral α (FNT α) y factor de crecimiento transformante β (FCT β) son producidos por los macrófagos y se sabe que tienen un efecto supresor en la génesis de los megacariocitos. Elevaciones de FNT α y FCT β se han descrito en días precedentes a la aparición de la trombocitopenia, así como una fuerte correlación entre la liberación de FNT α , virulencia del agente infeccioso y resultado clínico de animales infectados y vacunados. El FNT α y FCT β podrían entonces ser liberados durante la infección con VAIE e inducir los signos clínicos. El FNT α tiene un efecto directo en la hipertermia por estimular directamente la biosíntesis de prostaglandinas en el hipotálamo, además suprime la eritropoyesis (*in vitro*) pudiendo participar en la anemia hemolítica observada en los animales infectados, aparte de la eritrofagocitosis asociada a la fracción C3 del complemento (Leroux et al., 2004).

Mientras que durante la infección *in vitro* el VAIE causa la muerte de los macrófagos equinos, otras células infectadas no mueren, pero permanecen crónica y productivamente

infectadas por el virus. Así, la misma cadena de VAIE puede matar los macrófagos mientras que crónicamente infecta células endoteliales. El mecanismo mediante el cual el VAIE causa muerte celular no es aun completamente comprendido. Se ha demostrado que una cadena prototípica de virus derivado de cultivo de tejido puede infectar crónicamente células renales de feto equino mientras que mata células dermales de fetos de burros en unas cuantas semanas. En estos casos se asocio la citopatología con un aumento en la cantidad de secuencias provirales e incremento en la producción de ARN viral. En adición a las diferencias específicas de las células que pudieran ser responsables de la actividad citolítica, también se considera que cambios en el genoma del VAIE podrían ser responsables de inducir la muerte celular. Ciertamente, las cadenas de AIE que infectan y causan la muerte de los macrófagos difieren de aquellas aisladas derivadas a partir de cultivos de tejidos en sus secuencias *env* y *LTR*, y es posible que estas alteraciones específicas sean requeridas para la histólisis. Por ejemplo, cambios en la proteína *SU* podrían ser responsables de la interacción diferencial con el receptor celular, resultando en la inducción de la muerte celular (Maury et al, 2003).

La viremia es generalmente detectable durante los periodos febriles, de otra manera disminuye hasta niveles casi indetectables, en forma paralela a las manifestaciones clínicas. Esta viremia disminuye con el paso del tiempo debido a la producción de anticuerpos neutralizantes. El virus entonces parece ubicarse dentro de los leucocitos circulantes en una medida para evadir la neutralización de estos anticuerpos (Burns, 1974).

Signos y hallazgos clínicos

El plazo de incubación oscila dentro de límites muy amplios, de acuerdo a la cantidad de virus transmitida en el contagio. En la mayoría de los casos este periodo va de los 9 a los 20 días, aunque puede presentarse desde los 3 hasta los 95 días (Richter, 1987). Previamente Henson et al. (1969), presentaron una serie de datos obtenidos a partir de 43 ponies infectados experimentalmente donde el periodo de incubación fue en promedio de 18.7 días con un rango que se extendía de los 2 hasta los 72 días.

La enfermedad puede ser descrita en cuatro etapas intercambiables que se sobreponen entre si durante el transcurso normal de la enfermedad. Después de la infección primaria, la

mayoría de los caballos desarrollan periodos febriles. La tasa de mortalidad en la fase aguda puede alcanzar el 80% de los afectados; los sobrevivientes pasan entonces a una fase subaguda, en la cual se continúan episodios febriles moderados, seguidos por una recuperación temporal. Algunos de los animales que se han recuperado presentan viremia y parecen normales tanto en su apariencia como en su desarrollo, aunque algunos experimentan episodios recurrentes de la enfermedad (Berríos, 2005; Fenner et al., 1993).

Fase aguda.- se asocia a la exposición primaria al virus y se caracteriza por fiebre difásica o fluctuante y anemia posterior a los 7 o 20 días posteriores a la infección. La replicación viral dentro de los monocitos (y la destrucción de estos) ocurre dentro de los primeros 14 días en conjunto a la disminución progresiva de células rojas, blancas y plaquetas así como la aparición de sideroleucocitos (neutrófilos que contienen hemosiderina). En esta fase el suero de los caballos infectados es típicamente negativo a la prueba de Coggins. Un milímetro de la sangre de estos caballos contiene títulos de virus suficiente para infectar un millón de caballos.

Las lesiones macroscópicas incluyen edema subcutáneo y hemorragias petequiales, las cuales al presentarse en forma sublingual son consideradas casi como patognomónicas. Microscópicamente suele encontrarse necrosis extensiva de elementos linfoides en el bazo y linfonodos, necrosis moderadamente severa de los hepatocitos, vacuolación grasa de los hepatocitos y degeneración de las células de Kupffer y endotelio sinusoidal.

Fase subaguda.- Hay una fiebre y anemia progresiva características. Una vez que se llega a esta fase el animal aún infectado puede sobrevivir varios meses y convierte a positivo ante la prueba de Coggins. Las lesiones macro y microscópicas son similares a la fase anterior, pero menos severas. Después de superar la necrosis tisular se inicia la activación de los centros germinales linfoides tanto en bazo como linfonodos.

Fase crónica.- Es posiblemente la forma más común de AIE. Fiebre periódica coincidente con anemia episódica a intervalos de dos semanas son características de estados crónicos. Cerca del 90% de estos episodios se presentan durante el primer año de la infección.

La exacerbación periódica de los signos clínicos se asocia con la aparición y proliferación de variantes antigénicas o la exposición a tales variantes por reinfección. Un milímetro de sangre de estos casos (durante un periodo febril) contiene suficiente cantidad de virus para infectar 10,000 caballos.

Las lesiones macroscópicas reflejan activación del sistema retículoendotelial por el contacto prolongado con el virus. El caballo se ve emaciado en la mayoría de los casos. El bazo y linfonodos se agrandan por la hiperplasia de los centros germinales linfoides. La arquitectura de los lóbulos hepáticos puede estar distorsionada por la necrosis, cicatrización e hiperplasia nodular. Puede haber edema subcutáneo dependiente o difuso y hemorragias petequiales o equimóticas. (Berríos, 2005; McClure et al., 1982; Morris, 1998; Richter, 1987; Rooney y Robertson, 1996; Silva et al., 2002; Warner y Morris, 1987). De forma complementaria, Tashjian (1984), reportó en esta etapa crónica lesiones oculares que incluían despigmentación de algunas zonas y prominencia de los vasos coroidales.

Portadores inaparentes.- Como se mencionó anteriormente, los caballos en este estadio no muestran signos aparentes, pero aún así, se considera que un tábano de cada seis millones es capaz de transmitir el VAIE a partir de la sangre de estos (Cordes e Issel, 1996).

Signos neurológicos.- Aunque poco comunes, se han asociado a la AIE. McClure et al. (1982), reportan la presencia de ataxia como el signo neurológico predominante en cuatro caballos infectados por el VAIE. Estos presentaron signos compatibles con la enfermedad, tales como pérdida progresiva de peso, fiebre no responsiva a la terapia médica, anemia, trombocitopenia, hemorragias, hipergammaglobulinemia y alta actividad de enzimas del epitelio biliar. Los signos propiamente neurológicos de este grupo incluían déficit propioceptivo simétrico (especialmente en los miembros posteriores), circumducción al paso en círculo así como dificultad para sortear obstáculos. En algunos se observó atrofia de los músculos glúteos y/o pérdida del tono del esfínter anal o de la cola.

Held et al. (1983), también describen la ataxia y/o déficit propioceptivo como el signo neurológico número uno en caballos infectados por el VAIE, asociándolo a la leptomeningitis

no supurativa del cordón espinal observada en un caballo Thoroughbred de 16 años con historia de un episodio previo de fiebre y ataxia tres meses antes de la recaída. En este caso las lesiones histológicas incluyeron agregación de células inflamatorias mixtas cerca de las raíces nerviosas, los niveles de proteína en el líquido cerebroespinal sobrepasaban los 250 mg/dL y el conteo de células blancas fue mayor a las 95 células/mm³. El análisis de líquido cerebroespinal y suero sanguíneo resultaron positivos a la prueba de Coggins, con lo cual se confirmó el diagnóstico.

Otros cambios que se encuentran comúnmente en los caballos infectados incluyen trombocitopenia, leucopenia con ligera linfocitosis y monocitosis, supresión transitoria de la respuesta inmunológica y aumentos significativos en los niveles de cobre y enzimas hepáticas (gamma glutamil transferasa y fosfatasa alcalina). (Morris, 1998; Silva et al., 2002; Warner y Morris, 1987).

Epidemiología

La AIE se presenta actualmente en un gran número de países, sin embargo se describe más frecuentemente en zonas húmedas de los Estados Unidos, Australia, Alemania, Japón e Italia. En Sudamérica se describe en zonas tropicales o subtropicales donde abundan los insectos hematófagos, además, se ha asociado a mortalidades en el continente africano (Berríos, 2005; Issel y Adams, 1979; Loftin et al., 1990; Wise et al., 2005).

En Francia, históricamente la incidencia de infección por el VAIE era baja, con solo 11 casos detectados entre 1988 y 1992 pero varios brotes se han desarrollado recientemente. En 1993 y 1994 un total de 59 animales de 17 lugares diferentes resultaron seropositivos a AIE. Un brote al sureste de Francia reveló la presencia de 23 animales seropositivos entre 60 totales pertenecientes a la misma cuadra. La situación se estabilizó nuevamente hasta que en el 2000 se reportó otro brote con 41 animales infectados provenientes de 4 lugares diferentes. En Francia, como en otros países, la mayoría de los caballos nunca son muestreados para detectar anticuerpos contra AIE; de hecho, solo 12000 caballos son probados al año, mientras se calcula una población de 350,000 equinos (Leroux et al., 2004).

En diciembre de 1980 se detectó un brote en Chile que alcanzó los 135 equinos infectados siendo el último caso detectado en noviembre de 1981. El proyecto de erradicación concluyó eliminando las fuentes de infección con el sacrificio de 134 animales positivos (Berríos, 2005).

En Argentina, el CEDIVEF (Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias) informó una prevalencia del 42.45%, sobre 3,243 equinos muestreados entre 1977 y 1980 en Formosa. En el Chaco, se comunicó una tasa del 31.49% de positivos sobre un muestreo de 11.911 sueros. En cuanto a la provincia de Corrientes, se reportaron prevalencias del 10.29% para 16,006 equinos en el periodo 1976-1981; del 2.61% de 8,289 animales en el sureste de la provincia; y un 6.72% de positivos en 2,515 muestras, en el período 1984-1986. Un estudio realizados durante el 2000 indica una prevalencia del 17.30% para 846 caballos de trabajo de la región noroeste de la provincia de Corrientes, con un rango del 33.70% (San Luis del Palmar) y del 4.80% (San Cosme). Es de señalar que de 8 departamentos, 7 superaron una tasa 16% de reactores positivos (Cuadro 2). En el 2001 se reportan datos de 1,623 caballos de las regiones centro y noroeste de la provincia de Corrientes de los cuales se obtuvo una tasa del 20,20% de seropositivos (Cuadro 3), la cual a decir de los autores es coincidente con las características epidemiológicas y sanitarias para las regiones en estudio (Jacobo et al., 2001 y 2002-1).

Heinemann et al. (2002), describen un estudio en el municipio de Uruará, estado de Pará, en la frontera agrícola de la región transamazónica, bajo un área aproximada de 50 a 200 ha. Se eligieron 32 propiedades por sorteo probabilístico aleatorio, los 96 caballos de esas propiedades fueron muestreados entre los meses de julio y diciembre de 1998. Los resultados mostraron una alta prevalencia tanto para los animales seroreactores (17.71%) como para las propiedades (53%). Hacen referencia a un boletín previamente publicado por el Departamento de Defensa Sanitaria Animal el cual informaba que en 1997 el 16.82% de los animales probados del estado de Pará resultaron positivos, y aunque consideraron estos datos carentes de delineamiento experimental, resultaron bastante aproximados a los obtenidos. Concluyen citando que en el año 2000 se encontró un 28.53% de equinos seroreactivos en la Ilha de

Marajó, 10.7% en São Miguel do Guamá, 17% en Santa María de Pará y 25% en Paragominas, demostrando que la enfermedad se presenta en una amplia área del estado.

Un estudio realizado en la región brasileña de Pantanal entre 1990 y 1995 incluyó a 3,285 caballos pertenecientes a 28 granjas diferentes. Los resultados de este estudio arrojaron una prevalencia media de 24.8%. En la región de Nhecolandia se probaron 213 caballos cada tres meses durante cinco años (1990-1995) La prevalencia media de AIE fue de 42.7%, siendo 48.4% machos y 34.5% hembras (Silva et. al., 2001).

La información sobre la distribución de los reactores en Canadá se basa en un programa en el cual los propietarios prueban voluntariamente a sus animales, y al ser una enfermedad de reporte obligatorio se informa a las autoridades en caso de resultados positivos. Los puntos considerados como enzóticos son: noroeste de Alberta, centro de Saskatchewan, este de Québec, valle de Ottawa y el centro-oeste de Manitoba (listados en orden decreciente). En 1987 se probaron más de 90,000 caballos, de los cuales 353 resultaron reactores y de estos 266 se encontraban en el área de Manitoba, indicando un brote de especial importancia (la mayoría de ellos asociados a granjas productoras de orina de yeguas gestantes). En 1988 aparecieron casos importantes en Hamilton, Ontario, donde anualmente se muestrean de 36,000 a 39,000 caballos con un promedio de 10-12 reactores positivos anuales (Wright, 1989).

En la región Mármara de Turquía un total de 404 caballos fueron muestreados por Turan et al. (2002), entre junio de 1997 y junio de 1998. Los caballos de este experimento fueron obtenidos de unidades privadas, el ejército y los gitanos y ninguno resulto positivo a la prueba de AGID. En un estudio previo 294 caballos de 4 cuadras reproductoras fueron probados sin encontrarse casos positivos, indicando la inexistencia o bajísima prevalencia de la enfermedad en la región. Años mas tarde Ataseven y Arslan (2005), muestrearon un total de 631 équidos (69 mulas, 154 burros y 408 caballos) de 6 diferentes regiones en Turquía y los sometieron a AGID y ELISA, resultando nuevamente en la ausencia de casos positivos.

En los Estados Unidos el porcentaje de muestras con resultados positivos ha disminuido dramáticamente de más de 3% a menos de 0.2% desde que los muestreos reglamentarios fueron instituidos en 1972. Desde 1978 el 92% de los casos positivos se originaron en una zona denominada comúnmente como “the hot zone” (“zona caliente”) debido a las condiciones ambientales y posiblemente a una mayor cantidad de reservorios sin muestrear (Cordes e Issel, 1996, Tencza et al., 2000).

En otros lugares se mantiene una baja tasa de prevalencia o se ignora el estado sanitario respecto a AIE. Algunos de estos países incluyen, por ejemplo, Eslovenia donde se calcula una prevalencia del 3.38%, Guyana con un esperado del 72.8%, mientras que en Japón la incidencia disminuyó drásticamente después del programa implementado en 1978 y no se ha reportado desde 1984 (Turan et al. 2002).

El 29 de septiembre de 2006 el Ministerio de Protección del Consumidor, Alimentación y Agricultura de Alemania a través del Dr. Werner Zwingmann reporta ante la OIE un nuevo brote de AIE en Hohenfelden e Isseroda, municipios de Thuringen. El evento fue confirmado mediante AGID el 22 de septiembre después de 4 años de haberse declarado extinto el último foco de AIE en Alemania (junio 2002) (OIE, 2007).

Entre el 15 de junio y 10 de diciembre de 2006 el departamento de Agricultura y Alimentos de Irlanda (Department of Agriculture, Fisheries and Food, 2007), confirmó 28 casos de AIE de los cuales 25 se presentaron en thoroughbreds. La mayoría de estos casos se concentraron en las áreas de Dublín, Meath y Kildare. Desde la confirmación del primer caso se corrieron casi 57000 muestras en el Centro Equino Irlandés (Irish Equine Centre, IEC) y el Laboratorio Central de Investigación Veterinaria (Central Veterinary Research Laboratory, CVRL). Solo durante el mes de enero de 2007 se probaron más de 14000 muestras como resultado de las recomendaciones hechas por la Asociación Irlandesa de Criadores de Thoroughbred (Irish Thoroughbred Breeders' Association, ITBA).

La Dra. Debby Reynolds, Directora General de Sanidad y Bienestar de los Animales, Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales (DEFRA), Londres,

señala la aparición por vez primera de un foco de anemia infecciosa equina en Magherafelt (condado de Londonderry, Irlanda del Norte) el primero de septiembre de 2006. Este resultado de los muestreos regulares que el DARD inicio posterior a la detección de AIE en la republica de Irlanda en Junio del mismo año. El diagnóstico fue establecido por la división de los Servicios Veterinarios en Belfast mediante AGID, de 13 animales susceptibles se confirmo un caso (OIE, 2007).

En México la anemia infecciosa equina fue descrita por primera vez en 1956 a partir de un brote que se presentó en el hipódromo de las Américas. Los datos oficiales existentes son registrados por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) a través de los laboratorios del Centro Nacional de Servicios de Diagnostico en Salud Animal (CENASA). La información mas reciente se muestra en la Cuadro 4, sin embargo no puede ser utilizada como referencia de seroprevalencia ya que son resultados de muestreos voluntarios por parte de propietarios que en su mayoría requieren el certificado de salud equina para fines comerciales o deportivos y no siguen ningún lineamiento experimental o epidemiológico.

De acuerdo a los datos obtenidos por la SAGARPA, a través del Consejo Nacional de Salud Animal (CONASA), en el año de 1995, se informó que de 1751 muestras de sangre de caballos que se obtuvieron en rastros de Aguascalientes (Aguascalientes), Zacatecas (Fresnillo y Jerez) y Chihuahua (Cd. Camargo y Cd. Cuauhtémoc) se encontraron 37 sueros positivos, lo que representa una seroprevalencia del 2.11 % (Comunicación personal Barajas, J.A.).

Entre el 09 de Noviembre de 2006 y el 18 de Enero del 2007 el MVZ Adolfo Vega Bazan efectuó el diagnóstico clínico y de laboratorio (en SENASA) de un brote de AIE ocurrido en el estado de Sinaloa (Los Mochis, El Fuerte y Ahome). El total de muestras reportadas fue de 61 caballos, resultaron nueve positivos (14%), de los cuales siete fueron sacrificados y dos fueron llevados a otras municipalidades debido a la falta de un reglamento de sanidad animal que lo impida. Por su parte, el estado de Baja California fue afectado hace casi tres años por un brote de AIE que causó la pérdida de 40 caballos valuados en un total de

un millón de dólares. El origen del brote se rastreó hasta caballos parejeros procedentes del estado de Michoacán (Comunicación personal Murga, J.A.).

Algunos esfuerzos con fines de investigación han sido realizados de forma independiente, tal es el caso de Barajas et al. (2006), quienes durante el 2003 condujeron un estudio seroepidemiológico para determinar anticuerpos contra el VAIE en la zona istmo-costa del estado de Chiapas, México (una región abundante en pantanos e insectos), tomando una muestra de 180 sueros equinos (90 machos y 90 hembras entre 1 a 22 años) mediante la técnica de ELISA y su concordancia con la prueba de Coggins, encontrando una seroprevalencia general con ELISA de 21.11% en comparación con la técnica de AGID que mostró un 13.88%. No se encontró diferencia significativa entre sexo y edad de los animales.

La Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (1994), emitió el llamado “Acuerdo mediante el cual se enlistan las enfermedades y plagas exóticas y enzoóticas de notificación obligatoria en los Estados Unidos Mexicanos”, en el cual la AIE, babesiosis, influenza equina, gurma rinoneumonitis viral equina, entre otras, se clasifica dentro del grupo tres: *“enfermedades que se encuentran presentes en el territorio nacional consideradas como enzoóticas pero que representan un menor riesgo desde el punto de vista epidemiológico, económico, de salud pública y de comercio nacional e internacional; son de notificación mensual obligatoria a las dependencias oficiales de sanidad animal del país”*. Además, existe una propuesta de Norma Oficial Mexicana de Emergencia (NOM-EM-017-ZOO-2004) que regularía la entrada y salida de animales al país incluyendo para equinos la prueba de AGID para detección de AIE, sin embargo actualmente se encuentra en trámite (Comisión Federal de Mejora Regulatoria, 2007).

Diagnóstico

El aislamiento del agente no es necesario para el diagnóstico, pero puede ser llevado a cabo mediante la inoculación de sangre en cultivos de leucocitos preparados a partir de caballos sanos. Wise et al. (2005), mencionan la posibilidad de aislar el virus en un medio de leucocitos equinos sin obtener efectos citopáticos evidentes. La producción de virus en cultivos puede ser confirmada por detección de antígenos específicos de AIE por ELISA, por

inmunofluorescencia o por subinoculación a caballos susceptibles. Se ha descrito una técnica de PCR para detectar el VAIE proviral de la sangre periférica (OIE, 2007). Los métodos más comúnmente utilizados son los serológicos, debido a la facilidad y rapidez que presentan. Estos deben cumplir con ciertos parámetros tales como:

1. **Especificidad.-** Sin importar el formato, la especificidad de un inmunoensayo depende de la reacción entre el anticuerpo y el antígeno. La especificidad de un anticuerpo es una función del grado de afinidad y reacción cruzada y es una determinante para la calidad del ensayo.
2. **Reacción cruzada.-** La tendencia obvia es generar un ensayo con anticuerpos de alta afinidad y una mínima reacción cruzada. A nivel molecular esta característica se define por dos modelos: 1) un anticuerpo que se une a epítomos estructuralmente diferentes pero similares presentes en diferentes antígenos; 2) un anticuerpo que se une a epítomos estructuralmente idénticos en diferentes antígenos.
3. **Sensibilidad.-** Es una función directa del anticuerpo usado. Una mayor sensibilidad se alcanza generalmente con anticuerpos más afines, sin embargo, como depende de la habilidad para discriminar otras señales de fondo a bajas concentraciones de analito, también se ve afectada por el formato del ensayo y los instrumentos usados para la detección (Andreotti et. al., 2003).

Los antígenos principales del VAIE reconocido por el caballo son las dos proteínas de cubierta, gp90 y gp45, y la proteína principal del núcleo, p26. Aunque los genes de la cubierta muten constantemente, esta parece conservar ciertas secuencias genéticas que se encuentran en todas las cadenas del VAIE. El diagnóstico de la AIE y de la infección con el VAIE no fue posible hasta que la prueba de AGID mostró tener una excelente correlación con la prueba de inoculación del virus.

Inmunodifusión en agar gel (AGID) o Coggins.- Desde 1972, la prueba de AGID se ha usado y reconocido internacionalmente como la prueba serológica estándar para la detección de AIE (Cordes e Issel, 1996). Reacciones específicas son indicadas por la aparición

de líneas de precipitación entre el antígeno de AIE y el suero muestra y confirmadas por la reacción del antígeno y el suero estándar positivo. La prueba detecta anticuerpos contra el antígeno viral p26 y es la única prueba que se ha logrado correlacionar estadísticamente con la presencia del VAIE en sangre. Los resultados falso negativos son generalmente relacionados a interpretaciones erróneas de la prueba por parte del técnico o a muy bajos niveles de anticuerpo en el suero, mientras que los falsos positivos son muy raros y por lo general causados por errores técnicos, ya que el AGID tiene la ventaja de distinguir reacciones de precipitación no asociadas al VAIE mediante las llamadas “líneas de identidad” (OIE, 2007; Sugiura et. al., 1995; USDA–APHIS-VS, 2002). Carrier et. al. (1973) y Mayo y Maulsby (2006) reportan un mínimo del 95% de certeza en el diagnóstico de la AIE mediante esta técnica.

La prueba de AGID tiene las mismas limitaciones que otras pruebas serológicas, por ejemplo, los sueros recolectados durante el primer episodio clínico generalmente resultan negativos ya que el caballo no ha tenido tiempo suficiente para montar una respuesta inmune a la proteína p26. Por otro lado, se obtienen resultados positivos en potros no infectados que han recibido inmunidad pasiva a través del calostro de yeguas positivas. A pesar de que estos casos no son considerados como falsos positivos *per se*, si son fuente de errores en el diagnóstico (Issel y Cook, 1993). A esto hay que añadir el tiempo transcurrido hasta la obtención de resultados que se extiende hasta las 48 horas. Actualmente se encuentran disponibles paquetes comerciales para la detección de anticuerpos contra AIE. Estos incluyen un antígeno purificado recombinante y un suero estándar positivo para facilitar el proceso. Los resultados obtenidos entre estos kits presentan una gran concordancia entre ellos (Cuadro 5).

Ensayo inmonoenzimático ligado a enzimas (ELISA) y ensayo inmonoenzimático competitivo ligado a enzimas (C-ELISA): Esta prueba también detecta la presencia de antígenos contra la proteína p26 del VAIE. Tiene la ventaja de ser menos subjetiva que la anterior y se puede volver totalmente objetiva si se usan lectores de ELISA. De acuerdo a Issel y Cook (1993), la correlación entre AGID y CELISA resulta excelente si se siguen los protocolos adecuados (Cuadro 6). La USDA–APHIS-VS (2002), reporta menos falsos negativos obtenidos con esta prueba en relación al AGID, aunque también reporta la aparición

de falsos positivos raramente. La principal ventaja que presentan las pruebas de ELISA es el tiempo que se requiere para obtener resultados (de dos a cuatro horas) y su mayor especificidad (Carrier et. al., 1973).

Ensayo inmonoenzimático ligado a enzimas con antígeno sintético (SA-ELISA II):

Esta prueba detecta anticuerpos contra el antígeno gp45 y/o el antígeno p26 del VAIE. La principal ventaja es que la gp45 aunque se encuentra en menor cantidad que la p26, es más antigénica, sin embargo se ha reportado una menor sensibilidad que el AGID (Cuadro 6).

Pruebas de laboratorio complementarias: La prueba de Western Blot (o inmunoblot) no se considera oficial, pero puede ser usada para esclarecer resultados erróneos obtenidos en pruebas de laboratorio oficiales. En los Estados Unidos solo puede ser realizada en los Laboratorios de Servicios Veterinarios Nacionales (National Veterinary Services Laboratories, NVSL) (OIE, 2007; USDA-APHIS-VS, 2002). Warren y Morris (1987), citan la prueba de inoculación como el medio mas sensible y acertado para la detección del VAIE en sangre y lo señalan como la única prueba alterna aprobado por la USDA, sin embargo hay que señalar que resulta demasiado caro, requiere mucho tiempo y supone la pérdida de animales. En caso de ser necesaria, se debe emplear como receptor un caballo previamente muestreado y resultado negativo a anticuerpos contra AIE. Se realiza una transfusión de 1-25 ml de sangre entera y se monitorean los niveles de anticuerpos y signos clínicos por al menos 45 días (OIE, 2007). Recientemente se han desarrollado pruebas de fluorescencia polarizada (Tencza et. al., 2000) obteniendo resultados de hasta un 100% de especificidad y de 89.4 a 95.4% de sensibilidad.

Entre más sensible la prueba se vuelve menos específica; es decir, se espera que un alto porcentaje de las reacciones positivas sean en verdad falsos positivos. Considerando esto las reacciones positivas a AIE mediante pruebas basadas en ELISA deben ser confirmadas mediante la realización de AGID (Cordes e Issel, 1996). En el caso de ELISA se han reportado la aparición de falsos positivos debido a la presencia de albúmina y transferrina. De cualquier manera, los falsos positivos pueden ser reducidos mediante el uso de C-ELISA con anticuerpos monoclonales. La ventaja del uso de PCR sobre las otras pruebas ha sido discutida y no es siempre recomendada para el diagnóstico rutinario de AIE (Turan et al. 2002).

Jacobo et al. (2002-2), sostiene que las técnicas de diagnóstico serológico pueden dar resultados inespecíficos y a efecto de verificar cuales podrían ser las causas trabajó con dos productos identificados como 1 (calcio, cloruros, sodio, potasio, magnesio y extractos vegetales) (aplicado a 12 caballos) y 2 (magnesio, calcio, cobre, manganeso y cobalto) (aplicado a 10 caballos). En equinos inoculados con una dosis del producto 1, dos dieron resultados de falsos positivos solo en el primer control. Por lo tanto debe tomarse la precaución pertinente, que es de esperar al menos 14 días para realizar un control serológico, por medio de la técnica de AGID. Este tiempo obedece a que en el segundo sangrado ya no se registró resultados inespecíficos, lo cual hace pensar que eventualmente hasta el día 13 postinoculación, existe el riesgo de falsos positivos.

Tratamiento

No existe un tratamiento que elimine el VAIE del cuerpo. El tratamiento de soporte (descanso, terapia de fluidos, transfusiones de sangre, etc.) puede ayudar a la recuperación clínica, si embargo, el caballo seguirá siempre en riesgo de presentar episodios de AIE y representando una fuente de infección para los caballos sanos (Morris, 1998; Warner y Morris, 1987).

Prevención, control y erradicación

La mayoría de las agencias reguladoras exigen una separación de al menos 200 yardas entre los animales seropositivos de aquellos sanos. Uno de los pocos estudios críticos realizados para evaluar la efectividad de la separación espacial en la prevención de la AIE es mencionado por Issel y Foil (1984), e indica que un 87.5% de los tabánidos interrumpidos durante la alimentación y puestos a una distancia de un pie del mismo caballo, volverán al mismo cuando el siguiente caballo mas cercano se encuentre a 120 pies. Mediante la regresión lineal de los datos obtenidos a una distancia de segregación de 10 y 120 pies se extrapola que 99% de los tábanos interrumpidos volverán al mismo huésped cuando la distancia entre los caballos sea de 160 pies. Esta distancia puede ser fácilmente recorrida por los pequeños vectores (como mosquitos) mediante fuertes vientos y por aquellos vectores de mayor tamaño y capacidad de vuelo (tábanos), sin embargo, se debe tomar en cuenta muchos otros factores, por ejemplo, Kemmen et al., (1978) describe la actividad de los tábanos como mayor en días

cálidos cuando el sol es brillante y hay pocas o nulas corrientes de aire. En días frescos y nublados, durante la lluvia o cuando las corrientes de aire son muy fuertes se refugian en la vegetación, por lo tanto la oportunidad de que sirvan como vectores arrastrados por los vientos es baja. Se entiende entonces que en áreas endémicas, la tasa de transmisión puede ser disminuida con instalaciones a prueba de insectos, al menos durante el verano y en las horas en que los insectos se encuentran más activos (Fenner et al., 1993). Hawkins et al. (1976) encontraron que el tiempo transcurrido entre la picadura de un animal infectado y el siguiente juega un papel importante, ya que la probabilidad de transmisión se ve disminuida o anulada cuando este periodo excede los 30 minutos.

Las regulaciones concernientes a la disposición de caballos infectados por el VAIE son uniformemente aplicadas a todos aquellos que presentan reacción positiva a la prueba de AGID sin importar su estado clínico actual ya que no existe un método de cuantificación precisa del riesgo que implican los caballos clínicamente enfermos de los portadores inaparentes, además, este estado puede cambiar con el tiempo. En un estudio, los caballos infectados con VAIE y durante un periodo febril presentaron títulos de viremia de 1,000 a 100,000 veces mayores que aquellos infectados pero sin presencia de fiebre. Además, se ha establecido que el tratamiento con drogas inmunosupresoras como los corticosteroides (dexametasona o ciclofosfamida) y/o respuestas de estrés normal pueden reactivar ciclos virémicos en caballos portadores (Carlson y Zinkl, 1983; Cordes e Issel, 1996; Issel et al., 1982; Kemmen et al., 1978; Tashjian, 1984).

En los Estados Unidos, desde 1972, la USDA estableció las normas y leyes para la disposición de caballos seropositivos. La mayoría de los estados de dicho país requieren que un caballo sea negativo a AIE entre 12 y seis meses previos a la movilización; algunos estados también exigen que se realice la prueba antes de realizar la compra-venta de en eventos donde se congregan grandes cantidades de animales, tales como exhibiciones, ventas y carreras. Si un caballo resulta positivo los oficiales de instancias reguladoras son informados antes de comunicar los resultados al propietario o al médico que envió la muestra, el establo es cuarentenado y el caballo muestreado nuevamente. Si el resultado vuelve a ser positivo las leyes federales exigen que el caballo sea herrado o tatuado bajo el labio para identificarlo

permanentemente como un portador del VAIE. Esta identificación incluye un número de identificación para el estado, una letra A y un número específico para ese reactor. Recientemente se ha implementado el uso de dispositivos de identificación electrónica para facilitar el control de los reactores. La única forma en que un caballo seropositivo salga del estado o del país es que su destino sea: un lugar para sacrificio, la granja de origen o a una institución de investigación (Hall et al., 1988; Sellon, 1997; USDA–APHIS 2002).

Una de las principales organizaciones reguladoras a nivel mundial es la Organización Internacional de Epizootias (OIE, 2007), la cual enlista en su Clasificación de Enfermedades de Declaración Obligatoria para el área de equinos a la AIE junto a otras como la metritis contagiosa equina, encefalomiелitis equina del Este o del Oeste, encefalomiелitis equina venezolana, arteritis viral equina y piroplasmosis equina, entre otras. De acuerdo a su Código Sanitario para los Animales Terrestres en los artículos 2.5.4.2 y 2.5.4.3 las administraciones veterinarias de los países importadores deberán exigir para los équidos importados definitiva y temporalmente la presentación de un certificado veterinario internacional en el que conste que:

- Los animales no presentaron ningún signo clínico de anemia infecciosa equina el día del embarque ni durante las 48 horas anteriores.
- Si están destinados a la reproducción, no se observó ningún caso de anemia infecciosa equina en los lugares donde permanecieron los animales durante los 3 meses anteriores al embarque.
- Los animales resultaron negativos a una prueba de diagnóstico para la detección de la anemia infecciosa equina efectuada durante los 30 días anteriores al embarque (el período de validez del resultado negativo es de 120 días).

Las autoridades encargadas del control de la AIE deben establecer programas para monitorear las ventas y subastas. El potencial de diseminación el VAIE en los Estados Unidos se ve afectado por aquellas personas que ignoran o violan las regulaciones federales o estatales en cuanto a este tipo de eventos (Campbell y Nusbaum, 1991).

Materiales y Métodos

Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en el área urbana y rural de la ciudad de Mexicali, Baja California, la cual se encuentra situada en las coordenadas 32° 43' norte, 28° 00' sur de latitud norte; al este 112° 47', oeste 117° 07' de longitud oeste (Figura 3). Según el Instituto Nacional de Ecología (2007), la temperatura en la zona de Mexicali mantiene una media anual superior a los 23° C (hasta 50° C durante el verano e inferiores a los 0° C en el invierno); mientras que en general la precipitación promedio es de 85 mm (datos recolectados entre 1981 y 1997).

Selección de muestras

La selección de las muestras se realizó bajo el método de conveniencia descrito por Martin et al. (1987), ya que aun habiendo datos aproximados de la población equina éstos no reportan tendencias de fin zootécnico ni patrones de distribución y podrían resultar ambiguos, sobre todo en una zona como esta, donde la estancia de los caballos suele ser temporal. Para el estudio se incluyeron un total de 423 animales de razas, edades y fines zootécnicos diversos en el municipio de Mexicali y valle agrícola del mismo. Los propietarios fueron informados sobre la finalidad del estudio, la importancia y posibles implicaciones de la AIE en sus caballos. Los caballos de los dueños que accedieron a participar fueron incluidos.

La toma de muestras se llevó a cabo por venipunción de la vena yugular mediante el uso de tubos para colección sin anticoagulante BD Vacutainer™ (BD, 1 Becton Drive, Franklin Lakes, NJ USA 07417). Al menos 5 ml de sangre fueron obtenidos de cada caballo. Todos los animales muestreados fueron inspeccionados visualmente con el propósito de detectar posibles signos asociados a la enfermedad. Los resultados de esta inspección inicial y variables como: nombre del propietario y del caballo, ubicación geográfica, edad aproximada, sexo, fin zootécnico y fecha de la toma fueron registrados (Cuadro 7). Las muestras de suero cuyos datos no pudieron ser obtenidos en forma satisfactoria, no fueron incluidas en el estudio. Las muestras fueron transportadas al Laboratorio de Tuberculosis y Brucelosis de la Unidad

de Laboratorios de Diagnóstico del IICV-UABC donde se separó el suero en alícuotas plásticas con capacidad de 1.5 ml y fue congelado a -20° C hasta su posterior procesamiento.

Análisis de laboratorio

Las muestras fueron analizadas con el fin de determinar la presencia de anticuerpos contra el VAIE por medio de un kit comercial Diasystems EIA-AGID (IDEXX Laboratories, Inc. One IDEXX Drive Westbrook, Maine 04092).

El procedimiento fue realizado según las especificaciones del manual para el kit Diasystems EIA-AGID y aquellas indicadas por la OIE (2007). Debido a la falta de agar noble éste se substituyó por agarosa y la concentración del gel fue ajustada a 0.8% ya que al realizarse la prueba con agarosa al 1%, no se obtuvo una adecuada línea de difusión en el gel. Para validar los resultados después de esta modificación se analizaron 7 sueros positivos confirmados anteriormente en el laboratorio de la Universidad de California en Davis (California Veterinary Diagnostics Laboratory System). Se agregaron de 15 a 18 ml de esta solución de agarosa a cada caja de petri (Figura 4), se dejó enfriar a temperatura ambiente y se refrigeró entre 2 y 4° C para su conservación hasta el momento del análisis. Para recortar el gel se empleó un molde de siete pocillos, uno central y seis periféricos, con un diámetro de 5.3 mm y una separación de 2.4 mm (Figura 5). Por cuestiones prácticas se realizaron cuatro cortes diferentes por cada caja de petri (Figura 6).

Se colocó en el pocillo central el antígeno purificado (60 μ L) y los periféricos se llenaron con tres sueros de análisis y tres con el control positivo en forma alternada (100-120 μ L) cuidando siempre que no se desbordara el contenido. Se dejaron incubar las cajas de petri entre 24 y 48 horas a temperatura ambiente en una cámara húmeda. La lectura de las placas se realizó a las 24 y 48 horas bajo una fuente de luz y sobre un fondo negro en busca de líneas de precipitina que indicaran la presencia de anticuerpos en el suero. Se consideró como caso negativo aquel que después de 48 horas no presentaba línea de precipitina entre el pocillo de muestra y el central (antígeno) (Figura 7), mientras que los casos positivos fueron aquellos que presentaron dicha línea (Figura 8). Los resultados obtenidos fueron registrados en el Cuadro número 8.

Análisis estadístico

Se llevó a cabo el análisis descriptivo de la información mediante el programa Medcal 2006 para generar los indicadores de distribución y prevalencia de AIE. La prevalencia de AIE fue calculada, de acuerdo a Martin et al. (1987), como el número de animales positivos dividido entre el número de animales analizados ($3/423 = 0.7$). Se estableció el intervalo de confianza al 95% (IC95) mediante el uso del paquete estadístico PEPI v. 4.0 (Abramson y Gahlinger, 2007).

Resultados

Del total de animales probados ($n = 423$) solo tres resultaron positivos a la detección de anticuerpos contra el VAIE, obteniendo con esto una prevalencia de 0.7% (IC95: 0.146 – 2.059). No se pudo establecer una relación entre la prevalencia de AIE y el sexo ya que cada uno de los casos positivos resultó en categorías diferentes entre sí (un macho entero, un capón y una hembra), lo mismo ocurrió al buscar la relación con fin zootécnico ya que de los tres casos positivos uno era usado para monta de placer, uno para reproducción y uno para carreras. El único segmento que mostró una relación entre los casos positivos fue aquel que los separó de acuerdo a su raza, ya que dos de los tres positivos eran Cuarto de Milla. En la Cuadro 9 se muestra la distribución de los resultados según su fin zootécnico y raza. En las figuras 9, 10 y 11 se presenta la distribución de la muestra según las variables analizadas.

Discusión

De acuerdo a la revisión de literatura realizada, este trabajo de seroprevalencia de AIE en campo resulta uno de los primeros llevados a cabo en el país. Aun cuando la prevalencia encontrada en este estudio es baja comparada con las reportadas en otros países, indica la existencia de animales expuestos al VAIE en esta región. Sin embargo, es importante comentar que en los laboratorios CENASA se ha diagnosticado esta enfermedad ocasionalmente en muestras de animales que son utilizados para fines deportivos, pero nunca dentro de un estudio sistemático en campo.

La baja seroprevalencia encontrada, puede deberse en parte a que en Mexicali y su valle no existe el nicho ecológico para el desarrollo apropiado del tábano, mismo que en otras regiones se ha demostrado como el vector biológico más importante para la diseminación de la AIE (Fenner et al., 1993; Hawkins et al., 1976; Kemmen et al., 1978; Tashjian, 1984; Umphenour et al., 1974; Warner y Morris, 1987). En estudios realizados en diferentes regiones de Venezuela y Brasil, donde la prevalencia de AIE así como la presencia de tábanos es muy alta, se encontró un incremento de estos insectos durante el inicio de la época de lluvias, aumentando hasta alcanzar las mayores poblaciones hacia el final del período lluvioso; así como la migración de la mayoría de los tábanos de las praderas hacia las áreas boscosas. En la zona de Pantanal (Brasil) la precipitación anual es de 1000–1200 mm con una temperatura media de 24.7 y humedad relativa de 72.7%, mientras que en Las Lajas, Miranda (Venezuela) la precipitación anual es de 1036 mm, la temperatura promedio de 27.7° C y un 74% de humedad (Barros, 2000; Velásquez De Ríos et al., 2004). De acuerdo a los datos del Instituto Nacional de Ecología (2007), la temperatura en la zona de Mexicali durante el verano alcanza los 50° C y baja incluso hasta los 0° C en el invierno (media anual > 23° C); en general la precipitación promedio entre 1981 y 1997 fue de 85 mm, un nivel muy bajo si se compara con los lugares antes mencionados. A pesar de que durante la temporada de verano la presencia de tábanos y otros insectos chupadores de sangre es común en la ciudad de Mexicali, no son considerados una población alarmante ya que las condiciones antes mencionadas pudieran servir como control temporal de estos vectores.

Otro factor es la creciente conciencia sanitaria por parte de los médicos veterinarios al igual que de los dueños y/o caballerangos, entre los cuales se ha difundido cada vez más el empleo de medidas higiénicas tal como no utilizar la misma aguja y/o jeringa durante la administración de medicamentos, desinfección de instrumental quirúrgico y dental y la adecuada disposición final de residuos biológicos.

Una limitante adicional para la presencia y diseminación del AIE en la región pudiera ser la distancia existente entre los núcleos de población; aun dentro de un área geográfica relativamente pequeña la distancia entre las poblaciones rurales supera los 160 pies que Issel y Foil (1984), marcan como perímetro seguro, así como las 200 yardas solicitadas por la USDA (Morris, 1998; Warner y Morris, 1987). Aunado a esto, las poblaciones equinas son menores en relación a otros lugares del mundo que presentan problemas para el control de la AIE, lo cual desde un punto de vista numérico no afecta la tasa de prevalencia, pero desde un enfoque práctico disminuye las posibilidades de contacto entre los animales portadores o clínicamente enfermos y los animales sanos.

Con los datos recolectados y debido a la baja prevalencia no se pudo determinar la presencia de tendencias o factores de riesgo para la diseminación de la AIE de forma inicial, sin embargo, tras un seguimiento retrospectivo de los animales positivos encontramos que el fin zootécnico pudiera ser un predisponente. Dos de los tres reactores pudieron ser rastreados durante el pasado año y medio en dos o más lugares como residencia estable (cuadras de preparación, sin contar las salidas a competencias), uno de ellos actualmente se dedica a las carreras parejeras o de carril, el segundo se dedicó en el pasado a las mismas y se encuentra ahora retirado, por su parte el tercero (cuyo fin principal es la cría) es comúnmente utilizado en los carriles como "poneador", es decir, para "calentar" al caballo que correrá y se sospecha que anteriormente también participaba en dichas competencias. Este hallazgo podría ser atribuido al hecho de que los equinos destinados a las carreras presentan un ritmo de movilización exagerado en relación a otros grupos, además que estos caballos son inyectados con una variedad de productos farmacológicos durante el período de preparación para una carrera, en donde los entrenadores en ocasiones no desechan el material de inyección y lo reutilizan en varios animales. Un factor preocupante y que debe tenerse en cuenta es la

tendencia común de automedicar y sobre medicar a estos animales por parte de los caballerangos, lo que implica el uso continuo de jeringas durante las temporadas de carreras.

Muchos de los caballos que ingresan a la región para utilizarse en las carreras “parejeras”, provienen de la zona sur de los Estados Unidos, una zona que se caracteriza por una alta prevalencia de AIE (Cordes e Issel, 1996; Loftin et al, 1990; Morris, 1998; Wright, 1989). Además, los caballos provenientes de otros estados de la República Mexicana, llegan a la región con un estatus sanitario desconocido, ya que actualmente en México no se exige ninguna prueba de AIE para la movilización de equinos.

Finalmente, es necesario mencionar que la mayoría de las asociaciones o agrupaciones ecuestres de la región, no exige una prueba negativa a AIE en los caballos que se inscriben en las diversas competencias, lo cual implica un alto riesgo para la diseminación de la enfermedad, particularmente cuando asisten caballos de otras partes del estado o del país; esto aunado a la renuencia de los propietarios a sacrificar a los animales positivos argumentando los elevados costos de compra, alimentación, medicación y servicios veterinarios dificultan aún mas la tarea de control en los grupos de equinos deportivos.

Conclusiones y Recomendaciones

La seroprevalencia de AIE en 423 caballos de diversos fines zootécnicos muestreados y diagnosticados por medio de la prueba comercial Diasystems EIA-AGID fue del 0.7% (3/423). Si bien es cierto que la seroprevalencia encontrada en este estudio fue baja e indica poco riesgo de contraer la enfermedad en la población equina, los resultados confirman la exposición de caballos al VAIE y sugieren la posible presencia del virus en la región.

Por lo anteriormente expuesto y usando los resultados obtenidos como fundamento se recomienda que las autoridades estatales establezcan una normatividad zoosanitaria que permita controlar el movimiento hasta ahora indiscriminado de equinos, la creación o certificación de centros de diagnóstico locales con la capacidad de emitir resultados de valor oficial federal, así como la certificación a Médicos Veterinarios como auxiliares en las tareas de control.

Los siguientes puntos fueron tomados del Código Administrativo del Estado de Arizona, Estados Unidos (el cual es básicamente el mismo para el resto de los estados Norteamericanos) y podrían ser considerados para incluirlos un programa de control de Anemia Infecciosa Equina en el estado de Baja California.

La legislación deberá establecer con carácter de obligatorio la realización de la prueba de Coggins para:

1. Equinos que deseen ingresar al estado.
2. Equinos que deseen entrar a instalaciones de recepción comunitarias como hipódromos o centros de cría.
3. Equinos que se movilen dentro del estado para cualquier fin.

En aquellos que resulten positivos, el centro de diagnóstico, los veterinarios certificados y las autoridades estatales correspondientes deberán vigilar el procedimiento a seguir:

1. Aislamiento y cuarentena del animal positivo hasta que se repita la prueba de Coggins, ELISA, PCR o cualquier otra autorizada para la confirmación.
2. En caso de resultar positivo el caballo deberá ser marcado mediante hierro y/o tatuaje en un área visible y con un tamaño apropiado (5 o más cm) dentro de los siguientes 14 días,
3. Dentro de los siguientes 10 días se deberá sacrificar de manera humanitaria al caballo y disponer de sus restos de forma adecuada
4. En el caso de potrillos provenientes de yeguas positivas deberán ser cuarentenados y muestreados al cumplir los 6 meses. En caso de resultar positivos se dispondrá de ellos según el punto anterior.

Una vez establecidas las normas sanitarias para el control y/o erradicación de la AIE, los datos obtenidos en el (los) centro(s) de diagnóstico servirán para vigilar mas estrechamente la evolución de la enfermedad. De mantenerse una tasa de prevalencia similar se vuelve más difícil el proceso de muestreo de los animales y el posterior diagnóstico de AIE, sin embargo, se vuelve más sencilla la tarea de establecer medidas de control.

Literatura Citada

- Abramson, J.H. and P.M. Gahlinger. 2007. Computer Programs for Epidemiologic Analyses: PEPI v. 4.0. Available at: <http://sagebrushpress.com/pepibook.html>.
- Andreotti, P.E., G.V. Ludwig, A.H. Peruski, J.J. Tuite, S.S. Morse and L.F. Peruski Jr. 2003. Immunoassay of Infectious Agents. *BioTechniques* Vol. 35, p 850-859. From: <http://medicine.iu.edu/documents/iusm-nw/AndreottiBiotech03.pdf>.
- Ataseven, V.S. and H.H. Arslan. 2005. Equine Infectious Anemia in Mules, Donkeys, and Horses: Epidemiologic Studies in the Different Geographic Regions of Turkey. *Journal of Equine Veterinary Science* Vol 25, p 439-441.
- Baccam, P., R.J. Thompson, Y. Li, W.O. Sparks, M. Belshan, K.S. Dorman, Y. Wannemuehler, J.L. Oaks, J.L. Cornette and S. Carpenter. 2003. Subpopulations of Equine Infectious Anemia Virus Rev Coexist In Vivo and Differ in Phenotype. *J. Virol.* Vol. 77, No. 22, p 12122-12131. From: <http://jvi.asm.org/cgi/reprint/77/22/12122.pdf>.
- Barajas, J.A. Universidad Autónoma De México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Microbiología e Inmunología. Comunicación personal.
- Barajas, J. A., R. I. Orea y G. C. Juárez. 2006. Epidemiología de Virus de Anemia Infecciosa Equina en el Estado de Chiapas, México, Frontera con Guatemala. Memorias PANVET, Santiago de Chile, del 13 al 16 de Noviembre de 2006.
- Barros, A. T. M. 2001. Seasonality and Relative Abundance of *Tabanidae* (Diptera) Captured on Horses in the Pantanal, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 96 (7), p 917-923. From: www.scielo.br/pdf/mioc/v96n7/4319.pdf.
- Berríos, P. 2005. Actualización sobre Enfermedades Virales de los Equinos. *Mon. Electr. Patol. Vet.* 2005, Vol. 2 (1), p 34-59. From: www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET1-2005/PDF/MEPAVET09.pdf.
- Burns, S.J. 1974. Equine Infectious Anemia: Plasma Clearance Times of Passively Transferred Antibody in foals. *JAVMA*, Vol. 164, No. 1, p 64-65.
- Campbell, C.T. and S.R. Nusbaum. 1991. Epidemiologic Importance of Interstate Transport of Equids Infected with Equine Infectious Anemia Virus. *JAVMA*, Vol. 198, No. 8, p 1332-1333.
- Carlson. G.P. and J.A. Zinkl. 1983. Hemolytic Anemia, in: *Current Therapy in Equine Medicine*. Robinson, N.E. Editor. W.B. Saunders Company. United States of America. p 299-302.

- Carrier, S.P., P. Boulanger and G.L. Bannister. 1973. Equine Infectious Anemia: Sensitivity of the Agar-gel Immunodiffusion Test, and the Direct and the Indirect Complement-fixation Tests for the Detection of Antibodies in Equine Serum. *Can. J. Comp. Med.* Vol. 37, p 171-176. From: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1319748&blobtype=pdf>.
- Coggins, L. 1984. Carriers of Equine Infectious Anemia Virus. *JAVMA*, Vol. 184, No. 3, p 279-281.
- Coggins, L. and J.A. Auchnie. 1977. Control of Equine Infectious Anemia in Horses in Hong Kong. *JAVMA*, Vol. 170, No. 11, p 1299-1301.
- Comision Federal de Mejora Regulatoria. Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-017-ZOO-2004. De: <http://www.cofemermir.gob.mx/uploadtests/4769.59.59.1.NOM-EM-017-MODIFICADA.doc>.
- Cordes, T. and C. Issel. 1996. EIA: a Status Report on Its Control, 1996. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. From: <http://www.aphis.usda.gov/vs/nahps/equine/eia/eia-1996.pdf>.
- Cordes, T.R., C.J. Issel, E.N. Ostlund and B.J. Schmitt. 2004. Equine Infectious Anemia: 2001 Update. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. From: www.aphis.usda.gov/lpa/pubs/pub_aheia04.pdf.
- Del Valle-Molina, J.A. 2002. Cuestionario FAO/OIE/OMS - 2002 México. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). De: <http://web2.senasica.sagarpa.gob.mx/xportal/dgsa/czoo/Doc537/>.
- Del Valle-Molina, J.A. 2004. Cuestionario FAO/OIE/OMS - 2004 México. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). De: http://web2.senasica.sagarpa.gob.mx/xportal/dgsa/czoo/Doc1838/Informe_OIE_2004.pdf.
- Department of Agriculture, Fisheries and Food. 2007. Equine Infectious Anaemia (EIA) Update - 21 March 2007. From: http://agriculture.gov.ie/index.jsp?file=animal_health/EIA/EIA.xml.
- Fenner, F.J., E.P.J. Gibbs, F.A. Murphy, R. Rott and M.J. Studdert. 1993. *Veterinary Virology*. Academic Press, 2nd Ed. p 561-594.
- Google Earth Ver. 3.0.0762. Google Inc, 1600 Amphitheatre Parkway, Mountain View, CA 94043, United States.
- Hall, R.F., A.R. Pursell, J.R. Cole and B.C. Youmans. 1988. A Propagating Epizootic of Equine Infectious Anemia on a Horse Farm. *JAVMA*, Vol. 193, No. 9, p 1082-1084.

- Hawkins, J.A., W.V. Adams, B.H. Wilson, C.J. Issel and E.E. Roth. 1976. Transmission of Equine Infectious Anemia Virus by *Tabanus fuscicostatus*. JAVMA, Vol. 168, No. 1, p 63-64.
- Heinemann, M.B., A. Cortez, M.C.C. Souza, T. Gotti, F. Ferreira, V.S.F. Homem, J.S. Ferreira Neto, R.M. Soares, S.M. Sakamoto, E.M.S. Cunha y L.J. Richtzenhain. 2002. Soroprevalência da Anemia Infecciosa Equina, da Arterite Viral dos Equinos e do Aborto Viral Equino no Município de Uruará, PA, Brasil. Braz. J. vet. Res. Anim. Sci. São Paulo, Vol. 39, No. 1, p 50-53. De: <http://www.scielo.br/pdf/bjvras/v39n1/15799.pdf>.
- Held, J.P., M.D. McGavin and D. Geiser. 1983. Ataxia as the Only Clinical Sign of Cerebrospinal Meningitis in a Horse with Equine Infectious Anemia. JAVMA, Vol. 183, No. 3, p 324-325.
- Henson, J.B., J.R. Gorham, K. Kobayashi and T.C. McGuire. 1969. Immunity in Equine Infectious Anemia. JAVMA, Vol. 155, No. 2, p 336- 343.
- Instituto Nacional de Ecología. 2007. Programa para Mejorar la Calidad del Aire de Mexicali 2000-2005; Capítulo 4, Calidad del aire; 2, Condiciones meteorológicas. De: <http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/236/cap4.htm>.
- Issel, C.J. and R.F. Cook. 1993. Review Article: A Review of Techniques for the Serologic Diagnosis of Equine Infectious Anemia. J Vet Diagn Invest 5: p 137-141. From: <http://jvdi.org/cgi/reprint/5/1/137.pdf>.
- Issel, C.J. and L.D. Foil. 1984. Studies on Equine Infectious Anemia Transmission by Insects. JAVMA, Vol. 184, No. 3, 293-297.
- Issel, C.J. and W.V. Adams. 1979. Serologic Survey for Equine Infectious Anemia Virus in Louisiana. JAVMA, Vol. 174, No. 3, 286-288.
- Issel, C.J., W.V. Adams, L. Meek and R. Ochoa. 1982. Transmission of Equine Infectious Anemia Virus from Horses without Clinical Signs of Disease. JAVMA, Vol. 180, No. 3, p 272-275.
- Jacobo, R.A., C.A. Storani, A.O. Miranda, G.M. Stamatti, M.F. Cipolini, J.P. Resoagli, M. Deco, D. Alfonso y G. Juri Chagra. 2001. Anemia Infecciosa Equina en la Región del Noroeste de la Provincia de Corrientes. Cátedra de enfermedades infecciosas - Facultad de Cs. Veterinarias - UNNE. De: <http://www.unne.edu.ar/cyt/2001/4-Veterinarias/V-003.pdf>.
- Jacobo, R.A., G.L. Juri Chagra, G.M. Stamatti y C.A. Storani. 2002-1. Identificación de Falsos Positivos en el Diagnóstico Serológico de Anemia Infecciosa Equina. Cátedra de enfermedades infecciosas - Facultad de Cs. Veterinarias - UNNE. De: <http://www.unne.edu.ar/cyt/2002/04-Veterinarias/V-056.pdf>.

- Jacobo, R.A., G.M. Stamatti, M.F. Cipolini, C.A. Storani, A.O. Miranda, J.P. Resoagli y G. Juri Chagra. 2002-2. Anemia Infecciosa Equina en Once Departamentos de la Provincia de Corrientes. Cátedra de enfermedades infecciosas - Facultad de Cs. Veterinarias - UNNE. De: <http://www.unne.edu.ar/cyt/2002/04-Veterinarias/V-057.pdf>.
- Kemmen, M.J., D.S. McClain and J.G. Matthyse. 1978. Role of Horse Flies in Transmission of Equine Infectious Anemia from Carrier Ponies. JAVMA, Vol. 172, No. 3, p 360-362.
- Knowles, R.C. 1969. Equine Infectious Anemia (EIA): the Facts Before the Furor. JAVMA, Vol. 155, No. 2, p 327-331.
- Knowles, R.C. 1984. An Overview of Equine Infectious Anemia Control and Regulation in the United States. JAVMA, Vol. 184, No. 3, p 289-292.
- Leroux, C., J. Cadoré and R. Montelaro. 2004. Equine Infectious Anemia Virus (EIAV): What Has HIV's Country Cousin Got to Tell Us? Vet. Res. Vol. 35, p 485-512. From: www.edpsciences.org/articles/vetres/pdf/2004/04/V4012.pdf.
- Loftin, M. K., J. F. Levine, T. McGinn and L. Coggins. 1990. Distribution of Equine Infectious Anemia in Equids in Southeastern United States. JAVMA, Vol. 197, No. 8, p 1018-1021.
- Martin, S.W., A.H. Meek and P. Willenberg. 1987. Sampling methods in: Veterinary Epidemiology; Principles and Methods. Iowa State University Press. United States of America. p 22- 38.
- Maury, W., P.J. Wright and S. Bradley. 2003. Characterization of a Cytolytic Strain of Equine infectious Anemia Virus. J. Virol. Vol. 77 No. 4, p 2385-2399. From <http://jvi.asm.org/cgi/reprint/77/4/2385.pdf>.
- Mayo C. and J. Maulsby. 2006. Equine Infectious Anemia Cases Found in Colorado. Lab Lines; Colorado State University Veterinary Diagnostic Laboratories. Volume 11, No. 2, p 6-7. From: <http://www.dlab.colostate.edu/webdocs/general/2006Fall.pdf>.
- McClure, J.J., W.A. Lindsay, W. Taylor, R. Ochoa, C.J. Issel and S.J. Coulter. 1982. Ataxia in Four Horses with Equine Infectious Anemia. JAVMA, Vol. 180, No. 3, 279-283.
- Morris, D.D. 1998. Diseases of the hemolymphatic system, in: Equine Internal Medicine. Edited by Reed, S.M. and W.M. Bayly. W.B. Saunders Company. United States of America. p 558-570.
- Murga, J.A. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Dentistas de Equinos, A.C. Comunicación personal.

Myers, W.L., D. Segre and A. El-Zein. 1969. Equine Infectious Anemia: Reports of Progress in Research. JAVMA, Vol. 155, No. 2, p 352-354.

OIE (Office International des Epizooties). 2007. De: <http://www.oie.int>.

Paré, J. and C. Simard. 2004. Comparison of Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assays and Agar Gel Immunodiffusion Tests for the Serodiagnosis of Equine Infectious Anemia. The Canadian Journal of Veterinary Research, Vol. 68, p 254-259.

Richter, W. 1987. Anemia infecciosa de los équidos, en: Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. Beer, J. Editor. Acribia, 1ª edición. Zaragoza, España. p 222-229.

Rooney, J.R. and J.L. Robertson. 1996. Equine Pathology. Iowa State University Press, 1st ed. Iowa, United States of America. p 316-317, 351-354.

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. 1994. Acuerdo Mediante el cual se Enlistan las Enfermedades y Plagas Exóticas y Enzoóticas de Notificación Obligatoria en los Estados Unidos Mexicanos. De: web2.senasica.sagarpa.gob.mx/xportal/dgsa/czoo/Doc2111/ACUERDO_enfermedades_exeticas_enzooticas.pdf.

Sellon, D.C. 1997. Hemolytic anemia, in: Current Therapy in Equine Medicine 4. Edited by Robinson, N.E. Saunders Company. United States of America. p 278-282.

Silva, R.A.M.S., U.G.P. de Abreu y A.T.M. de Barros. 2002. Anemia Infecciosa Equina: Epizootiología, Prevenção e Controle no Pantanal. Embrapa Pantanal. 2ª Ed. Corumbá, Brasil. De: www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq_pdf=CT29.

Sugiura, T., T. Kondo, T. Matsumura, H. Imagawa, M. Kamada and T. Ihara. 1995. Field Application of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Screening of Equine Infectious Anemia. J. Equine Sci. Vol. 6, No. 1, p 15-20. From: http://www.jstage.jst.go.jp/article/jes/6/1/15/_pdf.

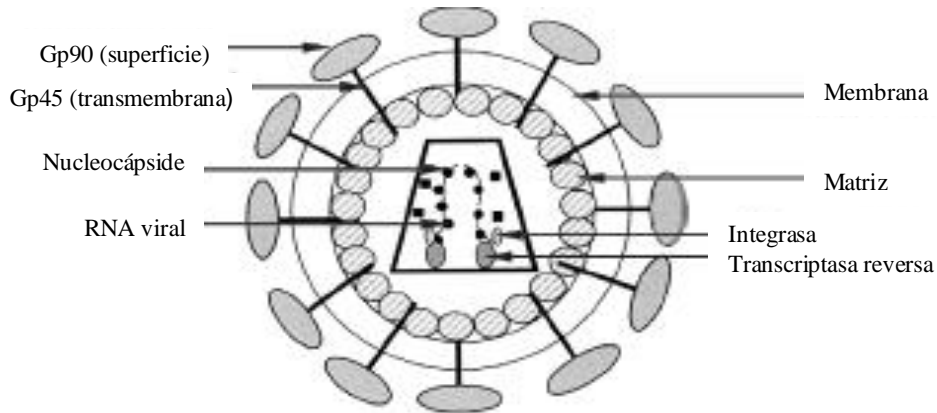
Tashjian, R.J. 1984. Transmission and Clinical Evaluation of an Equine Infectious Anemia Herd and their Offspring over a 13-Year Period. JAVMA, Vol. 184, No. 3, p 282-288.

Tencza, S.B., K.R. Islam, V. Kalia, M.S. Nasir, M.E. Jolley and R.C. Montelaro. 2000. Development of a Fluorescence Polarization-Based Diagnostic Assay for Equine Infectious Anemia Virus. J. Clin. Microbiol. Vol. 38, No. 5, p 1854-1859. From: <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/38/5/1854.pdf>.

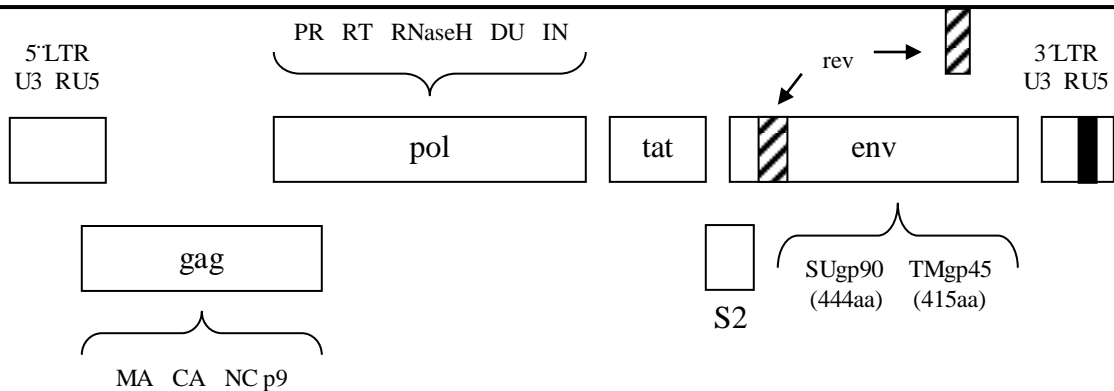
Tizard, I.R. 2002. Inmunología Veterinaria. McGraw-Hill Interamericana. 6ª Ed. Mexico. P 289-302.

- Turan, N., H. Yilmaz, A. Uysal and A. Arslan. 2002. Seronegative Findings on the Investigations of Equine Infectious Anemia in the Marmara Region of Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 26, p 299-302. From: <http://www.journals.tubitak.gov.tr/veterinary/issues/vet-02-26-2/vet-26-2-16-0102-13.pdf>.
- Umphenour, N.W., M.J. Kemen and L. Coggins. 1974. Equine Infectious Anemia: A Retrospective Study of an Epizootic. *JAVMA*, Vol. 164, No. 1, p 66-69.
- USDA-APHIS-VS. 2002. Equine Infectious Anemia: Uniform Methods and Rules, Effective March 1, 2002. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. From: <http://www.aphis.usda.gov/lpa/pubs/eiaumr.pdf>.
- Velásquez De Ríos, M., Z. Tiape, I. Gorayeb y R. Tamasaukas. 2004. Abundancia Estacional de Tabánidos (Diptera: *Tabanidae*) en el Sector Las Lajas, Municipio Miranda, Estado Guárico, Venezuela. *Entomotropica* Vol. 19, No. 3, p 149-152. From: <http://redpav.avepagro.org.ve/ojs/index.php/entomotropica/article/viewFile/125/124>.
- Warner A. and D.D. Morris. 1987. Hemolytic anemias, in: *Current Therapy in Equine Medicine 2*. Edited by Robinson, N.E. Saunders Company. United States of America. p 295-300.
- Wise, D.J. y G.R. Carter. 2005. Replicación y genética viral. En: *A Concise Review of Veterinary Virology*. Editado por Carter G.R., D.J. Wise y E.F. Flores. De: http://www.ivis.org/advances/carter/Part1Chap3_es/chapter.asp?LA=2.
- Wise, D.J., G.R. Carter, y E.F. Flores. 2005. Prevención de las enfermedades virales, vacunas y fármacos antivirales. En: *A Concise Review of Veterinary Virology*. Editado por Carter G.R., D.J. Wise y E.F. Flores. De: http://www.ivis.org/advances/carter/Part1Chap6_es/chapter.asp?LA=2.
- Wright, B. 1989. Equine Infectious Anemia (Swamp Fever), (reprinted 1995). Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. From: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/horses/facts/89-114.htm#top>.

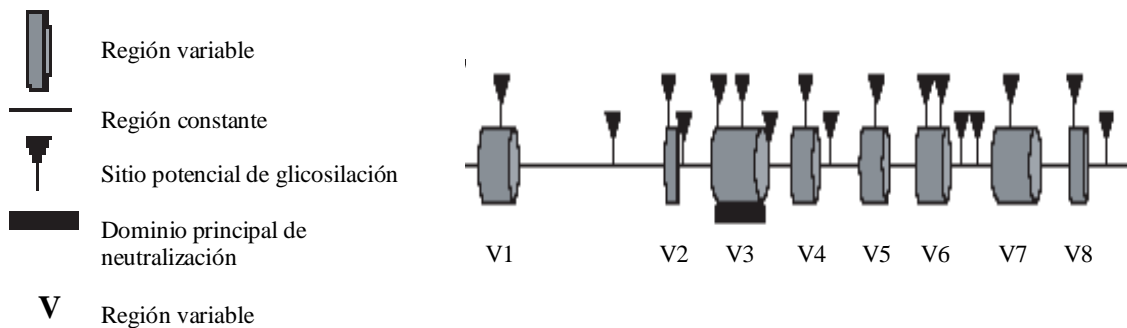
A. Virión



B. Organización del genoma proviral **



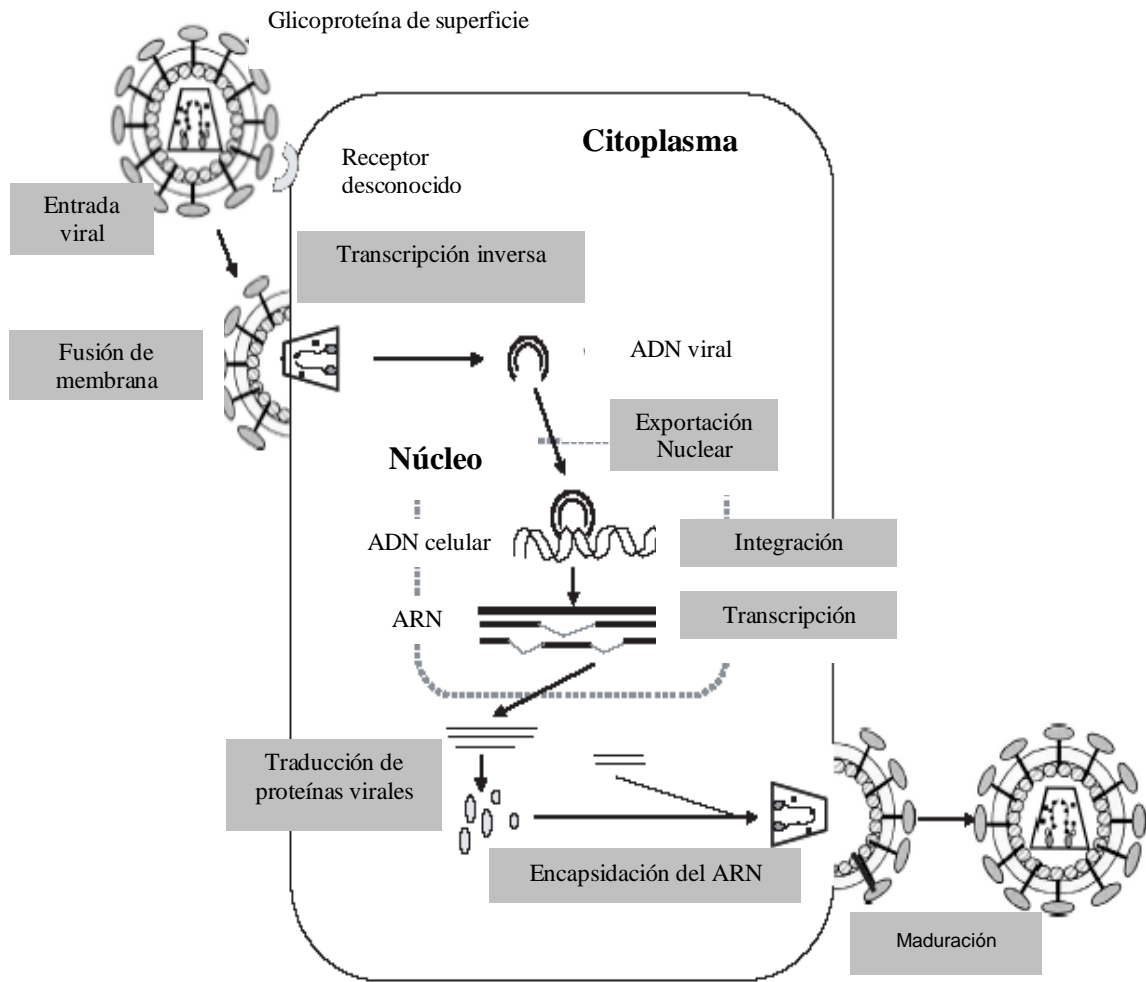
C. Organización de la glicoproteína de superficie (gp90)



Adaptado de Leroux et al., 2004

Figura 1. Estructura esquemática del virión del VAIE (A) y genoma proviral (B). La organización detallada de la glicoproteína de superficie gp90 (C) se describe con la posición de las regiones variables.

** LTR: Long Terminal Repeat; MA: matrix; CA: cápside; NC: nucleocápside; PR: proteasa; RT: reverso transcriptasa; DU: dUTPasa; IN: integrasa; SU: superficie; TM: transmembrana.



Adaptado de Leroux et al., 2004

Figura 2. Ciclo retroviral. Representación esquemática del ciclo del VAIE dentro de la célula huésped.

No. De potro	Días de edad en que resultado:		
	Positivo*	Débilmente positivo**	Negativo †
1	69		131, 180
2	13	75	124
3		34	96, 145
4	13	75	124
5		21	85, 134
6	51	113	162
7	26	81, 131	167
8	3	65, 114	150
9	13	24, 75, 124	160
10			65, 127, 176
11	92	120, 155	182, 218, 269
12		57, 85	120, 147, 183, 232
13	12, 40, 75	102	138, 179
14		75, 103, 138	165, 174
15	30	58	93, 120, 156
16	5, 110	33, 68	95 (muerte al día 116)
17	2, 37, 64, 100	141	169, 218
18	28, 58, 105	85	Muerte al día 99
19	19, 60, 88	137	160
20	21, 62, 90		139

* Positivo indica una línea definida entre el antígeno y el suero a las 48 horas. ** Débil positivo indica una línea débil entre el antígeno y el suero a las 48 horas. † Negativo indica la ausencia de línea entre el antígeno y el suero a las 48 horas.

Adaptado de Burns, 1974

Cuadro 1. Resultados de la prueba de AGID en potros

Departamento	Muestreados	Negativos	Positivos	Porcentaje de positivos
Berón de Estrada	68	57	11	16.2
Capita	138	108	30	21.7
Empedrado	98	79	20	20.4
General Paz	93	74	19	20.4
Itatí	22	18	4	18.2
Mburucuyá	79	62	17	21.5
San Cosme	250	238	12	4.8
S. Luis del Palmar	98	65	33	33.7
Totales	846	700	146	17.3

Jacobo et. al., 2001

Cuadro 2. Prevalencia de AIE en ocho departamentos en la región noroeste de la provincia de Corrientes, Argentina, durante el año 2000.

Departamento	Muestreados	Negativos	Positivos	Porcentaje de positivos
Berón de Estrada	47	33	14	29.8
Bella Vista	82	67	15	18.3
Capita	394	343	51	12.9
Concepción	70	52	18	25.7
Empedrado	43	30	13	30.3
Itatí	210	181	29	13.8
Mburucuyá	35	28	7	20.0
Saladas	376	240	136	36.2
San Cosme	42	36	6	14.3
S. Luis del Palmar	65	57	8	12.3
San Roque	259	228	31	12.0
Totales	1623	1295	328	20.2

Jacobo et. al., 2002-2

Cuadro 3. Prevalencia de AIE en once departamentos en la región noroeste de la provincia de Corrientes, Argentina durante el año 2001.

Anemia infecciosa equina (B205)				
Año	Focos	Casos	Muertos	Medidas de control
2002	12	18	No se dispone de información	Declaración obligatoria / Cuarentena (y otras precauciones) en la frontera
2004	9	19		Declaración obligatoria / Rastreo/ Cuarentena (y otras precauciones) en la frontera

Frecuencia: Presencia señalada o conocida. Enfermedad limitada a determinadas zonas

Adaptado de Del Valle-Molina, 2002 y 2004

Cuadro 4. Información oficial disponible sobre prevalencia de AIE en México durante los años 2002 y 2004.

Tiempo de incubación	24 horas		48 horas	
	se	sp	se	sp
AGID 1 (EIA antibody Test Kit; VMRD)	99.3% (97.2-99.9%)	100% (99.1-100%)	98.9% (96.7-99.7%)	100% (99.1-100%)
AGID 2 (LAB-EZ/EIA; Synbiotics Corporation)	100% (99.0-100%)	100% (99.1-100%)	100% (99.1-100%)	100% (99.1-100%)

Adaptado de Paré y Simard, 2004

Cuadro 5. Sensibilidad (se) y especificidad (sp) (IC 95%) de dos kits de AGID para la detección de AIE en relación al kit AGID de referencia (Diasystems EIA-AGID; IDEXX Laboratories).

	Lectura espectrofotométrica		Interpretación visual	
	se	sp	se	sp
ELISA 1 (DiaSystems EIA CELISA; IDDEX Laboratories)	100% (99.0-100%)	93% (89.9-95.7%)	99.7% (97.8-100%)	99.7% (98.0-100%)
ELISA 2 (ViraCheck/EIA; Synbiotics Corporation)	100% (99.0-100%)	100% (99.1-100%)	99.7% (97.8-100%)	100% (99.1-100%)
ELISA 3 (SA-ELISA; Centaur)	86.6% (81.1-90.7%)	100% (98.8-100%)	87.0% (81.6-91.1%)	100% (98.8-100%)
ELISA 4 (SA-ELISA-II; Centaur)	97.4% (94.5- 98.9%)	100% (99.0-100%)	94.4% (90.8-96.7%)	99.7% (98.0-100%)

Adaptado de Paré y Simard, 2004

Cuadro 6. Sensibilidad (se) y especificidad (sp) (IC 95%) de cuatro kits de ELISA para la detección de AIE en relación al kit AGID de referencia (Diasystems EIA-AGID; IDEXX Laboratories).

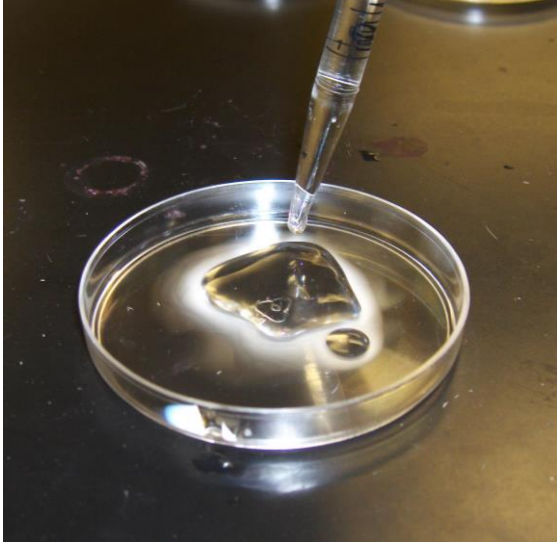


Figura 4. Llenado de las cajas de petri con gel de agarosa al 0.8%.

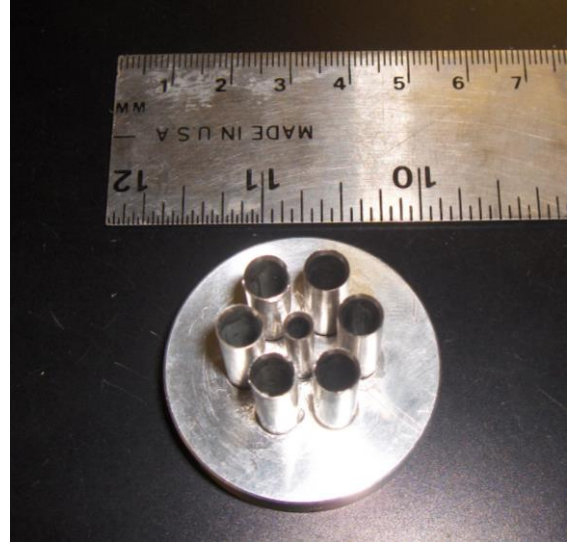


Figura 5. Molde empleado para hacer los pocillos en el gel de agarosa.

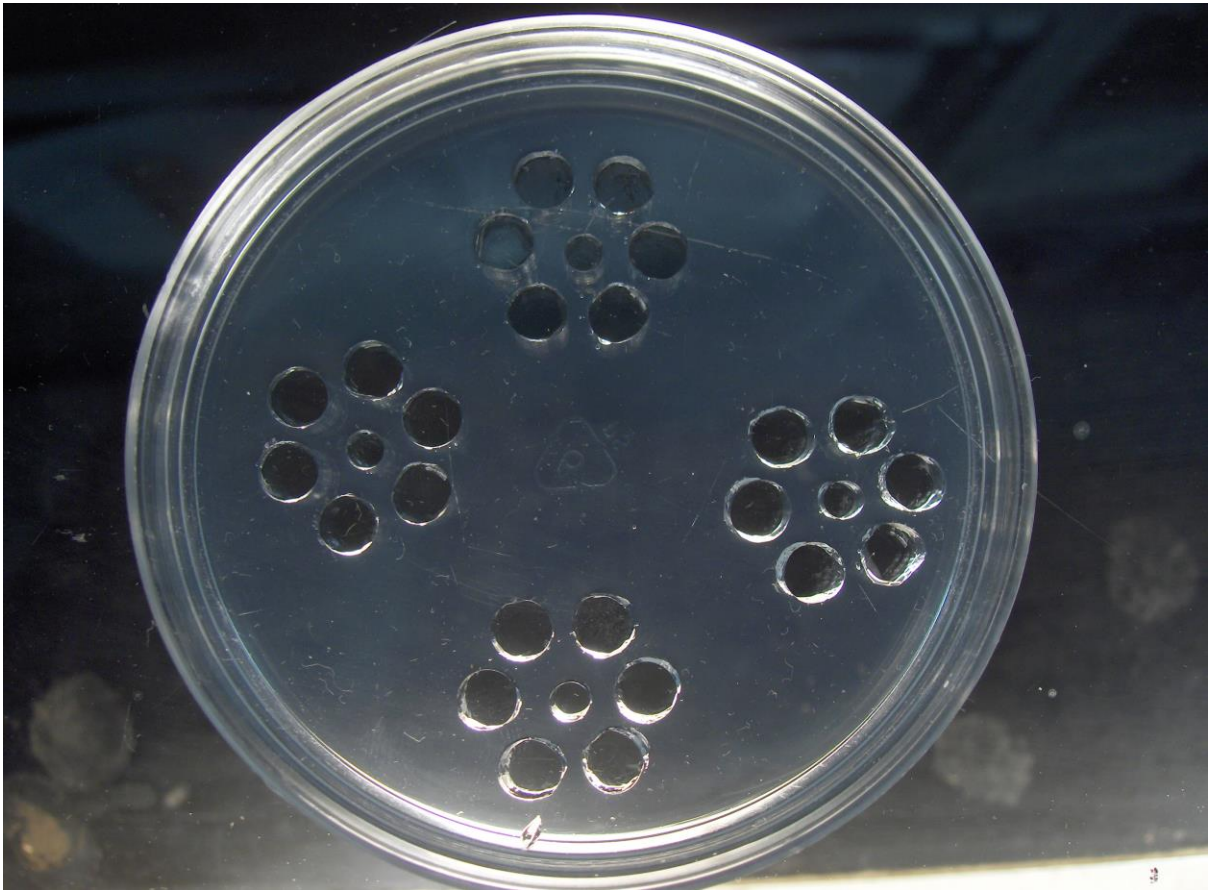


Figura 6. Esquema de las cajas de petri utilizadas para la prueba de AGID - AIE durante el presente estudio. Cada caja permite probar 12 sueros distintos.

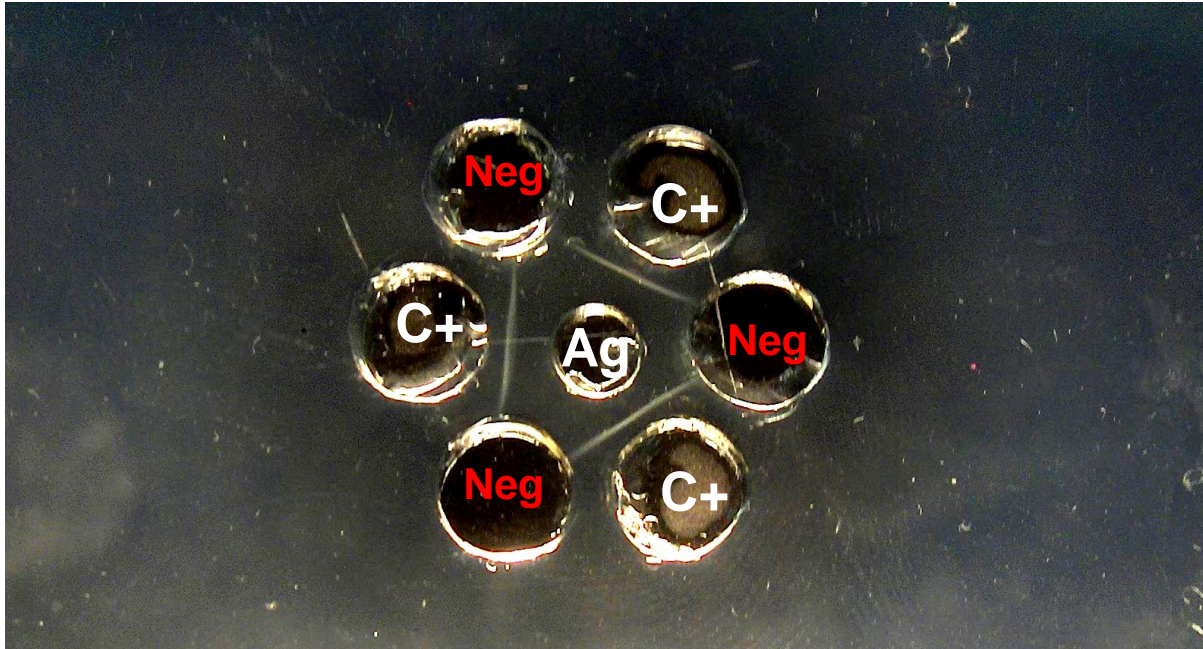


Figura 7. Lectura de resultados a las 48 horas. Las tres muestras fueron negativas. Ag) Antígeno purificado; C+) Control Positivo; Neg) Muestra negativa.

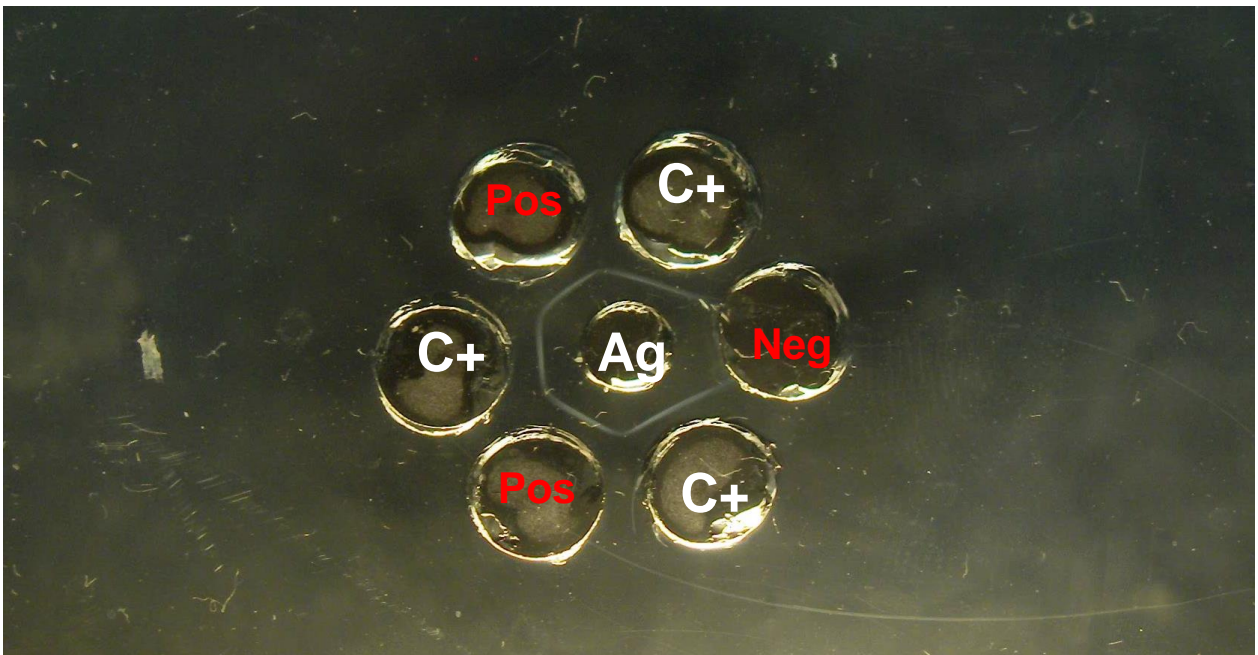


Figura 8. Lectura de resultados a las 48 horas. Dos muestras fueron positivas y una resultó negativa. Ag) Antígeno purificado; C+) Control Positivo; Neg) Muestra negativa; Pos) Muestra positiva.

	Cuarto de milla	Criollo	Pura Sangre	Otros [†]	Total
Placer	67	34 (1 _{Capón})	4	14	119
Cria	55(1 _{Hembra})	22	3	12	92
Charrería	55	2	0	3	60
Trabajo	36	18	1	0	55
Carreras	34(1 _{Macho})	4	1	0	39
Otros ^{††}	21	18	9	10	58
Total	268	98	18	39	423

Cuadro 9. Distribución de la muestra según los criterios de Fin Zootécnico y Raza. Entre paréntesis el número de positivos para ese grupo y su sexo.

Otros [†] En este concepto se incluye: Apendix, Árabe, Azteca, Morgan, Pony, Portugués, Pura Raza Española y Warmblood.

Otros ^{††} En este concepto se incluye: baile, exhibición, investigación, rodeo y salto.

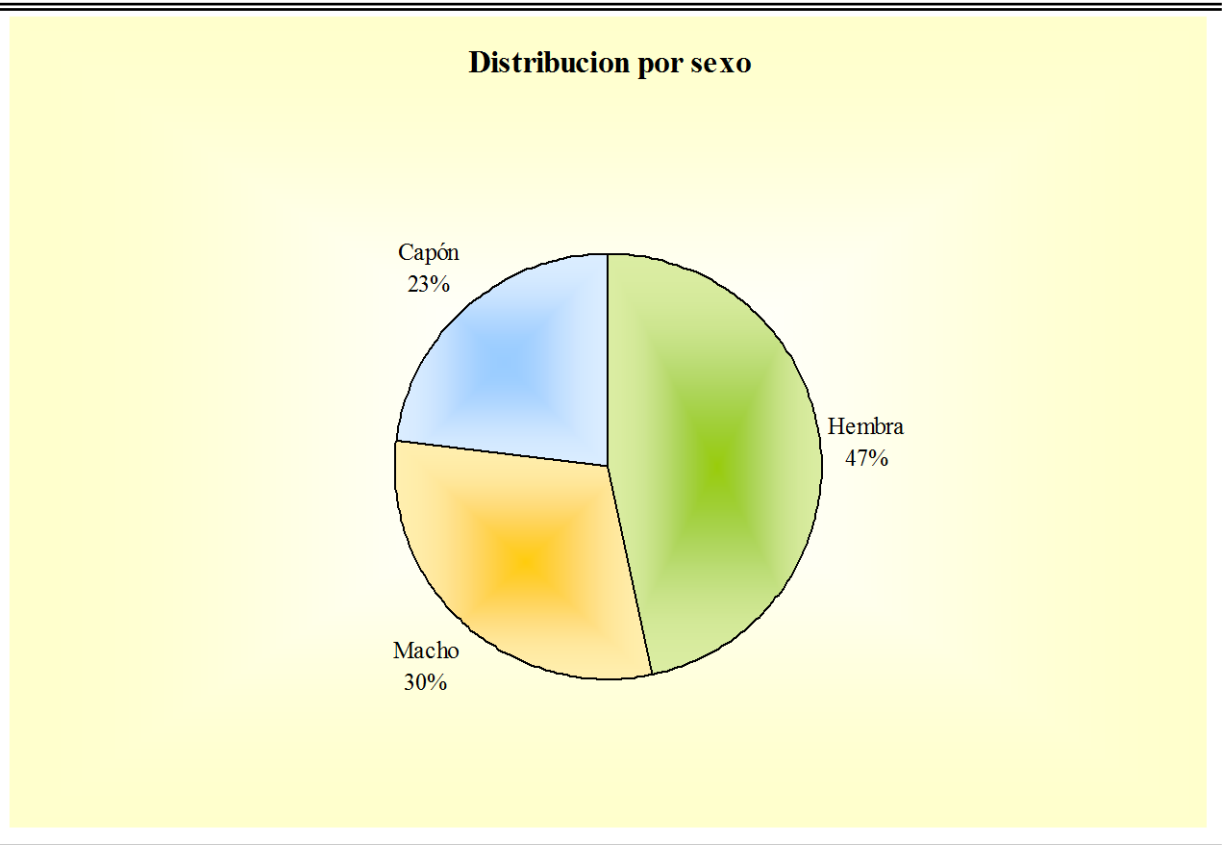


Figura 9. Distribución de los animales en la población mostrada para AIE de acuerdo a su clasificación por sexo.

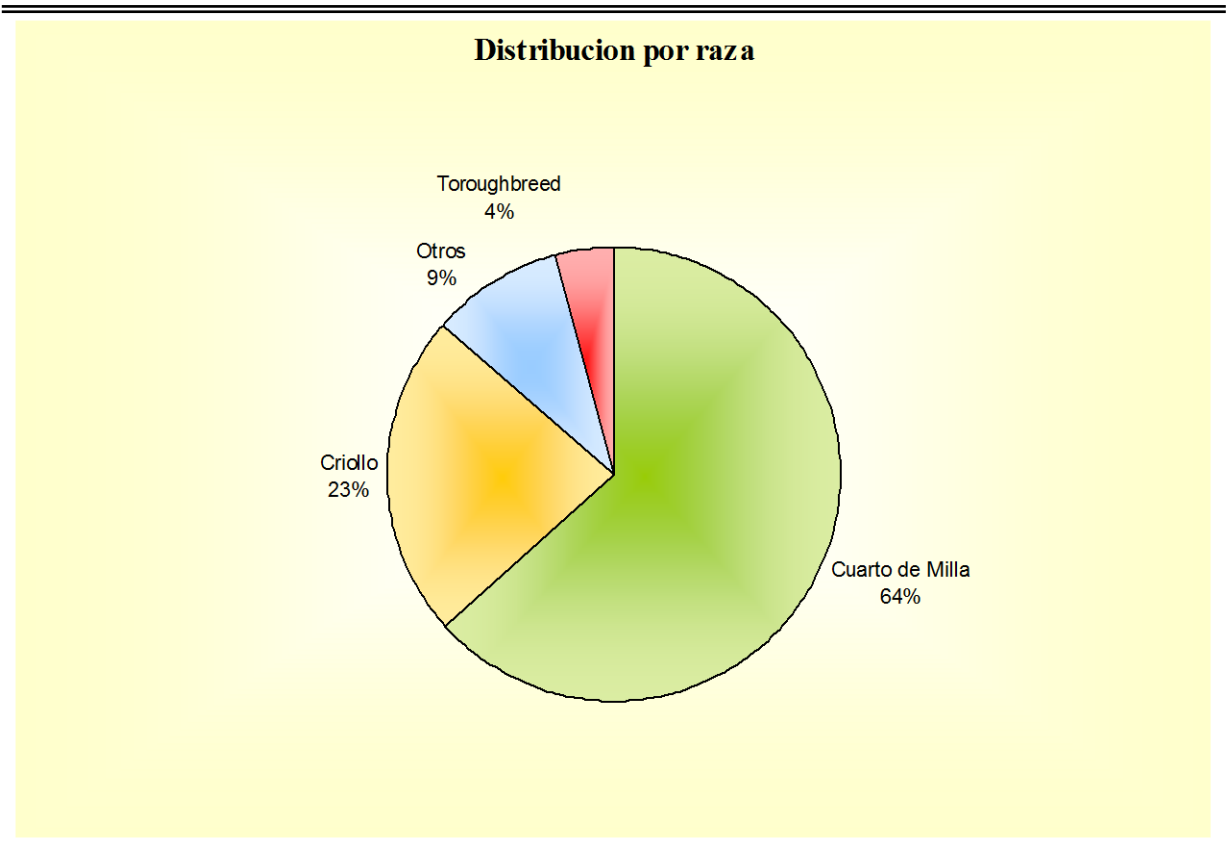


Figura 10. Distribución de los animales en la población mostrada para AIE de acuerdo a su clasificación por raza.

Distribución por fin zootécnico

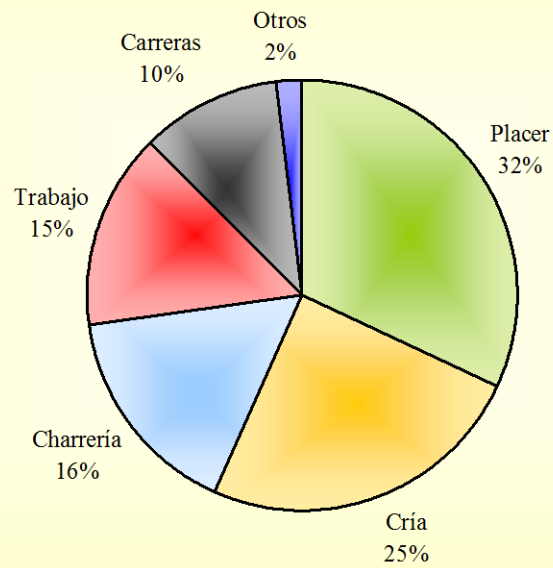


Figura 11. Distribución de los animales en la población mostrada para AIE de acuerdo a su clasificación por fin zootécnico.

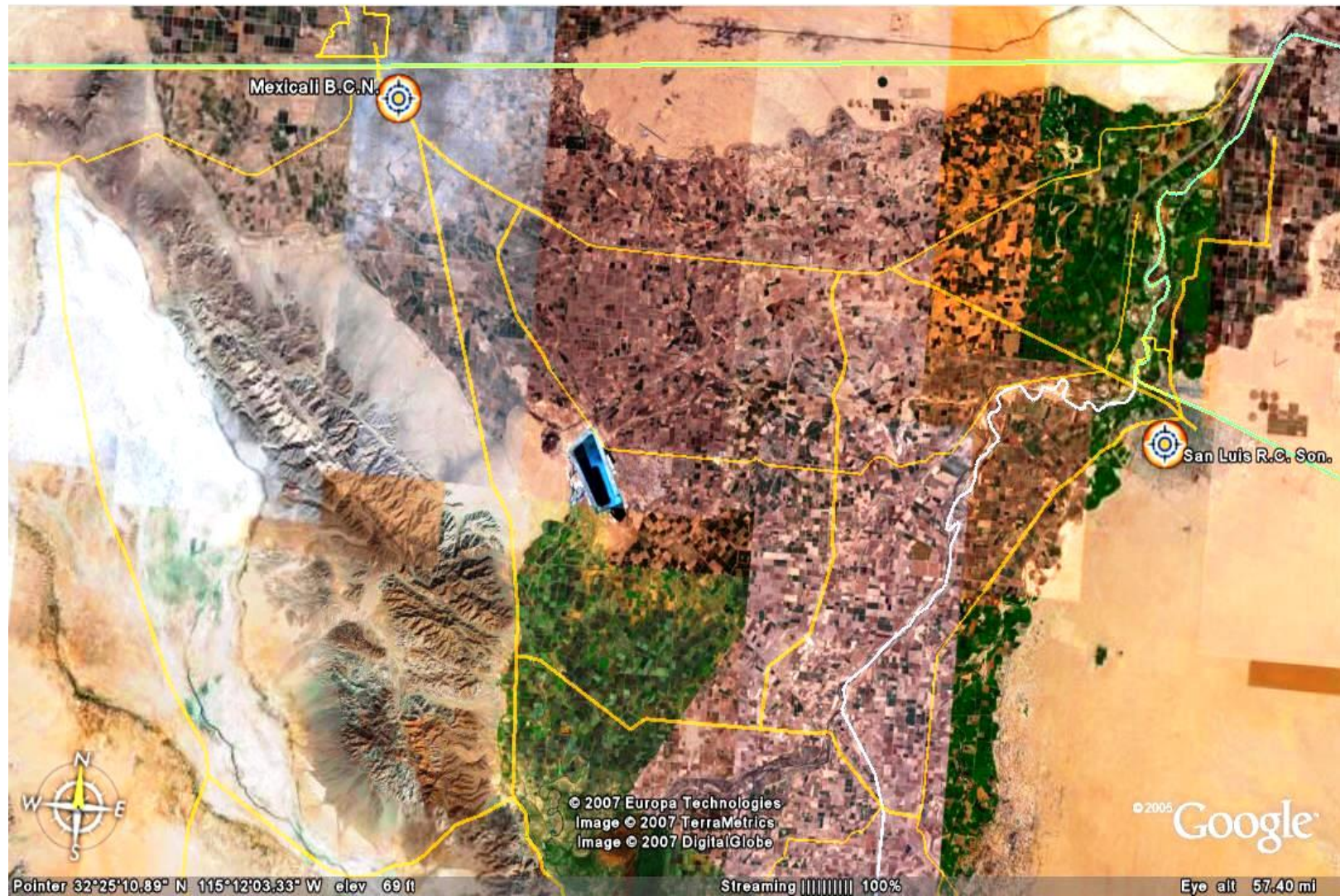


Figura 3. Vista satelital de Mexicali y su valle agrícola. En verde la frontera internacional con los EU, en blanco el límite estatal, en amarillo las carreteras federales y estatales.

