

96
2el.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**PRESENCIA DE ANTICUERPOS
DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA
EN CABALLOS SACRIFICADOS
EN DOS RASTROS DEL ESTADO
DE ZACATECAS, MEXICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

INES VAZQUEZ DEL MERCADO YAÑEZ

ASESOR

MVZ MARIA MASRI DABA



**MEXICO, D.F.
1997.**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PRESENCIA DE ANTICUERPOS DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA EN CABALLOS
SACRIFICADOS EN DOS RASTROS DEL ESTADO DE ZACATECAS, MEXICO.

TESIS PRESENTADA ANTE LA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES
DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DE LA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

POR

INES VAZQUEZ DEL MERCADO YAÑEZ

ASESOR
MVZ MARIA MASRI DABA

MÉXICO. D.F. 1997

DEDICATORIAS

MI MADRE A LA CUAL LE DEBO TODO LO QUE SOY.

MI ABUELA PERSONA QUE ADMIRO POR DARME LAS FUERZAS DE SEGUIR ADELANTE.

XIMENA POR LOS MOMENTOS DE ALEGRIA Y TRISTEZA.

HERNÁN POR SU FORTALEZA

MI FAMILIA POR SU AMOR Y APOYO.

AGRADECIMIENTOS

DESEO AGRADECER A TODAS AQUELLAS PERSONAS E INSTITUCIONES POR SU APOYO
Y DISPOSICION:

DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD ANIMAL.

DIRECCIÓN DE SERVICIOS Y REGISTROS ZOOSANITARIOS.

MVZ RAYMUNDO VARELA

MVZ JAIME CERVANTES VIRAMONTES

MVZ JOSE ENRIQUE VALDEZ GONZÁLEZ

COMITÉ DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS DE LOS EQUINOS (CONASA)

CENTRO NACIONAL DE SERVICIOS DE DIAGNÓSTICO DE SALUD ANIMAL. STA ANA
TECAMAC.

CONTENIDO

	<u>página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS	21
RESULTADOS	23
DISCUSIÓN	25
LITERATURA CITADA	29
FIGURAS	33
CUADROS	36

RESUMEN

VAZQUEZ DEL MERCADO YAÑEZ. INES. Presencia de anticuerpos de Anemia Infecciosa Equina en caballos sacrificados en dos rastros del Estado de Zacatecas, México. (Bajo la dirección de MVZ María Masri Daba).

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la presencia de anticuerpos de AIE en caballos sacrificados en Zacatecas, México. Para la realización de este estudio se utilizaron 963 muestras de suero de caballos sacrificados en dos rastros uno de ellos en Fresnillo y el otro en Jerez ubicados ambos en Zacatecas, éstas fueron tomadas durante dos semanas. Las muestras fueron llevadas al departamento de Virología del Centro de Servicios de Diagnóstico de Salud Animal. Sta Ana TECAMAC, México donde se practicaron pruebas (DiaSystems C-ELISA AIE. IDEXX. Laboratories, Inc., Westbrook, ME) para detectar la presencia de Anemia Infecciosa Equina. Con ésta prueba se obtuvieron en el primer sitio (Fresnillo) 4 muestras positivas de un total de 500 sueros y en el segundo sitio (Jerez) se obtuvieron 22 muestras positivas de un total de 463 sueros. De los resultados obtenidos se concluye que en Jerez, Zacatecas se encuentra con un número mayor de animales positivos a AIE y Fresnillo, Zacatecas en menor grado. Por todo lo anterior se recomienda realizar más estudios con una mayor población e intentar el aislamiento de los animales enfermos y sospechosos.

I- INTRODUCCION

Considerando el impacto económico que ocasiona la anemia infecciosa equina (AIE) y el desconocimiento de datos en la población equina nacional, se realizó el presente trabajo para conocer su situación en dos rastros del estado de Zacatecas, México.

La Anemia Infecciosa Equina (AIE), también denominada "fiebre de los pantanos", es una enfermedad viral propia de la familia equidae, (2.3.11.17.24.27) reportada por primera vez en Francia en el año de 1843, únicamente con la descripción de lo signos clínicos. En 1904 se prueba que la enfermedad es causada por un virus filtrable (3.20).

Debido a la dificultad que implicaba realizar el aislamiento viral, no fue sino hasta principios de 1970 cuando se instituyó un prueba serológica altamente confiable para obtener el diagnóstico de la enfermedad (2.3.4.6.11.20,24). Conocida como inmunodifusión en agar gel (IDAG), esta prueba fue desarrollada en Estados Unidos por el Doctor Leroy Coggins, y fue la única aceptada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) para determinar si un caballo estaba libre de AIE (24). En 1980 se comenzó a utilizar otra prueba serológica con mayor sensibilidad y rapidez que IDAG, ya que ésta mostraba "falsos negativos" en caballos con bajos niveles de anticuerpos. Debido a esto, la USDA aceptó la prueba de C-ELISA como

diagnóstica de AIE (2,6). A partir de 1986 dicha prueba es aceptada oficialmente por el departamento de USDA (24).

La principal vía de transmisión de AIE es por insectos hematófagos, especialmente de la familia Tabanidae, por el uso en diversos animales de material contaminado y transfusiones (3,6,9,11,14,15,17,19,21,23,27,29,32). Una vez que el animal es infectado puede morir o bien recuperarse y comportarse como portador asintomático (3,4,6,8,9,11,23,25,27). Los signos son poco aparentes y generalmente pasan inadvertidos por el dueño y el médico veterinario (3,6).

La AIE ha sido asociada con la mortalidad de equinos en Africa, Asia, Europa y Norte y Sudamérica; además desde 1896 se han reconocido episodios esporádicos de AIE en los Estados Unidos (21). Por lo anterior se considera una enfermedad de mucha importancia a nivel nacional e internacional y de reporte obligatorio, ya que si hay brotes se deben instrumentar medidas de control para evitar su diseminación por otras áreas geográficas. En México el control de la enfermedad está limitado a caballos de valor ya que es necesario presentar el certificado libre de AIE para ingresar en algunos acontecimientos deportivos internacionales. El presente trabajo pretende ampliar el conocimiento de la presencia de la enfermedad en México en caballos sacrificados en dos rastros del estado de

Zacatecas. que sin ser representativos de la población nacional. nos indica que existe la presencia serológica en caballos comunes del campo mexicano. que provienen de múltiples regiones debido a la presencia de acopiadores.

II- ANEMIA INFECCIOSA EQUINA

En 1965 y 1966. debido a la presencia de casos en caballos de carreras y criaderos en la parte noreste de E.U. hubo la necesidad de estudiar esta enfermedad con más detenimiento (24). En 1973. AIE comienza a ser de reporte obligatorio en Estados Unidos (21).

Estudios realizados en Estados Unidos y de acuerdo con las estadísticas del departamento de agricultura en los años de 1972-1975. los anticuerpos del virus de AIE fueron más frecuentes en muestras de caballos provenientes de los estados de la costa del Golfo de Texas. Louisiana. Mississippi. Alabama. y Florida. El alto nivel de caballos infectados en estos estados se relaciona con la extensa disponibilidad en la época del año de insectos hematófagos (18).

Características del virus

La AIE es una enfermedad viral persistente que afecta a caballos y otros equidos como ponies. mulas y burros (4,28). El virus responsable del padecimiento pertenece a la familia Retroviridae. subfamilia lentivirinae. (2,4,5,6,11,17,19,20,21,26) y tiene una reactividad cruzada con el virus tipo 1 y 2 del síndrome de

inmunodeficiencia adquirida (HIV-1 y HIV-2) que aún no se ha demostrado. (2.4.5.6.13.26.32) pero no existe tal reacción con los virus causantes de la artritis encefalitis caprina, maedi-visna ovino y el síndrome de inmunodeficiencia felina (4.5.6.). Es un virus RNA esférico envuelto con un diámetro de 140 nanómetros (4.11.32). Esta cubierto por una capa cónica densa, éste contiene a la enzima transcriptasa reversa, un genoma viral de un peso de 5.5×10^6 dalton y cuatro proteínas no glicosiladas (4.17). El genoma viral codifica tres grandes grupos que son: *gag* (grupo asociado al antígeno), el cual incluye las proteínas estructurales no glicosiladas p26, p15, p11 y p9 (2.4.6.13.20) la principal proteína p26 tiene un peso molecular de 25.000-29.000 daltons que representa el 40% de la masa del virus y presenta determinantes antigénicos, debido a estas características es que la prueba de laboratorio utilizada detecta dicha proteína (6.13.17.20) ; *pol* (polimerasa), también denominada transcriptasa reversa; y *env* (envoltura) formado por las proteínas glicosiladas gp90 y gp45 (2.4.6.11.32). Los anticuerpos específicos pueden ser o no neutralizantes. Si son neutralizantes serán efectivos únicamente contra la cepa involucrada (4.17.33). La enzima transcriptasa reversa es capaz de convertir el RNA viral en una cadena sencilla de DNA o provirus para integrarlo al genoma de la célula huésped, donde se producirán viriones mutantes que evaden la respuesta inmune y

mantienen una infección persistente en el animal, lo que da origen a portadores inaparentes que pueden ser reservorios de la enfermedad de por vida (4,5,6,9,11,17,19,27,28). Este DNA o provirus, puede permanecer latente o inactivo por largos períodos de tiempo con pequeñas variaciones en los genes virales (4,6,28). Y si la célula no expresa antígenos virales, no será reconocida como infectada por el organismo. El estímulo responsable para reactivar el DNA viral no ha sido identificado (4,6). Debido a que la enzima transcriptasa reversa no tiene la capacidad de corregir errores, puede manifestar alteraciones en el copiado del genoma del virus AIE, dando como resultado una alta frecuencia de mutaciones genéticas. Estas, dan como resultado una alteración en los epítomos virales, permitiendo que la nueva variante antigénica escape temporalmente a la respuesta inmune del huésped. Esta variante puede replicarse, elevando nuevamente los títulos y provocando la presencia de otro episodio febril (4,5,6,17,28).

Epidemiología.-

La primera investigación en la transmisión de AIE fue realizada en 1914 trabajando con moscas de establo, moscas de caballos y moscas domésticas. Gracias a ello se logró saber que las moscas de establo eran las responsables de la transmisión de AIE (14). La primera transmisión experimental de AIE por moscas fue reportada en 1917 y el

último estudio realizado con moscas de caballo y moscas de establo fue en 1942 (14.23).

La transmisión ocurre particularmente en los meses de verano en áreas húmedas y pantanosas, tales como la región del Mississippi en Estados Unidos, partes de Sudamérica, Centroamérica, Sudáfrica y el Norte de Australia (11).

La principal vía de transmisión del virus es horizontal y existe también la transmisión vertical (pasaje transplacentario), puede encontrarse el virus en semen, orina, saliva, calostro y leche pero aún no se ha comprobado la transmisión (6,11,17,19,22,31,32). Los fetos infectados pueden nacer muertos o vivos y se consideran como "virus positivo" o posibles seropositivos. La respuesta fetal puede estar relacionada con la edad del feto al momento de la infección (3,17,22).

El virus de AIE no se multiplica en las células de los insectos vivos ni tampoco se mantiene en la población de los mismos. La transmisión de tipo mecánico se lleva a cabo cuando el insecto transfiere sangre de un animal positivo a uno negativo y depende de la interacción de diversos factores (15,17,19,29). Los más importantes parecen ser el título viral en la sangre del animal, los niveles y diversidad de vectores en la población, comportamiento del vector que incluyen factores que afectan la interrupción del insecto en su

alimentación (la alimentación persistente del vector y movimientos defensivos del animal), el acoso continuo del animal por parte del vector y la distancia que separa a los animales infectados de los susceptibles (6,19).

- Títulos virales: Se han encontrado grandes cantidades de virus infectante en suero de caballos clínicamente enfermos $> 10^6$ dosis infectantes HID/ml (3,6,15,17,19), principalmente durante la etapa inicial de la enfermedad y niveles bajos en caballos crónicamente enfermos (11). La incidencia de la transmisión disminuye a partir de caballos con infección crónica debido a las bajas concentraciones de virus en sangre y fluidos corporales (31).

- Comportamiento del vector: Las características del vector que influyen en la transmisión mecánica que incluyen la mordedura dolorosa, el sitio de alimentación en el huésped, y la alimentación persistente por parte del vector (17,19,23). La visión parece ser el mecanismo direccional más importante para localizar al huésped (19).

Una variable que contribuye a la alimentación persistente de los tabánidos es el sitio de alimentación sobre el huésped. Las especies de tabánidos que normalmente se alimentan en la cabeza y cuello del animal, son rechazadas al azar por los movimientos defensivos del animal (patean y mueven la cola), estos de manera frecuente son

interrumpidos debido a su gran tamaño y a su vuelo ruidoso, lo cual atrae la atención del animal (19,23).

Un punto importante es que los mosquitos tienen un gran volumen de secreciones en su proboscido, lo que permite mantener la sangre del animal no coagulada; sin embargo, se realizaron experimentos y estos presentaron inhibidores en su secreción lo que inactiva rápidamente al virus, mantienen la infectividad del virus en su proboscido por lo menos 30min. postalimentación en altas dosis, pero la transmisión no tiene lugar si no es producida por aproximadamente 100 mosquitos, que antes hubieran estado en contacto con un animal en fase aguda (19).

Es por esto que sea más probable que se dé la transmisión por los tabánidos debido a varias razones, por ejemplo la proboscis de los tabánidos es capaz de acarrear mayor cantidad de sangre (arriba 10 nl), además que la mordedura es más dolorosa, lo cual provoca que el animal reaccione interrumpiendo la alimentación (3,6,15,17,19,23,29). Debido a que las moscas actúan solamente como vectores mecánicos en la transmisión de AIE y la acción del virus no dura mucho tiempo dentro de la proboscis (entre 30min. y 4hrs.), se requiere que la mosca comience a alimentarse en un animal infectado e inmediatamente pase a otro animal no infectado (3,6,14,15,17,19,23,27).

- Separación del animal: Es difícil regular la distancia entre animales positivos y animales susceptibles a la enfermedad.

La mayoría de las regulaciones que se han especificado es una distancia de 182 mts (200 yardas). Obviamente, esta distancia puede ser recorrida rápidamente por tabánidos fuertes o bien por mosquitos arrastrados por vientos pero algunos factores importantes deben ser considerados. La razón primaria es que un porcentaje muy bajo de mosquitos son interrumpidos en su alimentación. Aún si hubieran sido interrumpidos y recorrido cierta distancia, la transmisión tiene que ocurrir rápidamente.(15.19.27.28).

El rango de vuelo de las moscas puede exceder 6.4km (4 millas), por lo cual, si el primer animal está separado de otros animales por una distancia de 182 mts o más, es más común que las moscas finalicen su alimentación en el huésped inicial (3.6.15.19).

Stein et al. describieron el significado de la transmisión por excreciones y secreciones; estos estudios incluyen leche, sangre, orina, saliva, heces y semen. Aunque Stein fue incapaz de transmitir experimentalmente la enfermedad por medio de la saliva u orina, debe considerarse como una fuente potencial, especialmente debido a los trastornos renales (6.30.31).

Se les realizó una evaluación de semen a sementales inaparentes positivos a AE y mostraron una disminución en la fertilidad, así como, una disminución en la motilidad, cuenta espermática y anomalía morfológica (6.28.30.31).

Signos clínicos.-

Esta enfermedad puede iniciarse con una fase aguda que se asocia con la primera exposición al virus, con fiebre y hemorragias evidentes de 7 a 30 días postinfección (3,5,6,11,17,24,27) trombocitopenia y, en casos graves anemia y petequias en mucosas (3,6,19,27,28). Los animales en fase aguda de AIE serán seronegativos ya que el sistema inmune no tiene suficiente tiempo para montar una respuesta ante los antígenos virales (6,17). Durante la etapa febril, la mayoría de las veces se localiza una viremia de $> 10^6$ dosis infectantes por ml (HID), además se logra detectar el antígeno viral en tejidos (3,17,19). Esta fase puede no ser vista por el veterinario, a menos que se de un brote epizootico de infección en un grupo de animales (17).

Después de la recuperación de la fase aguda, se presenta una fase subaguda y crónica, en la cual pueden observarse los signos de la enfermedad: edema ventral, fiebre (40.5°C a 41.1°C), anemia severa, glomerulonefritis y pérdida de peso (3,5,6,11,17,19,24,27,28). Durante la etapa febril se pueden encontrar títulos virales altos en suero (viremia) mayores a 10^3 ; además de presentar lesiones microscópicas muy marcadas (17). La primera viremia puede ser detectada de 5 a 7 días postinoculación. Cada episodio febril en caballos infectados esta asociada con la resultante de una variante antigénica del virus de AIE, la cual no es neutralizada por los anticuerpos ya existentes

(4.5.17,20,28). El cese de episodios clínicos en la mayoría de los caballos puede ocurrir porque, eventualmente, el huésped logra neutralizar los epítomos de las variantes antigénicas del virus AIE (4.6.27,28). La mayoría de los caballos se recuperan de manera espontánea de la viremia inicial en varios días, presentándose clínicamente normales por un período de tiempo variable (días a semanas) y después, aparecen estados de fiebre, trombocitopenia y depresión. La frecuencia y la severidad de los episodios febriles ocurren durante los primeros 12 meses postinfección (3.4.5.6.17).

Cuando el animal se expone al virus de la AIE por vía natural o experimental, la mayoría de la réplica viral durante el episodio febril parece ocurrir en macrófagos y no en monocitos circulantes (4.5.6.17,20,32), encontrándose títulos virales en suero, hígado, bazo, nódulos linfáticos, médula ósea, pulmón y riñón (4.5.6.26,28).

Dependiendo de la patogenicidad de la cepa, la cantidad de virus inoculado y la respuesta inmune del animal infectado, el animal puede morir en un tiempo no menor de 4 semanas postinfección, recuperarse de un episodio clínico y presentar un número variable de episodios febriles seguido de muerte, o bien mantenerse como clínicamente normal (3.4.6.9,17). Puede ocurrir viremia en respuesta a la administración de corticosteroides y también puede estar asociada con otro tipo de

estres como es el transporte, ejercicio excesivo o factores ambientales adversos (17,28).

Lesiones patológicas:

Las lesiones más marcadas son esplenomegalia, linfadenopatias, hepatomegalia, anemia, hemorragia visceral, trombosis, edema ventral subcutáneo y emaciación. Las lesiones microscópicas incluyen necrosis linfoide, seguida de una infiltración perivascular de linfocitos en varios órganos, sobre todo en el área periportal del hígado, degeneración grasa, necrosis de células hepáticas e hiperplasia reticuloendotelial en tejido linfoide (3,5,17,28). Aproximadamente el 75% de los animales infectados con virus de AIE presentan glomerulonefritis con proliferación de células mesangiales, epiteliales y engrosamiento de la membrana basal (6,33). Encontramos pequeños depósitos granulares de IgG y del tercer componente del complemento (C3) en toda la base de la membrana glomerular (6).

El desarrollo de lesiones hepáticas microscópicas después de la infección parece estar relacionada con la temperatura elevada. Las lesiones únicamente se observan en caballos con numerosos episodios febriles (16,17,28).

Hallazgos clínicos:

Existe una leucopenia en la fase aguda de la enfermedad, una moderada linfocitosis y monocitosis está asociada muchas veces con la

enfermedad (3.11.17.27.28). Una evidencia de la persistencia viral es la anemia continua, así como hipergamaglobulinemia, disminución en los niveles de complemento C3, depósitos de gamaglobulina e hiperplasia linfoide (4.6).

Inmunopatogénesis.-

Inmediatamente después de la infección, el virus se multiplica en: hígado, bazo, nódulos linfáticos, glándulas adrenales, pulmón y riñón (6.26.28).

La reacción del huésped al virus de AIE involucra tanto la respuesta inmune humoral, como, a la respuesta celular. Al haber una alta concentración de antígeno viral en la circulación y en los tejidos, se produce un aumento en la producción de anticuerpos por la célula huésped. Como resultado tenemos una hipergamaglobulinemia de IgG, IgG(T) e IgM cerca de los 60 días postinfección, especialmente en animales con numerosos episodios febriles (4.6.27.33).

A los 45 días postinfección se detectan anticuerpos hacia la proteína p26 en casi todos los caballos infectados, utilizando la prueba de inmunodifusión en agar gel (3.4.6.8.19.20.27). Estos anticuerpos no son detectados en el suero hasta que se finaliza la etapa febril, por lo que varios investigadores creen que la respuesta celular está involucrada en esta función (6). La mayoría de los caballos que llegan a ser infectados, desarrollan una respuesta

inmune, la cual es detectada entre los 16 a 42 días postinoculación. La respuesta celular continúa y se debe a la persistencia viral. Una evidencia adicional de esta respuesta incluye una hiperplasia linfóide y una hipergamaglobulinemia en caballos con signos crónicos de la enfermedad (15.17).

La mayoría de los anticuerpos producidos tempranamente en la infección por el virus de AIE son específicos contra epítopos de superficie de la glicoproteína gp45 y gp90 (4.6).

La fiebre que presentan los caballos es resultado de la liberación de las citoquinas (interleucinas 1 y 6 y el factor de necrosis tumoral) de los macrófagos infectados (4.6.17), y pueden aumentar por el estímulo de complejos inmunes. Estas citoquinas pueden estar relacionadas con la depresión y la anorexia que se observa en estos animales (6.27).

La trombocitopenia es una de las anormalidades hematológicas más notables dentro de los caballos con episodios febriles (3.4.17.27.28.32). Esta es el resultado de la unión de complejos inmunes infecciosos a plaquetas circulantes por medio de receptores de complemento o fijación del complemento (4.6). Esto puede ocurrir de 3 a 4 días posinfección. Las plaquetas son retiradas de la circulación por macrófagos tisulares del bazo, nódulos linfáticos y células hepáticas de Kupffer (6).

Los animales que sufren de múltiples episodios febriles desarrollan una anemia que va de moderada a severa. La anemia es atribuida a una hemólisis extravascular e intravascular, así como a la depresión de la eritropoyesis de la médula ósea (4.6.11,17,27,28,32,33). Mientras que la vida promedio normal del eritrocito es 140-150 días; en caballos con infección aguda, la vida media del eritrocito es de 27 a 28 días (4.6). En los caballos infectados ocurre una hemólisis intravascular indicada por un aumento en la concentración de hemoglobina en plasma y una disminución en la concentración de haptoglobina en plasma. En estados tardíos de la enfermedad, la vida media del eritrocito varía de 89 a 113 días, sin detectarse cambios en la concentración de la hemoglobina o haptoglobina en plasma, lo que sugiere una hemólisis extravascular (4.6.27,28).

Tratamiento.-

Aunque se haya reportado como relativamente resistente el virus de la AIE en la sangre del animal, existen estudios en los cuales el virus se ha logrado inactivar con una variedad de desinfectantes, tales como hidróxido de sodio, hipoclorito de sodio, componentes fenólicos orgánicos, y clorhexidina. En suero de caballo se ha reportado que existe una inactivación del virus a 58°C por 30 min (17). No existe ningún tratamiento para eliminar el virus de los

animales infectados: los cuidados como el descanso, terapia de fluidos y transfusiones puede ayudar al animal (27,28).

Diagnóstico.-

A partir del descubrimiento en 1940 de "fagocitos" en la sangre de caballos infectados por el virus de AIE y aplicado como diagnóstico, otros investigadores han reportado el uso del procedimiento (12,16).

En caballos infectados en fase aguda, pueden presentarse sideroleucocitos circulantes (células fagocíticas que envuelven al anticuerpo y complemento unido al eritrocito). La detección de estas células fue utilizada como diagnóstico para AIE en Japón y México, y también fue usada como evidencia de AIE en Estados Unidos (3,12). La respuesta inicial fagocítica en caballos infectados experimentalmente ocurre durante el primer episodio febril. Los fagocitos son detectados después de que la fiebre se eleva durante 3 ó 4 días y muchas veces continúan por encima de lo normal después de que la fiebre disminuye. Si la fiebre no se vuelve a presentar, el número de fagocitos disminuye lentamente, pero dicha disminución está marcada por elevaciones y recaídas irregulares. Si existieran ataques repetidos de fiebre, el número de fagocitos alcanzarían niveles altos (16).

Hemograma: Ninguna anomalía en el hemograma de caballos infectados es patognómico para AIE, un número de pruebas son de

ayuda para el diagnóstico clínico de la enfermedad. La disminución de plaquetas, de eritocitos y el volumen del paquete celular es debida a la repetición de episodios febriles (3,17).

AIE puede ser diagnosticada con base en la historia de episodios frecuentes de fiebre, anorexia, ictericia, edema y anemia. De cualquier manera ninguno de estos signos son patognomónicos y pueden estar asociados de manera individual o colectiva con otras enfermedades, incluyendo abscesos abdominales, neumonías crónicas, enfermedad crónica hepática, neoplasia interna, púrpura hemorrágica, arteritis viral equina, y anemia hemolítica autoinmune (17,27,28). El animal infectado produce una respuesta humoral, la cual es detectada a los 12 días postinfección, pero normalmente se convierte en seropositivo a IDAG (la prueba) de 15 a 25 días postinoculación. El periodo de incubación es de 45 días, el cual se define como el tiempo de exposición hasta el primer resultado positivo en la prueba (8,20,27,28).

La detección del virus depende del tipo y sensibilidad de la prueba utilizada. (20,27,28). Muchas pruebas serológicas se han utilizado para el diagnóstico de AIE. La Fijación de complemento fue una de las primeras pruebas utilizadas para la detección de anticuerpos (17,20). De cualquier manera, no ha sido satisfactoria, ya

que la IgG en el caballo realmente no se fija al complemento, por lo tanto una inhibición en la FC es indicativo de la infección (4,17).

La prueba de neutralización no ha sido útil debido a la especificidad de la cepa, así como al bajo de nivel de anticuerpos detectables (17).

Existen tres diagnósticos aprobados por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA):

1.- El diagnóstico por medio de la inoculación es el método más sensible, viejo y confiable. Cerca de 250ml de sangre completa es drenada del animal que se sospecha infectado, inyectándola por vía IV al animal sano. Posteriormente el animal es observado para la manifestación de signos clínicos. A pesar de su confiabilidad, esta técnica es poco usada, porque es cara y se requiere el sacrificio de un animal previamente sano (3,17,27,28).

2.- Inmunodifusión en agar gel (IDAG) o Prueba de Coggins (2,3,4,6,7,8,9,11,15,17,18,19,20,23,24,27,28). Esta prueba detecta la proteína p26 del virus AIE (3,6,20).

3.- C-ELISA (2,3,6,11,17,20,24,25,27). Detecta la proteína p26 del virus AIE (3,6,20).

En el presente trabajo únicamente se utilizó la Prueba C-ELISA debido a su sensibilidad, especificidad, simplicidad y a los resultados favorables obtenidos (24,33). Los resultados de C-ELISA son constantemente positivos para los caballos que resultaron positivos

con la prueba de IDAG (20). Es más sensible y rápida en detectar la respuesta de anticuerpos en caballos con resultado negativo o un positivo débil en la prueba de IDAG (2,3,17,20,24,25).

En un estudio realizado a 420 sueros de caballos, se obtuvo una relación del 100% entre C-ELISA e IDAG. IsseI y sus colegas reportaron que la prueba C-ELISA da resultados positivos a seis muestras que con IDAG eran negativos. Esta prueba tiene la ventaja de ser menos subjetiva que la prueba de IDAG, y puede ser completamente objetiva si se utilizan lectores específicos de ELISA (6,25). La condición del anticuerpo puede ser establecida en dos horas mediante el cambio de coloración (20). La diferencia en los resultados puede deberse al siguiente mecanismo. A la interpretación de un resultado positivo de C-ELISA con un negativo a IDAG es debido a que los niveles bajos de anticuerpos hacia el antígeno p26 son más fácilmente detectados por la prueba de C-ELISA (20).

III. HIPÓTESIS

Por lo anterior no existen informes actuales en México de AIE y se asume que la presencia de anticuerpos es baja en equinos sacrificados en Zacatecas, que representan otro tipo de población a la previamente muestreada en México, siendo caballos unicamente de trabajo de campo.

IV. OBJETIVO

Determinar la presencia de anticuerpos de Anemia Infecciosa Equina (AIE), mediante la prueba de C-ELISA, en equinos sacrificados de dos rastros del estado de Zacatecas, México.

V. MATERIAL Y METODOS

A. Zonas Geográficas.-

Zacatecas es la ciudad capital que se encuentra a 2,946 mts sobre el nivel del mar, colindando al Norte con Coahuila, al Este con San Luis Potosí, al Sur con Guanajuato, Aguascalientes y Jalisco y finalmente al Oeste con éste último y Durango. El clima es seco y templado promedio de 18°C. Consta de 56 municipios siendo Fresnillo el número 010 y Jerez el 020. (10)

1. Rastro TIF-42 ubicado en Av. Plateros#706, Apdo. posta 142, Fresnillo, Zacatecas.
2. Rastro TIF-33 ubicado en Carretera Jerez Sánchez Roman km.27.5, Apdo. postal 7, Jerez, Zacatecas.

B. Muestreo y conservación de la muestra.

- Se obtuvieron muestras sanguíneas de equinos destinados al sacrificio en cada rastro, sin el conocimiento exacto de su procedencia debido a la infinidad de acopiadores en el estado. La muestra se depositó en tubos al vacío sin anticoagulante para

venopunción de 10ml. (Venoject Teruma Medical Corporation Elkton, M.D.), se utilizaron agujas estériles calibre 21 (BECTON DICKINSON and Company, Rutherford New Jersey). El número de animales muestreados fueron 963 durante dos semana.

- Una vez realizado el muestreo, los tubos se conservaron en refrigeración durante 24 hrs., después se decantó el suero en otro tubo separando el coágulo. Realizada la separación, el suero se mantuvo en congelación a -20°C hasta la realización de la prueba diagnóstica.

C. Prueba Diagnóstica.-

Se utilizaron pruebas (DiaSystems C-ELISA AIE. IDEXX. Laboratories, Inc., Westbrook, ME) para detectar anticuerpos contra Anemia Infecciosa Equina. La prueba fue realizada exactamente con base en los lineamientos de la prueba. Las pruebas fueron analizadas en el departamento de Virología del Centro de Servicios de Diagnóstico de Salud Animal, Sta Ana TECAMAC, México.

Interpretación

Los resultados fueron analizados a simple vista, y se compararon los colores de las soluciones en los pocillos de prueba con el control positivo o negativo respectivamente.

- Control negativo: El color del sustrato cambia a azul verdoso oscuro.

- Control positivo: El color del sustrato cambia a verde claro.
- Resultado positivo: Se observa una solución incolora.
- Resultado negativo: Se observa una solución azul verdoso.

VI. RESULTADOS

- **Tabla No. 1.** Número total de animales muestreados, número de animales positivos y porcentaje de animales positivos. En este cuadro se aprecia mayor porcentaje de animales positivos en el rastro de Jerez, Zacatecas.

- **Gráfica No. 1.** Animales muestreados en Zacatecas, Zac.

- **Gráfica No. 2.** Número de animales positivos a AIE en Zacatecas, Zac.

- **Gráfica No. 3.** Porcentaje de animales con presencia de AIE en Zacatecas, Zac.

VII. MEDIDAS DE CONTROL Y PREVENCIÓN DE MOVILIZACIÓN DE GANADO.

Los métodos de control para AIE en Hong Kong demostraron que, la erradicación de la enfermedad es posible cuando toda la población es muestreada y analizada y los animales infectados son sacrificados (17).

En Estados Unidos está prohibida la movilización interestatal de animales positivos a AIE, excepto cuando el animal es devuelto a su

lugar de origen, cuando es transportado al rastro o cuando es llevado a un instituto de investigación (4.6.24).

Existen ciertas medidas de control para animales infectados por el virus de AIE, las cuales son: eutanasia, aislamiento o bien marcar al animal antes de que este sea trasladado (4.6.15.24.27.28).

Aunque la transmisión por moscas puede ser controlada mediante repelentes y mallas, resulta más efectivo el aislamiento del caballo infectado, aproximadamente a una distancia de 182 mts (200 yardas) (6.17.19.24.27.28).

Un buen programa de prevención para evitar la presencia de AIE, abarca el muestreo de todos los animales en la población, identificación, y control del movimiento de los mismos (9.17). Esto incluye las yeguas, ya que existe la posibilidad de transmisión vertical. Si son utilizadas las yeguas para la reproducción, sus potros deberán ser aislados por varios meses hasta que se pruebe que son negativos al virus de AIE. Debido a que los animales en fase aguda pueden llegar a ser los responsables de un caso epizootico de AIE, debe considerarse la opción de sacrificarlos (17.27). Dado que todos los caballos que mantienen una viremia son capaces de diseminar la enfermedad, es necesario realizar aislamientos. Se deben de tomar precauciones durante el tratamiento quirúrgico, así como durante la

administración de medicamentos de animales enfermos a animales sanos (6.17.24.27.28.29).

No se ha realizado una vacuna efectiva debido a las características del virus de AIE mencionadas con anterioridad (4.17.20.27.28).

Se deben utilizar instrumentos estériles (vacutainers y agujas hipodérmicas). evitar el intercambio de utensilios del animal (arnés, bridas y cepillos) los cuales pueden producir abrasiones en la piel provocando brotes de la enfermedad (30).

El AIE no se transmite por ingestión de material infectado (30).

VIII. DISCUSION

Los portadores sanos son animales que se consideran como fuentes potenciales de infección, ya que pueden encontrarse títulos virales variables de manera indefinida. Actualmente no hay procedimiento o prueba para controlar la transmisión por parte de dichos portadores. Por ello, hasta que no sea posible distinguir entre un portador que transmite el virus de AIE y un portador poco probable de diseminar el virus, todos los caballos serológicamente positivos deberán ser manejados de igual manera y considerarlos como fuentes potenciales de infección (9,23).

Es necesario contar con medidas eficientes de movilización de equinos, así como exigir el resultado negativo a la prueba de AIE

antes de participar en cualquier acto deportivo nacional o internacional, ya que en México se realizan acontecimientos hípicas importantes como lo son concursos selectivos para la Copa del Mundo, Olimpiada, Panamericano, Centroamericanos, Concurso de Salto Internacional Oficial, Campeonatos Metropolitanos, Estatales, etc (Programa de la FEM).

Debe enfatizarse a los propietarios y veterinarios la manera en que se transmite la enfermedad, para controlarla y así probablemente se logre disminuir la misma (19).

Como medidas probables para evitar la transmisión podemos mencionar las siguientes:

- Para selección de donadores de sangre se utilizarán únicamente animales libres de AIE (17).
- Se sugiere que las reproductoras tengan prueba negativa a la enfermedad, de lo contrario no se deberá usar para este fin (17,22).
- Los caballos sospechosos de la enfermedad, así como los infectados, deben ser identificados y aislados o bien sacrificarlos (17,27).

Para poder llevar a cabo una control y una prevención adecuada es necesario contar con posibilidad de análisis en toda la república. Desafortunadamente por el momento no es posible manejar eficientemente las poblaciones de caballos existentes ni exigir el control de movilización, por lo tanto se sugiere que el porcentaje obtenido de

5.5. % en los dos rastros de Zacatecas (Tabla No. 1. y Gráfica No. 3) se consideren de suma importancia ya que nos indica la existencia de la enfermedad en la población que normalmente pasa desapercibida, de ahí que resulte necesario regionalizar y exigir el certificado libre de AIE a todos los caballos; así como tratar de realizar muestreos periódicos en todo los estados para lograr llevar un control de la enfermedad. (6.9.21.24) todo ello estará sujeto a la cantidad de personal, equipo disponible y laboratorios reconocidos que realicen la prueba.

De acuerdo al Anuario de Sanidad Animal 1995, Anemia Infecciosa Equina (AIE) es una enfermedad que en ciertos países como lo son Estados Unidos de América y Canadá es de frecuencia rara y esporádica, se encuentra limitada a ciertas regiones, existe un programa de lucha en todo el país, es de declaración obligatoria, se realiza el sacrificio parcial, prueba de laboratorio (Coggins) y se lleva a cabo medidas de control para el desplazamiento de animales; en México es una enfermedad de declaración obligatoria, se realiza la prueba de laboratorio (Coggins), medidas de cuarentena y control en los desplazamientos del interior del país, se limita a ciertas regiones y su frecuencia es rara y esporádica (1). a diferencia de los países anteriormente mencionados en México no se realiza el sacrificio parcial, el cual sería de gran utilidad para lograr un mayor control

en el país. por tanto la reglamentación a nivel nacional se hace necesaria. Se recomienda después del análisis de este trabajo se realicen más estudios con una mayor población e intentar el aislamiento de los animales enfermos y sospechosos.

ESTA FOLIO NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

BIBLIOGRAFIA

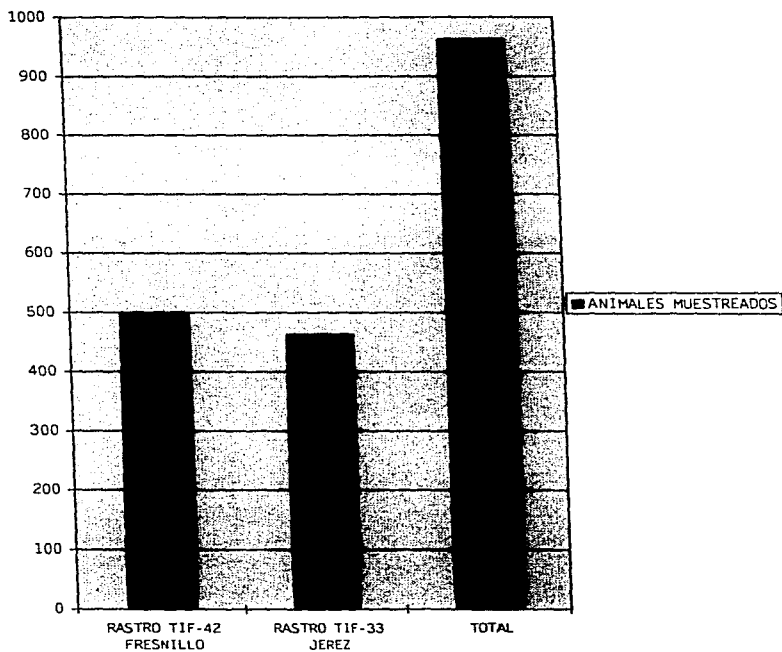
1. Anuario de Sanidad Animal 1995. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. *Colección FAO: Producción y Sanidad animal*, 33:42, 57, 73. (1997).
2. Burki, F., Rossmanith, W. and Rossmanith, E.: Equine lentivirus, comparative studies on four serological test for the diagnosis of equine infectious anemia. *Veterinary Microbiology* 33:353-360. (1992).
3. Clabough Sellon, D.: Equine infectious anemia: The clinical signs, transmission, and diagnostic procedures. *Veterinary Medicine* 85: 1007-1019. (1990).
4. Clabough Sellon, D.: The immunopathogenesis and control of equine infectious anemia. *Veterinary Medicine* 85:1020-1025. (1990).
5. Clabough Sellon, D., Perry, S.T., Coggins, L. and Fuller, F.J.: Wild type equine infectious anemia virus replicates in vivo predominantly in tissue macrophages, not in peripheral blood monocytes. *Journal of Virology* 66:5906-5913. (1992).
6. Clabough Sellon, D.: Equine infectious anemia. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice* 9:321-336. (1993).
7. Coggins, L. and Nocross, L.: Immunodiffusion reaction in equine infectious anemia. *Cornell vet* 60:330-335. (1970).
8. Coggins, L., Nocross, L., and Nusbaum, S.R.: Diagnosis of equine infectious anemia by immunodiffusion test. *Am J Vet Res* 33:11-18. (1972).
9. Coggins, L.: Carriers of equine infectious anemia virus. *J Am Vet Med Assoc* 184:279-281. (1984).
10. Diccionario Enciclopédico Espasa: tomo 24. ed. Espasa-Calpe SA. octava edición, Madrid. (1979)
11. Fenner, F., Bachmann, P.A. et al.: *Veterinary Virology*. 1 ed. Academic Press, Inc. Orlando-Florida. 1987.

12. Granzier, C.K. and Newton, L.G.: Sideroleucocytes as a diagnostic aid in equine infectious anemia. *Australian Veterinary Research* 44:406-409. (1968).
13. Grund, C.H., Lechman, E.R., Issel, C.J., et al: Lentivirus crossreactive determinants present in the capsid protein of equine infectious anemia virus. *Journal of General Virology* 75:657-662. (1994).
14. Hawkings, J.A., Adams, W.V. Jr., et al: Role of horse fly (*Tabanus fuscicostatus* hine) and stable fly (*Stomoxys calcitrans*) in transmission of equine infectious anemia to ponies in Louisiana. *Am J Vet Res* 34:1583-1586. (1973).
15. Hawkings, J.A., Adams, W.V. Jr., et al: Transmission of equine infectious anemia virus by *Tabanus fuscicostatus*. *J Am Vet Med Assoc* 168:63-64. (1976).
16. Henson, J.B., McGuire, T.C., et al: The diagnosis of equine infectious anemia using the complement-fixation test, siderocyte counts, hepatic biopsies, and serum protein alterations. *J Am Vet Med Assoc* 151:1830-1839. (1967).
17. Issel, C.J. and Coggins, L.: Equine infectious anemia: current knowledge. *J Am Vet Med Assoc* 174:727-733. (1979).
18. Issel, C.J. and Adams, W.V. Jr.: Serologic survey for equine infectious anemia virus in Louisiana. *J Am Vet Med Assoc* 174:286-288. (1979).
19. Issel, C.J. and Foll, L.D.: Studies on equine infectious anemia virus transmission by insects. *J Am Vet Med Assoc* 184:293-297. (1984).
20. Issel, C.J. and Cook, F.: A review of techniques for the serologic diagnosis of equine infectious anemia. *J Am Vet Med Assoc* 174:727-733. (1979).
21. Kathlyne, L.M., Levine, F.J., McGinn, T. and Coggins, L.: Distribution of equine infectious anemia in equids in southeaster united states. *J Am Vet Med Assoc* 197:1018-1021. (1990).

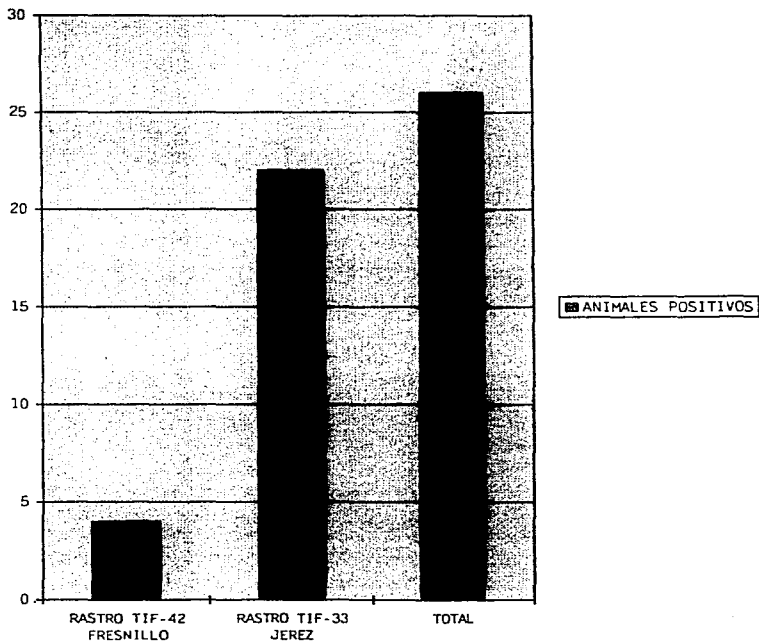
22. Kemen, J.M. and Coggins, L.: Equine infectious anemia transmission from infected mares to foals. *J Am Vet Med Assoc* 161:496-499. (1972).
23. Kemen, M.J., McClain, M.S. and Matthyse, J.G.: Role of horse flies in transmission of equine infectious anemia from carrier ponies. *J Am Vet Med Assoc* 172:360-362. (1978).
24. Knowles, C.R., Pearson, E.J. and Thomas, A.M.: Equine infectious anemia (EIA) a disease control program in the United States of America.
25. Morilla, G.A. y Bautista, G.C.: Manual de Inmunología. Primera ed. *Diana*, México, 1987.
26. Rice, R.N., Lequarre, A.S. et al.: Viral DNA in horses infected with equine infectious anemia virus. *Journal of Virology* 63:5194-5200. (1989).
27. Robinson, E.N.: Current Therapy in Equine Medicine. 3th ed. *W.B. Saunders*, Philadelphia, 1987.
28. Smith, B.P.: Large Animal Internal Medicine. 1th ed. *Mosby Company*, St. Louis Missouri, 1990.
29. Stein, C.D., Lotze, J.C. and Mott, L.O.: Transmission of equine infectious anemia by stable fly, *Stomoxys calcitrans*, the horse fly, *Tabanus sulcifrons* (Macquart), and by injection of minute amount of virus. *Am J Vet Med Assoc* 3:183-193. (1942).
30. Stein, C.D., Ostee, O.S. and Mott, L.O.: Experimental transmission of equine infectious anemia by contact and body secretions and excretions. *Vet Med* 39:46-52. (1944).
31. Tashjian, R.J.: Transmission and clinical evaluation of an equine infectious anemia herd and their offspring over a 13 year-period. *J Am Vet Med Assoc* 184:282-288. (1984).
32. Thomas, L.M., Huntington, P.J. et al.: A soluble recombinant fusion protein of the transmembrane envelope protein of equine infectious anemia virus for ELISA. *Veterinary Microbiology* 31:127-137. (1992).

33. Tizard, I.: *Inmunología Veterinaria*. 3ed. *Interamericana*, México, 1989.

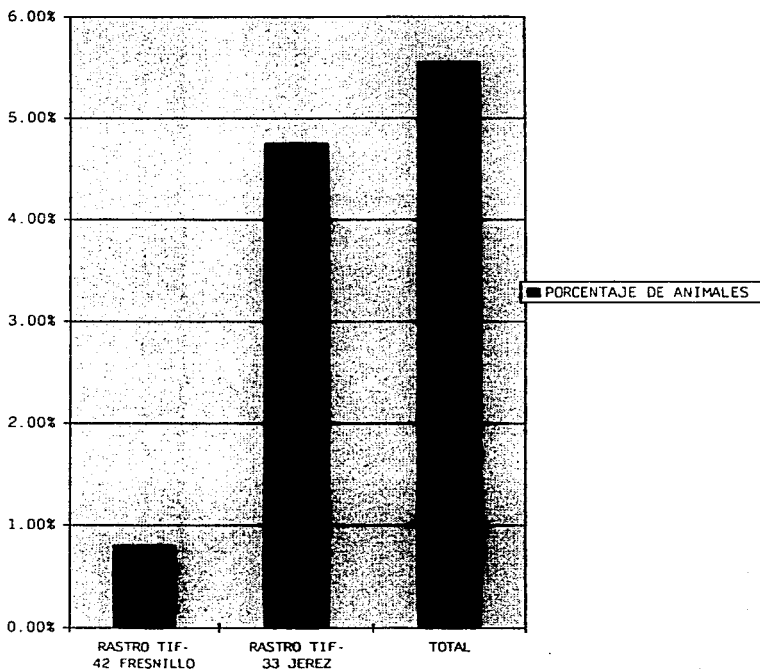
GRAFICA No. 1
ANIMALES MUESTREADOS EN ZACATECAS, ZAC.



GRAFICA No. 2
NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS A AIE EN ZACATECAS. ZAC.



GRAFICA No. 3
PORCENTAJE DE ANIMALES CON PRESENCIA DE AIE EN ZACATECAS.ZAC.



CUADRO No. 1

NUMERO TOTAL DE ANIMALES MUESTREADOS, NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS Y
PORCENTAJES EN ZACATECAS, MEXICO

Rastro TIF-42 Fresnillo.	500	4	0.80%
Rastro TIF-33 Jerez.	463	22	4.75%
<i>TOTAL</i>	963	26	5.55%