



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Anemia Infecciosa Equina

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA

Fernando Calderón López

PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Asesor

M.C. Alba Irene Varela Murillo

Morelia, Michoacán. Julio del 2006.



UNIVERSIDAD MICHOCANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Anemia Infecciosa Equina

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA

Fernando Calderón López

PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Morelia, Michoacán. Julio del 2006.



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Documento No. 954/2006

Se dictamina APROBAR la impresión definitiva del documento

Morelia, Mich., a 2 de junio de 2006

C. MVZ. Alberto Arres Rangel
Director de la FMVZ-UMSNH
Presente.

Por este conducto hacemos de su conocimiento que la tesina titulada: **ANEMIA INFECCIOSA EQUINA**, del **P.MVZ** Fernando Calderón López, dirigida por la MC. Alba Irene Varela Murillo, fue **revisada y aprobada** por esta mesa sinodal, conforme a las normas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

ATENTAMENTE.

MC. Beatriz Salas García
Residente

MVZ. Francisco Lemus Suárez
Vocal

MC. Alba Irene Varela Murillo
Vocal

A mis padres, Francisco Calderón Delgado y M^a del Carmen López Tenorio, como fruto de su apoyo, comprensión y amor en los momentos más difíciles y decisivos de mi vida, les dedico el presente trabajo como muestra de mi eterno agradecimiento.

A mis hermanos, por su ayuda cariño y ejemplo, gracias.

A mis amigos, por sus enseñanzas, consejos, apoyo y cariño

A mi asesor, MVZ. M^C. Alba Irene Varela Murillo con profundo cariño por su valiosa colaboración, para la realización de este trabajo por darme de su tiempo y enseñarme algo de sus conocimientos.

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN.....	1
Descripción de la AIE.....	2
Antecedentes.....	2
Epidemiología.....	2
Sinonimias.....	3
Etiología.....	3
Transmisión.....	6
Patogenia.....	11
Signos Clínicos.....	17
Lesiones.....	21
Diagnóstico.....	23
Prueba de Coggins o Inmunodifusión de gelatina agar (AGID).....	24
Prueba de Elisa.....	26
Diagnóstico Diferencial.....	31
Tratamiento.....	32
Prevención y Control.....	33
CONCLUSIONES.....	35
BIBLIOGRAFIA.....	36
ANEXO	38

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Caballos infectados de AIE por condiciones húmedas.....	3
Figura 2. Retrovirus de AIE.....	4
Figura 3. Invasión del retrovirus a la célula huésped.....	5
Figura 4. <i>Lipoptena cervi</i>	7
Figura 5. <i>Stomoxys calcitrans</i>	7
Figura 6. Cabezas de mosca doméstica adulta (A) y de mosca de los establos (B), mostrando las diferencias en las piezas bucales (probóscide)	9
Figura 7. Caballo con anemia y caquexia.....	19
Figura 8. Animal con signos de AIE.....	20
Figura 9. Lisis de glóbulos rojos.....	21

INTRODUCCIÓN

Nuestro país tiene contabilizada hasta el 2005, una población de equinos de 5'180, 700 animales; cantidad que va en aumento a medida que se popularizan los deportes donde destacan estos animales, principal actividad para la mayor parte de los equinos en nuestros días (OIE, 2004).

La Anemia Infecciosa Equina (AIE) es una enfermedad infecciosa viral transmisible que ataca caballos, asnos y mulas por igual, sin importar sexo, edad o raza, lo que la convierte en un riesgo para la población equina en nuestro país (López y Mestra, 1997).

Actualmente la AIE es una enfermedad endémica, es decir, que se presenta en todo el territorio nacional y hasta el momento, no existe ninguna acción gubernamental para identificar a los caballos positivos a esta infección (OIE, 2004).

La mayor parte de los propietarios de equinos, dentro del medio ecuestre, ignora el gran problema que una enfermedad de este tipo significa, ya que la AIE es una enfermedad incurable y fatal. Virtualmente es considerada el SIDA de los caballos, dado que el virus que causa la AIE es de la familia retroviridae a la que también pertenece el virus del SIDA de los humanos (Augusto, 2004).

Como resultado, cuando un caballo se infecta con el virus de AIE es probable que dueños de caballos y veterinarios no se den cuenta que los animales de la infección, ya que a menudo se recuperan y continúan realizando sus actividades libremente en la población. En más de estas ocasiones, la única manera de saber que un caballo es portador del virus de AIE, es el resultado de un examen de laboratorio.

Es por ello que la AIE se ha convertido en uno de los principales enemigos silenciosos de la actividad equina en el país (López y Mestra, 1997).

Descripción de la AIE

La AIE es una enfermedad viral no contagiosa pero transmisible, que afecta únicamente a miembros de la familia equidae, su principal característica es la cronicidad y recurrencia, así como la aparición intermitente de accesos febriles después de una primera presentación de fiebre (Jacobo y Ruiz, 1997).

Antecedentes

La AIE fue identificada por primera vez en Francia en 1843 y reproducida en forma experimental en los EE.UU. en 1888, estimulando gran interés a través de los años.

La AIE se ha convertido en una infección importante porque es la primera enfermedad equina causada por un virus filtrable que puede sobrevivir y mantenerse infeccioso, aún después de pasar a través de un procedimiento de filtro especial de laboratorio, lo que demuestra su resistencia (APHIS, 2003).

Epidemiología

La AIE ha sido diagnosticada en todos los continentes. En Europa es más frecuente en las regiones septentrional y central. También se ha registrado en casi todos los Estados Unidos y provincias canadienses, así como en muchas otras partes del mundo (López y Mestra, 1997).

En Centroamérica se han presentado brotes de la enfermedad en zonas pantanosas bajas y regiones de pastoreo con cobertura de bosque tropical, que favorecen la transmisión y perpetuación de la enfermedad (ver figura 1).



Figura 1. Caballos infectados con AIE en condiciones húmedas

En México se han detectado 8 focos con 20 casos que han sido controlados, pero aún faltan realizar pruebas de rutina para detectar posibles casos positivos, ya que solo se han reportado casos limitados a determinadas partes como las zonas fronterizas y estados de las costas del Golfo donde las condiciones climáticas son favorables, aunque puede presentarse en toda la república mexicana (Augusto, 2004; OIE, 2004).

En zonas endémicas, es común que se presente en forma subclínica; sin embargo, en zonas donde no han sido reportados los brotes son generalmente de forma aguda. Se considera que esta infección tiene un porcentaje de mortalidad que va del 30 al 70% de los animales infectados; y el número de muertes es generalmente más elevado cuando la enfermedad es introducida en nuevas áreas (Jacobo y Ruiz, 1997).

Sinonímias

La AIE también es conocida con los nombres de Fiebre recurrente de los pantanos, Fiebre malaria, Fiebre de la montaña, Fiebre lenta, Fiebre tifoidea de los caballos, Anemia perniciosa de los equinos, Zurra americana y SIDA de los caballos (Jacobo y Ruiz, 1997; Cuenca *et al.*, 2004).

Etiología

El agente infeccioso de la AIE, es un miembro de la subfamilia Lentiviridae de la familia Retroviridae (ver figura 2) de alto peso molecular (Asdesilla, 2005).

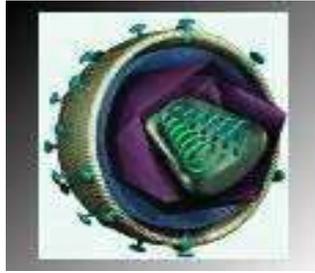


Figura 2. Retrovirus de la AIE

La partícula viral madura consiste de un denso núcleo cónico de proteínas donde se encuentra el genoma viral que consiste en dos cadenas idénticas de RNA, seguida de una envoltura de lípidos donde están incluidas las glicoproteínas virales que ayudan para la fijación con la célula huésped (Colaham *et al.*, 1999).

Todos los retrovirus contienen los genes gag, pol y env los cuales codifican para las estructuras de las proteínas virales y enzimas importantes para la replicación. El Lentivirus contiene genes adicionales que son requeridos para la sobrevivencia del virus y su patogénesis.

El código del gen gag es para el núcleo de proteínas virales y esta altamente conservado en todos los virus aislados de la AIE. El código del gen pol es para la enzima transcriptasa reversa, ribonucleasa H y una enzima de combinación de genes-ADN para ayudar a la integración del genoma dentro de la célula huésped. El código del gen env es para las glicoproteínas superficiales (gp90 y gp45) del virus (Colaham *et al.*, 1999).

Cuando el virus esta dentro del organismo busca a la célula hospedadora, la envoltura que presenta se fusiona con la membrana celular donde su centro se desintegra y el material genético viral (RNA) se libera y entra al citoplasma (ver figura 3) (Audesirk *et al.*, 1997). El acceso del virus dentro de los macrófagos es probablemente facilitada por interacciones específicas entre las glicoproteínas superficiales del virus y las moléculas de proteínas y glicoproteínas de la célula. Después de entrar el virus a la célula esta se deshace de la envoltura de lípidos (Colaham *et al.*, 1999).

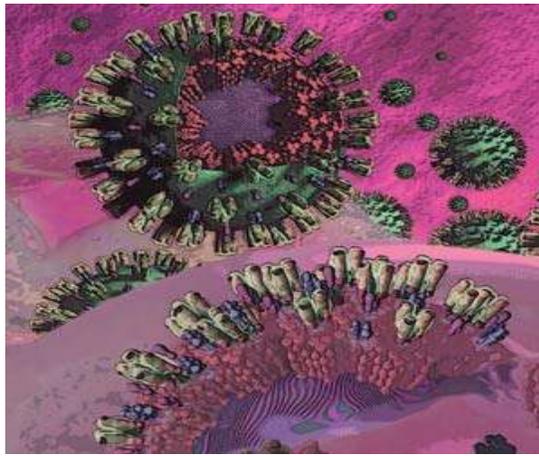


Figura 3. Invasión del retrovirus a la célula huésped

El futuro del virus dentro de la célula, depende de su habilidad para convertir su material genético de RNA a ADN, mediante el uso de la enzima viral conocida como transcriptasa reversa.

Esta enzima codifica, integra y cataliza el RNA para la asimilación del ADN intermediario dentro del ADN cromosomal de la célula huésped, donde esta permanece como provirus (Robinson, 2003). Es decir, una vez en el interior de la célula, la enzima transcriptasa reversa copia el genoma del RNA del virus en el ADN de la célula, debido a que la dirección normal de transcripción en las células vivas es del ADN al RNA, la dirección del virus, de RNA a ADN es una transcripción inversa (Audesirk *et al.*, 1997).

Después de lograr la transcripción, el provirus usa las diferentes enzimas de la célula huésped para la replicación de su genoma, fabricando proteínas virales, y ensamblando la codificación de las proteínas dentro de los viriones. Las proteínas virales se sintetizan usando RNAm. Estos nuevos virus completamente formados salen por gemación de la membrana celular (Audesirk *et al.*, 1997; Robinson, 2003).

La importancia clínica resulta dentro de esta estrategia de replicación viral, de cómo el Lentivirus se forma y replica completamente dentro del genoma del huésped y en el hecho de que nunca son eliminados completamente por el mismo. Progresivamente la replicación viral ocurre en varios niveles hasta la muerte del individuo afectado. Adicionalmente cuando aumenta la

transcriptasa reversa del Lentivirus pueden ocurrir errores, y por lo tanto, la replicación del virus puede estar asociada a mutaciones del mismo, que no son perjudiciales para que el virus se mantenga. Por lo tanto, una población heterocigótica con variantes esta relacionada con la infección lentiviral (Robinson, 2003).

El virus de la AIE esta estrechamente relacionado con otros Lentivirus de importancia tanto veterinaria como humana. Esta incluye el virus de la inmunodeficiencia viral felina, virus de la inmunodeficiencia viral bovina, virus de la artritis-encefalitis caprina, virus de maedi-visna ovina, virus de la inmunodeficiencia de los simios y el virus de inmunodeficiencia adquirida humana tipo 1 y 2.

Los Lentivirus están generalmente asociados con el comienzo de alteraciones en los sistemas hematológico y neurológico, características de enfermedades progresivas y crónicas en animales y humanos. En contraste, el comienzo de la enfermedad clínica producida por la infección de la AIE es usualmente rápida, con signos clínicos que ocurren entre 1 y 4 semanas (Robinson, 2003).

Sin embargo, el resultado clínico de la infección es variable y esto es probablemente debido a factores del hospedador, la virulencia del virus y la dosis infectante; consecuentemente la infección de la AIE puede resultar en enfermedad subclínica, crónica o aguda que varia de leve a severa (Robinson, 2003; Wise *et al.*, 2005).

Transmisión

En la naturaleza la transmisión de AIE ocurre principalmente por la picadura de insectos hematófagos (Colaham *et al.*, 1999), con más frecuencia por picaduras de insectos como son la mosca de venados (*Lipoptena cervi* Diptera: Hippoboscidae) (Figura 4), mosquito (*Anopheles psorophora*), tábano (*Stomoxys calcitrans*) (Figura 5), conocidas también como la mosca de mula, mosca borriquera o mosca de los establos, portadores del virus (Jacobo y Ruiz, 1997). Estos insectos al estimular los movimientos defensivos por parte

de los caballos, interrumpen la succión de sangre. Lo que provoca que el insecto busque otro animal para terminar su alimentación. De esta manera, si el primer animal es un caballo infectado con el virus de AIE, puede por medio de la “trompa” del insecto, transmitir mecánicamente el virus a un segundo hospedador (Colaham *et al.*, 1999; APHIS, 2003).



Figura 4. *Lipoptena cervi*

La mosca del venado es una especie introducida de mosca hematófaga encontrada originalmente en Europa, Siberia y en el norte de China. Se registra en la naturaleza como un parásito en el ciervo rojo, el corzo, el alce del viejo mundo, el venado de cola blanca, el alce, los caballos, el ganado y los humanos en Norte América.

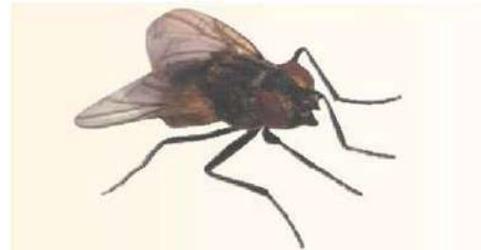


Figura 5. *Stomoxys calcitrans*

La mosca de los establos suele ser la única especie picadora y succionadora de sangre, presente en cantidades apreciables alrededor y en el interior de las instalaciones de producción animal intensiva. Además las características de sus piezas bucales, la mosca de los establos posee un abdomen más ancho que la mosca doméstica, con manchas oscuras dibujando un tablero de damas sobre el dorso del abdomen. Aparecen con frecuencia de forma abundante alrededor de los comederos, áreas de reposo del ganado vacuno de leche, y caballerizas.

Este tipo de moscas prefieren condiciones soleadas y exteriores, aunque hay unas pocas se introducen en los edificios y se reproducen; la mayor parte lo realiza con más frecuencia en exteriores sobre forraje ensilado, heno en descomposición y montones de estiércol mezclados con la paja de las camas, comportándose como plaga que se alimenta activamente del ganado. La ingesta de sangre requiere de 2 a 5 minutos para que quede totalmente llena y suelen encontrarse en las partes inferiores de los animales, en particular en la mitad inferior de las patas, aunque también suelen atacar a las personas con la misma facilidad que al ganado.

Las moscas de los establos presentan el mismo ciclo biológico que el de las moscas domésticas, aunque su desarrollo es ligeramente más lento. Los huevos de la mosca de establo son blancos y son depositados en pequeños grupos, muy similares a los de la mosca doméstica común. Una hembra puede poner hasta 800 huevos, en grupos de 25-50 después de una ingesta de sangre, por lo que para una producción continuada de huevos se necesitan repetidas ingestas de sangre.

Con las temperaturas estivales de las zonas templadas, los huevos eclosionan en 1-2 días y el desarrollo larvario requiere 6-8 días. Las larvas que emergen, son blancas, cilíndricas, ahusadas en su parte anterior. El estadio pupal dura 6-8 días. El ciclo biológico completo (de huevo a adulto) requiere 13-18 días a temperaturas entre 24 y 30°C (75–85°F). El período de preoviposición (durante el cual son necesarias las ingestas de sangre) se sitúa sobre los 6-8 días.

Como en la mosca doméstica, el desarrollo de la mosca de los establos se retarda cuando las temperaturas bajan, pudiendo tardar entonces varias semanas. Por ejemplo, a 10°C (50°F) la evolución desde el estadio de huevo hasta el de adulto necesita 3-5 meses.

El virus puede vivir un mínimo de 30 minutos sobre la trompa del insecto, por lo que le da tiempo de infectar a varios caballos cuando esta busca alimento. Aunque el alcance de vuelo de estos insectos puede exceder las 6437.2 m, estos viajan raramente mas de 182.88 m para complementar su alimentación (Colaham *et al.*, 1999).

La transmisión depende del número de insectos hematófagos presentes, la densidad de la población equina, el número de veces que el insecto pica a uno o varios caballos, la cantidad de sangre que se transfiere entre los mismos y de la concentración del virus en la sangre del caballo infectado del cual se obtuvo el alimento inicial de sangre. A causa de estas variables no se puede predecir con certeza el grado de transmisión (APHIS, 2003).

En los caballos con heridas abiertas actúan como transmisoras la *Mosca domestica* con aparato bucal lamedor (ver figura 6); por su parte, los piojos, ácaros y garrapatas no tienen tanta importancia como agentes transmisores (López y Mestra, 1997).

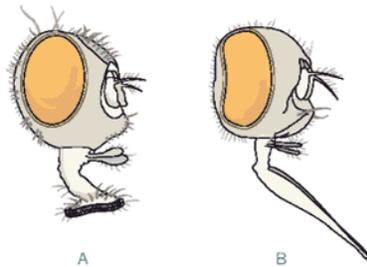


Figura 6. Cabezas de mosca doméstica adulta (A) y de mosca de los establos (B), mostrando las diferencias en las piezas bucales (probóscide).

En el tipo agudo de la AIE, los caballos en estado febril presentan de 1000 a 10 000 virus, lo que significa una mayor probabilidad de transmisión viral durante los accesos febriles; además, dadas las condiciones de presencia del virus en sangre, es relativamente fácil la transmisión de caballos portadores clínicamente sanos a animales sanos, a través de insectos bajo condiciones de humedad (Colaham *et al.*, 1999).

La AIE también puede ser transmitida de yegua a potrillo, ya que el virus es capaz de atravesar la barrera placentaria, por lo que se puede presentar una infección prenatal del feto en gestación (López y Mestra, 1997).

Si una yegua es infectada durante la preñez, puede abortar al feto, parir a un mortinato, parir una cría infectada o bien parir a una cría sana. Si las yeguas preñadas presentan un episodio de fiebre con una alta dosis de virus, se incrementa también el riesgo de aborto, nacimiento de crías muertas y crías infectadas (Colaham *et al.*, 1999).

Las yeguas que experimentan un episodio febril aumentan la probabilidad de que den a un potrillo infectado comparativamente con las yeguas que son asintomáticas (Reed *et al.*, 2004).

Experimentalmente más del 10% de potrillos que nacen de yeguas infectadas con AIE sin signos clínicos o en el estado crónico, nacen con el virus y se mantienen como portadores subclínicos (Colaham *et al.*, 1999). Algunas crías que ingieren calostro de yeguas seropositivas usualmente son seropositivas a 24 horas de edad por la absorción de inmunoglobulinas en el calostro (Reed *et al.*, 2004).

A partir de los seis meses de edad, los anticuerpos calostrales descienden, si dan positivo alguna prueba de control para AEI, se sospecha de infección intrauterina o al nacimiento (Viarural, S.F.), considerando válida la transmisión del virus de la AIE por medio del calostro o leche, entre la yegua y la cría durante el período posterior al nacimiento (Colaham *et al.*, 1999).

La transmisión por medio de insectos entre yeguas y crías sanas, es poco probable, ya que se sabe que los insectos prefieren alimentarse de caballos adultos. En un estudio de 22 yeguas y 13 crías, solo en el 2.43% de los casos los tábanos se alimentaban de las crías, debido a que los insectos se dirigen preferentemente a animales adultos.

La transmisión comúnmente ocurre por vía iatrogénica, por el uso de agujas contaminadas o instrumentos quirúrgicos, administración y transfusión de sangre contaminada, una mala esterilización del equipo con el que se tuvo contacto el animal infectado, tales como son la sonda nasogástrica o instrumentos dentales (Colaham *et al.*, 1999).

Como la AIE es una infección clásica transmitida por la sangre, el humano se convierte en un factor importante en la transmisión del virus, al utilizar materiales contaminados con sangre de animales infectados (Jacobo y Ruiz, 1997). La transmisión venérea es rara. El semen que proviene de un caballo infectado con AIE contiene virus vivo, pero el único caso documentado de transmisión por medio de un semental a una yegua, ocurrió en una yegua que sangraba de la vagina seguido de un servicio natural de cría (Colaham *et al.*, 1999).

Aunque debe admitirse la posibilidad de contagio por el coito puesto que se consigue la transmisión experimental de virus mediante inyección subcutánea de esperma de semental.

Es muy posible el contagio oral al beber agua o pienso infectado, si bien esta circunstancia únicamente desempeña un papel importante cuando se acompaña de microlesiones en el tracto digestivo, que actúan como puerta de entrada de dosis infectantes (Cuenca *et al.*, 2004).

Patogenia

La AEI es la primera enfermedad causada por un retrovirus que se ha probado que es transmitido por insectos. El virus es persistente, con habilidad antigénica (capacidad de cambiar su forma suficientemente como para no ser vulnerable a anticuerpos existentes) (APHIS, 2003).

La interacción a nivel celular y progresión de una infección viral particular determinan la patogénesis de la enfermedad y sus manifestaciones clínicas (Wise *et al.*, 2005). Cada ciclo de la enfermedad está asociado con la emergencia de una nueva cepa antigénica del virus, la replicación del virus a altas dosis y la respuesta inmune del hospedador (Reed *et al.*, 2004).

La AIE tiene tres formas de presentación: aguda, subaguda y crónica (Jacobo y Ruiz, 1997). La primera, se considera la más dañina y difícil de diagnosticar debido a que los signos aparecen rápidamente y a menudo sólo es evidente una elevada temperatura. Los caballos pueden exhibir signos severos y morir de 2 o 3 semanas (APHIS, 2003), además de no presentar signos específicos.

La fiebre inicial puede ser de corta duración (menos de 24 horas). El nivel de viremia de cada estado de la enfermedad se puede medir con el siguiente ejemplo: se sabe que una pequeña cantidad de sangre de un caballo infectado de la AIE aguda contiene suficiente virus como para infectar a un millón de caballos, mientras que en un caso crónico durante un episodio de fiebre contiene suficiente virus como para infectar a 10, 000 caballos.

La forma crónica se presenta cuando un caballo sobrevive al ataque agudo, mostrando recurrencia a la infección. Los animales presentan fiebre repentina (41-42°C) y después de un periodo indeterminado vuelven a la normalidad, hasta el comienzo de otro episodio febril, aparecen hemorragias petequiales en las membranas mucosas, hay depresión y apatía, pérdida de peso; frecuentemente se presenta edema en zonas bajas tales como las extremidades la porción ventral y otras superficies en el cuerpo. Es posible que la frecuencia cardiaca y pulso se vean disminuidos. Se presentan signos de anemia, con evidente letargia y anorexia.

En la presentación subclínica o subaguda, los caballos no muestran signos clínicos de infección y sobreviven, convirtiéndose en fuente de infección por periodos largos. Los portadores subclínicos tienen más bajo nivel de concentración del virus en la sangre, que animales con infección activa. Este tipo puede convertirse en crónica o aguda debido a la fatiga, al trabajo fuerte o a la presencia de otras enfermedades (APHIS, 2003).

Solo una de cada seis millones de moscas borriquetas es posible que piquen y transmitan el virus de la AIE. Sin embargo, el riesgo de transmisión sigue vigente, puesto que todos los caballos infectados con el virus, permanecen como portadores de por vida y pueden experimentar periódicamente recrudescencia de la enfermedad clínica (Colaham *et al.*, 2000).

También se debe mencionar que hay otros factores que pueden influir en el resultado y grado de infección en la AIE, como son los factores relacionados a estrés, estado nutricional y condiciones ambientales. Por otra parte, la edad se considera un factor predisponente para la infección, ya que las moscas prefieren alimentarse de animales adultos que de potros (Cuenca *et al.*, 2004; Wise *et al.*, 2005,).

El virus de la AIE principalmente infecta monocitos migrantes y la replicación viral se presenta hasta que estos entran a los tejidos y se convierten en macrófagos maduros (Colaham *et al.*, 1999).

Durante la infección aguda, la replicación se realiza principalmente en macrófagos del hígado, bazo, nódulos linfáticos, riñón y glándulas adrenales. Los signos clínicos de la infección aguda (fiebre, depresión, anorexia) coinciden con el comienzo y final de la viremia, resultado de una respuesta inmune celular a la viremia inicial (Colaham *et al.*, 1999).

Los linfocitos B y T específicos de la respuesta inmune, son necesarios para la terminación de la viremia en la infección aguda. Los linfocitos B estimulan la producción de anticuerpos que son dirigidos contra uno o varios epítopes virales conservados y pueden combinarse con el virus circulante sin que los neutralicen. Algunos anticuerpos neutralizadores van directamente contra una gran variedad de epítopes antigénicos de la superficie de las glicoproteínas (Colaham *et al.*, 1999).

Los anticuerpos neutralizadores se vuelven detectables a pocos días después de la resolución de la viremia, lo que implica que la respuesta inmune humoral no es la responsable del control del virus. La respuesta inmune de la célula-mediadora contra el virus específico, debe ser muy activa para que esta responda.

A pesar del esfuerzo de una respuesta inmune vigorosa y específica, tanto celular como humoral, los caballos no son capaces de eliminar el virus completamente de la sangre y tejidos, es por eso que los animales permanecen infectados de por vida.

Una evidencia contundente de la persistencia del virus en los caballos seropositivos incluye la transmisión de la infección por portadores inaparentes o subclínicos a animales susceptibles o sanos por medio de la transfusión de leucocitos o sangre; la supresión del sistema inmune por medio de la administración de dexametasona a caballos portadores inaparentes, resulta en la recurrencia de la viremia y fiebre, incluso en caballos que no han mostrado signos clínicos en años; la presencia de RNA viral en el plasma de

los caballos seropositivos, ocurre independientemente de que estos muestren o no los signos clínicos de la enfermedad.

La evidencia indirecta de la persistencia del virus en caballos seropositivos, incluye el aumento de la concentración de globulinas en el suero y el incremento en número y porcentaje de linfocitos B circulantes (Colaham *et al.*, 1999).

El reservorio celular del virus de la AIE en caballos sin signos clínicos, se presume que pueden ser los macrófagos maduros, donde el virus probablemente continúa con la replicación a un nivel más bajo en este reservorio de las células, aunque esto no ha sido determinado concluyentemente.

La transcriptasa reversa del virus de la AIE es muy propensa a errores al momento de la transcripción cuando se copia el genoma viral, debido a que carece de la capacidad de corrección, produciendo mutaciones. Esto acontece en la superficie de las glicoproteínas del virus (gp90 y gp45). La localización de estas glicoproteínas, dificultan la reacción del sistema inmune debido a la rápida variación antigénica al exponer los epítopes, lo que facilita la habilidad del virus a evadir la respuesta inmune celular y humoral (Colaham *et al.*, 1999). La evasión temporal del virus hacia la respuesta inmune del huésped hace que el virus se replique en grandes dosis (Reed *et al.*, 2004).

Eventualmente, los virus cambian como una forma de escape a la vigilancia inmune del huésped. El nuevo antígeno se replica a altas dosis, originando los signos clínicos de la infección.

Los virus aislados recuperados durante episodios de fiebre secuenciales en un mismo caballo, muestran que cada antígeno aislado es inmunológicamente único (Colaham *et al.*, 1999). Esta habilidad del virus a sufrir rápidamente variaciones antigénicas es el mayor obstáculo para el desarrollo de una vacuna eficaz y es probablemente también importante para la persistencia del virus en el huésped.

Esta persistencia viral, origina anticuerpos circulantes en la mayoría de los caballos seropositivos, debido a que muchos de estos anticuerpos no son neutralizadores; Al combinarse los anticuerpos con el virus en la sangre, circulan como un complejo infeccioso inmune. Estos complejos pueden ligarse a células que contienen receptores para fijar el complemento (macrófagos, eritrocitos, plaquetas) e infectar a estas células sin que tengan que usar una molécula receptora específica (célula-superficie). Algunos otros virus (virus del Dengue y de la peritonitis infecciosa felina) usan anticuerpos no neutralizadores para incrementar la efectividad del virus (Colaham *et al.*, 1999).

Este complejo inmune en circulación, está implicado en muchas de las patologías de la AIE, incluyendo el desarrollo de anemia, trombocitopenia y lesión glomerular.

En un experimento realizado en ponis previamente sensibilizados con una inyección pura de glicoproteínas del virus de la AIE, se detectó que desarrollaban la mayor parte de signos clínicos severos. Esta infección experimental con virus virulentos, contra los cuales los ponis no habían sido sensibilizados, se deben posiblemente por el incremento de anticuerpos mediadores producidos por la infección *in vivo* (Colaham *et al.*, 1999).

La anemia en los caballos es resultado de lo hemólisis intravascular y extravascular inmuno mediada y la disminución en la producción de eritrocitos por la médula ósea.

El virus tiene actividades de hemoaglutinación, atribuido a interacciones entre glicoproteínas virales superficiales (gp90 y gp45) y membranas de los eritrocitos. Si un virus o anticuerpo viral complejo se liga directamente a los eritrocitos, estos activan la fijación de complemento por la vía clásica y puede ocurrir la hemólisis intravascular. Los eritrocitos marcados con complemento pueden ser fagocitados también por macrófagos y neutrófilos, produciendo una hemólisis extravascular.

La anemia en el caballo infectado de AIE se presenta como la reducción del número de eritrocitos, del contenido de hemoglobina del glóbulo rojo o de ambos, en la sangre circulante del animal.

Los macrófagos de los tejidos de la médula ósea, bazo, nódulos linfáticos e hígado en infección aguda, contienen hemosiderina y residuos de células muertas, indicativo de la actividad de la eritrofagocitosis.

La anemia no es únicamente el resultado de un proceso inmuno-mediador. Los caballos árabes con inmunodeficiencia combinada (CID- ausencia de linfocitos T y B) desarrollan una anemia severa tan rápidamente como en los caballos inmuno comprometidos, posiblemente debido a que la médula ósea de los animales infectados se deteriora y a que el virus inhibe directamente la eritropoyésis.

En potrillos infectados con inmunodeficiencia combinada se observa anemia atribuida completamente al deterioro de la eritropoyésis. Sin embargo, cuando además se encuentran infectados con AIE, también ocurre destrucción plaquetaria por macrófagos, aún sin complejos inmunes unidos a la pared celular, a pesar de la activación resultante del estímulo generado por el endotelio dañado. Esto aumenta el número de plaquetas jóvenes en circulación, en aquellos caballos que atravesaron por una trombocitopenia secundaria en infección natural o experimental de la AIE.

Es común que el número de megacariocitos en la médula ósea incrementen, y el citoplasma y el área nuclear de los megacariocitos se encuentran aumentados comparados con el de los caballos sanos con cuenta normal de plaquetas. Sin embargo, la producción de plaquetas puede ser insuficiente en caballos con trombocitopenia infectados con AIE (Colaham *et al.*, 1999).

En la fase crónica de la infección de la AIE, se presenta disminución en la concentración de hierro en el suero y saturación de transferrina, además de incremento de la relación eritroide-mieloide en la médula ósea.

La producción de plaquetas y el número de plaquetas maduras disminuyen en caballos con infección aguda, debido a que tienen gran cantidad de IgG y IgM unidas a la superficie. Estas opsoninas activan la destrucción de plaquetas por acción del complemento, lo que ha sido confirmado mediante la observación de las plaquetas maduras de menor tamaño, tanto en caballos inmuno comprometidos infectados con el virus de la AIE, como en caballos infectados con inmunodeficiencia combinada.

La disminución de la respuesta regenerativa de la médula ósea puede ser el resultado de la influencia de interleucinas sobre la producción de nuevas células en la médula ósea.

La unión de los antígenos virales IgG y el complemento, están presentes a nivel renal en caballos afectados. El daño glomerular es rara vez lo suficientemente severo para resultar en proteinuria clínica o evidencia de síndrome nefrótico. Sin embargo, la glomerulonefritis con proliferación de células epiteliales y del mesangio así como el aumento de la membrana basal, se presenta en aproximadamente el 75% de caballos con AIE como un resultado de la disposición de complejo inmune en los glomérulos (Colaham *et al.*, 1999).

Signos Clínicos

Los signos clínicos de la AIE pueden ser atribuidos a una combinación de efectos directos virales y como consecuencia de una enérgica pero inefectiva respuesta inmune del hospedador hacia el virus (Colaham *et al.*, 1999).

Los equinos normalmente desarrollan anemia infecciosa de 2 a 4 semanas o en promedio 30 días después de estar expuestos al virus. Sin embargo, los

signos pueden aparecer hasta dos meses después (Jacobo y Ruiz, 1997; Reed, et al., 2004).

La enfermedad produce en los animales afectados anorexia, incapacidad para levantarse, fiebre, aumento en el pulso, aumento de la respiración y tos; en casos severos, suelen mostrarse hemorragias y anemia (López y Mestra, 1997). Es posible que los latidos cardiacos sean irregulares y el pulso de la vena yugular evidente (APHIS, 2003). La bronconeumonía, frecuentemente sigue a la anemia infecciosa y puede ser la causa directa de la muerte (Colaham *et al.*, 1999).

En infecciones experimentales, aproximadamente entre 7 y 28 días después de la infección comienza la viremia y fiebre. La temperatura puede variar desde 38.5 a 40.5°C (101.3-104.9°F). Los caballos están usualmente letárgicos y con anorexia variable durante el período febril.

En procesos agudos, la mayor parte de los caballos con AIE presentan una trombocitopenia transitoria y algunos pueden presentar anemia. La severidad de los signos clínicos probablemente está determinada por la variedad o cepa del virus, la dosis infecciosa recibida y las características inmunes del caballo.

Algunos caballos infectados naturalmente, jamás muestran signos clínicos que puedan ser reconocidos por los propietarios y se recuperan de la viremia aguda inicial y del episodio febril entre el primer y séptimo día. Otros solo experimentan recurrencia febril durante los episodios de viremia con intervalos regulares de salud aparente, que puede variar en duración de días o semanas.

El responsable de controlar la viremia y la disminución gradual del número y severidad de los signos clínicos es el sistema inmune; es decir, depende de la habilidad del sistema inmune de reconocer y controlar la liberación de variantes antigénicas del virus. Cuando los caballos son incapaces de controlar la replicación viral, muestran los signos clínicos clásicos y regularmente siguen al estado crónico de la infección mostrando fiebre,

pérdida de peso, edema ventral, letargia y depresión. También muestran anemia, linfadenopatía, trombocitopenia, hipoalbuminemia e hiperglobulinemia. Ocasionalmente las enzimas séricas hepáticas se incrementan. Se pueden desarrollar hemorragias petequiales y epistaxis (Colaham *et al.*, 1999).

En las formas agudas existe frecuentemente hemoglobinemia, hiperbilirrubinemia, hemoglobinuria e ictericia, las esplenomegalias son casi constantes en anemias hemolíticas (DOS SANTOS, 1982). Se acompañan de un aumento del número de leucocitos y plaquetas en la sangre periférica, lo que pone de manifiesto una respuesta de la médula, al estímulo que recibe para la mayor producción de eritrocitos. Con esto los animales pueden sudar profusamente, padecer de respiración acelerada y depresión. Es notable la baja de peso, aún con apetito normal, orinan frecuentemente y, si el caso es grave, sufren de diarrea. Los ojos se les tornan de colores rojizos y un poco acuosos. Las patas y la parte inferior del cuerpo se edematizan.

El animal débil pierde la coordinación al caminar, llegando a sufrir ataxia de los miembros posteriores. Con la anemia las membranas mucosas se tornan pálidas o amarillentas (ictéricas), su pulso es débil y su frecuencia cardiaca es irregular.

Debido a que no todos los animales infectados con el virus de la AIE muestran signos clínicos, aún los visiblemente afectados durante el periodo de viremia, es común la evolución de la infección hacia la cronicidad, con accesos agudos determinados por fiebre y abatimiento, anemia, edemas, caquexia (ver figura 7), debilidad del tren posterior, anorexia, apnea y conjuntivitis (Jacobo y Ruiz, 1997).



Figura 7. Caballo con anemia y caquexia

Del estado subagudo al crónico de la enfermedad, también se presentan signos clínicos clásicos. Estos episodios están asociados con la recrudescencia del virus y la viremia. Tanto la frecuencia de estos episodios como la severidad de los signos clínicos, tienden a disminuir con el tiempo. Cerca del 90% de estos episodios ocurren el primer año de la infección (Smith, 2002).

La mayoría de los caballos seropositivos no manifiestan signos clínicos de enfermedad. Ellos mantienen una condición corporal normal y una función adecuada en su empeño deportivo. Varios de estos caballos tienen sutiles anormalidades detectadas sólo por estudios clínicos como anemia con trombocitopenia, incremento en el número y porcentaje de circulación de células B, ligera disminución en concentración de albúmina en el suero e incremento en la concentración de globulinas séricas.

Los signos clínicos menos comunes en AIE incluyen desórdenes neurológicos con severa disfunción renal, abortos en yeguas preñadas y ataxia de los miembros. Los caballos con estos signos clínicos presentan cantidades detectables de anticuerpos contra AIE en fluido cerebroespinal.

Cuando se presenta anemia, se acompaña de fiebre y astenia. La anemia se manifiesta por la disminución de los valores hemáticos y hemoglobinométricos. Se caracteriza por la elevación rápida de temperatura (hasta 42°C) después de un periodo de incubación de unas tres semanas. Los episodios de fiebre se pueden presentar esporádicos o continuos. Se acompaña por debilidad extrema (ver figura 8), sed excesiva, anorexia, depresión, edema de la porción inferior del abdomen y hemorragia sublingual o nasal, así como petequias de las membranas mucosas. La anemia tal vez sea el signo más característico y marcado de la AIE.



Figura 8. Animal con signos de AIE

Los fisiólogos han establecido por medio de eritrocitos marcados con Fe diactivo, que estas células tienen una vida media de 120 días y que finalmente son destruidas. Para la conservación de una cantidad constante de eritrocitos, es necesario que sean formados nuevos elementos en forma continua por la médula ósea hematopoyética.

La anemia se presenta por deficiente producción y maduración de eritrocitos, por salida de sangre desde los vasos sanguíneos o como consecuencia de la acción de factores hemolíticos, es decir, de agentes que producen hemólisis. Las del primer grupo se denominan anemias por deficiencia de formación de eritrocitos; las segundas son posteriores a hemorragias, y las terceras son por hemólisis (DOS SANTOS, 1982).

La AIE causa anemia hemolítica, capaz de producir desintegración del eritrocito en la sangre circulante (ver figura 9). En este tipo de anemia, el índice de color es normal. Se acompaña habitualmente de policromacia y eritroblastosis; también se observa la presencia de eritrocitos que contienen gránulos azurófilos.



Figura 9. Lisis de glóbulos rojos

Lesiones

Las características patológicas varían según el estado y proceso de la enfermedad (Smith, 2002). En la presentación aguda, en general se encuentran edemas y hemorragias. El edema es lo más notable en el tejido subcutáneo de la pared ventral del abdomen, en la base del corazón y en la grasa perirrenal y sublumbar (Jacobo y Ruiz, 1997); mientras que durante la

presentación subaguda, el edema y las hemorragias son característicos, pero son menos evidentes que la anemia.

Se considera que las petequias y edemas asociados a la AIE son el resultado de la vasculitis por hipersensibilidad y la anemia de una hemólisis inmunogénica asociada a la unión de partículas víricas a los eritrocitos (Taylor *et al.*, 1999).

Los caballos que mueren durante un episodio febril de AIE presentan los nódulos linfáticos aumentados de tamaño, hepatomegalia, estructura lobular hepática acentuada, hemorragia visceral y en mucosas, edema ventral subcutáneo y trombosis en vasos; los linfocitos y macrófagos se encuentran acumulados en el área periportal del hígado, los nódulos linfáticos, la glándula adrenal y el pulmón. Las células de Kupffer y los macrófagos de otros tejidos (médula ósea, bazo, nódulos linfáticos) siempre contienen agregados de hemosiderina (Colaham *et al.*, 1999). La necrosis vascular afecta una gran variedad de órganos y sistemas incluyendo el riñón y el corazón (Colaham *et al.*, 2000).

Las lesiones macroscópicas encontradas en la necropsia de los animales que se encuentran en un estado activo de la enfermedad, consisten en una esplenomegalia, hepatomegalia acompañada de hemosiderosis (DOS SANTOS, 1982; Smith, 2002), nefromegalia, hiperplasia de la médula ósea, linfadenopatía generalizada y hemorragias generales.

Histológicamente, gran cantidad de hemorragias son el resultado inicial de procesos inmuno-mediados con necrosis linfoide, lo que da camino a cambios linfoproliferativos caracterizados por infiltración perivascular linfocítica de órganos y tejidos (hígado, riñón, bazo, médula ósea) (Smith, 2002). La trombocitopenia es el signo más consistente, que se presenta comúnmente durante los episodios febriles y contribuye al desarrollo de las hemorragias petequiales evidentes en la infección (Smith, 2002; Robinson, 2003).

En la AIE de tipo crónico la hipertrofia del bazo y médula ósea, pueden ser las únicas alteraciones anatomopatológicas visibles en un animal sacrificado (Jacobo y Ruiz, 1997). Microscópicamente se presenta una glomerulitis con aumento celular y espesamiento de la cresta glomerular (Colaham *et al.*, 1999).

Diagnóstico

Se pueden emplear varias pruebas para el diagnóstico tanto de la infección como de la anemia que produce la enfermedad.

Para el diagnóstico de la anemia se emplean distintos métodos; el hematograma que establece que el valor normal debe ser 6'900,000 eritrocitos por microlitro en caballos, permitiendo el diagnóstico de las anemias oligocitémicas (disminución en el número de elementos celulares en la sangre) (DOS SANTOS, 1982).

El hematocrito indica el volumen total de los glóbulos rojos que se considera normal, con valores entre 32 a 52%. La concentración de hemoglobina en sangre se expresa en gramos por decilitro.

Para el estudio de las anemias, se calculan los índices hematimétricos, que son valores establecidos a través de la relación existente entre el número de eritrocitos (hematocrito), la concentración de hemoglobina y el volumen globular medio (DOS SANTOS, 1982).

Con este fin dos índices tienen gran importancia, el volumétrico y el colorímetro. Estos dos índices tienen como valor normal, el número uno, o números ligeramente superiores o inferiores a la unidad. El índice volumétrico igual a la unidad, se encuentra en los animales normales o los que tienen anemias normocíticas; es decir, aquellas en las que los eritrocitos tienen concentraciones normales de hemoglobina. El índice colorímetro bajo caracteriza las anemias hipocrómicas, que son aquellas en las que los

eritrocitos poseen concentraciones bajas de hemoglobina. Los índices colorímetros altos se observan en las anemias hipercrómicas.

En un caballo con infección activa de AIE , estos estudios de sangre en laboratorio, pueden revelar una marcada baja de glóbulos rojos (de 4 a 8 millones), disminución en el número de plaquetas, y puede parecer delgada y diluida, , especialmente cuando hay episodios de fiebre (APHIS, 2003).

El diagnóstico de AIE solo es posible a través de análisis sanguíneo y específicamente de pruebas serológicas (DOS SANTOS, 1982). Hasta el año de 1970, no era posible diagnosticar la enfermedad, hasta que Leroy y Coggins (APHIS, 2003) describieron una prueba serológica efectiva para identificar anticuerpos específicos contra el virus de la AIE (APHIS, 2003).

Cada una de las pruebas que se emplean son para detectar los anticuerpos séricos del núcleo proteínico del virus conocido como *p29* (Robinson, 2003). Aunque diferentes autores mencionan como antígeno al *p29*, el Manual de pruebas diagnósticas y vacunas para animales terrestres de la OIE (2005), certifica el *p26*.

El *p26* es una estructura proteínica interna del virus que es codificada por el gen *gag*. El *p26* es más estable entre las cepas del virus de la AIE que las glicoproteínas gp45 y gp90 del virión (OIE, 2004).

La prueba de Coggins o de inmunodifusión de gelatina Agar (AGID) ha demostrado una correlación con los resultados de las pruebas de inoculación de caballos para el virus de la AIE, y por consiguiente, ha sido usada para identificar a los portadores del virus y es internacionalmente reconocida como la mejor prueba (APHIS, 2003).

Prueba de Coggins o Inmudifusión de gelatina agar (AGID). La prueba de Coggins es el método de elección para el diagnóstico de la anemia infecciosa equina (Viarural, S.F.¹). Es una técnica de laboratorio que consiste en la inmunodifusión en gel de agar, donde se enfrentan un antígeno (Coggins o

p26), con los anticuerpos provenientes de los sueros de los animales que se quieren diagnosticar.

Consiste en buscar anticuerpos neutralizantes (anti-*p26* o anti-antígeno de Coggins) que aparecen en el suero de los animales infectados entre los 15 y 30 días posteriores a la infección. Este tipo de anticuerpos persiste durante toda la vida del animal, sufriendo fluctuaciones en su título dependiendo del estado clínico del paciente, pero nunca dejan de aparecer (Viarural, S.F.).

Las pruebas se realizan en placas de *petri* donde se pone agar bufferado al 2% (buffer boricado de pH 8.6), al cual se agregan los sueros a diagnosticar, los testigos y el antígeno *p26*. Se incuban durante 48 horas en estufa de 20-24°C, y a las 24 horas se realiza la primera lectura y a las 48 horas, la lectura definitiva. Los animales primoinfectados darán siempre positivo a la prueba, salvo el período de incubación (primeros 20 días).

Los potrillos que nacen de yeguas positivas, al mamar calostro con anticuerpos provenientes de la madre siempre darán positivo, pero este resultado no significa que estén enfermos, deberá repetirse la prueba a partir del sexto o séptimo mes, ya que a partir de esa edad los anticuerpos calostrales han descendido; por lo que si después de estos meses dan positivo a la prueba, se sospechará de infección intrauterina o al nacimiento.

Todo animal que presente signos clínicos y se sospeche de AIE, debe ser sometido a la prueba de Coggins 20 días después de haber comenzado con los signos (Viarural, S.F.). Si el resultado es negativo, la prueba debe repetirse después de 15 días. Si el animal presenta dos resultados positivos, con 15 días de diferencia entre ambos, deberá ser denunciado en forma obligatoria a la autoridad sanitaria correspondiente.

Siempre que los animales tengan que ser transportados, deberán contar con una prueba de Coggins negativa, con una antigüedad no mayor a 6 meses (Viarural, S.F.).

Deben ser consideradas las situaciones en las cuales, pueden presentarse falsos negativos en el laboratorio, lo cual puede ocurrir en los siguientes casos:

- a. Animales recién infectados con el virus de AIE. La prueba detecta títulos de anticuerpos contra AIE después de 30-45 días a partir del momento de la infección. Si un equino es muestreado en este tiempo, podrá dar un falso negativo o firmar una banda de precipitina débil, lo que se asume como un resultado no concluyente. En estos casos se recomienda repetir la prueba 30 días después, hasta que se haya producido en el animal una tasa de seroconversión más elevada, considerando mientras tanto, tomar medidas preventivas (Asdesilla, 2005).
- b. Errores en el marcado e identificación de la muestra, lo que puede pasar de manera inconsciente y en otros casos con fines fraudulentos (Viarural, S.F.).

Así como lo anterior, también pueden ocurrir falsos positivos, los cuales se presentan, como se señala a continuación:

- a. En animales menores de un año hijos de madres positivas. Estos potrillos tienen títulos altos de anticuerpos contra AIE que les transmite su madre por inmunidad pasiva. Se debe realizar la prueba a partir del sexto mes de edad del potro y repetir cada dos meses hasta que el animal cumpla un año de vida. Animales que a los 12 meses presenten reacción, se consideran positivos y se debe tomar una decisión con ellos a criterio del médico veterinario.
- b. Errores en la toma, marcado e identificación de la muestra. Esto puede pasar de manera inconsciente y en otros casos con fines fraudulentos (Asdesilla, 2005).

En general, el problema de esta prueba en el diagnóstico es que es muy específica en cuanto al antígeno, pero de baja sensibilidad (Jacobo y Ruiz, 1997).

Prueba de ELISA. La técnica de ELISA para la detección de antígeno viral se basa en el método “sandwich”, que combina la acción de un anticuerpo de captura unido a una fase sólida y de un anticuerpo detector, marcado con un sistema señalizador como es la peroxidasa, la sensibilidad que presenta este método es equivalente a la del aislamiento viral. En otras palabras, se

encuentran los anticuerpos creados por el sistema inmune cuando el virus de la AIE ingresa al organismo (CORDEST, 2000).

Existen otras pruebas que se usan en conjunto para comprobar resultados tales como la prueba Western Blot y la IFA (polarización fluorescente). Estas pruebas son muy específicas para detectar anticuerpos, por lo que pueden descubrir casi siempre los resultados falsos positivos de la ELISA. Se afirma que la confiabilidad combinada de la ELISA junto con la Western Blot o la IFA es de prácticamente 100% (CORDEST, 2000).

La IFA es una técnica simple y rápida que puede ser muy útil como prueba de diagnóstico aprobada. Otra técnica de diagnóstico potencialmente útil es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual se basa en la detección del ácido nucleico viral tanto del RNA viral (en viriones) como en el ADN viral encontrado en el cromosoma del hospedador (proviral).

Esta técnica es muy específica pero puede resultar en falso negativo, debido a que detecta un determinado código genético y los virus de la AIE pueden cambiar su secuencia genética viral actual. Esto se ha demostrado porque se han encontrado diferencias genéticas en regiones aisladas dentro de las zonas (países) donde prevalece la infección, lo que hace posible que esta técnica no pueda detectar todas las variantes de los códigos genéticos del virus de la AIE (Robinson, 2003).

Por seguridad para el control de AIE, se debe usar las técnicas diagnósticas disponibles más exactas. La prueba de ID de Coggins fue aprobado en 1972, y aunque hay mejores técnicas disponibles actualmente, esta técnica, es la única prueba serológica cuyos resultados se correlacionan positivamente con la inoculación del virus en caballos. De cualquier forma, ambas pruebas (ID y ELISA) brindan más opciones e incrementan exactitud al diagnóstico (CORDEST, 2000); esencialmente se pueden maximizar las ventajas y minimizar las desventajas de cada una de ellas, y tener una ventaja adicional al medir anticuerpos frente a más de un antígeno.

Algunas de las ventajas que presenta la técnica de Coggins son:

1. Es específica; por actúa contra anticuerpos específicos y puede ser distinguido de otras.
2. Se correlaciona con el contenido viral medido por la prueba de inoculación.
3. Tiene aceptación internacional.
4. Se tienen cerca de 30 años de experiencia con su uso como técnica de diagnóstico.

Sus desventajas son:

1. Requiere una interpretación subjetiva y calificada del resultado.
2. Se dispone del resultado no antes de las 24 horas.
3. El operador debe preparar las placas con agar y un error puede inducir una disminución de la sensibilidad.

Las ventajas de la técnica de ELISA son:

1. Los Kits disponibles utilizan el mismo antígeno viral específico. Pueden ocurrir falso positivos.
2. Hay Kits que utilizan el mismo antígeno que la técnica de ID y algunos otros incluyen además un antígeno específico.
3. Es fácil de interpretar.
4. Los resultados son de lectura objetiva, cambio de color medido por un espectrofotómetro.
5. Se dispone del resultado en pocos minutos.

Sus desventajas son:

1. Puede ser menos específico que la ID y pueden dar falsos positivos. Los resultados positivos a ELISA deben ser confirmados con un la prueba de ID.
2. Es más costoso el diagnóstico por muestra.
3. No es aceptado en algunos estados o para el comercio internacional.

El objetivo de utilizar más de un tipo de pruebas para el diagnóstico, incrementa por un lado la exactitud y se gana en certeza si se usan varios antígenos (similar a las pruebas confirmatorias de VIH); y por el otro, se minimiza el impacto de la mayoría de los errores humanos.

La ID sigue siendo la prueba de elección para el diagnóstico de la AIE, y debido a que ha sido correlacionado con la presencia del virus, seguirá siéndolo respecto de otras técnicas comparativas. De este modo, una

reacción positiva a ELISA deberá ser confirmada por ID antes de comunicar el resultado e iniciar acciones.

Con las pruebas actualmente disponibles, en la gran mayoría de casos los resultados concuerdan (CORDEST, 2000). Algunas discordancias suceden como resultado de diferencias entre las pruebas de ID y ELISA, de un laboratorio a otro, de lectura a lectura con el mismo método y en el mismo laboratorio, o entre dos muestras de un mismo animal.

Estas diferencias se relacionan principalmente a un fenómeno biológico o a diferencias en el desempeño humano. Todos los kits aprobados están estandarizados para una sensibilidad equivalente, pero si se comparan dos técnicas, se podrán obtener resultados diferentes. Esto ocurre más frecuentemente cuando las muestras dan reacciones que están cerca del punto de corte en ELISA o al límite de detección en ID.

La razón biológica de divergencias más frecuente es que el equino en cuestión tenga muy bajos niveles de anticuerpos contra el virus de AIE. El equino puede haber estado recientemente expuesto y justo está comenzando a producir anticuerpos. Otras veces, los portadores inaparentes tienen un nivel consistentemente bajo de anticuerpos contra el virus, lo que sugiere un bajo nivel de replicación viral y una baja estimulación. En ambos casos el resultado final es el mismo: el nivel de anticuerpos es tan bajo, que escapa a la detección de algunos de las técnicas de rutina.

Otra razón común de estas diferencias, es que el caballo haya sido expuesto a un agente relacionado que da reacción cruzada con el antígeno del virus de AIE. Bajos niveles de anticuerpos específicos resultarían primariamente en falsos negativos a la inmunodifusión en agar, mientras que anticuerpos no específicos resultarían primariamente en falsos positivos a la prueba de ELISA. Afortunadamente, este tipo de reacciones se han observado en muy baja proporción.

A efecto de minimizar los errores humanos, se ha establecido que antes de otorgar la aprobación para realizar pruebas de diagnóstico para AIE, los técnicos deben tener un entrenamiento específico y demostrar competencia individual. Adicionalmente, se monitorea anualmente desempeño y calidad de los laboratorios por medio de pruebas de pericia que deben ser completados con exactitud por los laboratorios aprobados (CORDEST, 2000).

No obstante, pueden ocurrir errores humanos en múltiples aspectos. Primero, puede ocurrir error técnico en el procesamiento de la muestra: errores en la preparación del agar para la técnica de ID o en el lavado de los pozos para ELISA lo que origina resultados incorrectos. Segundo, el técnico puede sentirse incómodo o poco dispuesto para interpretar y reportar como positiva una muestra con una reacción a la ID muy débil. Tercero, puede ocurrir una pérdida en la integridad de la muestra por contaminación o mal rotulado. Cuando los laboratorios procesan un gran número de muestras, se requiere una atención constante para asegurar que todos los resultados sean apropiadamente conducidos y reportados.

Muchos laboratorios, confirman las muestras positivas realizando la prueba una segunda vez y también otros tipos de pruebas confirmatorias antes de emitir y reportar el resultado positivo. Es recomendable recolectar una segunda muestra de cada reactor para confirmar la exactitud y repetición del resultado, lo que es importante para asegurar la integridad del primer reporte, y en especial para minimizar el impacto de un error humano (CORDEST, 2000).

Biológicamente, las reacciones falsas en el diagnóstico de AIE son extremadamente raras. El número de equinos infectados por el virus de la AIE que se estima que fueron reportados falsamente como negativos, es menor al 1% del número total de reactores encontrados cada año. La cantidad de reacciones falsas pueden decrecer si los laboratoristas capitalizan las virtudes de las pruebas disponibles. El impacto de estos equinos falsos negativos es considerado significativamente bajo, con respecto a los millones de equinos que permanecen no valorados.

Las verificaciones y controles cruzados son usados para minimizar el impacto de reportes inexactos. La repetición de una prueba confirmatoria debe ser obligatoria, así como la educación continua de los técnicos; lo que incluye como prueba de rutina, muestras ciegas para asegurar la exactitud (CORDEST, 2000).

El servicio de Inspección de Sanidad Agropecuaria del Departamento de Agricultura de México tiene la responsabilidad de anotar y observar la prevalencia de la AIE, donde debe trabajar en conjunto con los estados del país para desarrollar programas de control adecuados y analizar pruebas para diagnosticarla en sus laboratorios.

Diagnóstico diferencial. Es difícil pero necesario, diferenciar la AEI de otras enfermedades que ocasionan focos de fiebre como son el ántrax, la influenza, y la encefalitis equina (APHIS, 2003). Otras enfermedades que deben ser consideradas porque causan hemólisis e ictericia se encuentran la insuficiencia hepática, infecciones clostridiales, mordeduras de serpientes, coagulación intravascular diseminada (que causa anemia microangiopática), insuficiencia renal y leptospirosis (causa hemólisis y hematuria) (Orsini y Divers, 2000).

La leptospirosis, se asocia con una gran variedad de signos clínicos como uveítis, pirexia intermitente y abortos; pero la espiroqueta produce potentes hemolisinas que causan hemólisis, la cual puede ser relacionada con AIE. Este tipo de infección son relativamente frecuentes en el caballo, pero los signos con frecuencia no son aparentes (Taylor *et al.*, 1999).

Otra enfermedad que puede causar signos similares a la AEI, es la Erlichiosis equina, provocada *Erlchia equi*, una rickettsia que parasita los glóbulos blancos de la sangre y es transmitida por las garrapatas. Este tipo de infección causa pirexia, depresión, ictericia (anemia hemolítica leve), petequias de las mucosas y edema de las extremidades. La hematología puede revelar una anemia transitoria de leve a moderada, resultado de la hemólisis. También

suele observarse leucopenia, incluida trombocitopenia, durante el periodo de pirexia (Taylor *et al.*, 1999).

La babesiosis, es otra enfermedad parasitaria de los eritrocitos del caballo ampliamente distribuida por América, este y sur de Europa. La distribución probablemente refleja la estabilidad del hábitat de la garrapata vector. Los signos clínicos incluyen pirexia, depresión, ictericia y hemoglobinuria, signos a diferenciar de AEI (Taylor *et al.*, 1999).

Muchos de los signos presentes en las enfermedades antes señaladas se presentan en la AIE, pero siempre uno de los signos puede ayudar a diferenciarlas. Por ejemplo, en términos de petequias y edemas, la expresión clínica puede ser similar en erliquiosis, púrpura hemorrágica y arteritis vírica equina. En términos de anemia hemolítica, los signos clínicos pueden ser similares a la erliquiosis y la anemia hemolítica inmunomediada. De cualquier forma, la ayuda del laboratorio es esencial para establecer un diagnóstico certero (Taylor *et al.*, 1999).

Tratamiento

Actualmente no hay un tratamiento específico o efectivo (APHIS, 2003) y no existe vacuna para prevenir esta enfermedad (López y Mestra, 1997). Los caballos infectados deben aislarse lo antes posible en caballerizas a no menos de 180 m de otros caballos (Orsini y Divers, 2000).

En países como España y Estados Unidos, es una enfermedad de declaración oficial y cuando se diagnostica un animal positivo se establece el sacrificio obligatorio. Es importante enfatizar las medidas preventivas y de control, ya que no es aconsejable implementar ningún tipo de tratamiento (Jacobo y Ruiz, 1997), debido a que se requiere cuidados de soporte y a que ningún tratamiento da resultado en la fase de portador (Orsini y Divers, 2000).

La terapia de soporte esta indicada durante los estados febriles. Minimizando el estrés ambiental, puede ayudar a disminuir la severidad y recurrencia de los signos clínicos (Reed, et al., 2004).

Prevención y control

Como no existe tratamiento ni vacuna, para evitar la infección en los animales es necesario considerar las siguientes medidas contra epizooticas de prevención y recuperación:

- Diagnóstico preventivo en movilización de animales.
- Aislamiento y eliminación de animales positivos al diagnóstico.
- Combatir insectos y mantener correctamente todas las condiciones sanitarias; drenajes de los pastos anegados y fiscalización de bebederos rústicos, con el fin de que los animales no beban agua estancada, no introducir animales infectados a lugares libres de AIE.
- Uso de material estéril y agujas individuales por animal para inyecciones y otras actividades médicas.
- Control de animales que entran y salen del hato.
- Control periódico en zonas de riesgo; se recomienda realizarlo dos veces al año.
- En caso de detectar casos positivos, realizar el diagnóstico de todos los animales en riesgo, repitiendo la prueba de 30 a 45 días después.
- Los animales positivos deben ser separados del resto de los animales y en lo posible realizar el sacrificio.
- Los animales que estuvieron en contacto con animales enfermos, se aislarán y se someterán a control clínico y serológico.
- Realizar periódicamente un diagnóstico a todos los animales.
- Mantener limpios y desinfectados los establos y alrededores en todo momento.
- Obedecer las leyes de salud del Estado que al respecto se dicten para la AIE. (Jacobo y Ruiz, 1997; Cuenca *et al.*, 2004)

Todos los caballos positivos a la prueba serológica, deben ser considerados infectados y un riesgo para los caballos sanos (Colaham *et al.*, 1999).

También existen medidas para la entrada y salida de caballos en el país, conocidas como contra epizooticas preventivas para exportaciones e Importaciones, cuya finalidad es prohibir importaciones y tránsitos de equinos procedentes de territorios con la enfermedad.

Además, en cada importación de solípedos el país importador exigirá al exportador un certificado oficial internacional en el que haga costar que en un espacio de tiempo no mayor a 5 días de efectuar el transporte lo siguiente:

1. Los animales no presentan signos clínicos de la enfermedad.
2. Han permanecido como mínimo durante los tres últimos meses, en su mismo lugar, donde en un entorno de 30 Km existe evidencia de que están libres de AIE por lo menos en los últimos 12 meses previos a la solicitud de movilización.
3. Los animales son negativos a la prueba de Coggins, realizada la prueba 30 días antes de su exportación.
4. Todos los caballos que permanezcan corto tiempo en el país (exposiciones y deportes ecuestres), deberán cumplir los requisitos 1, 2 y 3.
5. Los caballos que vayan a permanecer en el país, se someterán como mínimo a una cuarentena de 28 días, en cuyo transcurso serán monitoreados serológicamente.
6. La validez máxima de una prueba de Coggins negativa, debe fijarse de manera unitaria en 120 días (Cuenca *et al.*, 2004)

Otras medidas sanitarias para control y prevención de la AEI que deben ser consideradas en nuestro país, han sido estipuladas en el Decreto por parte del Poder Ejecutivo y el Presidente de la República y el Ministro de Agricultura y Ganadería, donde se señalada como una enfermedad de declaración obligatoria (ver anexo 1) (Orsini y Divers, 2000).

CONCLUSIONES

La AEI es una enfermedad con gran capacidad infecciosa, por lo cual se debe tener responsabilidad en el manejo y sanidad por parte del dueño o el administrador (zootecnista), que requiere en primer nivel prevenir la infección, sobre todo en zonas de riesgo o endémicas.

El diagnóstico de la AEI es difícil ya que requiere de equipo y técnicos especializados; sin embargo, es necesario realizar pruebas en forma anual y considerar el control de los insectos que actúan como vectores.

No se cuenta con vacunas ni con posibilidad de un tratamiento efectivo. La única solución permanente de la infección es el sacrificio de los animales infectados, lo que refleja una evidente pérdida económica.

Se requieren estudios epidemiológicos que permitan determinar el grado de prevalencia de la infección en zonas endémicas de nuestro país, para así mismo establecer las medidas sanitarias convenientes en cada caso.

Dentro de nuestro país, el control de la AIE requiere de la normalización para establecerla como una enfermedad de declaración obligatoria, que implique las cuarentena y otras precauciones en la frontera, cuando se detectan animales positivos que pretenden ingresar al país, siendo en estos casos recomendable su sacrificio y destrucción del cadáver.

BIBLIOGRAFIA

- APHIS (Animal and Plant Health Inspections Service). 2003. *La Anemia Infecciosa Equina* [en línea]. USDA. National Center for Animal Health Programs. Marzo, 2003. Washington, D.C. USA. http://www.aphis.usda.gov/lpa/pubs/fsheet_faqs_notice/fs_aheia.html [Consulta: 24 octubre, 2005].
- Asdesilla. 2005. *Una Mirada desde el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario* [en línea]. Anemia Infecciosa Equina, Revista Alcampo, 2da edición. Agosto, 2005. http://www.asdesilla.com/actualidad/temas_mes/temas_mes016.asp [Consulta: 24 octubre, 2005].
- Audesirk T. y Audesirk G. 1997. *Biología: la vida en la Tierra*. (4ª ed.) Ed. PHH Prentice Hall. México, D. F. Pp. 399-405, 667-668.
- Augusto, J. 2004. *Guía Práctica de Sanidad Equina para Importación de Caballos y Equinos de México a Estados Unidos de América* [en línea]. Junio 2004. http://www.mundocharro.com/events/usa/evento_jorge_murgo_03_06_2004.htm [Consulta: 24 octubre, 2005].
- Colaham, T. P.; Mayhew, L. G. J. y Merritt, M. A. (1999). *Equine Medicine and Surgery*. (4ª ed.) Ediciones Mosby. USA. Pp. 2013-2020.
- Colaham, T. P.; Mayhew, L. G. J. y Merritt, M. A. 2000. *Equine Medicine and Surgery*. (5ª ed.) Ediciones Mosby. USA. Pp.2050-2051.
- CORDES, T. (2000). *Equine Infectious Anemia and EIA Brochure*. [en línea] National Health Programs, APHIS, USDA, Extractado del Foro de la AAVE http://covectba.com.ar/tools/publish_printversion.asp?path=colveterinario/html&item=164 [Consulta: 30 enero, 2006].
- Cuenca, C. J.C.; Rodríguez, C. O.; Pérez, C. R. y Monteagudo E. (2004). *Anemia Infecciosa Equina* [en línea] <http://monografias.com/trabajos19/anemia-infecciosa-equina/anemia-infecciosa-equina.shtml> [Consulta: 30 enero, 2006].
- Dos Santos, A. J. 1982. *Patología Especial de los Animales Domésticos*. (2ª ed.) Ed Interamericana. México, D. F. Pp. 251-252.
- Echeverría, A. R. M. 2005. *DECRETOS*. [en línea]. Presidente de la República y el Ministro de Agricultura y Ganadería, Poder Ejecutivo. 1 vez.-(Solicitud N° 32217).-C-21280.-(16678) http://www.oirsa.org/OIRSA/Miembros/Costa_Rica/Decretos_Leyes_Reglamentos/Decreto28516-MAG.htm [Consulta: 10 de noviembre, 2005].
- López, J. y Mestra, O. 1997. *El SIDA de los equinos REMEDIO: FUSIL SANITARIO* [en línea]. Ciencia al Día AUPEC, Universidad Nacional, sede Palmira, Colombia. <http://aupec.univalle.edu.co/informes/octubre97/boletin49/equinos.html> [Consulta: 24 de octubre, 2005].
- OIE (Office International des epizooties). 2004. *Manual of Estandars for Diagnostic test and vaccines* [en línea]. Equine infectious anaemia. Chapler 2.5.4. 5th edition http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_00082.htm [Consulta: 8 de febrero, 2006].
- Orsini A. J. y Divers J. T. 2000. *Manual de Urgencias en la Clínica Equina* (1ª ed.) Ed. SAUNDERS, USA. Pp. 290-291.
- Reed, Bayly, Sellon, 2004. *Equine Internal Medicine*. (2th ed.) Ed. SAUNDERS, USA. Pp. 733-735.
- Robinson, N. E. 2003. *Current Therapy in Equine Medicine*. (5ª ed.) Ed. SAUNDERS. USA. Pp. 45-47.

- Smith, P.B. 2002. Large Animal Internal Medicine. (3^{er} ed.) Ed. Mosby, USA. Pp. 1056-1057.
- Jacobo, C. J. y Ruiz, M. A. 1997. *Anemia Infecciosa Equina* [en línea]. <http://www.monografias.com/trabajos10/anem/anem.shtml> [Consulta: 24 octubre, 2005].
- Taylor, F.G.R. y Hillyer, M. H. 1999. Técnicas Diagnósticas de Medicina Equina. Ed Acribia. España. p. 143-165.
- Viarural. S. F. *Test de Coggins* [en línea]. *Anemia Infecciosa Equina* <http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/ganaderia/equinos/test%20de%20coggins.htm> [Consulta: 24 octubre, 2005].
- Viarural (S. F.¹), *Fiebre de los Pantanos* [en línea]. *Anemia Infecciosa Equina* <http://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/ganaderia/equinos/inf-anemia-infecciosa-equina.htm> [Consulta: 24 octubre, 2005].
- Wise, D. J. and Carter, G. R. 2005. *Interacciones virus-célula y patogénesis celular* [en línea] Internacional Veterinary Information Service, Virginia-Maryland Regional Collage of Veterinary Information. Virginia Tech, Blacksburg, Virginia, USA. Ver. A3404.0205.ES http://www.ivis.org/advances/CAter/Part1Chap4_es/chapter.asp?LA=2 [Consulta: 7 mayo, 2005].

ANEXO 1.

PODER EJECUTIVO

DECRETOS

Nº 28516-MAG

EL PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA Y EL MINISTRO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA

En ejercicio de las facultades conferidas por ordinal 140 incisos 3) y 18) de la Constitución Política, numerales 27 y 28 de la Ley General de la Administración Pública; ordinales 1, 2, 3 y 6 de la Ley General de Salud Animal Nº 6243; Ley General Programa Ganadero y de Salud Animal Nº 7060 y el número 3 incisos a) y d) de la Ley Orgánica del Colegio de Médicos Veterinarios Nº 3455; el Convenio de Adhesión a la Oficina Internacional de Epizootias (OIE);

Considerando:

1º Que uno de los objetivos fundamentales de la Ley General de Salud Animal es proteger la ganadería contra las plagas y enfermedades.

2º Que corresponde al Ministerio de Agricultura y Ganadería la ejecución y vigilancia del cumplimiento de la normativa relativa a la protección sanitaria del hato nacional.

3º Que el Ministerio de Agricultura y Ganadería está facultado para dictar medidas técnicas, administrativas y legales con el fin de evitar la difusión de enfermedades en los animales.

4º Que el Ministerio de Agricultura y Ganadería debe colaborar en la educación del público en general y del propietario en particular, con respecto a su rol en el control y erradicación de enfermedades animales.

5º Que la Anemia Infecciosa Equina es una enfermedad existente en el país y que el control sanitario estricto limita su diseminación.

6º Que la Ganadería Equina tiene un alto grado de selección genética constituyendo un segmento importante de la economía como fuente generadora de divisas y empleo.

7º Que la Ganadería Equina cumple con un importante rol social como transporte y herramienta de trabajo para un importante sector de la población nacional. Por tanto,

Decretan:

Artículo 1º Se declara de combate particular obligatorio el control de Anemia Infecciosa Equina así como enfermedad de denuncia obligatoria por parte de los Médicos Veterinarios que asistan al enfermo y los que por razón de sus funciones conozcan el caso.

Artículo 2º El Ministerio de Agricultura y Ganadería por medio de la Dirección de Salud Animal apoyará las normas y procedimientos administrativos que orientados al control de la enfermedad soliciten los grupos y asociaciones debidamente organizados, siempre y cuando estos procedan técnicamente y respondan a la legislación vigente y concuerden con las recomendaciones y criterios de organismos asesores.

Artículo 3º Para la participación de equinos en ferias, exposiciones y competencias será necesario portar el certificado que los acredite como negativos a Anemia Infecciosa Equina. Este certificado podrá ser emitido por el Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario del MAG o alguno otro particular acreditado por el MAG y será el organizador del evento el que está obligado a velar por el cumplimiento de este requisito.

Artículo 4º El Laboratorio de Diagnóstico Veterinario del MAG o acreditados por éste, solo procesarán muestras tomadas por Médicos Veterinarios particulares autorizados para el ejercicio de su profesión o técnicos y Médicos Veterinarios Oficiales.

Artículo 5º Para exportación y vigilancia de los animales importados la prueba de AIE solo podrá realizarse en el laboratorio oficial del MAG y en este caso la toma de la muestra podrá hacerse por Médicos Veterinarios particulares o Médico Veterinario Oficial.

Artículo 6º La prueba oficial para el Diagnóstico de la AIE, será inmunodifusión en Agar Gel (test de Coggins) la que tendrá una validez de 60 días y como prueba alterna y/o complementaria se usará ELISA, pudiendo ser autorizada alguna otra, a solicitud de los interesados y que a juicio de la Dirección de Salud Animal proceda técnicamente.

Artículo 7º El regente de todo laboratorio queda obligado a reportar mensualmente, a la Dirección General de Salud Animal los resultados de las pruebas de Anemia Infecciosa Equina. Queda especialmente obligado a denunciar dentro de las veinticuatro horas siguientes al diagnóstico cierto o probable de la enfermedad.

Artículo 8º En caso de confirmación de un caso de Anemia Infecciosa Equina, el Médico Veterinario deberá ordenar las medidas necesarias para evitar la propagación de la enfermedad, de acuerdo con las normas fijadas por la Dirección General de Salud Animal.

Artículo 9º Los animales positivos deberán marcarse con una "S" (sacrificio), en los maseteros del animal, acción que debe ejecutar el técnico o profesional oficial o privado que tomó la muestra de sangre y es quien puede dar fe de a cual animal corresponde, dentro de los tres días hábiles siguientes a partir del recibido de la confirmación laboratorial.

Artículo 10º. Las personas responsables de un animal afectado por Anemia Infecciosa Equina, solo podrán trasladar a dicho animal a un matadero. El traslado deberá ser efectuado con el menor número posible de interrupciones y sin bajar nunca al animal del vehículo.

Artículo 11º. El regente veterinario de los mataderos o plantas de sacrificio, deberán informar a través de la copia respectiva de la bitácora de regencia, a la Dirección General de Salud Animal, del sacrificio de animales marcados con "S" en los maseteros.

Artículo 12º. Toda persona deberá permitir la entrada de los funcionarios del Servicio Veterinario Oficial, debidamente identificados, a su domicilio o a los inmuebles de su propiedad o a su cuidado, para que realicen controles y prácticas que sean necesarias para evitar la aparición, o difusión de la Anemia Infecciosa Equina.

Artículo 13º. Los laboratorios deberán velar por la idoneidad de la muestra, de forma que sea concordante el resultado con el paciente, hato y zona geográfica.

Artículo 14º. Cuando las muestras para análisis de Anemia Infecciosa Equina arrojen resultados positivos, éstas deben almacenarse hasta por treinta días para análisis de comprobación y por lo tanto deberán de mantenerse a buen seguro.

Artículo 15º. Los Laboratorios Veterinarios Particulares deberán asegurar que cuando el cliente requiera la transmisión de resultados de análisis por fax, teléfono o cualquier otro medio electrónico o electromagnético, el personal seguirá procedimientos documentados para asegurar que la Dirección General de Salud Animal, sea informada con anterioridad de cualquier resultado positivo.

Artículo 16º. Queda terminantemente prohibida la participación en competencias, ferias, exposiciones y otros; de caballos, burros y mulas sin el resultado que los acredite como animales libres de Anemia Infecciosa Equina. A su vez no serán objeto de garantía ante sistema bancario ni serán asegurados aquellos animales que no demuestren su estado de libre a la Anemia Infecciosa Equina.

Artículo 17. Se deroga el Decreto Ejecutivo N° 22875-MAG de 24 de enero de 1994, publicado en "La Gaceta" N° 38 del 23 de febrero de 1994 y toda otra disposición que se le oponga.

Artículo 18. Rige 10 días después de su publicación.

Dado en la Presidencia de la República.-San José, a los veinticinco días del mes de noviembre de mil novecientos noventa y nueve.

MIGUEL ANGEL RODRIGUEZ ECHEVERRIA.-El Ministro de Agricultura y Ganadería, Esteban Brenes Castro.-1 vez.-(Solicitud N° 32217).-C-21280.-(16678). (Echeverria, 2005).