

LA ANEMIA INFECCIOSA EQUINA (REVISION DE LITERATURA)*

Jorge Almansa, MV., M.Sc.; Olga Mariño, Mic., M.Sc., Ph.D.,
Esperanza Rueda, Mic., M.Sc.

La anemia infecciosa equina (AIE) es una enfermedad altamente prevalente en algunas áreas geográficas de Colombia, cuyo conocimiento es poco difundido y sobre la cual, a pesar de existir un método serológico de diagnóstico y un trabajo de más de dos décadas en nuestro laboratorio, no se conocen con exactitud ni su distribución ni sus posibles efectos sobre la economía ganadera nacional. El presente trabajo revisa aspectos fundamentales del proceso, llama la atención de médicos veterinarios y propietarios de equinos sobre la presencia de la entidad y su importancia en nuestro medio y, finalmente, plantea a las autoridades sanitarias la necesidad de delinear políticas de control que permitan una lucha racional y efectiva contra ella.

La AIE es una enfermedad de origen viral que afecta a la familia *Equidae* incluyendo caballos, ponis, mulas y asnos. Es una entidad contagiosa, ampliamente distribuida en el mundo y conocida como «fiebre de los pantanos» (Swamp fever), debido a su elevada presentación en condiciones que favorecen la alta concentración de vectores y por ende, su distribución. La primera descripción de caballos con los signos clínicos clásicos de AIE, publicada en Francia, data de 1.843. En 1.904, durante el nacimiento mismo de la virología, Vallee, demostró que la enfermedad es causada por un «virus filtrable». Sin embargo, no fue sino hasta los primeros años de la década del 70 cuando se logró identificar como un virus RNA, y más tarde sería clasificado como retrovirus por depender de una transcripción inversa, perteneciente a la subfamilia *Lentiviridae* (Cheevers, 1977). En esa misma década se estableció una prueba

* Trabajo basado en las dos magníficas revisiones del Dr. D. L. Clabough (2,3), traducidas, actualizadas, adaptadas y enriquecidas con datos nacionales.

diagnóstica capaz de identificar portadores inaparentes del proceso, y algunos países determinaron, entonces, políticas encaminadas a su control.

A mediados de la década pasada los estudios sobre retrovirus adquieren una importancia especial cuando se reconoce que el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida humana (SIDA) es causado por un agente perteneciente a este grupo. Hoy la investigación en aspectos moleculares y celulares de la infección y la inmunidad estimulada por lentivirus está arrojando nuevas luces sobre esta «vieja enfermedad equina», produciéndose así una valiosa información que posiblemente conducirá un día a métodos de prevención, control e incluso tratamiento efectivos.

En Colombia la población equina estimada para 1987 era de 3'179.834 animales, la mayoría de los cuales cumplen una función esencial en las faenas de campo y continúan siendo un medio indispensable de transporte y carga.

Posiblemente el primer trabajo sobre AIE realizado en el país es el de Morales (1953) presentado en 1948 y publicado cinco años más tarde por la Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. En dicho trabajo se afirma que la enfermedad, «probablemente traída de Venezuela, existe desde hace mucho tiempo entre nosotros»; se hace un análisis clínico de varios casos y se reportan las observaciones y resultados obtenidos.

En los años 60 Almanza e Hincapié llaman de nuevo la atención sobre la presentación de casos clínicos del proceso. Su preocupación e interés llevan a que en 1972 Mariño, en el laboratorio de inmunología del Laboratorio de Investigaciones Médicas Veterinarias del ICA, adapte la prueba de Coggins y se inicien algunos trabajos epidemiológicos, básicamente tesis de grado, que en la mayoría de los casos permanecen sin publicar.

En 1978 se editó el «Manual de Técnicas en Microbiología», en el cual se describe la metodología para la producción de antígeno a partir de bazos de animales infectados experimentalmente, así como el procedimiento para llevar a cabo las pruebas serológicas y su interpretación. En 1979 la detección de algunos casos clínicos en animales muy valiosos del hipódromo de Bogotá estimula de nuevo el interés por la enfermedad. Los estudios epidemiológicos de Orrego *et al.* (1976), Orrego *et al.* (1978), Navarrete *et al.* (1980), Borda (1984) y Jiménez *et al.* (1988) son algunos de los trabajos en donde se reporta serología positiva en distintas regiones del país. Orrego en 1984 publica su tesis doctoral sobre la variación antigénica del virus de la AIE, siendo éste posiblemente el único trabajo básico realizado por un investigador nacional a propósito de la enfermedad.

La elaboración de este trabajo, cuyo objetivo primordial es dar a conocer al país la importancia de la AIE y la trayectoria de su estudio en Colombia, se basó en las documentadas revisiones del Dr. Debra Clabough, principalmente, y se enriqueció con datos y referencias bibliográficas de investigadores colombianos.

SIGNOS CLINICOS

La infección con el virus de la AIE (V-AIE) puede resultar en tres síndromes clínicos cuyos límites son pobremente definidos: enfermedad aguda, enfermedad crónica y estado de portador inaparente o sano. No todos los animales infectados atraviesan todos los síndromes; algunos desarrollan la enfermedad aguda y más tarde episodios recurrentes hasta llegar a ser portadores inaparentes. Pocos caballos infectados muestran cuadros clínicos típicos. Los que sobreviven llegan a ser portadores sanos de por vida. Entre los 7 y los 30 días de la infección inicial, los caballos pueden desarrollar la enfermedad, aguda con fiebre de 40 a 41°C, anorexia y petequias de las mucosas. Al practicar la necropsia se pueden observar petequias y equimiosis de los órganos viscerales.

La anemia no es una característica común en una infección aguda, pero aquellos animales severamente afectados pueden presentar epistaxis, anemia y edema ventral; además pueden morir durante este período. Mientras se sucede el pico febril de la fase aguda, el nivel de virus en la sangre es muy alto y se pueden encontrar antígenos virales en la mayoría de los tejidos. Es raro que los propietarios detecten la fase aguda, a no ser que los animales sean cuidadosamente observados. Aproximadamente la mitad de los animales afectados mostrarán tan sólo ligera depresión, disminución del apetito y fiebre ligera durante esta fase. El diagnóstico es difícil debido a que los caballos pueden permanecer seronegativos hasta por 45 días después de ser infectados.

Los animales que sobreviven al episodio febril inicial pueden progresar hacia enfermedad crónica; la fase aguda tarda pocos días. Los caballos quedan, entonces, sujetos a ciclos recurrentes de la enfermedad, la cual aparece inicialmente con intervalos quincenales; estos caballos muestran los signos clásicos de pérdida de peso, anemia y edema.

La frecuencia y severidad de los episodios recurrentes decrece con el tiempo, cerca del 90% de los cuales ocurren dentro del primer año. La mayoría de muertes no se suceden sino hasta al menos cuatro semanas después de la infección. Sin embargo, casi todos los animales afectados sobreviven a esta etapa y llegan a ser portadores asintomáticos. Experimentalmente los signos clíni-

cos de AIE se recrudescen después de la administración de corticoesteroides, lo cual sugiere que el estrés medio ambiental puede inducir signos clínicos.

La mayoría de los caballos que son seropositivos para el V-AIE son portadores sanos, esto es, no muestran signos clínicos. Aunque el nivel de viremia en caballos crónicamente afectados es bajo comparado con la viremia alcanzada durante la fase aguda, estos animales sirven como reservorio y fuente de virus para animales a riesgo, es decir, pueden transmitir la enfermedad bajo condiciones de campo a caballos no infectados.

TRANSMISION DEL V-AIE

En la AIE la transferencia viral se realiza predominantemente a través de la alimentación intermitente de insectos hematófagos, especialmente de aquellos de la familia *Tabanidae*. La transmisión puede ocurrir también de manera iatrogénica mediante transfusiones con sangres contaminadas, o por el uso de agujas hipodérmicas y material quirúrgico inapropiadamente empleado. El virus puede atravesar la barrera placentaria, resultando en infección fetal.

A nivel experimental, una mosca que interrumpe su alimentación sobre un caballo pony infectado que se encuentra en la fase aguda, para alimentarse luego sobre uno susceptible, puede transmitirle el V-AIE. Las moscas del caballo (*Tabanus ssp*) aisladas 30 minutos después de alimentarse sobre un animal infectado son capaces de transmitir la infección, mientras que las que se aislan tras cuatro horas o más no lo hacen. Es decir, la mosca debe picar al animal infectado, interrumpir su alimentación y rápidamente reiniciar el proceso sobre un animal susceptible. Si la alimentación se completa sobre un solo huésped, la posibilidad de transmisión es menor. Debido al tamaño y al dolor ocasionado por las picaduras de los tábanos involucrados en la distribución del agente, es poco probable que uno de estos insectos complete su alimentación de manera ininterrumpida sobre un mismo animal (se estima que las piezas bucales de estas moscas pueden transportar aproximadamente 5 nanolitros de sangre).

Existe además, una correlación lineal entre la distancia caballo-caballo y el porcentaje de realimentación de las moscas sobre un mismo animal. Una distancia de 180 m entre los caballos elimina la distribución de la AIE debido a que llega a ser mucho más probable que las moscas se alimenten sobre el huésped original. La distancia de vuelo de la mosca del caballo puede exceder los 7 Km, pero el tiempo necesario para ello no ha sido determinado. Durante un episodio febril agudo de AIE, un caballo tendrá un título viral plasmático que es 1.000 a 100.000 veces más alto que el título de un animal infectado afebril.

Este hecho implica una mayor probabilidad de transmitir la enfermedad desde un caballo febril que de un portador asintomático e indica que animales clínicamente enfermos son posiblemente la mayor fuente de virus, durante la propagación epizootica. A pesar de esta circunstancia, varios estudios han demostrado que los portadores asintomáticos constituyen una fuente potencial de virus que puede ser transmitido a través de insectos. Los portadores sanos o inaparentes se mantienen virémicos de forma indefinida, aunque los virus parecen estar confinados a un pequeño número de leucocitos mononucleares circulantes. Todos los caballos serológicamente positivos deberán ser considerados reservorios de infección y potencialmente peligrosos, en el sentido de configurarse como posible fuente de virus para animales susceptibles.

La infección transplacentaria fetal ocurre con mayor posibilidad en hembras seropositivas que desarrollan un episodio febril durante la gestación. El feto infectado puede ser abortado o sobrevivir, siendo «virus positivo» al nacer y posiblemente seropositivo. En un estudio realizado con 20 potros y en otro con 45, cerca del 10% nacieron infectados y provenían de yeguas que no mostraron signos clínicos de AIE durante la gestación, pero que eran positivas tanto para virus como para anticuerpos de AIE. En estos estudios las pruebas biológicas para virus fueron realizadas inoculando caballos susceptibles, con sangre de las hembras experimentales. Cuando un animal ha sido inoculado experimentalmente, el aislamiento viral en el laboratorio resulta difícil. La posibilidad de transmisión viral por insectos hematófagos después del nacimiento no fue considerada en estos estudios, como tampoco la posibilidad de transmisión calostrala.

La transmisión por insectos entre hembras infectadas y potros no infectados no representa un problema mayor. Los insectos parecen preferir caballos adultos a potros y se alimentarán preferencialmente sobre las madres. En un trabajo en el cual 13 potros y 22 hembras adultas fueron observados 14 veces durante un período de seis horas mientras se movían libremente en el potrero, los potros tenían sólo el 2.43% de la ocurrencia de picaduras por tábanos de las observadas en las hembras. Estos hallazgos no parecen deberse al tamaño más pequeño de los potros, ya que las moscas se alimentan de la misma forma y con igual frecuencia sobre hembras pony adultas que sobre yeguas adultas corrientes, si pastan bajo las mismas condiciones.

Los potros pueden ser protegidos de AIE por la transferencia de anticuerpos maternos. Los nacidos de hembras seropositivas serán serológicamente positivos si han ingerido y absorbido calostro a las 24 horas del nacimiento. Esta inmunidad pasiva calostrala generalmente desaparece a los 6 meses de edad.

PATOLOGIA

En casos fatales de AIE las lesiones macroscópicas incluyen linfadenopatía, hepatomegalia, esplenomegalia acentuada, acentuación de la lobulillación hepática, hemorragias viscerales y de mucosas, edema subcutáneo ventral y trombosis. Microscópicamente, se observa acumulación de linfocitos y macrófagos en áreas periportales y degeneración hepática centrolobulillar. También se produce degeneración grasa y necrosis hepatocelular; las células de Kupffer están frecuentemente tumefactas y contienen hierro teñible. Existe una correlación positiva entre la severidad de la infiltración mononuclear hepática y la frecuencia e intensidad de los episodios febriles recurrentes.

Los portadores asintomáticos de la enfermedad tienen un hígado histológicamente normal sin lesiones discernibles. Los ganglios linfáticos pueden mostrar una marcada proliferación linfocítica y se puede observar un gran número de gránulos de hemosiderina en macrófagos, especialmente en caballos clínicamente enfermos, en los cuales también se ha detectado glomerulitis con incremento de la celularidad y engrosamiento del ovillo glomerular. Los infiltrados mononucleares (linfocitos y macrófagos) pueden ser vistos en glándula adrenal, meninges y pulmones. La hemorragia y el edema han sido atribuidos a cambios vasculares.

PRUEBAS DIAGNOSTICAS PARA AIE

Existen tres pruebas confiables aceptadas por el Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos (USDA): la inoculación de caballos o prueba biológica, la prueba de Coggins y la C-ELISA (competitiva). En Colombia se puede realizar la prueba biológica y en algunos centros de diagnóstico se cuenta con la prueba de Coggins.

La inoculación de caballos es la más antigua y confiable de las pruebas diagnósticas. Cerca de 250 ml de sangre entera, tomada de un caballo sospechoso de estar infectado, se inyectan por vía intravenosa a un caballo no infectado. El animal receptor se observa para determinar si presenta signos clásicos de la enfermedad. A pesar de su confiabilidad, esta técnica se usa rara vez, dado su elevado costo, el tiempo consumido y además, por requerir el uso de un animal previamente sano.

Las pruebas de Coggins y ELISA detectan anticuerpos a la proteína grupo específica del núcleo viral, conocida como p-26. Se debe recordar que los animales infectados en forma aguda producen anticuerpos detectables dentro de los 45 días siguientes a la infección. La prueba de Coggins es quizá la técnica

más ampliamente utilizada en el mundo para el diagnóstico de AIE y tiene al menos el 95% de seguridad en la detección de la infección. La C-Elisa fue recientemente aprobada por USDA para diagnóstico de AIE. Los resultados obtenidos se correlacionan altamente con los hallados por prueba de Coggins, siendo la C-ELISA más sensible. Este incremento en la sensibilidad puede conducir ocasionalmente a un resultado falso positivo. Un caballo con prueba positiva podría requerir confirmar los resultados.

Debido a que la mayoría de los signos clínicos en AIE son secundarios a la falla de la respuesta inmune del huésped para liberarlo del virus, ahora se discutirán con algún detalle los mecanismos fisiopatológicos que resultan en enfermedad, particularmente las razones para que se produzca la persistencia viral, a pesar de la vigorosa respuesta específica humoral estimulada. Se discutirán también algunas medidas de control que han ayudado a disminuir la prevalencia de AIE en los Estados Unidos durante los últimos 15 años.

EL VIRUS

Basados en su ultraestructura, reactividad serológica cruzada y organización genómica, el V-AIE es clasificado en la familia *Retroviridae*, subfamilia *Lentiviridae*. Es un virus RNA con un promedio de diámetro de 140 nanómetros; su envoltura posee botones de superficie y además presenta un denso núcleo cónico.

El núcleo contiene la enzima transcriptasa reversa dependiente de Mg^{++} , un genoma constituido por dos hebras de RNA idénticas y cuatro proteínas nucleares virus específicas no glicosiladas (P15, P26, P11 y P9). Los antígenos de superficie están formados por dos proteínas virales glicosiladas, la Gp 90 y la más hidrofóbica, Gp 45. La envoltura viral se deriva de la membrana plasmática de la célula huésped durante el proceso de gemación o botonamiento.

La reactividad serológica cruzada entre el virus de la AIE y el virus de la inmunodeficiencia humana (Hiv) se encuentra bien documentada, pero ella no parece existir entre el V-AIE y otros lentivirus (por ejemplo, el virus de la artritis-encefalitis caprina y el virus *visna-maedi* de la oveja).

Los huéspedes montan una respuesta inmune humoral contra epítopes localizados sobre las glicoproteínas de membrana (Gp 90 y Gp 45). Estos anticuerpos tipo específicos pueden o no ser neutralizantes del virus. En el caso de ser neutralizantes, son efectivos tan sólo para la cepa viral involucrada.

Se observa poca o ninguna reacción cruzada entre diferentes aislamientos de V-AIE, aun cuando ellos sean obtenidos de episodios clínicos sucesivos en el mismo animal. De otra parte, los anticuerpos contra el antígeno grupo específico del núcleo, la P-26, reconocen todos los aislamientos virales, no son neutralizantes y sirven como base para la mayoría de las pruebas diagnósticas.

Después de la entrada del virus en la célula huésped, éste se replica usando su polimerasa de DNA dependiente de RNA o transcriptasa reversa para producir una copia de DNA o «provirus», que es insertado en el genoma de la célula huésped, donde dirige la replicación viral y la producción de las proteínas específicas del virus. El genoma viral codifica para tres grupos mayores de productos conocidos como GAG (group associated antigen), el cual incluye las proteínas estructurales p-26, p-11, p-9 y p-15; Pol (Polymerase); que incluye la enzima transcriptasa reversa, una enzima degradante de RNA y una enzima que fractura el DNA de la célula huésped, a fin de permitir la integración del provirus y finalmente, ENV (Envelope), que codifica las proteínas Gp-90 y Gp-45. Extrapolando los resultados obtenidos de las investigaciones en HIV, se puede decir que el genoma del V-AIE codifica una «mirada» de otras complejas proteínas regulatorias. Un ejemplo: el gen TAT ha sido específicamente identificado en el genoma de este virus, y su proteína producto se ha visto que incrementa la producción de RNA mensajero del V-AIE.

REPLICACION DEL VIRUS

Se piensa que la replicación del V-AIE ocurre inicialmente en las células fagocíticas localizadas en el sitio de la invasión. El virus producido se disemina a través de fluidos, tejidos y sangre al resto del cuerpo.

La fiebre y las hemorragias características de la AIE serían el resultado de la multiplicación viral seguida de la destrucción de los macrófagos. La activación y destrucción de macrófagos resultan en la liberación de una serie de citoquinas que pueden inducir fiebre y alterar la integridad de los endotelios vasculares, los cuales pueden lesionarse como resultado de la deposición de complejos inmunes, con la consiguiente actividad de elementos amplificadores del sistema inmune como el "complemento". La contribución precisa de la trombocitopenia y la integridad vascular alterada en la producción de las hemorragias vistas en AIE se desconoce; sin embargo, la mayoría de los caballos infectados no desarrollan una trombocitopenia severa, suficiente para causar hemorragia en un animal de otra forma normal.

Estudios con anticuerpos fluorescentes de tejidos de caballos infectados crónicamente indican que el antígeno viral está presente en el citoplasma de células parecidas a macrófagos, más notablemente en el bazo. El antígeno viral también fue encontrado en otros tejidos del cuerpo de estos caballos, aunque en pequeñas cantidades.

Durante la fase virémica aguda de la infección, el virus es detectado principalmente en hígado, bazo y suero. Los títulos virales séricos fluctúan ampliamente, pero son más altos durante el episodio febril agudo y luego decrecen durante los episodios subsiguientes. Los títulos pueden descender a niveles casi indetectables durante los períodos asintomáticos, entre los ataques agudos.

VARIACION ANTIGENICA DEL VIRUS EN CABALLOS INFECTADOS CRONICAMENTE

En caballos infectados crónicamente, cada episodio febril está asociado con la emergencia de una nueva cepa antigénica del V-AIE. Se ha propuesto que estas nuevas cepas se producen debido a la presión inmune del huésped, ya que ellas son temporalmente capaces de escapar a la respuesta inmune, causando así los episodios febriles periódicos. La mayoría de tales episodios ocurren durante el primer año de infección.

La eventual cesación de la enfermedad clínica en la mayoría de los caballos ocurre gracias a que montan una respuesta inmune contra todos los epítopes comunes a todas las variantes del V-AIE. La variación antigénica podría cumplir algún papel en la capacidad del virus de persistir en el huésped y es uno de los obstáculos para el desarrollo de una vacuna, amén de todos los inherentes a cualquier retrovirus.

Los estudios de mapeo de péptidos muestran que la glicoproteína Gp-90 de la envoltura viral es la más variable de las proteínas del virus. La variación se debe a cambios en la secuencia del material genético que codifica para esta proteína. En contraste, no se observa variación alguna en las proteínas nucleares.

La comparación de péptidos y mapas genómicos de aislamientos virales recobrados de episodios febriles secuenciales revelaron que cada aislamiento era estructuralmente único y la variación ocurría en un proceso no acumulativo al azar. Con el uso de anticuerpos monoclonales contra las glicoproteínas Gp-90 y de Gp-45 de la envoltura viral se ha documentado la rápida variación de los epítopes.

Se ha propuesto que la presión inmune selectiva actúa como una fuerza conductora tras la variación antigénica vista en los casos clínicos de AIE. Las alteraciones en la envoltura viral facultan a la nueva cepa antigénica para escapar de los anticuerpos neutralizantes del huésped, lo que resulta en un nuevo episodio de replicación viral y enfermedad clínica. En los casos manifiestos de AIE pueden ocurrir varios ciclos de fiebre y viremia antes de que puedan ser detectados anticuerpos neutralizantes.

Una hipótesis alterna para la variación antigénica considera que el sistema inmune del huésped reconoce variantes específicas antigénicas sobre la superficie de células infectadas y luego elimina estas células. Los anticuerpos específicos para estas variantes antigénicas son detectados sobre células infectadas antes de que anticuerpos neutralizantes lleguen a ser determinados.

Los cambios epitópicos en aislamientos virales secuenciales provenientes de un mismo caballo pueden ser el resultado de mutaciones genéticas durante los procesos de replicación del virus. Este mecanismo, común a los retrovirus, es debido a errores en la transcripción inversa. El inóculo inicial en AIE es casi con seguridad una mezcla heterogénea de tipos virales. La selección secuencial y la multiplicación de variantes antigénicas individuales presentes en ese primer inóculo no pueden ser discutidas todavía. Alternativamente, la recombinación genética entre diferentes cepas virales puede ocurrir *in vivo*, generando así nuevas variantes, lo cual se adicionaría a los fenómenos de evasión de la respuesta inmune por parte del virus. Hasta tanto los investigadores no desarrollen un clon del V-AIE que haga posible estudiar la generación de variantes antigénicas en un animal después de la inoculación con una población viral homogénea, los mecanismos de variación antigénica del virus se mantendrán en un campo especulativo. Es posible que técnicas cuya aplicación es cada vez más amplia, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permitan también una mayor comprensión del proceso.

PERSISTENCIA VIRAL

Los caballos seropositivos al V-AIE se consideran infectados de por vida. La evidencia indirecta de la persistencia viral incluye anemia continua, hipergamaglobulinemia, depresión de los niveles de complemento, deposición de gamaglobulinas y C3 en glomérulos renales e hiperplasia linfoide. Una evidencia más directa de esa persistencia viral se encuentra en la posibilidad de transmitir la infección desde animales portadores inaparentes a animales susceptibles, en la presencia de complejos inmunes circulantes con capacidad infecciosa y en la inducción de enfermedad por supresión del sistema inmune en tales animales.

Mientras que la variación antigénica contribuye indudablemente a la persistencia viral en animales infectados, resulta imposible que sea ésta la causa primaria del fenómeno. Más importante es la capacidad del virus para integrarse en el material genético de la célula huésped y mantenerse allí inexpressado o en condición de latencia. La población de células portadoras del material genético viral cuyo estímulo es responsable de la activación del virus, no ha sido identificada de manera concluyente. Sin embargo, la mayoría de los investigadores consideran al linaje de monocitos y macrófagos como los sitios primarios de la persistencia viral.

RESPUESTA INMUNE HUMORAL

La reacción del huésped al V-AIE incluye tanto la respuesta inmune humoral como la celular. Una hipergamaglobulinemia policlonal es común en caballos con AIE. En la mayoría de los caballos las concentraciones de IgG, IgG (T) e IgM son incrementadas cerca de 60 días después de la infección. A los 45 días post infección se pueden detectar anticuerpos a la proteína del núcleo o core p.26 en todos los caballos infectados, empleando la prueba de inmunodifusión en gel de agar. Una menor frecuencia de la respuesta de anticuerpos y un menor título se encuentran contra las proteínas nucleares p-9 y p-11 en muchos animales.

La IgG de caballos infectados fija complemento sobre antígeno viral en la mayoría pero no en todos los casos. La IgG (T), una subclase de IgG equina, inhibe la fijación de complemento por IgG en caballos infectados. Esto puede explicar el hecho de que sueros negativos para AIE por fijación de complemento resulten positivos en la prueba de inhibición de la dicha fijación de complemento. Las infecciones de largo plazo con el V-AIE parecen resultar en una depresión selectiva de IgG (T), con lo que la prueba de fijación de complemento llega a ser positiva en individuos infectados crónicamente.

Los caballos infectados con el V-AIE desarrollan una marcada respuesta a las glicoproteínas de la envoltura viral Gp-90 y Gp-45. La localización externa de estas proteínas sobre el virión hace de ellas blancos potenciales para los anticuerpos neutralizantes. En el laboratorio la producción de anticuerpos monoclonales contra tales glicoproteínas ha confirmado dicha hipótesis. Los anticuerpos neutralizantes parecen reaccionar tan sólo con epítopes antigénicos altamente variables. Aquellos anticuerpos monoclonales que reaccionan con epítopes inmodificables de la Gp-90 y la Gp-45, fallan en la neutralización viral. Este podría ser un obstáculo importante en el desarrollo de vacunas efectivas contra la miríada de variantes antigénicas del V-AIE.

RESPUESTA INMUNE MEDIADA POR CELULAS

La respuesta inmune celular no ha sido tan bien caracterizada como la respuesta humoral. Células mononucleares de sangre periférica proveniente de caballos infectados han mostrado matar selectivamente células infectadas por el virus en ensayos de citotoxicidad directa. La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos podría no ser demostrada en experimentos. Estas observaciones soportan la hipótesis de que la infección por el V-AIE puede ser más eficientemente controlada por los mecanismos de defensa celular que por los mecanismos humorales. Las lesiones linfoproliferativas de la AIE vistas en el hígado, ganglios linfáticos y bazo podrían ser el resultado de la distribución de linfocitos T reactivos al V-AIE.

ANEMIA Y TROMBOCITOPENIA

De manera opuesta al HIV, el V-AIE no parece estar asociado con una inmunosupresión significativa e infecciones secundarias. La respuesta inmune del huésped ha sido implicada en la mayoría de las lesiones observadas en caballos infectados. La depresión en los niveles de C3 circulante en caballos afectados por AIE ofrece una evidencia indirecta del papel que juegan los eventos inmunológicos en el desarrollo de la enfermedad.

La anemia de la AIE crónica es el resultado de hemólisis intra y extravascular, así como de una respuesta disminuida de la médula ósea. La vida media de los eritrocitos de ponis con AIE aguda varía entre 28 y 87 días (normal 136 días). El incremento en las concentraciones de hemoglobina y la depresión de las concentraciones de haptoglobina plasmática indican hemólisis intravascular en estos animales. En contraste, la vida media de las células sanguíneas rojas en ponis infectados crónicamente varía entre 8, 9 y 113 días, pero no son detectables cambios en los niveles de hemoglobina o haptoglobina, indicando así hemólisis extravascular. Se ha visto que el V-AIE aglutina eritrocitos *in vitro* y se han detectado glóbulos rojos cubiertos por complemento en animales infectados. Virus o complejos virus-anticuerpos parecen adherirse a los eritrocitos equinos y activar el complemento, vía un mecanismo que es incrementado por la presencia de anticuerpos específicos al V-AIE. Los eritrocitos cubiertos son subsecuentemente fagocitados por células como los macrófagos y los polimorfonucleares.

La anemia hemolítica es exacerbada por la pérdida de capacidad de respuesta de la médula ósea, la cual se manifiesta por una depresión en las concentraciones séricas de hierro, en el porcentaje de saturación de la transferrina y el hierro plasmático de recambio, así como por un incremento en la relación

mieloide- eritroide en médula osea. Cuando los potros árabes con inmunodeficiencia combinada son experimentalmente infectados con el V-AIE, éstos llegan a estar profundamente anémicos a pesar de que son incapaces de montar una respuesta inmune humoral o celular. Esto sugiere que la supresión de la eritropoyesis contribuye de manera importante al desarrollo de la anemia.

La trombocitopenia asociada con infección aguda por V-AIE puede ser causada por la deposición de complejos inmunes sobre la superficie de las plaquetas. En un poni que fue infectado experimentalmente en la Universidad del Estado de Carolina del Norte, la unión tanto de IgG como de IgM a las plaquetas se incrementó dramáticamente en tan sólo ocho a nueve días después de la infección.

Esta situación podría deberse a tres causas esenciales:

1º) La adherencia inespecífica del virus a las plaquetas con una atracción secundaria de anticuerpos específicos; 2º) A la infección de megacariocitos en médula ósea, y 3º) A la adherencia inespecífica de gammaglobulinas a plaquetas activadas. Puede también existir una inmunosupresión de megacariocitos en médula ósea de caballos infectados en forma aguda. En pacientes humanos trombocitopénicos infectados con HIV-1 (sida), tanto la destrucción periférica de plaquetas mediada inmunológicamente como la infección directa de megacariocitos han sido documentadas.

RESULTADOS DE LAS EVALUACIONES CLINICO-HEMATOLOGICAS

En un caballo infectado en forma aguda la trombocitopenia es la primera anomalía detectable en el laboratorio y aparece en forma concomitante con la curva febril. La trombocitopenia puede ser severa y contribuye al cuadro hemorrágico y puede acompañar a los siguientes episodios febriles. El hematocrito desciende al igual que el conteo de eritrocitos en tan sólo cinco a diez días después de la infección, pero estos cambios resultan más severos en individuos infectados persistentemente que han padecido varios episodios febriles. Muchos caballos evidencian leucopenia con una leve linfocitosis y la mayoría de los animales tienen un incremento en el número de monocitos circulantes.

En caballos infectados de manera aguda pueden estar presentes sidero-leucocitos circulantes (células fagocíticas que han ingerido eritrocitos cubiertos de anticuerpos y complemento). La detección de estas células fue ampliamente usada como prueba diagnóstica para AIE en Japón y México, y tam-

bién se empleó, como evidencia presuntiva hasta cuando la inmunodifusión en gel de agar (AGID) estuvo disponible, una prueba más sensible y específica que evidencia la presencia de anticuerpos.

En formas crónicas la sideroleucocitosis decrece en número y eventualmente desaparece con el progreso de la enfermedad. Un incremento heterogéneo e inespecífico de las inmunoglobulinas puede conducir a un estado de hiperproteinemia.

GLOMERULONEFRITIS MEDIADA INMUNOLOGICAMENTE

En cerca del 75% de caballos infectados con el V-AIE se encuentra una glomerulitis con proliferación celular y engrosamiento de la membrana basal. Aunque la deposición de complejos de virus-anticuerpo-complemento en el glomérulo parece ser un fenómeno común en AIE, rara vez se encuentra proteinuria.

EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL DE LA AIE

En Colombia, después de la primera descripción de AIE hecha por Morales (1953), Ramírez en 1973 establece una prevalencia de 33.0 % en el departamento de Santander; 24.8 % en el Meta; 18.8 % en Cundinamarca; 17.5 % en Córdoba; 12.6 % en el Valle; 11.7 % en Antioquia y 10.2 % en el Tolima. Luego, entre 1976 y 1977, Orrego *et al* (1978) encontraron una prevalencia del 44 % en la Escuela de Carabineros de Manizales, de 0.3 % en animales del área rural y del 5 % en caballos de la zona urbana. Otro estudio realizado por Orrego, en Aguadas, Caldas (1980), demostró un porcentaje de reactores positivos del 3.2 % . Navarrete *et al* (1982) adelantaron un estudio en el departamento de Córdoba, en el cual, de un total de 396 muestras obtuvieron 13.64 % de reactores serológicos a la prueba de Coggins. Más tarde, Retavisca y Borda, en 1984, obtuvieron el 29.03 % de seropositividad en un estudio realizado en el municipio de Villavicencio (Meta) sobre un total de 62 muestras obtenidas de 27 predios distintos. En 1988, Jiménez *et al.* encontraron una prevalencia de 36.7 % de reactores positivos en el municipio de Yopal, Casanare. La mayoría de tales trabajos se llevaron a cabo con antígeno preparado en el laboratorio de inmunología del actual Centro de Investigaciones en Salud y Producción Animal (CEISA), a partir de bazos de animales jóvenes infectados experimentalmente.

En los últimos años y como consecuencia posiblemente de los cambios de políticas sufridos en el ICA, los estudios sobre la enfermedad han sido relegados y hoy tan sólo se mantiene la prueba de Coggins como un método de

diagnóstico disponible para el uso de caballistas y veterinarios. Sin embargo, y a pesar de ser la AIE una entidad importante por los daños que ocasiona en las caballadas y de ser los equinos en general, animales de trabajo en la mayoría de las regiones del país, no se cumplen las recomendaciones mínimas para evitar la propagación ni de ésta ni de otras enfermedades que aquejan a la especie.

En contraposición a lo que aquí sucede, el Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) aprobó la prueba de Coggins en 1972, con el objeto de desarrollar medidas de control federales y estatales conducentes a disminuir la distribución de la enfermedad en ese país. Las leyes federales prohíben ahora el transporte interestatal de animales seropositivos. Sin embargo, este transporte es regulado por leyes estatales individuales. La mayoría de los estados incluyen en sus medidas de control las siguientes opciones: eutanasia, alguna forma de identificación permanente, separar animales positivos al menos 180 m de los demás equinos, o el empleo de esos animales en programas de investigación.

Las leyes federales permiten el movimiento interestatal de caballos infectados bajo tres condiciones: 1º) Cuando el caballo deba ser regresado a su lugar de origen; 2º) Cuando el animal sea llevado a un matadero de caballos y 3º) Cuando sea conducido a un laboratorio de investigación aprobado por el USDA.

Antes del movimiento interestatal, los animales seropositivos deben ser oficialmente identificados empleando un código especial unificado. Los caballos pueden ser marcados por un tatuaje en el labio o con una marca en el hombro o la nuca. En el caso de la marca se usan el hierro candente, marcadores químicos, o el marcaje por congelación, al menos 5 cm por encima del encuentro izquierdo o al lado izquierdo de la nuca.

Los tatuajes del labio no deben ser menores de 2.5 cm de alto por 2 cm de ancho y deben estar localizados sobre la superficie interna del labio superior. Los veterinarios que falsifiquen certificados de salud para reactores al V-AIE son amonestados por el USDA, multados con US \$1.000 y pierden su credencial federal.

Los tatuajes y marcas son requerimientos federales para el movimiento interestatal de caballos. Los propietarios de animales infectados que sean mantenidos en el estado de origen deben cumplir con las leyes estatales. En algunos estados se obliga al marcaje inmediato de los caballos afectados, mientras que en otros no. Los resultados positivos obtenidos por los laboratorios aprobados para la realización de pruebas para AIE son requeridos por las autoridades

des de algunos estados. Desde que estas medidas de control fueron instituidas al comienzo de la década del 70, la incidencia de AIE ha decrecido en los Estados Unidos. En 1972, el primer año en que se realizaron estas pruebas, 12.8% de los 12.086 caballos probados en los estados de la costa del golfo (Texas, Louisiana, Mississippi, Alabama y Florida) fueron positivos, mientras que sólo 2.6% de los 66.675 caballos probados en otros estados ofrecieron este resultado. Para 1975 el porcentaje de caballos seropositivos había disminuido a 4.4% en los estados de la costa del golfo y a 1.06 % en los otros estados. La mayoría de los nuevos casos fueron identificados en los estados de la costa del golfo, donde la temperatura y humedad favorecen una prolongada estación de moscas.

Desde 1.977 el número de caballos probados cada año en los Estados Unidos se ha mantenido alrededor de 700.000, o sea, cerca del 8 al 10 % del total de la población de caballos. En 1.982 la cantidad de animales positivos había descendido al 1 % . En 1988, el último año para el cual existen estadísticas disponibles, tan sólo 3.513 de 853.786 pruebas realizadas, resultaron positivas (0.42%). En ese año Texas tuvo el más alto número de caballos positivos (829) y Arkansas el mayor porcentaje de resultados positivos (3.2%); a pesar de que las medidas de control tanto federales como estatales han logrado una significativa reducción en la incidencia de AIE en Estados Unidos, la enfermedad no ha sido erradicada. El potencial para la presentación de brotes se encuentra en el riesgo de que propietarios de caballos y veterinarios lleguen a ser menos vigilantes en sus esfuerzos de diagnóstico.

Los caballistas y veterinarios pueden implantar sus propias medidas de control para reducir la posibilidad de exposición a la enfermedad; estos son seis de los puntos generales recomendados:

- 1º) Solicite una prueba de AIE como parte de cada examen para compra de caballos y adquiera tan sólo aquellos cuya prueba haya resultado negativa dentro de los últimos treinta días anteriores a la transacción.
- 2º) Antes de admitir un caballo nuevo en la finca, pida un certificado reciente de una prueba negativa contra AIE; (en sitios de altas prevalencias tal certificación debe haber sido expedida en los últimos treinta días).
- 3º) Practique un excelente control de moscas.
- 4º) Para todos aquellos eventos de exposición o comercialización equina y otros similares que involucren muchos caballos, se requiere documentación de recientes exámenes negativos contra AIE de todos los animales participantes. Aquellos propietarios que no cumplan con este requisito no podrán participar en el evento.
- 5º) Haga probar contra AIE a todos los equinos de la finca al menos una vez por año.

- 6º) Nunca aplique inyecciones a varios caballos con la misma aguja. Asegúrese de la apropiada desinfección de todos los instrumentos que puedan entrar en contacto con la sangre equina (instrumental quirúrgico, tatuadoras, navajas, etc.), antes de que entren en contacto con la sangre de otro animal. Mientras un gran porcentaje de la población equina en Estados Unidos y otros países donde se encuentre la AIE se mantenga sin probar, y/o algunos caballos infectados permanezcan consistentemente seronegativos por los más comunes procedimientos diagnósticos, la infección causada por el V-AIE será una amenaza de consideración significativa.

A pesar de que en Colombia el diagnóstico de AIE se viene realizando desde 1.978 mediante la prueba de inmunodifusión (Coggins), no existen medidas sanitarias tomadas por parte del Estado para el control de la enfermedad. Este hecho reviste una especial importancia dado que al no existir una tradición de compra-venta de animales probados, los caballos seropositivos pueden ser comercializados sin restricción. Sería importante, ante la imposibilidad de la intervención del Estado en el manejo de la AIE y de otras enfermedades, que los médicos veterinarios y los propietarios establecieran controles mínimos de carácter preventivo, similares a los utilizados y recomendados en EEUU.

Conviene señalar que de 1.202 sueros equinos probados durante 1992 en el Centro de Diagnóstico de Bogotá, 194 (16%), resultaron positivos a la prueba de Coggins, mientras que en 1.993 de 2.292 sueros probados, 266 (11%) resultaron positivos. Aun cuando tales serologías no representan un cuadro epidemiológico de la enfermedad en la región, resultan importantes como indicadores de la presencia de AIE. Cabe también preguntar ¿qué hace un propietario de un animal «valioso» cuando sabe que éste es portador del V-AIE?. ¿Para qué sirve un diagnóstico si no existe una campaña de lucha contra el proceso, no sólo a nivel nacional sino también dentro de las caballadas?

Finalmente, la AIE es una enfermedad prevalente en Colombia mal conocida por propietarios de caballos, sobre la cual es forzoso llegar a reconocer su signología clínica, sus modos de transmisión y los procedimientos diagnósticos, con el fin de poder establecer medidas eficaces de control y disminuir su potencial de transmisión. El día en que los propietarios de animales en el país sean conscientes de la necesidad de luchar contra las enfermedades, implanten sus propios controles serológicos, previos a la compra venta, así como la respectiva cuarentena para los animales recién llegados al grupo y exijan al Estado el control estricto en el transporte de animales y la realización de campañas sanitarias, ese día se iniciará sin duda una etapa nueva y más próspera para la industria pecuaria nacional.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Cheevers, W. P. 1977. Characterization of RNA from equine infectious anemia virus. *J. Virol.* **24**: 489-497.
2. Clabough, D. L. 1990. Equine infectious anemia: The clinical signs, transmission and diagnostic procedures. *Vet. Med.* **85** (9): 1007-1019.
3. Clabough, D. L. 1990. The immunopathogenesis and control of equine infectious anemia. *Vet. Med.* **85** (9): 1020-1028.
4. Hincapie, O.; Sánchez, O.; Manrique, G.; Mateus, G. 1974 Anemia infecciosa equina. ICA, Bogotá. *Bol. Téc.* N° 30. pp. 1-25.
5. Jiménez, R. 1988. Prevalencia de anemia infecciosa equina mediante la prueba de Coggins en el municipio de Yopal, Casanare. Tesis de Grado Med.Vet. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá (Col).
6. Manrique, L. G. 1983. Anemia infecciosa equina. ICA Taller Centro de Diagnóstico. Bogotá (Col). pp 1-5.
7. Morales, C. E. 1953. Anemia infecciosa equina en Colombia. *Rev. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional de Colombia.* **21** (106): 147-170.
8. Navarrete, M. S.; Guzmán, L. M.; Rincón, A. A. 1982. Prevalencia de anemia infecciosa equina en el departamento de Córdoba. *Rev. ICA.* **17** (3): 133-140.
9. Orrego, A.; Giraldo, G.; Sáenz, O. 1978. Aspectos epidemiológicos de la anemia infecciosa equina en Manizales, Colombia. *Separata* pp.1-20.
10. Orrego, A.; Mejía, W.; Castellanos, D. 1980. Prevalencia de brucelosis, leptospirosis y anemia infecciosa equina en el municipio de Aguadas (Caldas). *Rev. Col. Ci. Pec.* **2** (4): 249-254.
11. Orrego, A.; Issel, C. J.; Bharat, P.; Montelaro, R. 1984. Varjación antigénica del virus de la Anemia Infecciosa Equina. *Rev. Instituto Colombiano Agropecuario* **19** (3): 325-331.
12. Peña, N. E.; Villamil, L. C.; Parra, D. F.; Lobo, C. 1980. Las enfermedades en Colombia: situación por regiones naturales. Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá (Col.).

13. Ramírez, J. 1.973. Anemia Infecciosa Equina en Colombia. Tesis M.Sc. Programa de graduados Instituto Colombiano Agropecuario. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 80 p.
14. Retavisca, F.; Borda, R. 1.984. Prevalencia de Anemia Infecciosa Equina en el municipio de Villavicencio. Tesis M. V. Z. Universidad Tecnológica de los Llanos Orientales. Villavicencio (Meta) 90 p.
15. Rodríguez, G. M.; González, G.; Mariño, O. C. 1.978. Manual de técnicas de microbiología. Documento de trabajo No 18 Instituto Colombiano Agropecuario Division de Ciencias Veterinarias. Bogotá.
16. Sánchez, M. K. 1.981. Cuadro hemático en equinos positivos y negativos a la Anemia Infecciosa Equina en la sabana de Bogotá. Tesis M. V. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 126 p.
17. Vallee, H. 1904. Sur la nature infectieuse de l'anemie du cheval. Comptes Rendus de L'Academie des Sciences, **139**: 331-333.