

Reacciones inespecíficas en el diagnóstico de anemia infecciosa equina

Jacobo, R.A.; Storani, C.A.; Stamatti, G.M.; Martínez, D.E.

Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE,
Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. Tel/Fax 03783–425753,
E-mail: eninf@vet.unne.edu.ar

Resumen

Jacobo, R.A.; Storani, C.A.; Stamatti, G.M.; Martínez, D.E.: Reacciones inespecíficas en el diagnóstico de anemia infecciosa equina. *Rev. vet. 15: 1, 17–20, 2004.* Las técnicas inmunodiagnósticas, como el test de Coggins para el diagnóstico de anemia infecciosa equina, pueden dar resultados inespecíficos. Para comprobar dicha posibilidad se trabajó con 82 equinos seronegativos divididos en 7 grupos. En 4 de ellos se inocularon distintas vacunas contra enfermedades víricas. En otros 2 se aplicaron una y dos dosis respectivamente, de un complejo mineral con el agregado de compuestos orgánicos y en el último se suministró una dosis de un complejo mineral sin agregado alguno. El control serológico se realizó por medio del test de Coggins. Los resultados observados indicaron que el 16,7% de los equinos inoculados con una dosis del complejo mineral que poseía compuestos orgánicos (extractos vegetales), resultaron falsos positivos, y el 25% de los animales inyectados con dos dosis del mismo producto también arrojaron resultados inespecíficos.

Palabras clave: anemia infecciosa equina, test de Coggins, diagnóstico serológico.

Abstract

Jacobo, R.A.; Storani, C.A.; Stamatti, G.M.; Martínez, D.E.: Unspecific reactions in serologic diagnosis of equine infectious anemia. *Rev. Vet. 15: 1, 17–20, 2004.* Unspecific serologic reactions may occur when Coggins test is used to diagnose equine infectious anemia in horses. The purpose of this study was to determine the percentage of these unspecific reactions in eighty-two negative horses divided in 7 groups. Four groups received a single dose of different vaccines against viral infections. Two groups received 1 and 2 doses (respectively) of a commercial mineral supplement with the addition of different organic compounds. Animals of the final group were injected with the mineral supplement alone. Serologic control was performed by means of Coggins test. Results indicated that animals injected with a single dose of the mineral supplement plus organic compounds showed 16.7% of unspecific reactions, while those that received two doses showed 25% (false positives in both cases).

Key words: equine infectious anemia, Coggins test, serologic diagnose.

INTRODUCCIÓN

La anemia infecciosa equina (AIE) es una enfermedad producida por un virus ARN clasificado dentro de la familia *Retroviridae*, subfamilia *Lentivirinae*³, considerada como una de las de mayor importancia sanitaria y económica que afecta a los equinos en Argentina^{1, 12, 15}.

El diagnóstico clínico se realiza en base a la identificación de signos y síntomas, complementados con una detallada anamnesis, teniendo en cuenta la región y los cursos^{9, 10}. En los casos agudos se registra elevación de la temperatura, anemia, edemas e ictericia,

mientras que en los casos crónicos el escaso rendimiento al trabajo y la sudoración profusa luego del esfuerzo, son los síntomas más destacables^{5, 6, 8}.

El diagnóstico de laboratorio se realiza rutinariamente por medio de la técnica de inmunodifusión en gel de agar (IDGA) o test de Coggins, siendo también muy utilizada la técnica C–ELISA, ambas de muy alta sensibilidad y especificidad^{2, 7}. En Argentina el método IDGA es reconocido como prueba operativa en el control sanitario reglamentado por Resolución 812/79 del SENASA¹⁶.

Al ser una de las enfermedades más importantes desde el punto de vista sanitario y económico, resulta necesario optimizar los recursos de manejo sanitario y minimizar los errores de diagnóstico, ya que los ani-

males seropositivos deben ser eliminados de acuerdo a la reglamentación vigente, representando importantes costos por la reposición y adiestramiento de los nuevos caballos a las tareas a las que son destinados^{4, 11, 13, 14}.

Por tal motivo se diseñó un plan de trabajo con el objetivo de comprobar y evaluar resultados inespecíficos al test de Coggins, posteriores a la aplicación de las vacunas contra encefalomiелitis equina americana, influenza equina y rabia, así como complejos minerales con y sin extractos vegetales en su formulación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trabajó con equinos de ambos sexos, de 3 a 6 años de edad y 350 a 480 kg de peso. Todos registraron buen estado corporal y resultaron negativos a dos controles consecutivos de AIE, efectuados con 30 días de intervalo por medio de la técnica IDGA, previamente a la aplicación de los productos presuntamente interferentes.

El trabajo se desarrolló en zona enzoótica, por lo cual se adoptaron las siguientes medidas: los equinos debían provenir de establecimientos que realizaban controles permanentes de AIE y debían mantenerse aislados de posibles fuentes de infección durante el desarrollo de la prueba, exentos de trabajo, con buena alimentación y reparo. Las tareas experimentales se llevaron a cabo entre los meses de julio y octubre para evitar la presencia de tábanos, principales transmisores de la enfermedad.

Las unidades de análisis estuvieron conformadas por seis grupos, cada uno con 12 animales, disponiéndose además de un grupo control con 10 equinos. El número de animales por grupo fue el máximo posible, debido a la dificultad para disponer de ejemplares que reunieran las condiciones antemencionadas.

Los productos utilizados provenían de laboratorios de reconocida trayectoria y fueron aplicados acorde a las prescripciones establecidas, de la siguiente manera:

Grupo	Inoculación
1	vacuna contra encefalomiелitis
2	vacuna contra influenza
3	vacuna contra rabia
4	complejo mineral con extractos vegetales, una dosis
5	complejo mineral con extractos vegetales, dos dosis con 7 días de intervalo
6	complejo mineral sin extractos vegetales
7	control

La elección de las vacunas se basó en que las de encefalitis e influenza son obligatorias, y la de rabia por tratarse de una enzoootia en la región nordeste de Argentina, por lo cual todas son de uso frecuente. El complejo mineral con extractos vegetales se seleccionó por ser uno de los más utilizados en la zona, existiendo antecedentes que describían reacciones inespecíficas a AIE en algunos equinos inoculados, sin que los datos anamnésticos permitieran suponer posibles exposiciones a fuentes de infección.

Luego de transcurridos 7 días de la aplicación de los productos, los caballos fueron sometidos a cinco controles serológicos por medio de IDGA, que se repitieron cada 7 días. Los sueros positivos o aquéllos que manifestaban algún tipo de reacción serológica, fueron sometidos nuevamente a IDGA para reconfirmar el primer resultado, a fin de evitar el "error de técnica". Esta práctica se llevó a cabo inmediatamente a la doble lectura realizada a las 48 y 72 horas de incubación.

La extracción de sangre se realizó por punción de la vena yugular, siguiendo técnicas convencionales. Se utilizaron agujas descartables calibre 40x15, una por animal y por cada extracción. Los tubos fueron debidamente identificados, manteniéndose refrigerados hasta su arribo al laboratorio. Los sueros se obtuvieron por centrifugación, conservándose luego a -10° C hasta su procesamiento. El diagnóstico serológico se realizó por medio del test de Coggins, según técnicas recomendadas^{3, 16}.

RESULTADOS

Los equinos de los grupos 1 (vacunados contra encefalomiелitis), 3 (vacunados contra rabia), 6 (inoculados con complejo mineral) y 7 (control), resultaron negativos a todos los controles serológicos.

De los caballos del grupo 2 (vacunados contra influenza), dos animales dieron resultados "sospechosos" solo al primer control. La situación de "sospechoso", no contemplada en la reglamentación, se describirá en la discusión.

Entre los caballos del grupo 4 (inoculados con una dosis del complejo mineral con extractos vegetales), dos ejemplares acusaron resultados "positivos" en el primer control al 7° día post-inoculación, confirmándose los mismos resultados con la contraprueba realizada por medio de IDGA. Luego dieron "negativos" a los cuatro controles restantes.

Tres equinos del grupo 5 (inoculados con dos dosis del complejo mineral con extractos vegetales) arrojaron resultados "positivos" al primer y segundo control, siendo "positivos débiles" en el segundo control, por presentarse "espolones". Luego se negativizaron en las tres pruebas restantes. Las bandas de precipitado observadas fueron coincidentes en cuanto a sus características, a las que se presentan en los casos de "verdaderos positivos", o sea nítidas, unidas a los extremos de las bandas convergentes derivadas de los sueros controles situados a ambos lados del pocillo con el suero problema.

DISCUSIÓN

Con relación a los resultados "positivos" considerados como "falsos", observados en los equinos pertenecientes a los grupos 4 y 5 (inoculados con una y dos dosis respectivamente del mismo producto conteniendo el complejo mineral con extractos vegetales), cabe señalar que en Argentina un antecedente similar habría

ocurrido en caballos sometidos a la aplicación de dos productos diferentes que contenían lisados de órganos bovinos¹³. En dicho trabajo se hace referencia al hallazgo de seis resultados “falsos positivos”, 3 caballos por cada producto inoculado, que en total recibieron 5 dosis de lisados de origen bovino. En tres animales, los resultados “falsos positivos” se observaron a partir de los 2 meses post-inoculación, hasta el día 75, en el que cesaron los controles.

El punto de coincidencia entre ambos trabajos, radica básicamente en que los desafíos se realizaron con productos que contenían componentes biológicos, lisado de órganos y extractos vegetales, lo cual permite inferir que dichos componentes serían los causantes de las reacciones inespecíficas.

En este trabajo la respuesta fue temprana, observándose (grupo 5) a los 7 días post-inoculación de la segunda dosis. También fue de corta duración, pues no superó los 13 días en los equinos del grupo 4, ya que al día 14 todos los ejemplares fueron nuevamente negativos. Para el grupo 5, las reacciones inespecíficas no superaron los 20 días, puesto que al día 21 los resultados fueron negativos.

A los efectos de verificar los resultados logrados con una aplicación del complejo mineral con extractos vegetales, en el grupo 5 (desafiado con dos dosis con intervalo de 7 días), al aplicar la segunda se procedió al sangrado de estos animales, lográndose observar 2 equinos como “falsos positivos”, es decir que se pudieron comprobar los mismos resultados con el mismo número de caballos que en la anterior experiencia (grupo 4), con la diferencia que un animal fue “positivo débil”, transformándose en “positivo fuerte” en el primer control luego de la segunda dosis.

Estos resultados hacen suponer que al suministrar tres aplicaciones del complejo mineral con extractos vegetales, es factible esperar que aparezcan en mayor número individuos con reacciones inespecíficas, y que éstas se mantengan durante lapsos más prolongados.

Respecto a los sueros “sospechosos” en equinos del grupo 2 (vacunados contra influenza), en el primer control serológico se observó este resultado en dos caballos. Como se indicó anteriormente, no existe reglamentariamente dicho estatus sanitario, pero en la práctica rutinaria, ante tal circunstancia es recomendable realizar una contraprueba con la misma técnica para definir el resultado, o bien considerar el caso como “negativo”, con la recomendación de repetir el diagnóstico a los 30 días a fin de ratificar o rectificar el resultado de “verdadero negativo”.

La precaución a tomar en los casos de equinos medicados con una dosis del producto con extractos vegetales, es esperar al menos 14 días para realizar un control serológico por medio de la técnica de IDGA, mientras que para los inoculados con dos dosis, deberían transcurrir 21 días antes del nuevo control.

Los equinos del grupo 6, desafiados con un complejo de minerales sin compuestos orgánicos, animales o vegetales, resultaron negativos en su totalidad. Esto

indicaría que las reacciones inespecíficas observadas en los caballos de los grupos 4 y 5, se deberían a los extractos vegetales contenidos en el producto empleado.

La identificación de los resultados hallados como “falsos positivos”, se sustenta en que todos los animales que arrojaron tales reacciones al diagnóstico serológico, luego se negativizaron en los controles posteriores, descartando que dichas reacciones pudieran haber sido por infecciones acaecidas durante los ensayos.

Agradecimientos

A los establecimientos agropecuarios *La Tilita, San Antonio y Laguna Brava*, así como a la *División Montada* de la Policía de la Provincia de Corrientes, por facilitar sus animales e instalaciones. Al *Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de Corrientes (LADVCO)*, y a los estudiantes de Veterinaria Srta. Gabriela Juri Chagra y Sr. Ilmar D. Alfonso, por su inestimable colaboración.

REFERENCIAS

1. **Barlatay HL.** 1990. Anemia infecciosa equina, su prevalencia en el nordeste de la provincia de Corrientes. *Publ Soc Rural Corrientes*, Argentina, 9: 2-3.
2. **Carpenter S, Alexandersen S.** 1992. Molecular pathogenesis of equine infectious anemia virus infection. *Semin Virol* 3: 157-166.
3. **Coggins L, Nocross NL, Nusbaum SR.** 1972. Diagnosis of equine infectious anemia by immunodiffusion test. *Am J Vet Res* 1: 11-18.
4. **Gaskin JM, Neal FC, Rubin HL.** 1977. Equine antibody to bovine serum by several equine vaccines as a source of extraneous precipitin lines in the agar gel immunodiffusion test for equine infectious anemia. *Am J Vet Res* 3: 373-377.
5. **Heisecke S.** 1993. Anemia infecciosa equina: signos clínicos, transmisión y procedimientos diagnósticos. *Therios* 107: 136-143.
6. **Heisecke S.** 1993. Anemia infecciosa equina: signos clínicos, transmisión y procedimientos diagnósticos. *Therios* 108: 206-215.
7. **Issel CJ, Cook FR.** 1993. A review of techniques for the serologic diagnosis of equine infectious anemia. *J Vet Diagn Invest* 1: 137-141.
8. **Issel CJ, Foil LD.** 1991. Transmission of retroviruses by arthropods. *Annual Review Entomol* 36: 355-381.
9. **Jacóbo RA, Barlatay HL, González JA.** 1989. Anemia infecciosa equina: estudio serológico en nueve departamentos de la Provincia de Corrientes. *Vet Arg* 58: 532-535.
10. **Jacóbo RA, Macarrein OH, González JA, Storani CA, Yáñez EA.** 1992. Anemia infecciosa equina: manejo sanitario en una epizootia. *Rev Med Vet* 73: 10-12.
11. **Jacóbo RA, Anderson LO, Storani CA, Stamatti GM, Cipolini MF.** 1998. Variaciones inespecíficas de los títulos con la técnica de seroaglutinación en tubos en el diagnóstico de brucelosis bovina. *Memorias de la Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas SGCYT-UNNE*, Corrientes, Argentina, p.116-118.

12. **Jacobo RA, Storani CA, Miranda AO, Stamatti GM, Cipolini MF, Resoagli JP, Deco ME, Alfonso DI, Juri Chagra G.** 2001. Anemia infecciosa equina en la región noroeste de la Provincia de Corrientes. *Memorias de la Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas SGCYT–UNNE*, Corrientes, Argentina, p. 8.
13. **Oliva GA, Etcheverrigaray ME.** 1982. Reacciones inespecíficas en la prueba de Coggins para anemia infecciosa equina. *Rev Med Vet* 63: 83–89.
14. **Orrego–Uribe A.** 1999. El diagnóstico de la anemia infecciosa equina. *Vet Arg* 156: 458.
15. **Pauli RR.** 1992. Anemia infecciosa equina y otras enfermedades anemizantes: cuánto nos cuestan. *Anales Soc Rural Arg*, p.76–77.
16. **Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación.** 1979. Resolución N° 812/79: *Aplicación de la Ley de Policía sanitaria a la AIE*, Buenos Aires, Argentina.