



Seroprevalencia de anemia infecciosa en equinos durante cabalgatas culturales en el departamento del Meta (Colombia)

Maldonado, S.X. ; Moreno, P.J. ; Alfonso, K.S. ; Banoy, J.S. ; Pedraza, N. ;
Jaramillo- Hernández, D.A.*

Universidad de los Llanos, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Escuela de Ciencias Animales, Grupo de investigación en Farmacología Experimental y Medicina Interna – Élite, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Villavicencio 1745, Meta, Colombia.

dumar.jaramillo@unillanos.edu.co

Resumen

La anemia infecciosa equina (AIE) es una enfermedad causada por un *Lentivirus*, considerada un obstáculo para el desarrollo del sector equino mundial, que tiene como medida de control la cuarentena y eutanasia obligatoria de equinos seropositivos; siendo fundamental implementar estudios de epidemiología activa para el control de AIE. El objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia de AIE en equinos de cabalgatas culturales en el Meta (Colombia). Para ello, se procesaron 92 muestras sanguíneas de equinos participantes en dos cabalgatas, distribuidos en los municipios de Granada ($n = 48$) y Acacias ($n = 44$), utilizando las pruebas de inmunodifusión en gel de agar (AGID) como gold standard, comparándola con la prueba enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA). Los datos obtenidos de las pruebas diagnósticas fueron analizados con McNemar y curva ROC, a través del software estadístico JAMOVI. Se determinó una seroprevalencia de AIE por AGID de 6,5% (6/92) y ELISA de 16,3% (15/92), siendo mayor la seropositividad encontrada en el municipio de Granada (8,8%) en comparación con Acacias (4,5%). El área bajo la curva, la sensibilidad y especificidad de ELISA frente a AGID, fue de 0,620, 66,7% y 87,2%, respectivamente. Evidenciando diferencias significativas (McNemar, $p < 0,05$) entre la capacidad diagnóstica de AGID en comparación con ELISA. Este estudio pone en evidencia a equinos seropositivos a AIE que no deberían participar de actividades ecuestres fuera de sus predios según normatividad nacional e internacional, además, que sus propietarios y los organizadores de estos eventos culturales no cumplen con la normatividad nacional en Colombia, referente a incluir solo equinos seronegativos de los últimos seis meses a AIE por la prueba AGID.

Palabras clave: Inmunoensayo, lentivirus, sanidad animal, vigilancia epidemiológica.

Seroprevalence of equine infectious anemia in equines during cultural horseback riding events in Meta state (Colombia)

Abstract. Equine infectious anemia (EIA) is a disease caused by a *Lentivirus*, and it represents a significant obstacle to the global equine industry. Its control relies on mandatory quarantine and euthanasia of seropositive horses. Active epidemiological surveillance is essential for effective EIA control. The objective of this study was to determine the seroprevalence of EIA in horses participating in cultural horseback riding events in the department of Meta, Colombia. A total of 92 blood samples were collected from horses participating in two events, held in the municipalities of Granada ($n = 48$) and Acacias ($n = 44$). Samples were analyzed using the agar gel immunodiffusion (AGID) test considered the gold standard and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Diagnostic test results were analyzed using McNemar's test and receiver operating characteristic (ROC) curves with JAMOVI statistical software. Seroprevalence detected by AGID was 6.5% (6/92), while ELISA indicated 16.3% (15/92), with higher seropositivity observed in Granada (8.8%) compared to Acacias (4.5%). The ELISA test, compared to AGID, had an area under the curve (AUC) of 0.620, sensitivity of 66.7%, and specificity of 87.2%. McNemar's test showed a significant difference ($p < 0.05$) between the two diagnostic methods. This study highlights that equines

testing positive for EIA should not participate in equestrian events outside their premises, in accordance with both national and international regulations. Furthermore, the findings suggest non-compliance with Colombian regulations by horse owners and event organizers, as only AGID-negative animals tested within the last six months should be allowed to participate.

Key words: Immunoassay, lentivirus, animal health, epidemiological surveillance

INTRODUCCIÓN

Históricamente los equinos han tenido un papel fundamental en la evolución de la humanidad, siendo empleados para diversas funciones, tales como transporte, apoyo en producción agrícola, fines militares y recreativos, actividades que impulsan la economía de la sociedad (Murray et al. 2013). En el caso de Colombia, la población equina se estima en un total de 1.575.512 animales (ICA 2023), aportando el 4,35% al producto interno bruto (PIB) agropecuario y un 0,1% al PIB general del país (Martínez 2020).

La anemia infecciosa equina (AIE) es una enfermedad causada por un *Lentivirus* perteneciente a la familia Retroviridae (Vallejo Romero et al. 2021). Este es específico de los miembros de la familia Equidae (caballo, mulas y burros) (Kryvoshyya et al. 2023). Se considera un obstáculo para el desarrollo del sector equino mundial ya que requiere de notificación obligatoria ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) y los organismos de control y vigilancia de cada país (OMSA 2019). El primer caso reportado en Colombia fue en la década del 40, en el departamento de la Guajira (Patiño et al. 2016). Desde entonces, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) ha trabajado en su detección, según su boletín anual se reportaron 30440, 1781, 1771, 1931, 1414 y 1631 predios afectados por AIE en el 2011, 2012, 2013, 2014, 2015 y 2016, respectivamente (<https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/bol/epi/boletines-anuales>); generando como medida de control la recomendación del sacrificio del animal positivo a AIE y la cuarentena de los equinos que estuvieron en contacto con él. Además, la solicitud de una prueba AGID negativa para la expedición del pasaporte o libreta sanitaria del equino, que permite la movilización de équidos a ferias, exposiciones, ventas, cabalgatas, entre otros (Resolución ICA N°1634 de 2016).

La transmisión del virus de la anemia infecciosa equina (VAIE) se puede dar a través de insectos picadores hematófagos (ej., *Tabanus* spp. y *Stomoxys calcitrans*), fómites (ej., tubos estomacales, jeringas y agujas) y de forma transplacentaria (Muñoz et al. 2020, Resende et al. 2022). Durante el proceso de infección el genoma ARN del VAIE, se transcribe e inserta en el genoma de las células sanguíneas monocíticas del hospedero, donde se replicará el VAIE (Cursino et al. 2020). Los signos clínicos de la AIE no son patognomónicos y varían dependiendo la fase de la enfermedad (Bezerra et al. 2021). Se puede presentar pirexia, emaciación, edema, depresión, esplenomegalia, hepatomegalia, anemia y trombocitopenia (Roier et al. 2020). Estas dos últimas manifestaciones clínicas se desarrollan por acción de los complejos antígeno-anticuerpo sobre los eritrocitos y la supresión medular

causada por citocinas (ej., TNF- α y TGF- β) (Kryvoshyya et al. 2023).

Para el diagnóstico de AIE se emplean preferiblemente pruebas serológicas (Ostuni et al. 2023), como la técnica de enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA) y la prueba de inmunodifusión en gel de agar (AGID) o test de Coggins (Zhang et al. 2024). La primera se caracteriza por presentar una mayor sensibilidad, eficacia y rendimiento en comparación con la prueba de Coggins (Paré y Simard 2004), permitiendo identificar anticuerpos en concentraciones bajas (Espasandin et al. 2021), en contraste, el ELISA puede reaccionar con otros virus generando falsos positivos, por ello cuando una prueba da positivo con ELISA es necesario confirmar el resultado empleando la prueba AGID (Lima et al. 2022). AGID es considerada como el Gold standard, por presentar una alta especificidad y lograr identificar animales positivos en la etapa crónica de la enfermedad (Villa-Mancera et al. 2024), además, detecta los anticuerpos precipitantes, más exactamente el antígeno p26 que se encuentra en la cápside del VAIE, en todos sus serotipos (Tique et al. 2015).

Existe una alta correlación entre ambas pruebas ELISA Y AGID, que al emplearlas conjuntamente optimizan el proceso de identificación de la enfermedad (Hu et al. 2023). Actualmente no existe una vacuna para el VAIE, debido a su difícil neutralización, facilidad de mutación y latencia periódica (Damazio et al. 2022). Por estas razones es fundamental realizar estudios epidemiológicos activos y pasivos, los cuales permitan identificar los animales seropositivos; así, a través de diversas medidas sanitarias, controlar los brotes y mitigar el impacto económico de la AIE (de Pádua et al. 2022).

Hay poca información actualizada sobre los casos de seropositividad del VAIE en el departamento del Meta, así como la prevalencia de esta patología en la población de equinos participantes en actividades masivas, como lo son las cabalgatas. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de AIE en cabalgatas culturales en el departamento del Meta a través de las pruebas serológicas AGID y ELISA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación. El estudio se llevó a cabo en la época seca, en los municipios de Granada y Acacias (Meta) durante las cabalgatas culturales del festival de la cosecha y festival del retorno, realizadas en los meses de agosto y octubre del año 2022, los cuales tuvieron unas temperaturas promedio de 28 y 30 °C, respectivamente. En estos eventos participaron más de 300 equinos de diferentes razas, entre las cuales estuvieron Cuarto de Milla, Criollo Colombiano, Mestizos, Percherón, entre otros.

Tamaño de muestra y tipo de estudio. Se realizó un estudio seroepidemiológico observacional transversal. En el cual se aplicó una encuesta de caracterización general y una toma de muestra sanguínea a 92 equinos participantes en dos cabalgatas culturales del departamento del Meta (48 equinos en la cabalgata de Granada y 44 en Acacias). El tamaño de la muestra se calculó utilizando el software EpiInfo v.3.0, de los Centros para el Control y la prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC; https://www.cdc.gov/epiinfo/esp/es_index.html). La población evaluada correspondió a 86.653 equinos del departamento del Meta (ICA 2023), el intervalo de confianza (IC) considerado fue del 80%, el valor 'Z' fue 1,96 (1- α) y la precisión absoluta considerada fue del 0,20% ($d = 0,0051$).

Toma de muestras y pruebas de laboratorio. Se colectaron 3 mL de sangre por venopunción yugular, con previa antisepsia del área, utilizando una aguja 21G (vacuplast®, Nanchang, China) en tubo vacutainer tapa roja sin aditivos o coagulantes, posteriormente se centrifugaron a 1.500 rpm por 10 min, para extraer el suero el cual se alicutó y congeló a -20 °C hasta ser procesados.

Siguiendo las directrices del código de animales terrestres de la OMSA (OMSA 2019), donde la prueba diagnóstica Gold standard es AGID, se utilizó para el diagnóstico de AIE el kit comercial IDvet EIA AGID (Innovative Diagnostics, Francia), el cual permite la detección de anticuerpos anti-p26 del VAIE. La interpretación de los resultados se realizó con un rayo de luz sobre un fondo oscuro para detectar la presencia de líneas de inmunodifusión entre el suero problema y el antígeno control, cualquier suero que presentará una reacción similar a la del antisuero anti-AIE fue clasificado como "positivo", lo que indicaba la presencia de anticuerpos anti-p26 del VAIE (<https://www.innovative-diagnostics.com/produit/idvet-eia-agid/>).

Para la técnica ELISA, se empleó la prueba comercial Equine Infectious Anemia Virus Antibody Test Kit, ELISA (VMRD-Veterinary medical research & development, España). Basado en un ensayo ELISA sándwich modificado, que detecta anticuerpos específicos frente al antígeno p26 del VAIE (<https://www.vmr.com/test-kits/equine-infectious-anemia-virus-antibody-test-kit%2C-elisa>). La lectura se realizó con un espectrofotómetro de absorbancia de microplacas Multiskan SkyHigh (Thermo Fisher Scientific Inc, USA) con una longitud de onda de 450 nm, los resultados fueron interpretados según la densidad óptica (OD), catalogando como positivos aquellos sueros con un OD igual o mayor al control positivo.

Análisis estadístico. Los datos colectados en las encuestas de caracterización fueron tabulados y analizados a través de estadística descriptiva, utilizando media y desviación estándar, para determinar la frecuencia de edad, raza y sexo de los equinos muestreados. Con los resultados obtenidos de AGID y ELISA se estableció por prueba diagnóstica la prevalencia (P), bajo la fórmula $P = \text{Número de equinos seropositivos a AIE} / \text{Total de equinos muestreados en riesgo en cada cabalgata}$, expresando la P en porcentaje. Además, estos resultados fueron sometidos a la prueba McNemar para determinar su asociación. Tanto la prueba McNemar como el análisis de la curva "Receiver operating characteristic" (ROC) e índices de rendimiento como sensibilidad, especificidad y área bajo la curva (AUC) de la técnica ELISA se calcularon, con intervalos de confianza del 95% (IC95%) y un valor de $p < 0,05$, utilizando el software Jamovi v. 2.6.44. Los valores de AUC permiten identificar la capacidad predictiva de la prueba, resultados de $AUC < 0,5$ indican que la prueba no tiene capacidad discriminativa; entre 0,6 y 0,75 son de capacidad moderada; valores $> 0,75$ refleja una buena capacidad discriminativa, siendo un $AUC > 0,9$ clasificado como excelente (Martínez Pérez y Pérez Martín 2023).

Consideraciones éticas. Todos los procedimientos realizados con los equinos cuentan con el aval del Comité de Bioética de la Universidad de los Llanos, según Acta N° 12 de 15 de julio del 2023, además del consentimiento informado firmado por sus propietarios. Los animales vinculados a la investigación fueron manejados asegurando su bienestar y siguiendo las normativas vigentes con el fin de salvaguardar su integridad, según Ley 84 de 1989 "Estatuto Nacional de Protección de los Animales" y la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud.

RESULTADOS

Se muestrearon 92 equinos de una edad promedio de $8,0 \pm 3,5$ años, de los cuales el 65,21% de los animales eran machos y el 34,78% hembras. Las razas identificadas incluyeron: Cuarto de Milla (n = 39), Caballo Criollo Colombiano (n = 27), Silla argentina (n = 15), Cruceto (n = 10) y Pinto (n = 1).

La seroprevalencia general de AIE por medio de AGID fue de 6,5% (6/92) y por ELISA de 16,3% (15/92). Se encontraron diferencias significativas en la capacidad diagnóstica de AGID y ELISA en la seropositividad general y en el municipio de Acacias (McNemar, $p < 0,05$). En la Tabla 1 se observa el comportamiento de la seropositividad a AIE diferenciada por prueba diagnóstica y por cabalgata en cada municipio.

Tabla 1. Prevalencia de AIE en equinos obtenida en cada cabalgata cultural de los municipios de Granada y Acacias.

Municipios	AGID		ELISA		
	Animales seropositivos	Prevalencia	Animales seropositivos	Prevalencia	McNemar (p)
Granada	4/48	8,33%	7/48	14,58%	0,257
Acacias	2/44	4,54%	8/44	18,18%	0,014
Total	6/92	6,5%	15/92	16,3%	0,012

En el municipio de Granada dos de las siete muestras seropositivas con ELISA fueron confirmadas por AGID. Otras dos muestras fueron positivas para AGID, pero

no para ELISA (Figura 1A). En el caso de Acacias de los 44 animales muestreados, se encontraron 8 equinos seropositivos con ELISA y dos con AGID (Figura 1B).

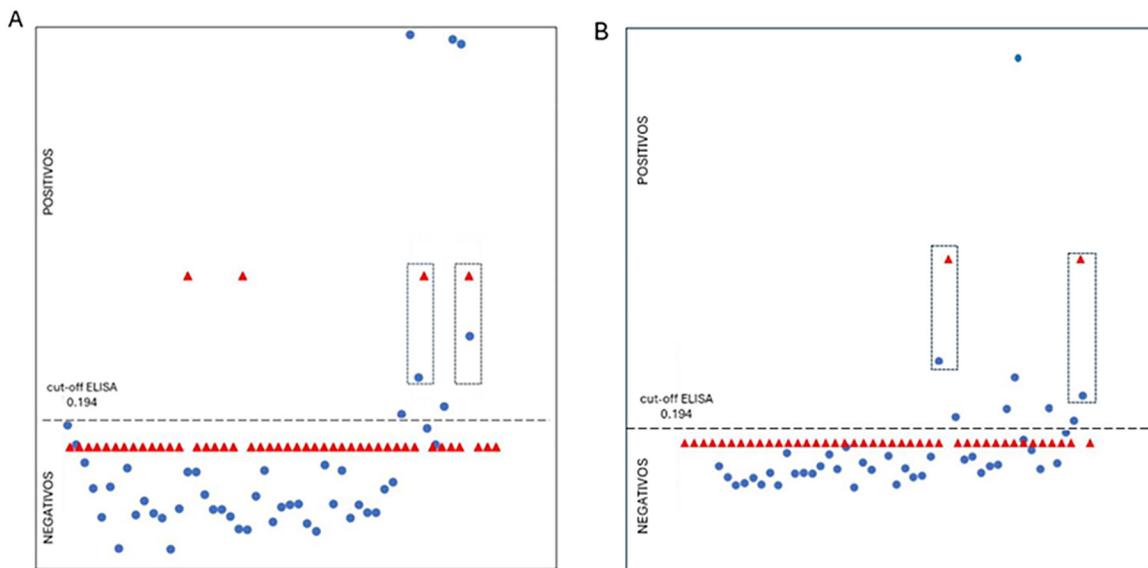


Figura 1. Distribución de equinos seropositivos y seronegativos para Anemia Infecciosa Equina (AIE) en dos cabalgatas culturales del departamento del Meta, Colombia. A. Municipio de Granada; B. Municipio de Acacias. Los triángulos rojos representan los resultados obtenidos con AGID y los círculos azules los resultados de ELISA; la línea discontinua horizontal señala el punto de corte establecido para ELISA (OD: 0,194). Los rectángulos discontinuos resaltan los sueros que resultaron positivos en ambas pruebas.

Para evaluar la capacidad del ELISA para identificar equinos seropositivos a AIE, se realizó un análisis de curva

ROC. El área bajo la curva (AUC) estimada fue de 0,62 (Figura 2).

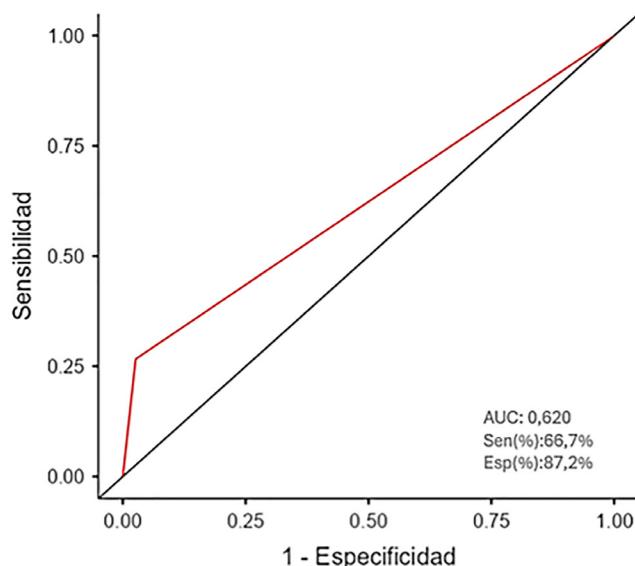


Figura 2. Análisis de la curva ROC de la capacidad diagnóstica de la técnica ELISA en comparación con AGID como Gold estándar para AIE. AUC: Área bajo la curva.

DISCUSIÓN

La prevalencia de AIE obtenida en la presente investigación fue inferior a lo reportado en diferentes regiones de Colombia. Ruiz-Saenz et al. (2008) registraron una seropositividad del 13,2% (9/68) en equinos de trabajo de cinco municipios del Meta. En un estudio epidemiológico

realizado en los departamentos del Chocó y la Guajira se obtuvo una prevalencia del 8,06% para equinos de carga y transporte (Sarmiento y Quijano-Pinzón 2005). Asimismo, en el 2015 se estableció una seroprevalencia del 9,7% (37/380) para los departamentos de Córdoba y Bolívar (Tique et al. 2015). En contraste, en la ciudad de Bogotá se reportaron cifras del 1,2% (6/469) en caballos de tracción

(Duque et al. 2020), las cuales son menores en comparación con las obtenidas en este estudio.

La variación en las prevalencias de AIE entre este estudio y los mencionados puede relacionarse con las condiciones climáticas de cada municipio o lugar de muestreo, tales como temperatura, humedad, precipitaciones y altitud (Resende et al. 2022). Donde, las mayores cifras se reportaron en zonas tropicales con humedades y temperaturas altas, que facilitan la proliferación de vectores dípteros hematófagos que parasitan a los équidos asociados a esta enfermedad (Roier et al. 2020). En el piedemonte llanero, región natural geográfica que engloba a Granada y Acacías, se presentan condiciones culturales, de manejo y medioambientales, que incrementan la probabilidad de contagio de la AIE; la presencia de fuentes de agua naturales como microambiente de cría de los vectores, uso de pistolas de vacunación que el reúso de agujas entre diferentes equinos y eventos de agrupación masiva de équidos (cabalgatas, exposiciones equinas, deportes como vaquería, coleo y team penning) son los factores de riesgo reportados con mayor frecuencia (de Pádua et al. 2022, Araújo et al. 2023).

En el presente trabajo, en los dos municipios evaluados, se determinó una mayor seroprevalencia con el uso de la prueba ELISA en comparación con el Gold estándar AGID (Tabla 1). Asimismo, Márquez et al. (2015) obtuvieron con la técnica AGID un 4% de seropositividad al VAIIE, mientras que con ELISA un 10,2% en equinos criollos venezolanos. Contrario a lo reportado en un trabajo realizado en dos estados de México, en el cual se encontró una seropositividad del 20,49% con AGID y del 18,54% con ELISA (Villa-Mancera et al. 2024). Las discrepancias en los resultados de las dos pruebas diagnósticas se pueden relacionar con las condiciones experimentales y las características de cada una, siendo la sensibilidad y especificidad la causa principal (Romo-Sáenz et al. 2021). Espasandin et al. (2021) exponen que el método ELISA es capaz de detectar anticuerpos del VAIIE antes de que se establezca completamente una respuesta inmune, lo cual indica que este método es más sensible que AGID. En contraparte AGID es más específica, al identificar anticuerpos contra el antígeno p26 y la proteína principal del núcleo, por tal motivo los falsos positivos son inusuales y se asocian principalmente a errores técnicos (Vieira et al. 2023).

AGID es la prueba diagnóstica aceptada por organismos internacionales (ej., OMSA), sin embargo, presenta algunas limitaciones. Su nivel de sensibilidad y la interpretación subjetiva de los resultados pueden llegar a permitir la movilización de animales infectados, aumentando la probabilidad de transmisión de la enfermedad (Bueno et al. 2020). Por ello, se han realizado validaciones de otras pruebas diagnósticas que faciliten y optimicen el diagnóstico de AIE. Como lo son el ensayo de polarización de fluorescencia que posee una especificidad y sensibilidad por encima del 94% (Espasandin et al. 2021), PCR y la técnica ELISA, la cual sigue siendo material de desarrollo de investigación y su sensibilidad y especificidad del diseño y antígeno del ELISA, obteniendo resultados más precisos al usar ELISA de la proteína p26 en comparación con los que detectan la gp90 y gp45 (Paré y Simard 2004).

La capacidad discriminativa de ELISA con AGID como referencia en esta investigación fue moderada para

discriminar entre animales seropositivos y seronegativos a AIE, mostrando una AUC de 0,620, con una sensibilidad 66,7% y especificidad 87,2% (Figura 2), mostrando un rendimiento inferior a lo reportado por otros autores. En un estudio donde se compararon técnicas serológicas para el diagnóstico de AIE la técnica ELISA obtuvo una sensibilidad del 92%, una especificidad del 90% y un AUC de 0,96 (Espasandin et al. 2021). De manera similar, Hu et al. (2023), reportaron valores de sensibilidad y especificidad del 100% y 96% y AUC de 0,996 en el análisis ROC de ELISA, en el suero de 416 equinos. Por su parte Russi et al. (2023), reportaron valores de sensibilidad del 99,59% y especificidad del 90,32% en un ELISA indirecto en comparación con la prueba AGID. Las diferencias en los resultados de sensibilidad, especificidad y AUC en los ensayos ELISA puede estar relacionada con el tipo de antígeno empleado (proteína p26, antígeno gp45 o péptidos sintéticos), lo cual afecta directamente la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y área bajo la curva de la prueba (Almeida et al. 2006).

Diversos autores han validado la implementación de ELISAS como método serodiagnósticos para el VAIIE, utilizándose como prueba de tamiz, para posteriormente corroborar los resultados positivos con la prueba AGID (OMSA 2019). De igual forma, en algunos países se ha implementado un sistema de diagnóstico de tres fases; en el primer nivel se evalúan los sueros con ELISA, las muestras seropositivas se confirman con AGID y en caso de discordancia entre los resultados de la fase dos, las muestras son sometidas a Western blot (WB) (Ostuni et al. 2023). Esta técnica es utilizada como confirmatoria debido a la alta sensibilidad que proporciona (Zhang et al. 2024), en el proceso se separan proteínas virales en un gel mediante electroforesis, que se transfieren a una membrana, donde se detectan anticuerpos específicos dirigidos contra proteínas p26 del VAIIE (Kim 2017), de esta forma una muestra positiva en ELISA-WB y negativa a AGID indicaría que el animal es virémico y podría comportarse como un reservorio del virus (Hu et al. 2023).

La ausencia del WB como método confirmatorio para las muestras discrepantes en nuestro estudio, es una debilidad y recomendación para futuros estudios, que adquiere relevancia al evaluar la exactitud de las pruebas diagnósticas (determinada por la sensibilidad y especificidad) para detectar anticuerpos contra VAIIE de forma temprana, lo que podría generar subestimaciones en la prevalencia de esta enfermedad.

Se concluye que la seroprevalencia de AIE en las dos cabalgatas culturales realizadas en Meta es relativamente baja (6,5%), además que la prueba ELISA podría ser una buena fuente de información tamiz de vigilancia epidemiológica activa, para posteriormente los seropositivos ser confirmados con AGID, como prueba Gold estándar indicada en el código sanitario de animales terrestres de la OMSA. Por otro lado, la presencia de equinos seropositivos a AIE en las dos cabalgatas sugiere que no se está cumpliendo con la normativa nacional en Colombia, la cual restringe la participación de animales seropositivos en eventos ecuestres fuera de su predio origen y exige su marcación física y aislamiento para evitar la transmisión de la enfermedad.

ORCID

- Maldonado, S.X. sonia.maldonado.soto@unillanos.edu.co, <https://orcid.org/0009-0005-7546-498X>
- Moreno, P.J. pjmoreno@unillanos.edu.co, <https://orcid.org/0009-0004-7455-3190>
- Alfonso, K.S. ksalfonso@unillanos.edu.co, <https://orcid.org/0009-0004-2117-8323>
- Banoy, J.S. jsbanoy@unillanos.edu.co, <https://orcid.org/0009-0008-1418-0969>
- Pedraza, N. npedraza@unillanos.edu.co, <https://orcid.org/0000-0001-5991-0525>
- Jaramillo-Hernández, D.A. dumar.jaramillo@unillanos.edu.co, <https://orcid.org/0000-0003-1377-1747>

REFERENCIAS

1. Almeida VMA, Gonçalves VSP, Martins MF, Haddad JPA, Dias RA, Leite RC, Reis JKP. Anemia infecciosa equina: prevalência em eqüídeos de serviço em Minas Gerais. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2005; 58(1):141-148.
2. Araújo JM, Costa JN, Ferrao IDS, Ribas JR, Nunes BQ, Torres E, Mendonça AP. Prevalence and main risk factors of equine infectious anemia in the southern of Bahia Coast Identity Territory, Brazil. *Arq Inst Biol* 2023; 90: e00052023.
3. Bezerra C, Anjos D, Falcão B, Bezerra CW, Moraes D, Nogueira DB, Silva ML, Alves C, Américo BS, Azevedo S. True Prevalence and Spatial Distribution of Equine Infectious Anemia Virus (EIAV) in Horses from Northeast Region of Brazil. *Acta Sci Vet.* 2021; 49: 1825.
4. Bueno BL, Câmara RJF, Moreira MVL, Galinari GCF, Souto FM, Victor RM, Bicalho JM, Ecco R, Dos Reis JKP. Molecular detection, histopathological analysis, and immunohistochemical characterization of equine infectious anemia virus in naturally infected equids. *Arch Virol.* 2020; 165(6): 1333-1342.
5. Cursino AE, Lima M, Nogueira MF, Aguiar D, Luiz AP, Alves PA, Junior J, Kroon EG. Identification of large genetic variations in the equine infectious anemia virus tat-gag genomic region. *Transbound Emerg Dis.* 2020; 68(6): 3424-3432.
6. Damazio LC, Martins AV, Ferrer DMV, De Mattos GP, Rosa, MV, Mendes LF. Anemia infecciosa equina (AIE)-Revisão da literatura. *Rev Med Vet. UNIFESO.* 2022; 2(01): 10-13.
7. De Pádua BR, Dias A, Fioravanti MCS, Borsanelli AC. Seroprevalence and risk factors associated with equine infectious anemia in the state of Goiás, Brazil. *Prev Vet Med.* 2022; 209: 105781.
8. Espasandin AG, Cipolini MF, Forletti A, Diaz S, Soto J, Martínez DE, Storani CA, Montón NM, Beltrame JI, Lucchesi, Soto P. Comparison of serological techniques for the diagnosis of equine infectious Anemia in an endemic area of Argentina. *J Virol Methods.* 2021; 291: 114101.
9. Hu Z, Guo K, Du C, Sun J, Naletoski I, Chu X, Lin Y, Wang X, Barrandeguy M, Samuel M, Wang W, Lau PI, Wernery U, Raghavan R, Wang X. Development and evaluation of a blocking ELISA for serological diagnosis of equine infectious anemia. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2023;107(10):3305-3317.
10. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Censos pecuarios nacionales: Censo equino. 2023. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2018>.
11. Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Resolución 1634 de 2010. Disponible en: <https://www.ica.gov.co/normatividad/normas-ica/resoluciones-oficinas-nacionales/2010/2010r1634.aspx>
12. Kim B. Técnicas de Western Blot. En: Espina. 5th ed. Molecular Profiling. Methods in Molecular Biology. Humana Press, Nueva York; 2017. p.133-139.
13. Kryvoshyya PY, Lysytsya A, Katukha SM, Kvartenko OM, Mandyhra MS. Immunobiochemical indices in clinically healthy horses and horses with equine infectious anemia. *Agric sci pract.* 2023; 10(2): 3-15.
14. Lima TS, Pacheco LR, Silva RPB, Souza MS, Oliveira RM, De Jesus Barbosa C, Ribas JRL, Barbosa LV. Aspectos gerais da Anemia Infecciosa Equina (AIE). *Res Soc Dev.* 2022; 11(5): e51011528508.
15. Márquez AA, Meléndez PC, Villarreal AV, Salas AY, Canelón PJ. Comparación de las técnicas de IDGA y ELISA para el diagnóstico de anemia infecciosa equina en caballos criollos venezolanos. *Revista Científica.* 2015; 25(5): 381-385.
16. Martínez B. DANE: Cadena equina, asnal y mular. Mini agricultura. 2020. Disponible en: <https://sioc.minagricultura.gov.co/Equino/Documentos/2020-12-31%20cifras%20sectoriales.Pdf>
17. Martínez Pérez JA, Pérez Martin PS. La curva ROC. *Semergem.* 2023; 49: 101821.
18. Muñoz D, Muñoz I, Mondragón J. Prevalencia de Anemia Infecciosa Equina en la población de equinos de tracción en Bogotá, Colombia. *Zootec Trop.* 2020; 38: 1-8.
19. Murray G, Munstermann S, Lam K. Beneficios y retos que implican la expansión mundial de los eventos ecuestres: nuevas normas para la población de caballos de competición y zonas libres de enfermedades equinas en los países. 2013. OIE, París, Francia.
20. Organización Mundial de la Sanidad Animal OMSA. Manual terrestre: Anemia infecciosa equina, Capítulo 3.6.6; 2019. Disponible en: https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.06.05_EQUINE_ENCEPH.pdf
21. Ostuni A, Iovane V, Monné M, Crudele MA, Scilunza MT, Nardini R, Raimondi P, Frondoso R, Boni R, Bavoso A. A double-strain TM (gp45) polypeptide antigen and its application in the serodiagnosis of equine infectious anemia. *J Virol Methods.* 2023; 315: 114704.
22. Paré J, Simard C. Comparison of commercial enzyme-linked immunosorbent assays and agar gel immunodiffusion tests for the serodiagnosis of equine infectious anemia. *Can J Vet Res.* 2004; 68 (4): 254-8.
23. Patiño-Quiroz BE, Baldrich-Romero NE, Caicedo-Robayo JC, Ome-Peña H, Murillo-Rojas JC.

- Prevalencia de anemia infecciosa equina en caballos de tiro urbanos del municipio de Florencia (Caquetá). *Cien Agri.* 2016;13(2): 39-45.
24. Resende FC, Santos AM, Cook RF. Low transmission rates of Equine infectious anemia virus (EIAV) in foals born to seropositive feral mares inhabiting the Amazon delta region despite climatic conditions supporting high insect vector populations. *BMC Vet Res.* 2022;18(1): 286.
 25. Roier R, Ávila M, Chagas R, Tenório C, Marques P, de Moraes F, Sad P. Equine Infectious Anemia - Case report. *Res Soc Dev.* 2020; 9(11).
 26. Romo-Sáenz I, Tamez-Guerra P, Olivas-Holguin A, Ramos-Zayas Y, Obregón- Macías, González-Ochoa G, Gomez-Flores R. Molecular detection of equine infectious anemia virus in clinically normal, seronegative horses in an endemic area of Mexico. *J Vet Diag Invest.* 2021; 33(4): 758- 761.
 27. Ruiz-Saenz J, Ángel C, Reyes E, Lopez-Herrera A, Góngora A. Asociación serológica de la rinoneumonitis viral equina y la anemia infecciosa equina. *Rev MVZ Córd.* 2008; 13(1): 1128-37.
 28. Russi RC, Garcia L, Cámara MS, Soutullo AR. Validation of an indirect in-house ELISA using synthetic peptides to detect antibodies anti-gp90 and gp45 of the equine infectious anaemia virus. *Equine Vet J.* 2023; 55(1): 111-121.
 29. Sarmiento P, Quijano-Pinzón M. Prevalencia del virus de la anemia infecciosa equina (AIE) en dos poblaciones de caballos de trabajo de los departamentos del Chocó y la Guajira. *Univ Sci.* 2005;18(9): 1-10.
 30. Tique V, Polo F, Benavides J, Galván C, Maza L, Mattar S. Seroprevalencia de anemia infecciosa equina en los departamentos de Córdoba y Bolívar, Colombia. *Rev Fac Cienc Vet.* 2015; 56(2): 96-104.
 31. Vallejo Romero RS, Zambrano Aguayo MD, Delgado Coveña RI, Vera Mejía RR, Fonseca-Rodríguez O, Pérez Ruano M. Prevalencia de anemia infecciosa equina en Sudamérica, Centroamérica y el Caribe. Revisión sistemática y metanálisis. *Rev Salud Anim.* 2021; 43(2).
 32. Vieira R, Dias R, Ferreira F, Dias R, Grisi Filho J, Heinemann M, Telles E, Ferreira J. Epidemiological situation of Equine Infectious Anemia in the state of Paraná, Brazil. *Semin Ciênc Agrár.* 2023; 44(4): 1557-1569.
 33. Villa-Mancera A, Villegas-Bello L, Campos-García H, Ortega-Vargas S, Cruz- Aviña J, Patricio-Martínez F, Utrera-Quintana F. Prevalence of equine infectious anemia virus in horses and donkeys determined by comparison of ELISA and AGID in Mexico. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2024; 76: 180-186.
 34. Zhang Z, Guo K, Chu X, Liu M, Du C, Hu Z, Wang X. Development and evaluation of a test strip for the rapid detection of antibody against equine infectious anemia virus. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2024; 108(1): 85.