Articulo Científico

Caracterización de pruebas diagnósticas para Babesia en Equinos.

Cristian C. Sánchez

Orientadora: Dra. Dunia Trujillo

Universidad Cooperativa de Colombia – Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Resumen:

La Babesiosis Equina conocida también como Piroplasmosis, es una enfermedad de gran concurrencia en la medicina Equina a nivel mundial, trasmitida a través de un artrópodo: Riphicephalus microplus. Este parasito, afecta no solamente a los caballos sino también a asnos y derivados. La babesiosis puede ser diagnosticada a través de varios métodos estos son: Frotis sanguíneo, inmunofluorescencia, fijación de complemento, inmunoensayo de competición (c-Elisa) y reacción en cadena polimerasa (PCR), cada una de estas pruebas tiene características que determinaran el uso de ella, todo esto dependiendo el animal y la evolución de la enfermedad. Esta enfermedad tiene una gran importancia en la salud pública ya que es una enfermedad zoonótica que, aunque ha tenido pocos reportes en humanos puede llegar a ser mortal. Por otro lado, epidemiológicamente es importante resaltar que los equinos que se han recuperado son portadores asintomáticos de los protozoos siendo estos una fuente de infección para las garrapatas y reincidir de nuevo en el ciclo. El problema socioeconómico de esta enfermedad inicialmente es la imposibilidad de exportar los ejemplares a otro país, y además de esto su tasa de mortalidad que varía entre el 10% al 60% dando paso a grandes pérdidas económicas. En este artículo se describirán las diferentes pruebas diagnósticas que existen para diagnosticar la babesiosis en equinos, evaluando el tiempo, ventajas, desventajas y costo de cada prueba.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

Palabras clave: Babesiosis, Piroplamosis, Artrópodo, PCR, Elisa, IFAT, Fijación de complemento.

Resumo:

A Babesiose Equina, também conhecida como Piroplasmose, é uma doença de grande concorrência na medicina Equina em todo o mundo, transmitida por um artrópode: Riphicephalus microplus. Este parasita afeta não apenas cavalos, mas também burros e derivados. A babesiose pode ser diagnosticada através de diversos métodos, são eles: esfregaço de sangue, imunofluorescência, fixação de complemento, imunoensaio de competição (c-Elisa) e reação em cadeia da polimerase (PCR), cada um desses testes possui características que irão determinar o uso tudo isso dependendo do animal e da evolução da doença. Esta doença tem grande importância na saúde pública por se tratar de uma doença zoonótica que, embora tenha poucos relatos em humanos, pode ser fatal. Por outro lado, epidemiologicamente é importante destacar que os equinos que se recuperaram são portadores assintomáticos de protozoários, sendo estes uma fonte de infecção para carrapatos e recidiva novamente no ciclo. O problema socioeconômico desta doença inicialmente é a impossibilidade de exportar os espécimes para outro país, e além disso sua mortalidade que varia entre 10% a 60%, acarretando grandes perdas econômicas. Este artigo irá descrever os diferentes testes diagnósticos existentes para diagnosticar babesiose em eqüinos, avaliando o tempo, vantagens, desvantagens e custo de cada teste.

Palavras-chave: Babesiose, Piroplamose, Artrópode, PCR, Elisa. IFAT, Fijación de complemento.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

INTRODUCCIÓN

La babesiosis Equina es una enfermedad de transmisión sanguínea causada por los protozoos Babesia caballi y Theileria equi (1), en equinos, cebras, mulas entre otros. Es distribuida a nivel mundial pero se evidencia más en zonas tropicales y subtropicales (2). Genera grandes pérdidas económicas, sin embargo su mayor perjuicio es la imposibilidad de trasladar el ejemplar a otro lugar (3). Sin embargo ambos parásitos tienen ciclos de vida bastante diferentes (4). La babesia tiene una transmisión transovárica en los vectores posterior a esto ingresa al glóbulo rojo como esporozoito. En el caso de Theileria equi su transmisión es transestadial, en este caso los esporozoitos penetran los linfocitos y allí se convierten en esquizontes (5). No se puede establecer que parasito está presente en el caballo únicamente basándose en los signos clínicos, la presentación de esta enfermedad se da de 3 formas: Aguda, subaguda y crónica, la última con signos clínicos un poco menos específicos como lo son inapetencia, pérdida de peso, intolerancia al ejercicio, depresión (6)(7) y disminución del rendimiento físico hasta la muerte del animal (8). Cuando el animal se ha recuperado de un proceso agudo el sigue siendo portador hasta 4 años en el caso de B. caballi y de por vida con T. equi. (9). La tasa de mortalidad de esta enfermedad es de un 50% aproximadamente (10). Por esto de gran importancia escoger una prueba diagnóstica que permita la detección del protozoo para su debido tratamiento a tiempo.

OBJETIVO

El objetivo de este artículo es dar a conocer la prevalencia que tiene la Babesiosis en Equinos, además de esto la importancia de escoger un buen plan diagnostico dependiendo el tiempo de la patología, sensibilidad, especificidad, costos y beneficios de cada prueba diagnóstica.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

GENERALIDADES

La Babesiosis Equina es una enfermedad intraeritrocitaria causada principalmente por los protozoos *Babesia caballi (B. caballi)* y *Theileria Equi (T. Equi).* Trasmitida por garrapatas del género *Dermacentor, Hyalomma y Rhipicephalus* que se infectan al ingerir protozoos que se encuentran en la sangre de otro animal portador (11) . Es una enfermedad endémica de áreas tropicales, aunque estudios recientes afirman que podría extenderse a zonas más templadas. (1)

El agente etiológico responsable de la enfermedad es la Babesia caballi que es un protozoo intraeritrocitario el cual tiene forma piriforme, su tamaño varía entre 2 a 5 µm de largo y 1,3 a 3 µm de diámetro (12). Este parasito generalmente se sitúa en pareja uniendo sus extremos formando un Angulo característico (13). Por otro lado, la Theileria equi es mas pequeño que la B. caballi, los merozoitos son más pequeños, aproximadamente 2-3 µm de largo, pueden ser piriformes, de forma redondeada u ovoide (14). Estos se agrupan de a cuatro formando una tétrada conocida como "cruz de malta". La Babesia caballi es un poco mas grande que la Theileria equi (15). El periodo de incubación varia según el agente etiológico, de 12 a 19 días para *T. equi* y de 10 a 30 días para *B. caballi (1).*

Sin embargo, la infección por B. caballi y T. equi puede ocurrir de una manera iatrogénica como lo es la mezcla de sangre infectada y no infectada (16). En casos de prácticas deficientes, en las cuales no se reemplazan las agujas o realiza "dopaje de sangre". Este dopaje fue el responsable de la causa de un brote de Piroplasmosis equina en Florida, entre caballos de carreras en 2008 (17). Las malas prácticas fueron las causantes de una transmisión accidental en los caballos de carreras, por ende estas prácticas deben de evitarse y considerarse como una amenaza para la salud tanto del ser humano como del ejemplar.

En cuanto a la patogenia los esporozoitos se trasmiten a través de la saliva de la garrapata al equino, una vez dentro del huésped los esporozoitos de Babesia caballi tienen la capacidad de invadir directamente el eritrocito, allí se multiplican y culminan su desarrollo en merozoitos. Posteriormente hay lisis del eritrocito y se liberan estos merozoitos e invaden otros eritrocitos para multiplicarse. En el caso de la Theileria equi ingresan primero a las

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

PMBC (células mononucleares de sangre periférica) (18). Adentro de estas células los esporozoitos de Theileria equi se convierten en esquizontes y después de 9 días se liberan e infestan a los eritrocitos (19). En el caso de ambos parásitos su reproducción es asexual.

Por otro lado, resaltan la capacidad que tiene *Theileria Equi* para producir una transmisión transplacentaria de estos parásitos, siendo esta una causa de mortalidad en potros a las pocas horas de vida, nacen débiles con signos de anemia e ictericia graves, además de esto existen una gran cantidad de potros que nacen sanos, asintomáticos y son portadores (20)(21).

Se describen algunos factores que están asociados a la patogénesis en los que se resaltan: edad, estado nutricional, estado inmunitario tanto del hospedador como de la especie y principalmente el tipo de babesia, por la cantidad de reportes se logra apreciar que la *T. equi* es potencialmente más patógena (22)(23)(24)(25).

La presentación clínica de esta enfermedad ocurre principalmente en 3 formas: Aguda, subaguda y crónica (26)(27). El ejemplar presenta signos clínicos de fiebre, anorexia, ictericia, debilidad, inapetencia, presencia de petequias de la mucosa, edema ventral, Taquicardia, sialorrea, disnea, hemoglobinuria (28). Por otro lado, los caballos que se recuperan a la infección y no presentan más signos clínicos pueden seguir siendo portadores asintomáticos. (29)(30). Sin embargo algunos reportes de casos clínicos evidencian que no existe un patrón en la sintomatología que presenta la Piroplasmosis en equinos; por ejemplo un reporte de caso de una Yegua en Malasia que presento edema en el menudillo de los miembros pélvicos y rigidez muscular debido a la hipoproteinemia(31). Algunos autores describen que la virulencia del protozoo es directamente proporcional al estrés que causa la sobrecarga de grano y administración de laxantes en potros.(32)

Otro caso peculiar fue el de una yegua que al realizar el examen clínico no se presentaba alteraciones por cambios hemodinámicos como lo son la ictericia o edema, en cambio presentaba un signo clínico no común que era la presencia de abundante moco en las heces junto a la hipomotilidad de dos cuadrantes digestivos.(33) Otras presentaciones clínicas menos comunes van acompañadas de neumonía, edema pulmonar, enteritis , arritmias, laminitis y patologías de sistema nervioso central en los que se incluyen la ataxia, mialgia, y

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

en algunos casos convulsiones.(34) Existen reportes de infertilidad temporal o permanente en algunos reproductores.(35)

1. METODOS DIAGNOSTICOS:

Para el diagnostico de babesia podemos dividir esta sección en 3 partes; en las cuales hablaremos primero de un análisis clínico que será el que se basa exclusivamente en la sintomatología que presenta el ejemplar, segundo, un análisis de las alteraciones macroscópicas y microscópicas, y por último la más importante, el análisis de laboratorio que indicará que tipo de agente, y el estadio parasitario tanto en el caballo como en el hospedador invertebrado que sería la garrapata (36).

1.1. ANALISIS CLINICO

En cuanto el análisis clínico es importante resaltar que este se basa en datos básicos como lo son la sintomatología, en este punto la realización de un examen clínico detallado es de suma importancia porque cualquier dato que llegue a omitirse podría darle una orientación diferente la diagnostico (36).

Estos varían según el órgano y el sistema afectado. Los ejemplares que atraviesan una infección aguda presentan signos clínicos como: Fiebre alta en algunos casos superiores a 104° F, letargo, pérdida de apetito y edema (37). Las petequias que se observan en las mucosas generalmente son causadas por la trombocitopenia (38). La anemia hemolítica desarrollan cuadros de ictericia o palidez, acompañados de taquicardia, taquipnea y debilidad entre otros (39)(40).

Algunos signos clínicos también incluyen alteraciones gastrointestinales como cólicos, diarreas, impactaciones. Por ultimo y menos frecuente algunos caballos en algún momento

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

evidenciaron complicaciones respiratorias compatibles con edema pulmonar y neumonía (41).

Para los potros la sintomatología inespecífica como debilidad, y disminución del reflejo de succión pero a medida de que el animal se va desarrollando sus signos clínicos también evidenciando, ictericia, fiebre y en algunos casos anemias (42).

1.2. EXAMENES DE LABORATORIO

En el hemograma se evidencia disminución en la línea roja, Hb, MCV, MCHC, compatible con anemia microcítica e hipocrómica (43)(44)(45). En la línea blanca se percibe disminución del recuento total de los glóbulos blancos, acompañado de leucocitosis y linfopenia (46)(47). Las plaquetas se disminuyen causando una trombocitopenia, debido a la diseminación intravascular local, sistémica y por el secuestro de plaquetas en el bazo (48).

La bioquímica sanguínea se ve alterada mostrando una disminución en la concentración sérica de albumina, correspondiente a trastornos del hígado y proteinuria (47). Sin embargo, la AST muestra valores elevados debiéndose a un daño en los hepatocitos o sus membranas. (43).(49). Las proteínas totales y globulinas pueden deberse al aumento de los niveles de globulinas por la reacción a los antígenos de los parásitos y liberación de la hemoglobina por a lisis del eritrocito (47) Se puede hallar también una hiperbilirrubinemia que puede ser por consecuencia directa de una anemia hemolítica (40). La hipergammaglobulinemia se puede deber a una infección crónica que este cursando por la patología, de acuerdo a eso se considera que es una respuesta inmunológica debido a la infección (50).

1.3. LESIONES POSTMORTEM MACRO Y MICROSCOPICAS

A nivel macroscópico se evidencia el animal emaciado con signos de ictericia y anemia, el hígado agrandado y de coloración marrón anaranjado por la anemia. El bazo se agranda, los riñones presentan coloración pálida, consistencia blanda y en algunos casos un color rojo

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

oscuro si es que el animal padeció de hemoglobinuria. En el corazón se aprecian hemorragias subpericardiales y subendocardiales (51).

A nivel microscópico los cortes histológicos son poco utilizados debido a que es difícil detectar la presencia de protozoos, para este se utilizan muestras de bazo, riñón y también hígado y se observan en el microscopio (36).

1.4. FROTIS SANGUINEO

Por otro lado el frotis sanguíneo es más efectivo, pero dependiente del nivel de parasitemia que generalmente es bajo, específicamente en infecciones por *B. caballi* ; utilizando este método si se podría identificar la presencia de protozoos en sangre, cabe resaltar que existen dos tipos de frotis, que son de capa gruesa y capa fina; para el frotis de capa fina se utilizan pequeñas cantidades de sangre, lo cual cuando la parasitemia es baja es difícil detectar al parasito en sangre periférica (36), allí es donde se procede a hacer el frotis de capa gruesa en el cual se utiliza una mayor cantidad de sangre, se hace el extendido de alrededor de 2 cm de diámetro, y por último se realiza una tinción con Giemsa, allí se observa en el microscopio y se podrán detectar formas intraeritrocitaria (52). Para la identificación de esas formas se debe saber que en el caso de *B equi* los trofozoítos morfológicamente redondos, miden alrededor de 2-3 mm y tiene una característica común y es que se agrupan formando una denominada "cruz de malta". Para la *B caballi* su morfología es diferente, ellos son piriformes, en algunos casos de forma ovalada y son un poco más grandes que los de *B caballi* llegando a medir aproximadamente de 3-5 mm, además de esto ellos se agrupan en parejas formando una especie de ángulo. (53)

1.5. FIJACION DE COMPLEMENTO

Fijación de complemento (FC) o reacción de fijación de complemento (RFC); es una prueba que se usa principalmente para la detección de un anticuerpo o antígeno especifico; que

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

consiste en tomar una muestra de suero del paciente y someterla a cambios de temperatura, para calentar las proteínas sin destruir los anticuerpos; allí se incorpora el suero deseado con proteínas del complemento estándar (54)(55). La formación de los complejos depende exclusivamente si el suero suministrado posee anticuerpos contra el antígeno que se desea estudiar. La fijación arrojara la cantidad relativa de anticuerpos en la muestra. En este caso, solo podría usarse en situaciones de enfermedad aguda, debido a la baja sensibilidad que posee en fases más avanzadas como una infección crónica. A pesar de ser una prueba precisa es muy limitada de realizar, por la cantidad de trabajo y controles que requiere.(56)(30)(57)

1.6. INMUNOFLUORESCENCIA

La inmunofluorescencia es una técnica de marcaje, consiste en la unión de los anticuerpos a una sustancia específica, en este caso una sustancia fluorescente la cual indica que la molécula está presente. Esta prueba diagnóstica se recomienda en procesos agudos (56). Tiene una especificidad y sensibilidad mayor a la Fijación de complemento (FC) (36), además de esto esta técnica permite realizar la tinción en cortes de tejidos, secreciones, o cualquier tipo de materia que tenga una celularidad marcada. Sin embargo, posee una contra y es el tiempo de actividad fluorescente, que generalmente se pierde por exposición a la luz, a este fenómeno se le denomina "fotoblanqueo", puede reducirse disminuyendo la cantidad de luz tanto del microscopio, como la luz natural (30). Cabe resaltar que esa prueba debe de ser interpretada y los resultados si son positivos se ven aproximadamente 3 a 20 días después de la infección y puede detectarse durante el periodo crónico de la infección (58).

1.7. ELISA

Para garantizar mayor precisión en el diagnóstico existen 2 tipos de pruebas que ofrecen una sensibilidad mucho más alta que las pruebas anteriormente descritas, estas son:

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

Inmunoensayo de competición (c-ELISA) es el método más sensible en los casos de infecciones crónicas (59). Este método consiste en la detección de anticuerpos específicos en la sangre, compuesta así por la unión antígeno – anticuerpo y una enzima que actúa como marcador de la unión de ambos (60). En esta técnica se proporcionan unos anticuerpos en el cual las proteínas específicas y deseables del suero se unirán a estos anticuerpos, posterior a esto se realiza un lavado para eliminar el exceso de proteínas (30). Se procede a adicionar un nuevo componente el cual tiene autoanticuerpos que tienen la misma capacidad de adherirse a las proteínas deseables, sin embargo, estos autoanticuerpos tienen en su punta una enzima, que se unen a los antígenos ya capturados, después de esto se realiza de nuevo un lavado para eliminar el exceso de anticuerpos. Por último se agrega una sustancia que genera que las enzimas produzcan color por medio de sustratos (56).

La importancia de esta prueba radica en su capacidad cuantitativa, dependiendo la cantidad de antígenos indicara que habrá pocos autoanticuerpos unidos, al contrario de esto si hay una cantidad mayor de anticuerpos por ende habrá más enzimas y arrojara una intensidad de color más marcada (61).

1.8. PCR

De acuerdo con los resultados poco efectivos que podrían obtenerse con los anteriores métodos, resulta más efectivo la prueba conocida como Reacción en cadena de polimerasa (PCR); esta técnica consiste en amplificar las secuencias de ADN, este método utiliza fragmentos cortos del ADN que son denominados como "cebadores" los cuales serán parte del genoma que se desea amplificar (62).

Esta reacción química permite que unos pocos fragmentos de ADN se repliquen en miles de copias, permitiendo así estudiar la molécula mucho más en detalle.

Toda esta reacción química es posible gracias a los cambios de temperatura, la alta temperatura a la que se somete la mezcla permite que la doble cadena de ADN logre desenvolverse, cuando la temperatura empieza a disminuir los cebadores se van uniendo al

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

ADN. Este proceso se efectúa varias hasta que se hayan creado una cantidad considerable de copias (63).

De esta manera es que se amplía el código genético del ADN, pero la detección de este se da de otra manera; gracias a los aditivos fluorescentes se logra detectar la presencia del agente, a medida que se van realizando las copias del ADN, el brillo aumenta debido a que estos colorantes se unen al ADN (64). Se logra determinar que la pruebas es positiva cuando esa fluorescencia pasa los límites establecidos, por ende, si la prueba no ha hecho una cantidad mínima de copias, el brillo será bajo arrojando un resultado negativo.

Esta prueba se caracteriza por su alta sensibilidad y especificidad, esto quiere decir que tiene la capacidad de detectar cuando existe un nivel de parasitemia bajo, además de eso es muy poco probable que existan falsos positivos por alguna reacción cruzada (36).

CONCLUSIONES

Actualmente la Piroplasmosis en los Equinos es una enfermedad de alta incidencia, pero su diagnóstico se ha convertido en un problema tanto para los médicos veterinarios como para los propietarios, son varios los limitantes a la hora de escoger una prueba diagnostica que pueda satisfacer en todos los aspectos. Existen limitantes económicas, de tiempo, y limitantes en cuanto a la precisión de las pruebas diagnósticas.
Considero que a la hora de tomar una decisión para diagnosticar esta enfermedad se deben evaluar factores como el beneficio que me ofrece cada prueba vs el costo y el tiempo que conlleva.

Anteriormente se describieron las características que posee cada técnica, sus ventajas y desventajas, sin embargo, al momento de tomar una decisión para saber que prueba debo de realizar depende de varios factores y se debe analizar muy detalladamente la situación.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

Primero es necesario resaltar y contar con el apoyo económico del propietario, si al contrario no se cuenta con ese recurso se deben descartar las pruebas que conlleven un costo muy alto, sin dejar de explicarle al propietario las ventajas de ese tipo de técnicas.

Por otro lado, el momento que vive el animal, el tiempo en que el que ha demostrado sintomatología y su condición clínica, cuando el estado del animal es crónico existen técnicas de elección en ese tipo de casos como lo es la Elisa, esta prueba es considerada la prueba más eficaz en los casos de cronicidad.

Entre la variedad de técnicas que existen para diagnosticar la Piroplasmosis, sin lugar a duda el PCR es la técnica Gold estándar, al tener una mayor sensibilidad y especificidad, quiere decir que tiene una amplia confiabilidad, sin embargo, como anteriormente describí, es una prueba que resulta onerosa.

Es de suma importancia que le médico veterinario sepa evaluar la situación del paciente, si se encuentra en una alta o baja parasitemia podría implementar técnicas de campo como los frotis y lograr percibir el agente en la prueba, de esta manera se puede diagnosticar de una manera mucho más rápida e implementar un tratamiento lo más pronto posible.

Para culminar se determina que el protocolo más adecuado para diagnosticar la Babesia en equinos es de la siguiente manera; primero realizar un hemograma acompañado de un frotis sanguíneo para evaluarlo en el microscopio, seguidamente una serología cuando el animal presenta signos clínicos y repetirla a los 20 días mediante las técnicas de Fijación de complemento (FC) o inmunofluorescencia indirecta (IFAT). Por último, si el propietario tiene la condición realizar un PCR en tiempo real tanto para *Babesia equi* y *Theileria equi.* Es de suma importancia resaltar que si el animal es asintomático y se sospecha que pueda ser un portador activo, en este caso se debe realizar una prueba ELISA.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Y. T. Equine piroplasmosis: an updated review. In: Equine Vet Educ. 2013. p. 25:590e8.
2. Eliazar Caminoa, b, Abel Dorregoa, Kelly Alejandra Carvajala AB-A, Lucia de Juana, b, Lucas Domingueza, b FC-L. Serological, molecular and hematological diagnosis in horses with clinical suspicion of equine piroplasmosis: Pooling strengths. Vet Parasitol. 2009;
3. Friedhoff, K.T., Tenter, A.M., Muller I. Haemoparasites of equines: impact on international trade of horses. In: Rev Sci Technol. 1990. p. 9, 1187–1194.
4. Mehlhorn H SE. The piroplasms: life cycle and sexual stages. In: 1984. p. 23:37–103.
5. Schein E, Rehbein G, Voigt WP ZE. Babesia equi (Laveran, 1901). 1. Development in horses and in lymphocyte culture Tropenmed. In: Parasitol. 1981. p. 32:223–237.
6. G R. Equine Babesiosis and trypanosomiasis. Symposium on Equine Haematology, Proc Int. In 1985.
7. Waal DD, Heerden JV PF. An investigation into the clinical pathological changes and serological response in horse experimentally infected with Babesia equi and Babesia caballi. In: Onderstepoort J Vet Res. 1987. p. 54:561–587.
8. L. SEJ. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. In: 7ª Edición Ed Interamericana. 1988. p. 719-35.
9. Waal DT HJ. Equine Piroplasmosis. In: Coetzer JA (ed) Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa. Oxford University Press, Cape Town. In 1994.
10. DD W. Equine piroplasmosis: a review. In: Br Vet J. 1992. p. 148(1):6–14.
11. A. B. Parasitología Veterinaria. In: 3° Edición, Ed Acribia. 1981.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

12. Levine ND. Veterinary Protozoology, 1st ed. 1985. Iowa State University Press: Ames, IA, USA.

13. Scoles, G.A.; Ueti MW. Vector ecology of equine piroplasmosis. In: Annu Rev Entomol. 2015. p. 60, 561–580.

14. Sumbria, D.; Moudgil, A.D.; Singla LD. Equine Piroplasmosis: Current status. In: Veterinaria. 2014. p. 1, 9–14.

15. Malekifard, F.; Tavassoli, M.; Yakhchali, M.; Darvishzadeh R. Detection of Theileria equi and Babesia caballi using microscopic and molecular methods in horses in suburb of Urmia, Iran. In: Vet Res Forum. 2014. p. 5, 129–133.

16. Wise L, Kappmeyer L, Mealey R KD. Review of equine piroplasmosis. In: J Vet Intern Med. 2013. p. 27:1334e46.

17. ShortMA, Clark CK,Harvey JW,WenzlowN,Hawkins IK, AllredDR et al. Outbreak of equine piroplasmosis in Florida. In: J Am Vet Med Assoc. 2012. p. 240:588e95.

18. Mehlhorn H SE. Redescription of Babesia equi Laveran, 1901 as Theileria equi Mehlhorn, Schein 1998. In: Parasitol. 1998. p. 84:467–475.

19. Kappmeyer LS, Thiagarajan M, Herndon DR et al. Comparative genomic analysis and phylogenetic position of Theileria equi. In: BMC Genomics. 2012. p. 13:603.

20. Allsopp, M.T.E.P.; Lewis, B.D.; Penzhorn BL. Molecular evidence for transplacental transmission of Theileria equi from carrier mares to their apparently healthy foals. In: Vet Parasitol. 2007. p. 148, 130–136.

21. De Waal, D.T.; van Heerden J. Equine piroplasmosis. In Infectious Diseases of Livestock; Coetzer, J.A.W., Tustin, R.C., Eds.; Oxford University Press: Cape Town, South Africa. In 2004. p. 425–433.

22. Rüegg, S.R.; Torgerson, P.; Deplazes, P.; Mathis A. Age-dependent dynamics of Theileria equi and Babesia caballi infections in southwest Mongolia based on IFAT and/or PCR prevalence data from domestic horses and ticks. In: Parasitology. 2007. p. 134, 939–947.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

23. Moretti, A.; Mangili, V.; Salvatori, R.; Maresca, C.; Scoccia, E.; Torina, A.; Pietrobelli M. Prevalence and diagnosis of Babesia and Theileria infections in horses in Italy: A preliminary study. In: Vet J. 2010. p. 184, 346–350.

24. Roberts, C.W.; Walker, W.; Alexander J. Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. In: Clin Microbiol Rev. 2001. p. 14, 476–488.

25. Bahrami, S.; Ghadrdan, A.R.; Pourmahdi, B.M.; Vafayi SM. Epidemiology of Theileria equi in Persian Arab horses from Iran. In: Vet Med. 2014. p. 59, 409–414.

26. Rampersad J, Cesar E, Campbell M, Samlal L A. A field evaluation of PCR for the routine detection of Babesia equi in horses. In: Vet Parasitol. 2003. p. 114:81–87.

27. G U. Babesia—a historical overview. In: Vet Parasitol. 2006. p. 138(1– 2):3–10.

28. Knowles DP. Knowles DP (1996a) Equine Babesiosis (piroplasmosis): a problem in the international movement of horses. In: Br Vet J. 1996. p. 152(2):123–126.

29. Friedho , K.T.; Soule C. An account on equine babesiosis. In: Rev Sci Tech (Int O Epizoot). 1996. p. 15, 1191–1201.

30. Brüning A. Equine piroplasmosis an update on diagnosis, treatment and prevention. In: Br Vet J. 1996. p. 152, 139–151.

31. Alsaad KM, Alsaad EA A-DH. Clinical and diagnostic study of equine babesiosis in drought horses in some areas of Basrah Province. In: Res J Anim Sci. 2010. p. 4:16-22.

32. Organ, A,, Aslani. M.R., Rezakhani, A., Maleki M and S. Babesia caballi and associated pathologic lesions in a horse. In: Equine Practice. 1994. p. 16: 33-37.

33. L. Nicki Wise AM. Equine Piroplasmosis. Vet Clinc Equine. 2013;P.1-17.

34. Wise LN, Kappmeyer LS, Mealey RH et al. Review of equine piroplasmosis. In: J Vet Intern Med. 2013. p. 27:1334–46.

35. Donnellan CM MH. Infectious Diseases of the Horse. Equine Piroplasm. 2009;Ltd; :333–340.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

36. MEANA, Aranzazu y ROJO-VÁZQUEZ FA. "Sobre parasitología equina". In 2010. p. 131–43. Available from: https://www.equisan.com/images/pdf/babe.pdf

37. Maurer FD. Equine piroplasmosis. Another emerging disease. In: J Am Vet Med Assoc. 1962. p. 141:699–702.

38. DT de W. Equine piroplasmosis: A review. In: Br Vet J. 1992. p. 148:6–14.

39. Ambawat HK, Malhotra DV, Kumar S et al. Erythrocyte associated haemato-biochemical changes in Babesia equi infection experimentally produced in donkeys. In: Vet Parasitol. 1999. p. 85:319– 324.

40. Zobba R, Ardu M, Niccolini S et al. Clinical and laboratory findings in equine piroplasmosis. In: J Eq Vet Sci. 2008. p. 28:301– 308.

41. de Waal DT van HJ. Equine piroplasmosis. In: Coetzer JAW, Tustin RC, eds. Infectious Diseases of Livestock,. In: 2nd ed Cape Town, South Africa: Oxford University Press. 2004. p. 425–433.

42. L.N. Wise, L.S. Kappmeyer, R.H. Mealey and DPK. Review of Equine Piroplasmosis. In: J Vet Intern Med. 2013. p. 27:1334–1346.

43. Barbara Padalino a, *, Sarah M. Rosanowski b, Caterina Di Bella c RL c, Rubino GTR. Piroplasmosis in Italian Standardbred Horses: 15 Years of Surveillance Data. J Equine Vet Sci. 2019;

44. Rahbari S, Nabian S, Khaki Z, Alidadi N AH. Clinical, haematologic and pathologic aspects of experimental ovine babesiosis in Iran. In: IJVR. 2008. p. 9(1):59–64.

45. Rubino G, Cito AM, Lacinio R, Bramante G CA, Pieragostini E PF. Hematology and some blood chemical parameters as a function of tick-borne disease (TBD) signs in horses. In: J Equine Vet Sci. 2006. p. 26(10):475–480.

46. Laus F, Spaterna A, Faillace V, Veronesi F, Ravagnan S B, F, Cerquetella M, Meligrana M TB. Clinical investigation on Theileria equi and Babesia caballi infections in Italian donkeys. In: BMC Vet Res. p. 11(1):100.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

47. Esmaeilnejad B, Tavassoli M A-RS. Investigation of hematological and biochemical parameters in small ruminants naturally infected with Babesia ovis. In: Vet Res Forum. 2012. p. 3(1):31–36.

48. Zobba R, Ardu M, Niccolini S, Chessa B, Manna L CR, MLP P. Clinical and laboratory findings in equine piroplasmosis. In: J Equine Vet Sci. 2008. p. 28(5):301–308.

49. Zygner W, Gojska-Zygner O, Długosz E WH. Liver enzyme activity in dogs infected with Babesia canis. In: Bull Vet Inst Pulawy. 2011. p. 55(3):423–427.

50. Riond B, Wenger-Riggenbach B, Hofmann-Lehmann R LH. Serum protein concentrations from clinically healthy horses determined by agarose gel electrophoresis. In: Vet Clin Pathol. p. 2009.

51. Beaver PC, Jung RC CE. Parasitology Clínica. 9 ° edn. Lea y Febiger, Filadelfia. 1984.

52. Abedi V, Razmi G, Seifi H NA. Molecular detection of equine piroplasms in donkeys (Equus asinus) in North Khorasan province, Iran. In: Iran J Vet Res. 2015. p. 16(2): 202-204 (PMCID: PMC4827686).

53. Sadeghi Dehkordi Z, Zakeri S, Nabian S et al. Molecular and biomorphometrical identification of ovine babesiosis in Iran. In: Iranian J Parasitol. 2010. p. 5(4): 21-30.

54. Knowles DP, Kappmeyer LS, Stiller D, Hennager SG PL. Antibody to a recombinant merozoite protein epitope identifies horses infected with Babesia equi. In: J Clin Microbiol. 1992. p. 30:3122–6.

55. Wise LN, Kappmeyer LS, Mealey RH KD. Review of equine piroplasmosis. In: J Vet Intern Med. 2013. p. 27:1334–46.

56. Weiland G. Species-specific serodiagnosis of equine piroplasma infections by means of complement fixation test (CFT), immunofluorescence (IIF), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In: Vet Parasitol. 1986. p. 20, 43–48.

57. Rothschild CM. Equine piroplasmosis. In: J Equine Vet Sci. 2013. p. 33, 497–508.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.

58. Rothschild CM. Equine piroplasmosis. J. In: Equine Vet Sci. 2013. p. 33, 497–508.

59. Cruz EC y F. Piroplasmosis equina. Revista VISAVET Divulgación. 2017;

60. Knowles, D.P.; Kappmeyer, L.S.; Stiller, D.; Hennager, S.G.; Perryman LE. Antibody to a recombinant merozoite protein epitope identifies horses infected with Babesia equi. In: J Clin Microbiol. 1992. p. 30, 3122–3126.

61. Knowles D.P, Perryman L.E, Goff W.L, Miller C.D., Harrington R.D. GJR. A monoclonal antibody defines a geographically conserved surface epitope of babesia equi merozoite. In: Infection and Inmmunity. 1991. p. 59, 2314–7.

62. BASHIRUDDIN J B, CAMMA C ROE. Molecular detection of Babesia equi y Babesia caballi in horse blood by PCR amplification of part of the 16S rRNA gene. In: Vet Parasitol. 1999. p. 84: 75-83.

63. Bashiruddin, J.B., Camma, C., Rebelo E. Molecular detection of Babesia equi and Babesia caballi in horse blood by PCR amplification of part of the 16S rRNA gene. In: Vet Parasitol. 1999. p. 1–2, 75–83.

64. T.B. Nicolaiewsky a, M.F. Richter a,∗, V.R. Lunge a, b 1, C.W. Cunhaa, c, O. Delagostin d, N. Ikuta a, b, 1, A.S. Fonseca a, b 1, S.S. da Silva a, d LSO. Detection of Babesia equi (Laveran, 1901) by nested polymerase chain reaction. Vet Parasitol 101. :9–21.

Atribución – No comercial – Sin Derivar: Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales, sólo permite que otros puedan descargar las obras y compartirlas con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se pueden cambiar de ninguna manera ni se pueden utilizar comercialmente.