



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

PIROPLASMOSIS EQUINA EN EL PAÍS VASCO: ESTUDIO DE CASOS
CLÍNICOS

EQUINE PIROPLASMOSIS IN THE BASQUE COUNTRY: STUDY OF
CLINICAL CASES

Autor/es

Ane Elías Cortajarena

Director/es

María Jesús Gracia
Salinas

Facultad de
Veterinaria

2021

ÍNDICE

1. RESUMEN/SUMMARY.....	3
2. INTRODUCCIÓN.....	4
2.1 <i>Babesia caballi</i> y <i>Theileria equi</i>	4
2.2 Transmisión.....	7
2.3 Epidemiología.....	8
2.4 Inmunidad.....	10
2.5 Patogenia.....	11
2.6 Signos clínicos.....	12
2.7 Diagnóstico.....	15
2.7.1 Diagnóstico clínico.....	15
2.7.2 Diagnóstico laboratorial.....	15
2.8 Tratamiento.....	18
2.9 Prevención y control.....	18
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	21
4. METODOLOGÍA.....	21
5. RESULTADOS.....	23
6. DISCUSIÓN.....	26
7. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS.....	29
8. VALORACIÓN PERSONAL y AGRADECIMIENTOS.....	30
9. BIBLIOGRAFÍA.....	31
10. ANEXO.....	35

1. RESUMEN/SUMMARY

La piroplasmosis equina es una enfermedad parasitaria causada por dos hemoprotozoos: *Babesia caballi* y *Theileria equi*. Estos parásitos se multiplican en los eritrocitos, produciendo eritrolisis. En España, esta enfermedad es de carácter endémico. Se transmite por garrapatas de los géneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus* y/o *Hyalomma*. Estos vectores abundan en zonas de campo donde habitan diferentes animales domésticos como bóvidos, que frecuentemente comparten territorio con caballos. Estas zonas son frecuentes en el norte de España, donde la enfermedad cursa con una sintomatología muy variable.

Debido a la importancia económica y sanitaria de la piroplasmosis equina por ser una Enfermedad de Declaración Obligatoria (EDO), a su alta prevalencia en España y a su gran variabilidad en signos y síntomas de carácter general, en este Trabajo de Fin de Grado (TFG) se realiza un estudio de casos clínicos de caballos procedentes del País Vasco para conocer cómo afecta la enfermedad y cómo ésta es tratada en cada caso.

Se han recopilado 8 casos clínicos de caballos de entre 5 y 22 años positivos frente a piroplasmosis equina y procedentes de la provincia de Bizkaia. Los caballos que se han estudiado son animales de deporte que viven en centros hípicas con acceso a pasto y que tienen contacto estrecho con otros caballos, perros, gatos y la posibilidad de tener contacto con ganado bovino, pequeños mamíferos, aves y diferentes artrópodos.

Con una mayor presentación del proceso en machos frente a hembras, la piroplasmosis equina cursa de manera inespecífica y el 37,5% de los animales manifiestan la enfermedad de forma aguda. Además, se ha detectado una mayor seroprevalencia de *Babesia caballi* (62,5%) que de *Theileria equi* (37,5%) y la administración de dipropionato de imidocarbo ha resultado eficaz para el tratamiento de la enfermedad.

Summary

Equine piroplasmosis is a parasitairian disease caused by two hemoprotozoa: *Babesia caballi* and *Theileria equi*. These parasites multiply inside the erythrocytes, causing erythrolysis. In Spain, this is an endemic disease. The transmission is due to tick-borne from genus *Dermacentor*, *Rhipicephalus* and *Hyalomma*. These vectors abound in field areas where other domestic animals, like bovines, inhabit, and they often share territory with horses. These areas are more frequent in the north of Spain, where the symptomatology is very variable.

The reason why this Final Degree Project (FDP) is being presented is owing to the economic and sanitary importance of the disease, because it is included in the list of Diseases notifiable to the OIE, the high prevalence of equine piroplasmosis in Spain and its high variability in non-specific signs and symptoms. It is expected to be done a study of clinical

cases originating from the Basque Country in order to know how the disease affects and how it is treated.

It has been done a study of 8 clinical cases of horses between 5 and 22 years old that tested positive for equine piroplasmosis and that live in the province of Biscay. The horses that have been used are sport horses that live in equestrian centers with access to pasture and that have close contact with other horses, dogs, cats, and even cattle, small mammals, birds and arthropods.

Taking into account that equine piroplasmosis is more often observed in males than in females, horses which tested positive exhibit non-especific signs and the 37,5% of the animals presented acute infection. Furthermore, it has been tested a higher seroprevalence for *Babesia caballi* (62,5%) than for *Theileria equi* (37,5%), and the administration of imidocarb dipropionate resulted effective for the treatment of equine piroplasmosis.

2. INTRODUCCIÓN

La piroplasmosis equina es la única enfermedad parasitaria intraeritrocitaria que afecta a los caballos (Morris, 2006). Se trata de una enfermedad parasitaria no contagiosa causada por dos hemoprotozoos: *Babesia caballi* y *Theileria equi*. Estos dos protozoos se multiplican en los hematíes de varias especies dentro de los équidos, como son los caballos, mulos, burros y zebras (OIE, 2009; Wise et al., 2014; Constable et al., 2017a), produciendo eritrolisis de los mismos, acarreando diferentes síntomas y signos clínicos. Además, *Theileria equi* puede multiplicarse también en linfocitos y monocitos provocando su lisis, lo que ocasiona que normalmente los caballos con síntomas más graves estén afectados por *Theileria equi*, ya que tiene más consecuencias a nivel sistémico y una mayor tasa de mortalidad (Morris, 2006).

Por otro lado, la piroplasmosis equina es una enfermedad con una gran importancia en sanidad animal, ya que es una Enfermedad de Declaración Obligatoria (EDO) ante la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE, 2021), y con gran repercusión económica, que afecta directamente al comercio internacional de caballos (Friedhoff et al., 1990). Consecuentemente, existen restricciones en exportaciones de caballos seropositivos, ya que algunos países prohíben sus entradas. Es por eso que la detección de animales infectados de forma crónica adquiere gran importancia para evitar una mayor expansión de la enfermedad a través de la compra-venta de caballos a nivel internacional (Ayala-Valdovinos et al., 2014).

2.1 *Babesia caballi* y *Theileria equi*

Los géneros *Babesia* y *Theileria* están incluidos en dos familias de protozoos intraeritrocitarios, Babesiidae y Theileriidae respectivamente, dentro del filo Apicomplexa

(Wise et al., 2014). Su ciclo de vida contiene tres fases reproductivas: la esporogonia, que es una fase de multiplicación asexual que se da en las glándulas salivares de las garrapatas; la merogonia o esquizogonia, que es la fase de multiplicación asexual que se da en la sangre del hospedador vertebrado; y la reproducción sexual denominada gametogonia, que ocurre en el intestino de las garrapatas (Wise et al., 2014; Ueti y Knowles, 2018).

Babesia caballi es un hemoprotoso que ha desarrollado estrategias únicas para completar su ciclo vital y la transmisión de un animal a otro. Los objetivos reproductivos que persigue son perpetuar su existencia mediante su propagación y garantizar la transmisión de un hospedador a otro. Para ello, combina 2 ciclos de reproducción asexual y un último de reproducción sexual que alterna en función de si parasita a los vectores o a los hospedadores vertebrados (Jalovecka et al., 2019). *Babesia caballi* sigue el ciclo de vida de la mayoría de parásitos del género *Babesia spp.* (Wise et al., 2014), que consiste en introducirse en forma de esporozoito a través de la picadura de la garrapata en los eritrocitos del caballo cuando una garrapata infectada se alimenta de él. Los esporozoitos penetran en la membrana eritrocitaria gracias a que constan de una estructura llamada complejo apical. Una vez dentro, los esporozoitos se transforman en trofozoitos, que finalmente, gracias a un proceso de fisión binaria se convierte en dos merozoitos (Constable et al., 2017a).

Cuando se produce la eritrolisis, los merozoitos salen al torrente sanguíneo para volver a penetrar en otros eritrocitos, y así sucesivamente. Algunos merozoitos evolucionan a gamontes. Al ser ingeridos por las garrapatas, los microgamontes y los macrogamontes se fusionan y forman cigotos gracias a la replicación sexual (Figuras 1 y 2). Estos cigotos penetran en las células de las glándulas salivares de las garrapatas, donde debido a la esporogonia se convertirán en esporozoitos de nuevo a la espera de que las garrapatas se alimenten de otro caballo (Wise et al., 2014).

Babesia caballi presenta la habilidad de persistir en las diferentes fases de desarrollo de los vectores, lo que se denomina transmisión transtadiar. También puede transmitirse de manera transovárica, por lo tanto, las siguientes generaciones de garrapatas podrán infectar a los caballos de los que se alimenten (Jalovecka et al., 2019).

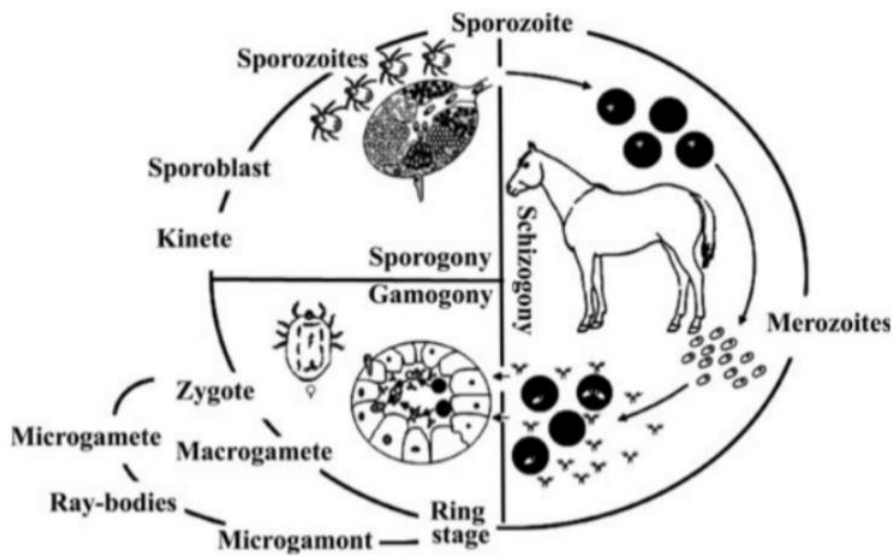


Figura 1. Ciclo de vida de *Babesia caballi* (Ueti y Knowles, 2018).

Sin embargo, cuando una garrapata infectada por *Theileria equi* se alimenta de un caballo, los esporozoitos invaden primero las células mononucleares de la sangre periférica del hospedador, tales como los linfocitos, y mediante esquizogonia dan lugar a merozoitos que se distribuirán por la sangre tras las lisis de dichas células para invadir finalmente los eritrocitos. Una vez dentro, vuelven a reproducirse mediante fisión binaria formando 4 merozoitos en vez de 2, conformando así la denominada “cruz de Malta” (células hijas formando tétradas) (Ueti y Knowles, 2018).

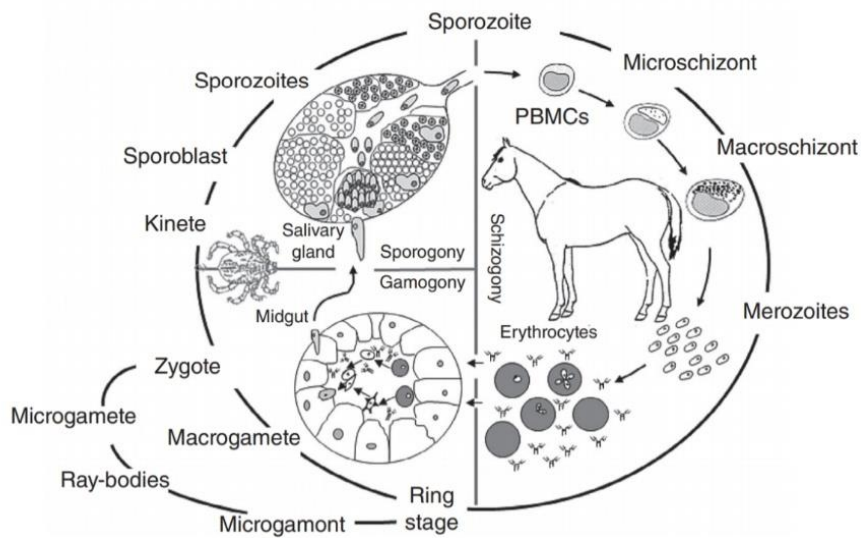


Figura 2. Ciclo de vida de *Theileria equi* (Wise et al., 2014).

2.2 Transmisión

Tanto *Babesia caballi* como *Theileria equi* son transmitidos por garrapatas duras que se consideran ectoparásitos obligados debido a la necesidad de ingerir sangre durante su ciclo vital. Estos vectores hematófagos pertenecen al Orden Acarina, Suborden Ixodoidea y a la Familia Ixodidae, y los géneros involucrados en la transmisión son *Dermacentor*, *Rhipicephalus* y/o *Hyalomma* (Uilenberg, 2006; Polanco-Echeverry y Ríos-Osorio, 2016). Dentro de estos géneros, se ha identificado que *Babesia caballi* puede ser transmitida por 15 especies diferentes de garrapatas y *Theileria equi* por 14, tanto de forma experimental como de manera natural (Wise et al., 2014).

Las garrapatas pasan por cuatro fases de desarrollo: huevo, larva, ninfa y adulto. El ciclo vital comienza con la eclosión de los huevos en el medio ambiente. La larva que emerge sube a la vegetación y una vez contacta con el hospedador, se alimenta para después caer al suelo y hacer la muda a ninfa, o mudar a ninfa directamente en el hospedador y luego caer al suelo, en función de si se trata de especies de 2 ó 3 hospedadores. Una vez alcanzan el estado adulto, se produce la diferenciación sexual. La cópula se produce en el hospedador. Después, la hembra se alimenta de sangre para caer al suelo y buscar un lugar adecuado donde depositar los huevos y morir. Para la supervivencia de los huevos, el sitio de elección debe estar protegido y con cierta humedad, y una vez eclosionen nacerán miles de larvas y comenzará otra vez el ciclo vital (Polanco-Echeverry y Ríos-Osorio, 2016).

Los mecanismos de alimentación de las garrapatas consisten en cortar la piel del hospedador con los quelíceros y en anclarse a los tejidos con el hipostoma (Polanco-Echeverry y Ríos-Osorio, 2016).

Las garrapatas ocasionan pérdidas económicas debido a que afectan directamente a la salud de los animales ocasionando lentos desarrollos, producciones inferiores y que no puedan desarrollar del todo su potencial tanto productivo, reproductivo como deportivo en el caso de los caballos (Polanco-Echeverry y Ríos-Osorio, 2016).

Consecuentemente, la supervivencia del patógeno depende de las características ecológicas, fisiológicas y comportamentales de cada especie de garrapatas, ya que son las responsables directas de la forma en la que entran en contacto con sus hospedadores (Pfäffle et al., 2013). Esto significa que la aparición o presencia de enfermedades transmitidas por garrapatas, como lo es la piroplasmosis equina, depende principalmente de la existencia de dichos vectores en las zonas geográficas que se quieran estudiar, por lo que es muy importante conocer el clima en el que habitan. Según Randolph (2004), los índices del desarrollo interstadial diarios de las garrapatas aumentan de forma no lineal junto con el aumento de la temperatura. Es por eso que esta enfermedad puede encontrarse en la mayoría

de zonas con climas tropicales, subtropicales o incluso en áreas con climas templados donde habitan las garrapatas (Brüning, 1996; Uilenberg, 2006).

Cabe destacar que las garrapatas Ixodidae presentan una baja movilidad, limitada a metros, por lo que la expansión de la enfermedad es dependiente de los hospedadores, a diferencia de otras enfermedades transmitidas por mosquitos, por ejemplo, que poseen una mayor movilidad. Además, las garrapatas solo ingieren sangre de sus hospedadores una vez por cada estadio de su ciclo vital, por lo que el tiempo que transcurre desde una ingesta a otra puede ir desde semanas, hasta meses o incluso años (Randolph, 1998).

En cuanto a otras formas de transmisión menos comunes, se ha descrito la transmisión de forma venérea en casos de hemospermia, al igual que también existe la transmisión de forma iatrogénica por medio de agujas contaminadas o material esterilizado de forma inadecuada (Dunkel, 2018; Schnobrich 2018).

Además, la transmisión placentaria de hembras infectadas a sus fetos también ha sido descrita. En ocasiones, las infecciones provocan abortos, nacidos muertos o potros infectados (piroplasmosis neonatal). No obstante, no todos los potros de hembras infectadas resultan afectados, por lo que se desconoce el mecanismo de acción (Wise et al., 2014).

2.3 Epidemiología

Como se ha mencionado anteriormente, la piroplasmosis equina está ligada a sus vectores y a los hábitats en los que viven. Es por eso que esta enfermedad puede encontrarse en la mayoría de zonas con climas tropicales, subtropicales o incluso en áreas con climas templados (Brüning, 1996; Uilenberg, 2006; Schwarzwald, 2014). La piroplasmosis equina es endémica en la mayor parte del Sur de Europa, África, Asia y América, tanto central como sur. En cuanto a las zonas en las que la enfermedad aparece de manera localizada se encuentran Estados Unidos, Alemania, Suiza, Austria y Reino Unido (Constable et al., 2017a). En Australia, se recogieron casos positivos en el año 1976 por caballos provenientes de España (Brüning, 1996) y en los JJOO de Sydney en el año 2000, pero actualmente Australia está libre de piroplasmosis equina debido a que no existen vectores que puedan participar en la transmisión de la enfermedad (Brüning, 1996; Constable et al., 2017a). Este hecho demuestra la importancia de la presencia de los vectores en la transmisión de la enfermedad. También son países libres Canadá, Japón y Nueva Zelanda.

En España la piroplasmosis equina es una enfermedad endémica (Habela et al., 2000), además de ser una EDO ya que aparece en las listas de la OIE del año 2021 (OIE, 2021). En el artículo publicado por Habela et al. (2000) los autores declaran que se ha diagnosticado piroplasmosis equina en la totalidad de la Península Ibérica y en las Islas Baleares y Canarias.

Según este estudio, en España, los valores de seropositividad que se obtuvieron alcanzan el 52,5% frente a *Theileria equi* y el 21,3% para *Babesia caballi*, predominando la primera en centro, este, sur peninsular e islas y la segunda en la cornisa cantábrica.

En un estudio realizado por Camino et al. (2018) se realizó un examen serológico a 536 caballos residentes en la región central de España mediante ELISA. Los resultados que obtuvieron fueron que un 24,9% de los caballos, es decir 129, mostraron anticuerpos frente a la piroplasmosis equina. De estos, 117 caballos fueron positivos a *Theileria equi* (22,6%) y 25 a *Babesia caballi* (4,6%). El 2% de los caballos analizados dieron positivo en ambos parásitos. El hecho de que en la región central de España exista un 24,9% de caballos seropositivos y que sea la zona donde más competiciones internacionales se realizan supone un gran riesgo en la diseminación de la enfermedad si los vectores están presentes. Además, un gran número de caballos en España son vendidos y exportados a países libres de piroplasmosis equina, por lo que la existencia de un porcentaje tan elevado de caballos seropositivos supone una pérdida económica enorme para la industria equina española, ya que se imposibilita la entrada en países libres a estos caballos.

En otro estudio realizado por Montes Cortés et al. (2019), se realizó un examen serológico a 3100 caballos del suroeste de España mediante test de inmunofluorescencia indirecto (IFI) en el que se obtuvo que la seroprevalencia de piroplasmosis equina era del 52,45%. De esos 3100 caballos, 1381 eran positivos frente a *Theileria equi*, con una seroprevalencia del 44,55%; 639 eran positivos frente a *Babesia caballi* con un 20,74%; y por último 398 caballos tenían anticuerpos frente a las dos especies responsables de la piroplasmosis equina, es decir, un 12,84%.

Además, los autores describieron la situación epidemiológica de la piroplasmosis equina en España como “endémica inestable en el norte, donde la relación entre hospedador, agente causal, vector y medio ambiente es incompleta” (Habela et al., 2000). En este sentido, Guglielmone (1991) explica, respecto a la estabilidad enzoótica, que la triada epidemiológica que garantiza la transmisión de un agente infeccioso es: hospedador susceptible, vector artrópodo y agente infeccioso. De tal forma que la infección frecuente de los hospedadores permite a estos alcanzar un nivel de inmunidad ante la infección, que les garantiza la ausencia de signos y síntomas, con un nivel de infección estable en el tiempo.

Como España presenta inestabilidad enzoótica, los signos clínicos se manifiestan con más gravedad en algunas zonas. Esta situación, según los autores, tiende a estabilizarse a medida que se avanza hacia el sur, “pues existe una relación más estrecha entre el parásito y los équidos, que permite una virtual ausencia de enfermedad clínica” (Habela et al., 2000).

En un reciente estudio realizado en el centro de España (Bartolomé del Pino, 2017), el acceso a pasto de los caballos, la convivencia con otras especies (rumiantes, perros y especies silvestres) y la altitud en la que viven se consideraron variables significativas en la seroprevalencia de *Theileria equi* y *Babesia caballi*.

2.4 Inmunidad

Según Uilenberg (2006), en condiciones ideales se adquiere una situación endémica estable en la que la mayoría de individuos ha tenido contacto con la enfermedad cuando son jóvenes con una manifestación de signos clínicos leves o sin ellos. Es una consecuencia a largo plazo de la selección natural. En estas condiciones ideales, la presencia de múltiples garrapatas infectadas ha derivado en que la población de animales haya adquirido una tolerancia a la enfermedad y los animales jóvenes reciban inmunidad pasiva que puede persistir entre 4 y 5 meses en los potros (Wise et al., 2014) mediante la presencia de anticuerpos en el calostro de sus madres. En estas circunstancias, el impacto de la enfermedad es considerado como bajo (Uilenberg, 2006; Wise et al., 2014). No obstante, hoy en día las condiciones son raramente ideales debido al uso de productos para el control de garrapatas y a la introducción de animales susceptibles en áreas endémicas, lo que deriva en un agravamiento de la clínica de la piroplasmosis equina.

Para conocer los factores de riesgo de la enfermedad, es importante conocer cómo actúa la piroplasmosis equina en sus hospedadores, aunque hoy en día sigue estando poco definida (Wise et al., 2014). La respuesta inmunitaria de los caballos frente a las infecciones por piroplasmosis equina es muy compleja y multifactorial. Una vez que un animal es infectado tanto por *Theileria equi* como por *Babesia caballi*, se desarrolla una inmunidad protectora frente a los patógenos. No existe inmunidad cruzada frente a los dos hemoprotozoos, por lo que se pueden infectar simultáneamente por ambos parásitos (Wise et al., 2014; Onyiche et al., 2019).

La respuesta inmunitaria innata juega un papel muy importante, pero se desconoce cómo actúa en el control de la piroplasmosis equina. No obstante, el óxido nítrico producido por los macrófagos podría ser uno de los mecanismos utilizado por el sistema inmune frente a la infección por *Babesia caballi*. Además, el bazo juega un papel fundamental en la eliminación de hemoprotozoos por lo que los caballos esplenectomizados presentan un mayor riesgo (Wise et al., 2014; Onyiche et al., 2019).

Por otro lado, la inmunidad adquirida tiene un rol considerable, sobre todo frente a infecciones por *Theileria equi*, debido al papel que juega la inmunidad celular. No obstante, la función exacta de la inmunidad celular se desconoce (Onyiche et al., 2019). En un estudio

realizado por Banerjee et al. (1977) (citado en Onyiche et al., 2019), se demostró que los linfocitos de la sangre periférica de animales inmunizados inhibieron el crecimiento de linfoblastos que contenían esquizontes in vitro. Además, existe una relación entre el título de anticuerpos y el grado de parasitemia en la especie equina. Los caballos infectados por *Theileria equi* producen anticuerpos frente los antígenos de los merozoitos (EMAs) (Onyiche et al., 2019).

Se han descubierto siete inmunoglobulinas G en el genoma equino. Las inmunoglobulinas IgG1, IgG4 e IgG7 aumentan durante la infección aguda de *Theileria equi*, mientras que en infecciones crónicas donde el nivel de parasitemia es menor, aumentan las inmunoglobulinas IgG5 e IgG3.

La información de la inmunidad frente a *Babesia caballi* es mucho menos conocida, aunque se cree que la inmunidad celular y que las citoquinas juegan un papel importante en la respuesta inmune frente a *Babesia caballi*. En infecciones experimentales, se observó que el óxido nítrico, el factor alfa de necrosis tumoral y otras citoquinas mejoraban la respuesta protectora frente a *Babesia caballi* cuando eran producidas en cantidades óptimas como para neutralizar los parásitos (Onyiche et al., 2019). Además, se han citado casos en los que caballos infectados por *Babesia caballi* han acabado eliminando el patógeno con el paso de los años en ausencia de exposiciones repetidas al patógeno. Se desconoce el cómo y el porqué de esta eliminación y de si estos caballos pueden volver a infectarse una vez han eliminado el patógeno (Wise et al., 2014).

En zonas endémicas, los anticuerpos maternos protegen de la infección a los potros durante los primeros 1 y 5 meses de vida (Wise et al., 2014). Una vez los anticuerpos descienden, los potros se vuelven susceptibles y en áreas endémicas suelen infectarse durante los primeros dos años de edad (Wise et al., 2014; Onyiche et al., 2019). No obstante, los potros nacidos en zonas endémicas pueden experimentar una infección subclínica mientras los anticuerpos maternos están en descenso y adquirir una fuerte inmunidad dependiente de la persistencia del contacto con el patógeno (premunición). Sin embargo, situaciones que produzcan estrés pueden inducir manifestaciones clínicas en aquellos caballos inicialmente asintomáticos (Cullinane et al., 2006; Morris, 2006; Wise et al., 2014).

2.5 Patogenia

La patogenia de la piroplasmosis equina puede dividirse en 4 tipos de acciones diferentes: acción mecánica, tóxica, autoinmune y expoliativa.

En primer lugar, en los caballos infectados por piroplasmosis equina se produce una anemia hemolítica de variable intensidad (acción expoliativa). La hemólisis es producida por

dos razones: por la eritrolisis producida por la rotura física de los eritrocitos debido a la salida de los merozoitos (acción mecánica) y debido a la fagocitosis de los hematíes (intravascular) y a la eliminación del torrente sanguíneo de los eritrocitos infectados por parte del bazo (extravascular) (acción autoinmune). No obstante, existe la eliminación de eritrocitos no infectados de la circulación sanguínea, aunque se desconoce las razones por las que se produce este fenómeno. Además, tanto *Babesia caballi* como *Theileria equi* producen trombocitopenia (Wise et al., 2014).

Por otro lado, la liberación de enzimas y toxinas por parte de los parásitos produce alteraciones en la coagulación (acción tóxica). Estos compuestos provocan la pérdida de productos de degradación del fibrinógeno, lo que se traduce en un aumento de fibrinógeno, y vasodilatación, lo que aumenta la permeabilidad vascular. Las consecuencias de la vasodilatación, en primer lugar, son hipotensión, la aparición de edemas, shock o, junto con el aumento de fibrinógeno, una coagulación intravascular diseminada (CID). Además, la CID se ve agravada por el aumento de la adherencia de los eritrocitos debido a la unión antígeno-anticuerpo en diferentes órganos.

En ocasiones, la piroplasmosis equina puede cursar de forma grave y producir hipercoagulabilidad, síndrome de respuesta sistémica y síndrome de disfunción orgánica múltiple (Wise et al., 2014).

2.6 Signos clínicos

En cuanto a las manifestaciones clínicas de la enfermedad, se puede afirmar que los signos clínicos de la piroplasmosis equina son muy amplios e inespecíficos. En zonas endémicas, los caballos pueden ser portadores asintomáticos debido a un contacto previo con la enfermedad, y mostrar signos clínicos solo cuando se estresan (Cullinane et al., 2006). Los casos clínicos son más frecuentemente causados por *Theileria equi* ya que parece que *Babesia caballi* es menos patógena, por lo que las infecciones por esta especie suelen ser más leves o inaparentes (Harvey et al., 2012; Schwarzwald, 2014; Wise et al., 2014). Consecuentemente, además de existir diferencias en la sintomatología de cada individuo, existen diferencias también en función del parásito que esté produciendo la enfermedad. El periodo de incubación es de 10-30 para *Babesia caballi* y de 12-19 días para *Theileria equi* (de Waal, 1992; Wise et al., 2014). Existen ciertas diferencias en la manifestación de los signos cuando la enfermedad se presenta de forma sobreaguda, aguda, subaguda o crónica.

En primer lugar, las infecciones sobreagudas se dan raramente y los caballos aparecen moribundos o muertos.

En las infecciones agudas, los síntomas encontrados pueden ser fiebre elevada, ataxia, letargia, anorexia, anemia, ictericia, hemoglobinuria, bilirrubinuria, taquicardia, taquipnea, inflamación de los párpados, quemosis, lagrimeo, descarga serosanguínea ocular, distensión de la fosa supraorbital, blefaredema, ictericia conjuntival y/o escleral, petequias y equimosis de la conjuntiva, abortos, signos respiratorios tales como descarga nasal de tipo mucoso, neumonía y edema pulmonar, digestivos como diarrea, impactaciones, cólicos y enteritis catarral, cojeras, parálisis del tercio posterior, encefalitis e incluso coagulopatías, fallo renal y/o hepático, disfunciones multiorgánicas y la muerte (Davis y Wilkerson, 2003; Schwarzwald, 2014; Plummer, Colitz y Kuonen, 2014; Wise et al., 2014; Pelzel-McCluskey y Traub-Dargatz, 2015). En un artículo publicado por Diana et al., (2007) se hace mención a un caballo que sufrió arritmias cardiacas debido a la piroplasmosis equina, que remitieron cuando fue tratado contra la piroplasmosis de forma específica y también de forma sintomática. Aunque es una sintomatología rara en la especie equina, según este artículo, ha sido descrita como complicación en otras especies afectadas por babesiosis.

En las infecciones subagudas, no obstante, también presentan pérdida de peso, edema en las extremidades, cólicos leves y un peor rendimiento deportivo de los caballos (Schwarzwald, 2014; Pelzel-McCluskey y Traub-Dargatz, 2015). En la exploración clínica, además, las mucosas pueden ser desde congestivas hasta un color rosa pálido, amarillo pálido o amarillo brillante (Schwarzwald, 2014).

En cuanto a las infecciones crónicas, algunas pueden presentarse sin síntomas, y si los presentaran, resultan indistinguibles de otras enfermedades inflamatorias crónicas. Los síntomas son inespecíficos y se puede presentar inapetencia, debilidad en el tercio posterior, mala condición corporal, intranquilidad y un bajo rendimiento (Wise et al., 2014; Pelzel-McCluskey y Traub-Dargatz, 2015).

En los potros, la enfermedad se denomina piroplasmosis neonatal y puede empezar con un cuadro clínico inespecífico que va agudizándose hasta asemejarse a un cuadro agudo de piroplasmosis equina. Los signos pueden aparecer 2 ó 3 días después de nacer y el pronóstico es reservado (Wise et al., 2014).

En las necropsias, se pueden encontrar hallazgos post-mortem tales como sangre acuosa en las cavidades, esplenomegalia (Figura 3) (McAuliffe, 2014a; Constable et al., 2017a), hidropericardio (Figura 4) (McAuliffe, 2014b), hepatomegalia con descoloración marrón oscura del hígado, hemorragias de tipo equimosis bajo el epicardio y el endocardio (Constable et al., 2017a) y edema de la cápsula renal acompañado de un color oscuro y el aumento de tamaño de los riñones, además de una palidez, degeneración y/o ictericia generalizada (McAuliffe, 2014c; Cosntable et al., 2017a).

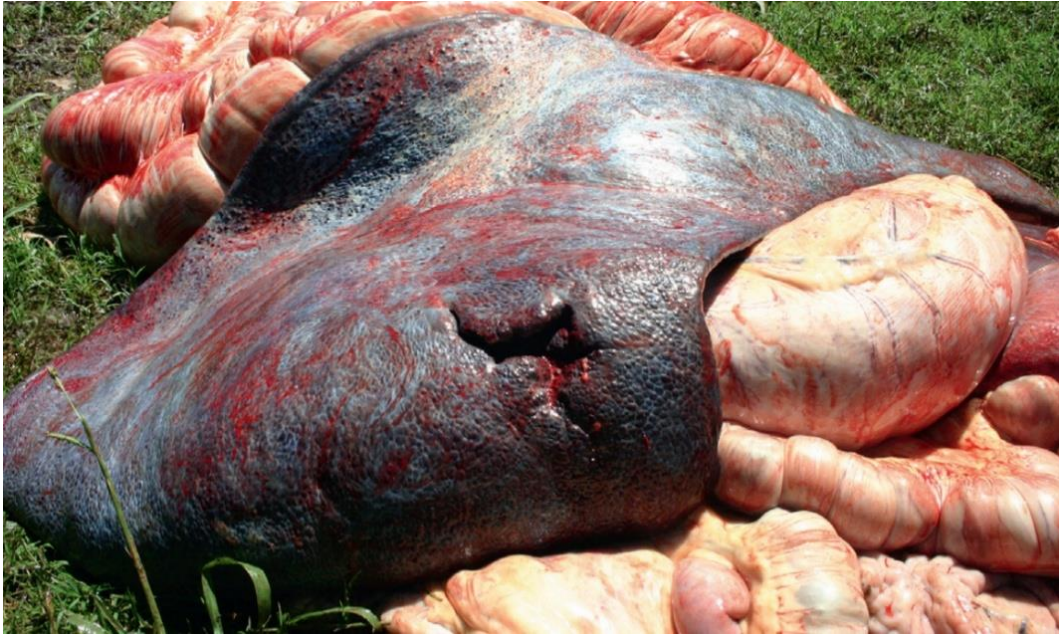


Figura 3. Esplenomegalia (McAuliffe, 2014a).

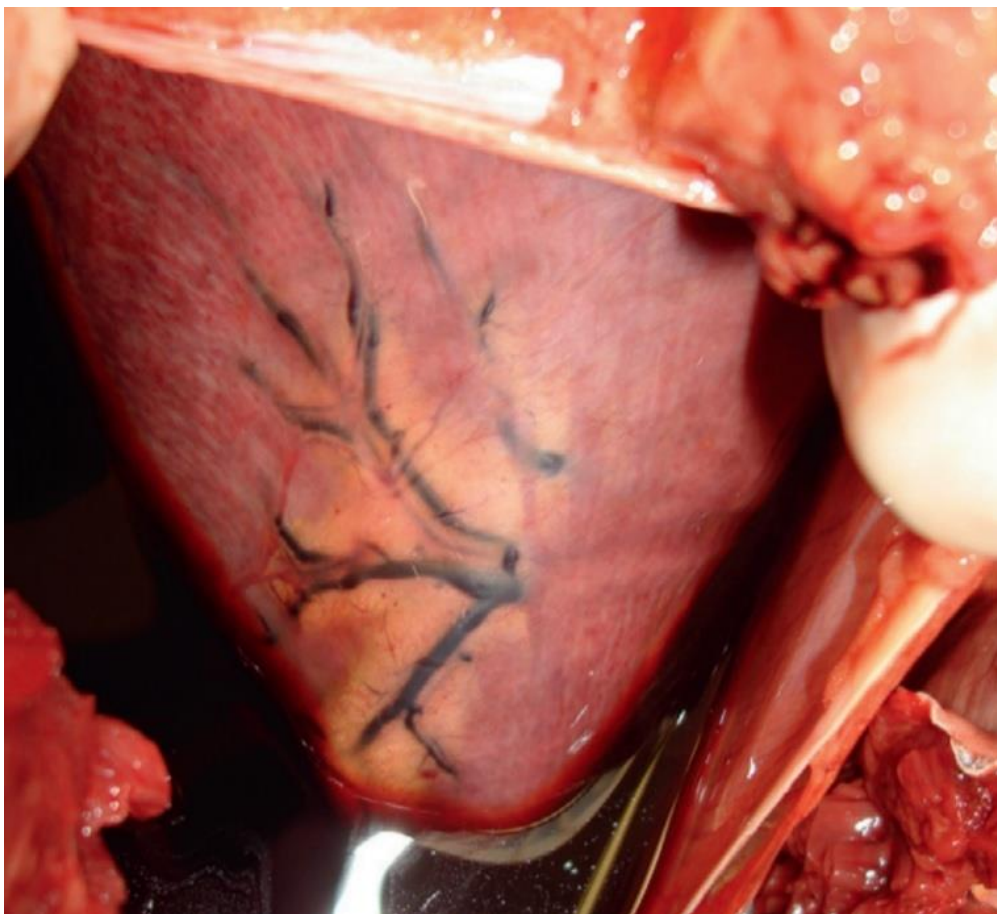


Figura 4. Hidropericardio (McAuliffe, 2014b).

2.7 Diagnóstico

2.7.1 Diagnóstico clínico

El amplio abanico de síntomas hace que la piroplasmosis equina entre en el diagnóstico diferencial de muchas enfermedades. Dentro de la dificultad de orientar el diagnóstico, éste se complica ya que no todos los caballos reaccionan igual a la enfermedad ni tienen los mismos síntomas, y un mismo caballo reinfestado no siempre manifiesta la misma clínica que ha manifestado en infecciones anteriores, por lo que no es una enfermedad que siga siempre los mismos patrones. Asimismo, los caballos pueden estar infectados por las dos especies diferentes causantes de la piroplasmosis equina simultáneamente, lo que puede complicar aún más el cuadro clínico. Es por ello, que saber si la zona geográfica de donde proceden los caballos es endémica o no, la realización de una buena exploración clínica y conocer el historial clínico orientan a la hora de realizar el diagnóstico.

Según Wise et al. (2014), en el diagnóstico diferencial de un cuadro agudo como el que se ha descrito anteriormente, se deberían incluir la anemia infecciosa equina, la arteritis viral equina, la erlichiosis equina, la púrpura hemorrágica, la peste equina africana, la leptospirosis, la anemia hemolítica inmunomediada y las intoxicaciones. McAuliffe (2014b) también recoge la piroplasmosis equina dentro del diagnóstico diferencial de la peste equina africana, y además Constable et al. (2017c), recogen a su vez la babesiosis en el diferencial de la surra (tripanosomiasis por *Trypanosoma evansi*). Dentro de las patologías que cursan con fiebre, Hines (2018) incluye la piroplasmosis equina como una enfermedad a tener en cuenta en el diferencial de la fiebre en caballos de zonas endémicas o con clínica compatible.

No obstante, tanto en el cuadro subagudo como en el crónico, los animales manifiestan síntomas inespecíficos, por lo que se dificulta el diagnóstico ya que el diferencial se debe realizar con un número elevado de procesos.

En cuanto a los potros, las manifestaciones clínicas de la piroplasmosis neonatal pueden parecerse a las de la isoeritrolisis neonatal, por lo que es importante diferenciar ambas enfermedades mediante el diagnóstico de la enfermedad (Wise et al., 2014).

2.7.2 Diagnóstico laboratorial

Cullinane et al. (2006) explican que debido al parecido clínico y lesional entre la anemia infecciosa equina, la púrpura hemorrágica, las intoxicaciones o la piroplasmosis equina resulta esencial confirmar la enfermedad mediante el diagnóstico laboratorial.

Para diagnosticar la enfermedad, se pueden utilizar varias técnicas combinadas o por separado, dependiendo de la fase infectiva en la que se encuentre el animal. Por ejemplo, en la fase aguda de la enfermedad, un caballo que vive en un área endémica y que presenta

signos compatibles con piroplasmosis equina puede diagnosticarse clínicamente y mediante la visualización del patógeno en un frotis sanguíneo. En la fase crónica de la enfermedad o en caballos asintomáticos, se deberá, además, realizar una serología, ya que la mayoría de los caballos seropositivos son portadores asintomáticos, lo que supone un riesgo debido a que los parásitos pueden ser introducidos en áreas no endémicas, o incluso los portadores pueden llegar a manifestar clínica si sufren inmunodepresión, estrés, esplenectomías o tratamientos con fármacos esteroideos (Wise et al., 2014).

Los signos laboratoriales de un cuadro agudo de piroplasmosis equina recogen la anemia hemolítica, la neutropenia, la linfopenia y la trombocitopenia. En las infecciones subagudas puede observarse hemoglobinuria en mayor o menor medida, y en afecciones crónicas los signos laboratoriales son mínimos o inexistentes (Schwarzwald, 2014).

En un estudio reciente realizado por Ahmadpour et al. (2020), se analizaron los biomarcadores cardio-renales en caballos infectados por *Theileria equi* y observaron que la cistatina C, marcador de daño renal, guardaba relación con el grado de parasitemia. Sin embargo, la urea y la creatinina no tanto. Por último, observaron que tanto los biomarcadores de daño cardíaco como los de daño renal estaban significativamente y positivamente correlacionados los unos con los otros.

También recientemente en el estudio realizado por Mostafavi et al. (2020), se analizaron los niveles de citoquinas en caballos infectados por *Theileria equi*. Los autores observaron que este parámetro resultó ser más elevado en los caballos positivos que en los control, y que existía una correlación significativa y positiva entre el grado de parasitemia y el aumento de éste, lo cual se explica porque *Theileria equi* induce un proceso inflamatorio en los caballos infectados.

El diagnóstico directo de los patógenos mediante su visualización al microscopio óptico se consigue gracias a la tinción Giemsa de un frotis sanguíneo (Schwarzwald, 2014). En cuanto al tamaño, éste es distinto para cada parásito: *Babesia caballi* mide aproximadamente entre 2 y 5 micrómetros, mientras que *Theileria equi* mide entre 2 y 3 micrómetros (Figura 5). Durante la infección clínica, *Babesia caballi* parasita menos de un 1% de los eritrocitos. *Theileria equi* parasita, sin embargo, entre el 1 y el 5% de los eritrocitos, pudiendo llegar a un 20% de eritrocitos parasitados (Wise et al., 2014). Por lo tanto, en los frotis sanguíneos de animales infectados se puede observar, mediante microscopía óptica, la típica imagen de *Theileria equi* en los eritrocitos que se denomina “Cruz de Malta” (Ueti y Knowles, 2018) por su particular forma (Figura 5). No obstante, en pacientes crónicos, el porcentaje de eritrocitos parasitados es bajo, por lo que muchas veces no se observan, así que se necesitan más pruebas que confirmen la presencia de dichos parásitos (Schwarzwald, 2014).

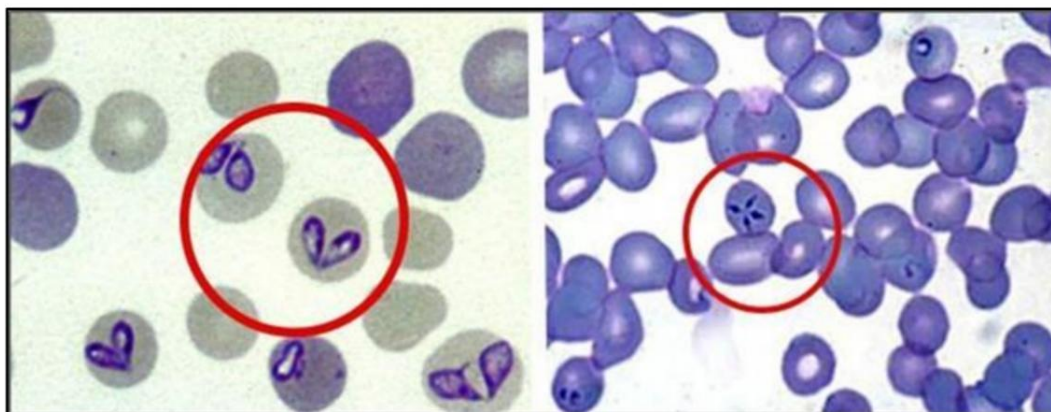


Figura 5. Izquierda: *Babesia caballi*. Derecha: *Theileria equi* en “Cruz de Malta” (Lapo Rojas, 2019).

Otra prueba utilizada para el diagnóstico directo de los parásitos es la PCR, que ha resultado ser la prueba más específica y sensible frente a *Babesia caballi* y *Theileria equi*, además de ser la prueba de elección para diagnosticar a caballos portadores de la enfermedad, para confirmar tratamientos esterilizantes y para corroborar los resultados de otras pruebas (Wise et al., 2014; Schwarzwald, 2014; Camino et al., 2019).

En cuanto al diagnóstico indirecto, existen diferentes tests serológicos que analizan la presencia de anticuerpos. El test de Fijación del Complemento (TFC) se caracteriza por su alta especificidad, pero baja sensibilidad, además de que no es capaz de detectar portadores (animales crónicos) ni animales tras su tratamiento frente a la piroplasmosis equina. Su uso en casos crónicos no está aconsejado. Por todo ello, ha sido reemplazado por el test de inmunofluorescencia indirecto (IFI) y por el ELISA competitivo (cELISA) (Schwarzwald, 2014; Dunkel, 2018). Tanto el test de IFI como el cELISA están reconocidos por la OIE como prueba oficial utilizada para el control del transporte internacional de caballos (OIE, 2009; Wise et al., 2014). No obstante, cuando se realizan tratamientos esterilizantes demostrados mediante una PCR negativa frente a *Theileria equi* (porque es más resistente que *Babesia caballi* y produce infecciones crónicas que pueden agudizarse), el cELISA sigue siendo positivo (Wise et al., 2014), por lo que los caballos no se pueden exportar a algunas zonas no endémicas.

La prueba de inmunoblot o electrotransferencia, que consiste en identificar proteínas específicas, está siendo estudiada como técnica para el diagnóstico laboratorial de *Theileria equi* y *Babesia caballi* (Wise et al., 2014).

2.8 Tratamiento

El tratamiento frente a la piroplasmosis equina depende de si el área en el que vive el paciente es una zona endémica o no endémica. En zonas endémicas, el objetivo del tratamiento es aliviar los signos clínicos y reducir el tiempo de curación. Por otro lado, en zonas no endémicas, el objetivo es la esterilización del patógeno. En las infecciones producidas por *Theileria equi* resulta más difícil llevar a cabo el tratamiento esterilizante y eliminar el parásito ya que éste es más resistente (Morris, 2006; Schwarzwald, 2014; Wise et al., 2014).

Dentro de los tratamientos, el de elección es el dipropionato de imidocarbo (Schwarzwald, 2014; Wise et al., 2014), aunque también se han descrito el diminaceno y la buparvaquona (Cullinane et al., 2006). El nombre comercial del dipropionato de imidocarbo es Imizol, que es una solución inyectable en el que cada mililitro contiene 121,15 mg de dipropionato de imidocarbo. Entre sus indicaciones cabe destacar que su uso en la especie equina está limitado a caballos no destinados a consumo humano (CIMAVet, 2019).

En cuanto a la pauta del tratamiento de la piroplasmosis equina en zonas endémicas, se administran para la infección de ambos parásitos una o dos dosis intramusculares de 2,2 mg/kg p.v. (Schwarzwald, 2014) con un intervalo de 24 horas, o si fuera necesario se podrían realizar hasta 3 tratamientos cada 24-72 horas con dosis más bajas (Wise et al., 2014).

En zonas no endémicas se ha descrito que la administración de 4 dosis de 4,4 mg/kg de forma intramuscular (IM) cada 72 horas pueden eliminar la infección tanto para *Babesia caballi* como para *Theileria equi* (Wise et al., 2014). España es zona endémica, por lo que no se realiza el tratamiento esterilizante de ambos parásitos.

Dentro de los efectos adversos del tratamiento, se ha descrito que el tratamiento con imidocarbo puede causar diarreas agudas en caballos no lactantes (Constable et al., 2017b), y así figura en la ficha técnica del producto, además de otros signos como cólicos, hipersalivación, temblores, convulsiones, taquicardia, tos, sudoración, intranquilidad y postración (CIMAVet, 2019).

2.9 Prevención y control

Según Wise et al. (2014), la prevención de la piroplasmosis equina en zonas no endémicas debe llevarse a cabo mediante la regulación de los movimientos internacionales de caballos. Es importante prevenir la entrada de animales infectados en zonas no endémicas, y sobre todo en zonas libres, pero también la entrada de los vectores (Schwarzwald, 2014). Además, en países no endémicos, a los caballos portadores se les debería poner en cuarentena y tratar la enfermedad de forma esterilizante hasta que el hemoprotoso sea eliminado (Morris, 2006). En el Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE (citado en

Schwarzwald, 2014), se recogen las siguientes recomendaciones para la entrada de animales en países no endémicos o en países libres: los veterinarios de los países importadores deberán exigir un certificado veterinario en el que se atestigua que los caballos no manifestaron signos de piroplasmosis equina el día del embarque, que los caballos han sido testados serológicamente frente a *Babesia caballi* y *Theileria equi* con resultados negativos durante los 30 días previos al viaje y que han estado libres de garrapatas, mediante tratamientos preventivos si fueran necesarios, durante los 30 días previos al viaje. Además, a los caballos importados de forma temporal para competiciones que han sido testados como positivos se les puede permitir la entrada siempre que vengán acompañados del pasaporte y de un certificado veterinario internacional en el que se atestigua que los caballos no manifestaron signos de piroplasmosis equina el día del embarque, que han sido testados frente a garrapatas los 7 días previos al viaje, que se mantienen en áreas donde se toman medidas para el control de garrapatas y que son examinados regularmente para la presencia de garrapatas bajo la supervisión de las autoridades veterinarias.

En zonas no endémicas que comparten fronteras con zonas endémicas, es inevitable prevenir la introducción de garrapatas, por lo que hay que evitar o reducir el contacto de los caballos con los vectores. Para ello, se deben aplicar acaricidas, explorar los caballos en busca de garrapatas y reducir la vegetación donde habitan dichos vectores (Wise et al., 2014).

Sin embargo, en zonas endémicas como España, la prevención de la enfermedad es “prácticamente imposible” (Wise et al., 2014), por lo que resulta esencial que los potros se infecten pronto para que la inmunidad adquirida les proteja en infecciones posteriores (premunición), aunque se desconoce su duración. Así, en zonas endémicas estables, es la propia infección la que protege a la población, por lo que las manifestaciones clínicas son leves o inexistentes y consecuentemente el tratamiento solo se lleva a cabo en animales que presentan cuadros agudos (Olmeda et al., 2002). No obstante, como se ha mencionado anteriormente, en el País Vasco existe una inestabilidad enzoótica que hace que las manifestaciones clínicas sean severas, lo que provoca que se plantee el posible control de la enfermedad aun siendo un área endémica. Una de las formas de controlar la piroplasmosis equina es mediante el control de las garrapatas (Schwarzwald, 2014), pero están apareciendo garrapatas resistentes a ixodicidas (Polanco-Echeverry y Ríos-Osorio, 2016), lo que complica el control a largo plazo de la enfermedad. Actualmente, no existen vacunas frente a la piroplasmosis equina (Schwarzwald, 2014), pero se considera una de las alternativas más sólidas para su control (Olmeda et al., 2002, p. 56).

Por otro lado, existen estudios en el ganado bovino para la obtención de vacunas destinadas frente a las garrapatas y frente a *Babesia bovis* (Figura 6), pero la limitada

información que se ha obtenido a lo largo de los años de cómo actúa el sistema inmune del hospedador frente a *Babesia spp.* complica dichos estudios. Las vacunas frente a la piroplasmosis podrían estar basadas principalmente en la prevención de la transmisión de las garrapatas a los hospedadores o de la manifestación de los signos clínicos (vacuna actuando en el torrente sanguíneo) y en la prevención de la transmisión de los parásitos de los hospedadores a las garrapatas (vacuna actuando en las garrapatas). De esta forma, la vacuna actuaría en el hospedador neutralizando las proteínas parasitarias y opsonizando los esporozoitos y los merozoitos, y así, se evitaría la invasión linfocitaria y eritrocitaria de los esporozoitos y merozoitos, y a su vez, se prevendría el secuestro de los eritrocitos infectados y se mejoraría su eliminación. Por otro lado, en la garrapata, la vacuna actuaría previniendo la fusión de los gametos, la migración de los cigotos al intestino de las garrapatas y neutralizando las diferentes proteínas del parásito (Rathinasamy et al., 2019).

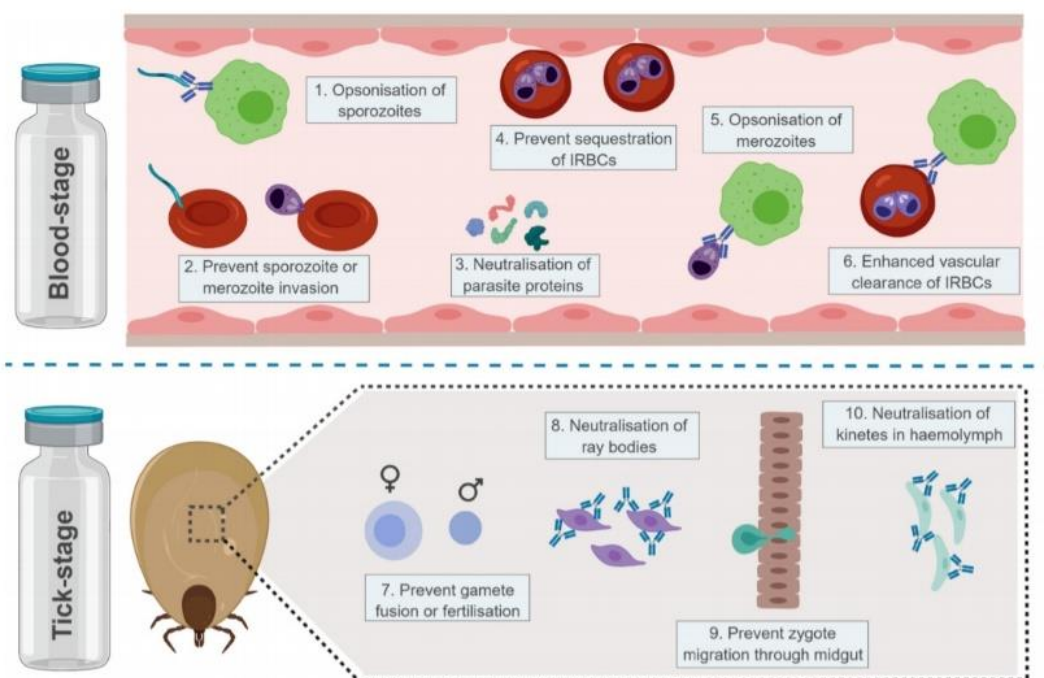


Figura 6. Obtención de vacuna frente la babesiosis bovina (Rathimadamy et al., 2019).

Aunque la información disponible actualmente no sea suficiente para elaborar técnicas para el control de la piroplasmosis equina, los actuales y futuros estudios sobre las garrapatas, sobre cómo actúan tanto *Babesia caballi* como *Theileria equi* y sobre cómo responde el sistema inmunitario de los hospedadores frente a ellos supondrán un gran avance en el diseño de estrategias efectivas para controlar la piroplasmosis equina eficazmente (Rathinasamy et al., 2019). Como ejemplo, según Jalovecka et al. (2019), realizar estudios acerca de las

proteínas expresadas por los merozoitos, denominadas antígenos superficiales, podría acarrear grandes avances en comprender cómo afecta *Babesia caballi* a los eritrocitos y en una mejora del tratamiento de la clínica.

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La piroplasmosis equina es una enfermedad de interés en el País Vasco. Aunque se trate de una zona endémica, existe inestabilidad enzoótica que hace que la enfermedad curse con síntomas. Estos síntomas varían mucho en función de cómo se manifiesta el cuadro (por lo que el diagnóstico diferencial de la clínica puede ser muy amplio), de si el animal ha sido premunizado y de si ha sido infectado por *Babesia caballi* y/o *Theileria equi*, entre otros. Esto es debido a que la piroplasmosis equina es una enfermedad hospedador-dependiente. Asimismo, un mismo caballo puede manifestar diferentes síntomas en posteriores reinfecciones. Por todo ello, adquiere una gran importancia realizar una buena anamnesis, conocer el historial clínico y orientar el diagnóstico correctamente.

Por otro lado, es una enfermedad de interés económico a nivel mundial, ya que la piroplasmosis equina es una EDO, con restricciones en la entrada de caballos seropositivos en zonas libres o no endémicas. El comercio internacional de caballos se ve, consecuentemente, afectado por la enfermedad, lo que acarrea grandes pérdidas económicas, sobre todo en los países endémicos, como es el caso de España.

Por último, el tratamiento es fácil y asequible, aunque en zonas endémicas, como el País Vasco, el tratamiento que se administra no siempre elimina el parásito de los hospedadores, por lo que se quedan como portadores en los que la enfermedad puede pasar de un cuadro crónico a uno agudo debido al estrés, situaciones que comprometan el sistema inmunológico, etc. Y en cuanto a la prevención de la enfermedad, actualmente, en zonas endémicas resulta prácticamente imposible debido a la ausencia de herramientas eficaces, lo que dificulta el control de la enfermedad en el País Vasco.

Todo esto hace que quede justificada una recopilación de casos clínicos de diferentes caballos procedentes del País Vasco con el objetivo de analizar la diferente sintomatología que presenta cada individuo, el diagnóstico de la enfermedad y su posterior tratamiento.

4. METODOLOGÍA

Para la realización de este TFG inicialmente se llevó a cabo una revisión bibliográfica sobre la piroplasmosis equina para conocer la información actualizada sobre dicha enfermedad. Para ello, se han utilizado sobre todo libros de Medicina Equina. El libro que más se ha consultado ha sido “Equine infectious diseases” de los autores Sellon, D. C. y Long, M., en

concreto el capítulo 56 titulado “Piroplasmosis”. Se ha elegido este libro, entre otros, debido a que trata específicamente la piroplasmosis en la especie equina, aportando una gran cantidad de información, y a que el año de publicación es del 2014, por lo que es una edición reciente.

Por otro lado, también se han utilizado artículos obtenidos a partir de los siguientes buscadores científicos: ScienceDirect, NCBI y PubMed. Las palabras clave para su búsqueda han sido, principalmente, “equine piroplasmosis” o “piroplasmosis”, “*Babesia caballii*”, “*Theileria equi*” y “tick-borne diseases”.

Se ha consultado, además, la tesis doctoral realizada por Bartolomé del Pino, L. E. (2017) titulada “Situación epidemiológica y clínica de la piroplasmosis equina en áreas endémicas como la Península Itálica e Ibérica” (Universidad Complutense de Madrid).

Por último, para conocer la información relativa a la enfermedad en España, se han consultado los datos oficiales del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación del Gobierno de España, accediendo a su página web y usando el buscador para la palabra “piroplasmosis”.

En cuanto al estudio de casos clínicos, se ha obtenido la información gracias a las Prácticas Curriculares realizadas en los meses de julio y agosto del año 2020 en la zona de Bizkaia y parte de Cantabria, en las que se acompañaba al veterinario especialista en équidos que cuenta con aproximadamente 320 clientes. Se participó activamente tanto en las exploraciones clínicas como en la toma de muestras, en el diagnóstico directo, en el envío de muestras al Laboratorio Dr. Barba y en la administración de los tratamientos pertinentes en cada caso. Las muestras obtenidas se consiguieron mediante la extracción de sangre de la vena yugular y el posterior almacenaje de dos tubos de sangre entera sin aditivos (uno para envío para análisis serológico y otro para bioquímica) y de un tubo de sangre con anticoagulante EDTA (para diagnóstico directo y hematología). Para las exploraciones clínicas los materiales que se utilizaron fueron termómetro y fonendoscopio, entre otros. En el diagnóstico directo se utilizó un microscopio óptico para la visualización del frotis sanguíneo, obtenido a partir de unas gotas de sangre con EDTA, que fue teñido posteriormente con un kit de tinción de Panóptico Rápido. La hematología se realizó con la muestra de sangre con EDTA y la bioquímica sanguínea con el suero obtenido tras la centrifugación de la muestra de sangre entera sin aditivos. El envío de las muestras para la serología se realizaba con empresas dedicadas al envío de paquetes por correo postal y se enviaban muestras de sangre entera sin aditivos. Los resultados del laboratorio eran recibidos por el veterinario mediante correo electrónico. Los animales que fueron visitados eran, en su mayoría, caballos de deporte, muchos de ellos competidores a nivel nacional e incluso alguno a nivel internacional, que residían en instalaciones hípicas, aunque otros también se ubicaban en instalaciones privadas de los propietarios de los caballos, como pueden ser prados o campos.

5. RESULTADOS

El estudio clínico se realizó en 8 caballos procedentes de la provincia de Bizkaia (reflejados en la Tabla 1), de los cuales 3 eran yeguas (37,5%) y 5 eran machos castrados (63,5%). La edad de los caballos estudiados se situaba entre 5 y 22 años, con una media de edad de 14 años y medio, y en cuanto a las razas existe una variedad considerable ya que se trata de caballos Pura Raza Español, Caballo de Deporte Español, Anglo-árabe, Pura Raza Árabe y en último lugar caballos cruzados de los que se desconoce la raza.

En lo referente a la época de presentación, todos los casos se han recogido en verano, y además, todos los caballos estudiados tenían acceso a pasto y posibilidad de tener contacto estrecho con otros caballos y animales como pueden ser perros y gatos. No se observaron garrapatas en ninguno de los animales.

En cuanto a los síntomas, cabe destacar que en todos los casos los caballos presentaban apatía. Específicamente en los casos nº 1, 2, 4, 5 y 7 la apatía era el síntoma principal ya que es lo que los dueños refieren al veterinario. Por otro lado, en 3 de los 8 casos (37,5%), se presentaban síntomas compatibles con cólico, e incluso en dos de ellos la presencia de heces pastosas y diarrea. En el caso nº 6 cabe destacar la debilidad del tercio posterior que manifestó el caballo.

La exploración se consideró normal, sin hallazgos, en 3 de los 8 casos (37,5%), los cuales presentaron apatía principalmente. En cuanto al color de las mucosas, los casos nº 3 y 7 presentaron ictericia (Figura 7) y el caso nº 6 palidez.



Figura 7. Ictericia.

La temperatura se ve afectada en 3 de 8 casos, en los cuales los casos nº 3 y 6 presentan fiebre (38,9°C; 39,7°C) y el caso nº 8 presenta un descenso de la temperatura por debajo del rango normal de los caballos. Dos casos manifestaron edemas en las extremidades (Figura 8).



Figura 8. Edema en las extremidades posteriores.

Las pruebas analíticas de hematología presentaban valores normales en 2 animales, mientras que cuatro animales presentaban anemia y dos leucopenia. Las pruebas analíticas bioquímicas fueron normales en todos los animales analizados.

En cuanto al diagnóstico directo mediante tinción, éste fue positivo en 4 animales y negativo en los otros 4 animales. El diagnóstico serológico confirmó la presencia de anticuerpos frente a *Babesia caballi* en 5 animales (62,5%) (Informe 1, ver Anexo) y *Theileria equi* en tres (37,5%) (Informe 2, ver Anexo).

En cuanto al tratamiento, en 4 de los 8 casos se administró tratamiento sintomático a base de antiinflamatorios para la remisión de síntomas tales como cólico, y en el total de los casos se utilizó dos dosis de Imizol IM a dosis de 2,2 mg/kg p.v. cada 24 horas y una tercera dosis a las 72 horas.

La recuperación fue efectiva en todos los casos ya que se remitieron los síntomas y no se recogieron efectos secundarios.

Tabla 1. Resultados del estudio de los casos clínicos

	Sexo	Edad	Raza	Época de presentación	Acceso a pasto	Síntomas	Exploración	Pruebas analíticas		Diagnóstico		Tratamiento	Recuperación
								Hematología	Bioquímica	Directo	Indirecto		
1	Hembra	10	Cruzado	Verano	Sí	Apatía, malestar	Normal	Anemia y leucopenia	Normal	+	<i>Babesia caballi</i>	2 dosis de 9 ml de Imizol IM cada 24h y una tercera dosis de 9 ml IM a las 72h	Al acabar el tratamiento sin efectos secundarios
2	Hembra	10	Cruzado	Verano	Sí	Apatía y desde hace 2 días falta de apetito	Normal	Anemia	Normal	-	<i>Babesia caballi</i>	2 dosis de 8 ml de Imizol IM cada 24h y una tercera dosis de 8 ml IM a las 72h	Al acabar el tratamiento sin efectos secundarios
3	Hembra	17	Anglo-árabe	Verano	Sí, vive en el campo	Cólico Apatía, levanta el bello, poliuria, heces pastosas, se rasca la cola.	Temperatura: 39,7°C Vulva icterica, hiperperistaltismo, granos en heces. Palpación rectal: muchas heces en colon.	-	-	+	<i>Theileria equi</i>	7 ml Finadyne IV y 2 dosis de 8 ml de Imizol IM cada 24h y una tercera dosis de 8 ml IM a las 72h	Remisión de síntomas a las 24 horas del tratamiento
4	Macho castrado	5	Pura Raza Español	Verano	Sí	Hace 4 meses que está incómodo, cambio de carácter, se defiende	Normal, posible fibrosis a la altura del músculo cremáster	Normal	Normal	-	<i>Babesia caballi</i>	10 ml de Calicortin IM y dos dosis de 10 ml de Imizol IM cada 24 h y una tercera dosis de 10 ml IM a las 72h	Remisión del comportamiento anómalo
5	Macho castrado	12	Caballo de Deporte Español	Verano	Sí	Apatía e inflamación de la mano derecha y del pie izquierdo	Edema en mano derecha y pie izquierdo, ausencia de cojera	Normal	Normal	-	<i>Babesia caballi</i>	Dos dosis de 10 ml de Imizol IM cada 24 h y una tercera dosis de 10 ml IM a las 72h	Remisión de síntomas
6	Macho castrado	21	Anglo-árabe	Verano	Sí	Apatía, anorexia, se ha tumbado, debilidad en tercio posterior	Mucosas pálidas. Temperatura: 38,9°C. Edema en las extremidades posteriores. Palpación rectal: normal	Anemia, leucopenia	Normal	+	<i>Theileria equi</i>	7 ml Finadyne IV y 2 dosis de 10 ml de Imizol IM cada 24h y una tercera dosis de 10 ml IM a las 72h	Remisión de síntomas
7	Macho castrado	22	Pura Raza Árabe	Verano	Sí	Apatía	Mucosas ictericas	Anemia	Normal	-	<i>Babesia caballi</i>	2 dosis de 8 ml de Imizol IM cada 24h y una tercera dosis de 8 ml IM a las 72h	Remisión de síntomas
8	Macho castrado	19	Pura Raza Árabe	Verano	Sí	Se ha tumbado, apatía, anorexia, sudoración intensa, diarrea	Temperatura: 37,1°C Persistencia del pliegue cutáneo, hiperperistaltismo. Palpación rectal: impactación de colon	-	-	+	<i>Theileria equi</i>	6 ml Finadyne IV y 2 dosis de 8 ml de Imizol IM cada 24h y una tercera dosis de 8 ml IM a las 72h	Remisión de síntomas a las 24 horas del tratamiento

6. DISCUSIÓN

El área de estudio corresponde a una zona endémica en la que existen varios factores de riesgo recogidos por Bartolomé del Pino (2017), como son la presencia de extensos pastos, terrenos rodeados de montañas con altitudes elevadas, la convivencia con perros, la proximidad a bóvidos y la posible presencia de animales silvestres. Además, el País Vasco presenta inestabilidad enzoótica según Habela et al. (2000), lo que conlleva a que los animales manifiesten una clínica muy variada.

En este estudio se han recogido un mayor número de machos castrados que presentan la enfermedad en comparación con el número de hembras positivas. Según Bartolomé del Pino (2017), el sexo de los animales es un factor de riesgo, existiendo mayor seroprevalencia en machos castrados, lo que puede explicar los resultados obtenidos, aunque la muestra no es representativa. No obstante, no se han registrado sementales que presenten la enfermedad, lo cual puede ser debido a que representan una minoría en los centros hípicas.

En cuanto a la edad de aparición de la enfermedad, se han recogido caballos de todas las edades, aunque la mayoría de los animales estudiados eran mayores de 12 años. Según Bartolomé del Pino (2017) cuanto mayor es la edad, mayor es también la seroprevalencia, lo que coincidiría con los resultados obtenidos en este TFG.

Aunque en este estudio no se ha podido confirmar la influencia de las razas de los caballos en la presentación del proceso, según Bartolomé del Pino (2017), los animales de razas cruzadas presentan una mayor seroprevalencia que los animales de razas puras, y dentro de estas, presentan mayor seroprevalencia las razas autóctonas, como el Pura Raza Español.

En cuanto a la época de presentación, todos los caballos fueron diagnosticados en verano. Según Randolph (2004), los índices del desarrollo interestadial diarios de las garrapatas aumentan de forma no lineal junto con el aumento de la temperatura, lo que explica que haya infecciones o reinfecciones en esta época del año. Sin embargo, como se trata en su mayoría de caballos de competición y no se observaron garrapatas, no se puede descartar que se hayan producido situaciones de estrés por las cuales los caballos asintomáticos han manifestado una agudización de la enfermedad. El estrés como responsable de la manifestación clínica de la enfermedad es recogida por diferentes autores (Cullinane et al., 2006; Morris, 2006; Wise et al., 2014).

El entorno en el que viven los caballos propicia el contacto con garrapatas infectadas, ya que todos los caballos estudiados tienen acceso a pasto y contacto con otros caballos y animales. Por lo tanto, los animales residen en zonas de riesgo según lo recogido por Bartolomé del Pino (2017). Además, en el caso nº 6, a la llegada a la instalación hípica se informa al veterinario de que el otro veterinario responsable de ese centro ecuestre había

diagnosticado a unos 30 caballos de piroplasmosis equina residentes en esas instalaciones, lo que significa que existen garrapatas infectadas en esa zona. No obstante, no se observaron garrapatas en la exploración clínica de los animales estudiados. Los periodos de actividad de las especies de garrapatas responsables de transmitir la enfermedad podrían estar implicados en la falta de presencia de éstas en los meses de julio y agosto, ya que se dan en mayor medida en primavera y en otoño, cuando la humedad es superior al 80% según Kahl y Knülle (1988) (citado en Pfäffle et al., 2013). Además, las condiciones óptimas para el desarrollo de las garrapatas se dan en climas cálidos con alta humedad según Gale et al. (2012) (citado en Lapo Rojas, 2019), por lo que las altas temperaturas que se recogen en verano, época en la que se realizó el estudio, podrían explicar la falta de presencia de garrapatas.

Por otro lado, los casos nº 5 y nº 6 habían sido diagnosticado anteriormente de piroplasmosis equina, aunque se desconoce cuándo se sufrió el proceso y la especie de la que se trataba. Cabe mencionar que no existe inmunidad cruzada entre ambos parásitos, y así lo recogen Wise et al. (2014) y Onyiche et al. (2019).

En cuanto a los síntomas, cabe destacar su inespecificidad. Por otro lado, en este estudio se han recogido varios casos con síntomas compatibles con cólico, que en la especie equina presenta una gravedad reseñable. En otros casos, además, se manifestaron síntomas que afectan a la locomoción de los caballos como son los edemas y la debilidad del tercio posterior. Esta última podría estar relacionada con la patogenia de la enfermedad, aunque podría tratarse también de una trombosis de la arteria ilíaca externa por una migración de *Strongylus vulgaris*, según McCraw y Slocombe (1976).

La manifestación de los síntomas recogidos en este estudio es compatible con formas crónicas, subagudas o agudas de la enfermedad, ya que todos los síntomas que se han presentado en este estudio han sido recogidos por diferentes autores en las distintas fases del proceso, Davis y Wilkerson (2003), Schwarzwald (2014), Plummer, Colitz y Kuonen (2014), Wise et al. (2014) y Pelzel-McCluskey y Traub-Dargatz (2015). Sin embargo, en muchas ocasiones las formas crónicas y subagudas pueden ser indistinguibles entre ellas. Por otro lado, cabe destacar que las formas agudas que se recogieron en este estudio (casos nº 3, 6 y 8) resultaron estar causadas por *Theileria equi*. Esta especie es más patógena que *Babesia caballi* y así es recogido por los autores Harvey et al. (2012), Schwarzwald (2014) y Wise et al. (2014).

En lo referente a la exploración clínica, en los casos nº 1, 2 y 4 resultó normal, lo que es compatible con cuadros crónicos, y en los demás casos cabe destacar el color de las mucosas, ya que la palidez es debido a la anemia que causa la piroplasmosis equina y la ictericia es debido a la hemólisis. Por otro lado, en el caso nº 4, se sospechó en primer lugar de una fibrosis del músculo cremáster debido a que el caballo había sido castrado hace poco y el

fisioterapeuta equino que había sido contratado por los dueños mencionó la posibilidad de que se tratara de eso. Finalmente, tanto las molestias como el cambio de comportamiento resultaron ser provocadas por la piroplasmosis equina, por lo que queda reflejado la importancia de conocer la inespecificidad con la que actúa la enfermedad.

En cuanto a las pruebas realizadas, la anemia es resultante de la eritrolisis y la leucopenia indica cronicidad, lo que es compatible con casos crónicos o con casos crónicos que se han agudizado. Esta agudización de los cuadros crónicos puede ser debida a situaciones de estrés, ya que no se encontraron garrapatas en los caballos. No obstante, el animal nº 6 afectado por *Theileria equi* podría presentar un cuadro agudo ya que manifestó fiebre, y la leucopenia podría ser debida a que este parásito afecta también a los linfocitos provocando su lisis. Por otro lado, cabe destacar que en las bioquímicas sanguíneas no se encontraron hallazgos, ni siquiera hemólisis, aunque la clínica indicara lo contrario.

En cuanto al diagnóstico, los caballos que fueron negativos al diagnóstico directo mediante visualización de frotis sanguíneo resultaron seropositivos en el diagnóstico indirecto frente a *Babesia caballi*. Cabe destacar que los caballos que presentaron fiebre resultaron positivos en el diagnóstico directo y que los caballos que fueron seropositivos frente a *Theileria equi* también resultaron positivos en el diagnóstico directo. Esto es debido a que en la presentación de un cuadro agudo los animales tienen fiebre y existen un mayor porcentaje de parásitos en sangre. Por otra parte, según Schwarzwald (2014), en pacientes crónicos, el porcentaje de eritrocitos parasitados es bajo, por lo que tampoco es de extrañar que los resultados fueran negativos en los animales que no presentaron fiebre. Además, según Wise et al. (2014), durante la infección clínica, *Babesia caballi* parasita menos de un 1% de los eritrocitos y *Theileria equi* parasita, entre el 1 y el 5% de los eritrocitos, pudiendo llegar a un 20% de eritrocitos parasitados, lo que también explica que las muestras que finalmente resultaron positivas frente a *Theileria equi* fueran positivas en el diagnóstico directo también.

El diagnóstico indirecto se realizó en este estudio mediante un cELISA en el laboratorio de referencia. Este test serológico es la prueba oficial, junto con la IFI, aprobada por la OIE (2009). Se recogieron más caballos positivos frente a *Babesia caballi* que frente a *Theileria equi* (62,5% vs 37,5%), por lo que existe una discrepancia con los resultados de Habela et al. (2000) ya que los valores de seropositividad que obtuvieron en España son menores para *Babesia caballi* que para *Theileria equi* (21,3% vs 52,5%). Esta diferencia puede ser debida a que el tamaño de la muestra no resulta representativo en este estudio. No obstante, los autores recogen que *Babesia caballi* predomina en el norte de España, como se ha descrito en este estudio.

En cuanto al tratamiento, se utilizaron dos dosis a 2,2 mg/kg p.v. de Imizol de forma IM y una tercera dosis a las 72 horas. Es el tratamiento efectivo recomendado en zonas endémicas según Schwarzwald (2014) y Wise et al. (2014). Los resultados del tratamiento fueron positivos en el 100% de los casos y en este estudio no se presentaron efectos secundarios, aunque han sido descritos por Constable et al. (2017b) y por CIMAVet (2019). Tanto el producto utilizado como la pauta de administración resultaron ser adecuadas para el tratamiento de la piroplasmosis equina.

7. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS

- El área donde se ha realizado el estudio aparentemente supone un riesgo para los animales porque propicia la presencia de garrapatas. Aunque en menor número que en otras épocas, los casos diagnosticados de piroplasmosis han sido frecuentes en la zona estudiada.
- Se observa una mayor presentación de casos de piroplasmosis equina en machos que en hembras, aunque el número de animales estudiados es muy bajo para sacar conclusiones sobre la influencia del sexo en la presentación del proceso.
- En cuanto a la edad de los animales, no se ha observado una clara relación entre el proceso y la edad.
- La presentación clínica de la piroplasmosis equina cursa de manera inespecífica, siendo la apatía el síntoma más característico.
- A pesar de hallarse en una zona endémica, un elevado porcentaje de animales manifiestan la enfermedad de forma aguda (37,5%).
- El diagnóstico directo solo ha podido confirmar la parasitación en el 50% de los animales afectados.
- Se ha detectado una mayor seroprevalencia de *Babesia caballi* (62,5%) que de *Theileria equi* (37,5%).
- La administración de dipropionato de imidocarbo y la dosis pautada es eficaz para el tratamiento de la piroplasmosis equina y no da lugar a efectos secundarios.

Conclusions

- The studied area, apparently, poses a risk to the animals because it contributes to the appearance of ticks. The number of cases that tested positive for equine piroplasmosis have been frequent, even if in other periods of time resulted higher.

- There are differences between geldings and mares, but the sample is not representative.
- Regarding the age of the animals, there is not a clear relation between the illness and the age.
- The symptoms that were compiled in this study are, mostly, non-specific.
- Although the horses that were studied came from endemic areas, the disease was manifested acutely in the 37,5% of the cases.
- The direct diagnosis resulted positive only in the 50% of the clinical cases.
- It has been tested a higher seroprevalence for *Babesia caballi* (62,5%) than for *Theileria equi* (37,5%).
- The dosage and the administration of imidocarb dipropionate resulted effective for the treatment of equine piroplasmosis and it does not lead to side effects.

8. VALORACIÓN PERSONAL Y AGRADECIMIENTOS

Gracias a la elaboración de este TFG he aprendido a realizar la búsqueda de información científica y de cómo contrastarla, además de citar correctamente artículos bibliográficos, estructurar un texto científico y utilizar el lenguaje empleado en los textos científicos con vocabulario específico. Por otro lado, he aprendido mucho sobre la piroplasmosis equina, enfermedad que personalmente he vivido muy de cerca en muchas ocasiones con muchos caballos propios o de conocidos, y la elaboración de este TFG me ha permitido profundizar más en el tema que ciertamente ha despertado más interés del que ya tenía, por lo que creo que ha sido una muy buena forma de despedir este quinto (y último) año académico.

En cuanto a los agradecimientos, me gustaría en primer lugar darle las gracias a mi tutora M^a Jesús Gracia Salinas, que me ha acompañado en la elaboración de este TFG. Además, agradecerle también a Pablo Mardones de la Cruz el buen trato recibido en la realización de mis Prácticas Curriculares, atendiendo siempre mis dudas y proporcionándome la información necesaria, y todo lo que he aprendido de la medicina veterinaria de la especie equina, que tanto me gusta y a la que espero dedicar mi carrera profesional.

Por último, pero no por ello menos importante, agradecer a mi familia todo el apoyo recibido en estos 5 años y a mis compañeras, ahora amigas, que me llevo para siempre, aunque demos por finalizado, mediante este TFG, el Grado en Veterinaria que nos unió.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmadpour, S., Esmailnejad, B., Dalir-Naghadeh, B., y Asri-Rezaei, S. (2020). "Alterations of cardiac and renal biomarkers in horses naturally infected with theileria equi". *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 71, 101502. DOI: 10.1016/j.cimid.2020.101502
- Ayala Valdovinos, M. A., Lemus Flores, C., Galindo García, J., Sánchez Cipres, D., Duifhuis Rivera, R., Anguiano Estrella, R. y Rodríguez Carpena, J. G. (2014). "Nested PCR detection of Theileria equi infection and frequency in horses imported into Mexico". *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 13 (14), pp. 859-863. DOI: 10.3923/javaa.2014.859.863
- Bartolomé del Pino, L. E. (2017). *Situación epidemiológica y clínica de la piroplasmosis equina en áreas endémicas como la Península Itálica e Ibérica*. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Brüning, A. (1996) "Equine piroplasmosis an update on diagnosis, treatment and prevention". *British Veterinary Journal*, 152(2), pp. 139-151. DOI:10.1016/S0007-1935(96)80070-4.
- Camino, E., de la Cruz, M. L., Dominguez, L., Carvajal, K. A., Fores, P., de Juan, L., y Cruz-Lopez, F. (2018). "Epidemiological situation of the exposure to agents causing equine piroplasmosis in Spanish purebred horses in Spain: seroprevalence and associated risk factors". *Journal of Equine Veterinary Science*, 67, pp. 81-86. DOI: 10.1016/j.jevs.2018.03.012
- Camino, E., Dorrego, A., Carvajal, K. A., Buendia-Andres, A., de Juan, L., Dominguez, L., y Cruz-Lopez, F. (2019). "Serological, molecular and hematological diagnosis in horses with clinical suspicion of equine piroplasmosis: Pooling strengths". *Veterinary parasitology*, 275, 108928. DOI: 10.1016/j.vetpar.2019.108928
- CIMAVet (2019). Ficha técnica Imizol. Disponible en: https://cimavet.aemps.es/cimavet/pdfs/es/ft/205+ESP/FT_205+ESP.pdf [Consultado: 30-03-2021].
- Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., y Grünberg, W. (2017a). "Diseases of the Hemolymphatic and Immune Systems". En: Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., y Grünberg, W. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. Elsevier, pp. 716-844.
- Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., y Grünberg, W. (2017b). "Diseases of the alimentary tract: Nonruminant". En: Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., y Grünberg, W. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. Elsevier, pp. 175-435.

- Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., y Grünberg, W. (2017c). "Systemic and Multi-Organ Diseases". En: Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., y Grünberg, W. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats*. Elsevier, pp. 2002-2214.
- Cullinane, A. A., Barr., B., Bernard, W., Duncan, J. L., Mulcahy, G., Smith, I. M. y Timoney, J. F. (2006). "Infectious diseases". En: Higgins, A. y Snyder, J. R. *The Equine Manual*. Saunders, pp. 1-111.
- Davis, E., y Wilkerson, M. J. (2003). "Hemolytic anemia". En: Sprayberry K. y Robinson N. E. *Robinson's Current Equine Medicine*. Saunders, pp. 344-348.
- Diana, A., Guglielmini, C., Candini, D., Pietra, M., y Cipone, M. (2007). "Cardiac arrhythmias associated with piroplasmosis in the horse: a case report". *The Veterinary Journal*, 174(1), pp. 193-195. DOI: 10.1016/j.tvjl.2006.04.003
- Dunkel B. (2018). "Disorders of the Hematopoietic System". En: Reed S. M., Bayly, W. M., y Sellon, D. C. *Equine Internal Medicine*. Elsevier, pp. 991-1028.
- Friedhoff, K. T., Tenter, A. M. y Muller, I. (1990). "Haemoparasites of equines: impact on international trade of horses". *Rev Sci Tech* 9.4, pp. 1187-1194. DOI: 10.20506/rst.9.4.535
- Guglielmone, Alberto. (1991). *Epizootiología de las enfermedades hemoparasitarias de los vacunos*. FAO, Oficina Regional para la América Latina y el Caribe, Red de Cooperación Técnica entre Laboratorios de Investigación y Diagnóstico Veterinario, Serie RLAC-GAN (35), p. 53.
- Habela, M. A., Sevilla, R. G., Corchero, E. y Peña J. (2000). "Diagnóstico y tratamiento de la Piroplasmosis equina". *Mundo Ganadero*, 127, pp. 62-68. Disponible en: <https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf%5F5FMG%2F5F2000%5F127%5F62%5F68%2Epdf> [Consultado: 27-10-2020].
- Harvey, J. W., Stevens, A., Lowe, J. S., y Scott, I. (2012). "Evaluation of Erythrocytes". En: Harvey, J. W., Stevens, A., Lowe, J. S., & Scott, I. *Veterinary hematology*. St. Louis: WB Saunders, pp. 49-121.
- Hines, M. T. (2018). "Clinical approach to commonly encountered problems". En: Reed S. M., Bayly, W. M., y Sellon, D. C. *Equine Internal Medicine*. Elsevier, pp. 232-310.
- Jalovecka, M., Sojka, D., Ascencio, M., y Schnittger, L. (2019). "Babesia life cycle—when phylogeny meets biology". *Trends in parasitology*, 35(5), pp. 356-368. DOI: 10.1016/j.pt.2019.01.007

- Lapo Rojas, S. Y. (2019). *Determinación de la frecuencia de piroplasmosis equina y de los vectores implicados en la transmisión, en el Cantón Catamayo, provincia de Loja*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Loja (Ecuador).
- McAuliffe, S. B. (2014a). "Conditions of the liver, spleen and pancreas". En: McAuliffe, S. B. *Knottenbelt and Pascoe's Color Atlas of Diseases and Disorders of the Horse*. Elsevier Health Sciences, pp. 84-104.
- McAuliffe, S. B. (2014b). "Conditions of the respiratory tract". En: McAuliffe, S. B. *Knottenbelt and Pascoe's Color Atlas of Diseases and Disorders of the Horse*. Elsevier Health Sciences, pp. 105-158.
- McAuliffe, S. B. (2014c). "Disorders of the cardiovascular system". En: McAuliffe, S. B. *Knottenbelt and Pascoe's Color Atlas of Diseases and Disorders of the Horse*. Elsevier Health Sciences, pp. 159-195.
- McCraw, B. M., y Slocombe, J. O. (1976). "Strongylus vulgaris in the horse: a review". *The Canadian Veterinary Journal*, vol. 17, nº 6, p 150. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1697226/> [Consultado: -05-2021].
- Montes Cortés, M.G., Fernández-García, J. L. y Habela Martínez-Estélez, M. A. (2019). "A multinested PCR for detection of the equine piroplasmids Babesia caballi and Theileria equi". *Ticks and tick-borne diseases*, vol. 10, nº 2, pp. 305-313. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.11.008
- Morris D. D. (2006). "The hemolymphatic system". En: Higgins, A. y Snyder, J. R. *The Equine Manual*. Saunders, pp. 485-527.
- Mostafavi, E., Esmaeilnejad, B., y Foroushani, S. M. A. (2020). "Evaluation of cytokines and sialic acids contents in horses naturally infected with Theileria equi". *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 70, 101453. DOI: 10.1016/j.cimid.2020.101453
- OIE (2009). Equine Piroplasmosis. Disponible en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/EQUINE_PRIOPLASMOSIS.pdf [Consultado: 30-11-2020].
- OIE (2021). OIE-Listed diseases, infections and infestations in force in 2021. Disponible en: <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2021/> [Consultado: 02-02-2021].
- Olmeda, A. S., Meana, A., Valcárcel, F., y Camacho, A. T. (2002). "Control de las piroplasmosis bovinas". *Ganadería*, 34, pp. 54-57. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_Ganad%2FGanad_2005_34_54_57.pdf [Consultado: 01-04-2021].

- Onyiche, T. E., Suganuma, K., Igarashi, I., Yokoyama, N., Xuan, X., y Thekiso, O. (2019). "A review on equine piroplasmosis: epidemiology, vector ecology, risk factors, host immunity, diagnosis and control". *International journal of environmental research and public health*, 16 (10), 1736. DOI: 10.3390/ijerph16101736
- Pelzel-McCluskey, A. M. y Traub-Dargatzis J. L. (2015). "Equine Piroplasmosis". En: Sprayberry K. y Robinson N. E. *Robinson's Current Equine Medicine*. Saunders, pp. 480-483.
- Pfäffle, M., Littwin, N., Muders, S. V., y Petney, T. N. (2013). "The ecology of tick-borne diseases". *International Journal for Parasitology*, 43.12-13, pp. 1059-1077. DOI: 10.1016/j.ijpara.2013.06.009
- Plummer, C. E., Colitz, C. M., y Kuonen, V. (2014). "Ocular infections". En: Sellon, D. C. y Long, M. *Equine infectious diseases*. Elsevier, pp. 109-118.
- Polanco-Echeverry, D. N. y Ríos-Osorio, L. A. (2016). "Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras". *Ciencia & Tecnología Agropecuaria* 17.1, pp. 81-95. DOI: 10.21930/rcta.vol17_num1_art:463
- Randolph, S. E. (1998). "Ticks are not insects: consequences of contrasting vector biology for transmission potential". *Parasitology Today*, 14.5, pp. 186-192. DOI: 10.1016/s0169-4758(98)01224-1
- Randolph, S. E. (2004). "Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors". *Parasitology* 129.S1, S37. DOI: 10.1017/s0031182004004925
- Rathinasamy, V., Poole, W. A., Bastos, R. G., Suarez, C. E., y Cooke, B. M. (2019). "Babesiosis vaccines: Lessons learned, challenges ahead, and future glimpses". *Trends in parasitology*, 35(8), pp. 622-635. DOI: 10.1016/j.pt.2019.06.002
- Schnobrich, M. R. (2018). "Disorders of the Reproductive Tract". En: Reed S. M., Bayly, W. M., y Sellon, D. C. *Equine Internal Medicine*. Elsevier, pp. 1219-1364.
- Schwarzwalder, C. C. (2014). "Abnormalities of the erythron". En: Hinchcliff, K. W., Kaneps, A. J. y Geor, R. J. *Equine Sports Medicine and Surgery*. Saunders, pp. 939-973.
- Ueti, M. W. y Knowles, D. P. (2018). "Equine piroplasmids". En: Florin-Christensen, M. y Schnittger, L. *Parasitic protozoa of farm animals and pets*. Springer International Publishing, pp. 259-269.
- Uilenberg, Gerrit. (2006). "Babesia—a historical overview". *Veterinary parasitology*, 138.1-2, pp. 3-10. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.01.035
- de Waal, D. T. (1992). "Equine piroplasmosis: A review". *British Veterinary Journal*, 148(1), pp. 6–14. DOI:10.1016/0007-1935(92)90061-5

Wise, L. N., Pelzel-McCluskey, A. M., Mealey, R. H., y Knowles, D. P. (2014). "Piroplasmosis".
En: Sellon, D. C. y Long, M. *Equine infectious diseases*. Elsevier, pp. 467-475.

10. ANEXO

INFORME DE RESULTADOS ANALÍTICOS

Determinación de anticuerpos anti "Babesia caballi", en suero, por Enzimoimmunoanálisis (ELISA)

Resultado: Positivo (66.3%)

Valores de referencia indicativos:

Negativo: inferior al 40% de inhibición
Positivo: superior al 40% de inhibición

IMPORTANTE: En infecciones recientes esta prueba da negativa, por lo que se debe realizar el test PCR. En caballos destinados a EXPORTACIÓN NO ES SUFICIENTE con realizar una prueba puntual, sino que deben hacerse dos pruebas seriadas con 15 días de separación, realizando en AMBOS CASOS ADEMÁS LA PRUEBA DE BABESIA PCR con el fin de descartar infecciones recientes. Solo en estas condiciones y manteniendo desde la primera toma de muestra de sangre al caballo en cuarentena es posible garantizar que el caballo esté en condiciones de ser exportado.

Equivalencias aproximadas con la prueba IFI:

40%...1/40
50%...1/80
60%...1/160
70%...1/320

Determinación de anticuerpos anti "Theileria equi" (antes Babesia equi), en suero, por Enzimoimmunoanálisis (ELISA)

Resultado: Negativo (0.1%)

Valores de referencia indicativos:

Negativo: inferior al 40% de inhibición
Positivo: superior al 40% de inhibición

IMPORTANTE: En infecciones recientes esta prueba da negativa, por lo que se debe realizar el test PCR. En caballos destinados a EXPORTACIÓN NO ES SUFICIENTE con realizar una prueba puntual, sino que deben hacerse dos pruebas seriadas con 15 días de separación, realizando en AMBOS CASOS ADEMÁS LA PRUEBA DE BABESIA PCR con el fin de descartar infecciones recientes. Solo en estas condiciones y manteniendo desde la primera toma de muestra de sangre al caballo en cuarentena es posible garantizar que el caballo esté en condiciones de ser exportado.

Equivalencias aproximadas con la prueba IFI:



Empresa con sistema de gestión de calidad certificada según norma UNE-EN ISO 9001:2008 por Bureau Veritas con el número ES061042-1. Responsable de validación: Carlos Barba. Procedimientos técnicos aplicados en su realización: 14, 56, 58, 62, 65, 66, 91, 92, 93, 95, 101, 173, 218, 241, 360, 301, 386, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 375, 376, 451, 452, 456, 457. Alcance de la certificación: diseño y la realización de análisis veterinarios en las áreas de hematología, bioquímica clínica, serología y parasitología.

Informe 1. Resultado analítico positivo frente a *Babesia caballi*.

INFORME DE RESULTADOS ANALÍTICOS

Determinación de anticuerpos anti "Babesia caballi", en suero, por Enzimoimmunoanálisis (ELISA)

Resultado: Negativo (0.1%)

Valores de referencia indicativos:

Negativo: inferior al 40% de inhibición
Positivo: superior al 40% de inhibición

IMPORTANTE: En infecciones recientes esta prueba da negativa, por lo que se debe realizar el test PCR. En caballos destinados a EXPORTACION NO ES SUFICIENTE con realizar una prueba puntual, sino que deben hacerse dos pruebas seriadas con 15 días de separación, realizando en AMBOS CASOS ADEMÁS LA PRUEBA DE BABESIA PCR con el fin de descartar infecciones recientes. Solo en estas condiciones y manteniendo desde la primera toma de muestra de sangre al caballo en cuarentena es posible garantizar que el caballo esté en condiciones de ser exportado.

Equivalencias aproximadas con la prueba IFI:

40%....1/40
50%....1/80
60%....1/160
70%....1/320

Determinación de anticuerpos anti "Theileria equi" (antes Babesia equi), en suero, por Enzimoimmunoanálisis (ELISA)

Resultado: Positivo (56.8%)

Valores de referencia indicativos:

Negativo: inferior al 40% de inhibición
Positivo: superior al 40% de inhibición

IMPORTANTE: En infecciones recientes esta prueba da negativa, por lo que se debe realizar el test PCR. En caballos destinados a EXPORTACION NO ES SUFICIENTE con realizar una prueba puntual, sino que deben hacerse dos pruebas seriadas con 15 días de separación, realizando en AMBOS CASOS ADEMÁS LA PRUEBA DE BABESIA PCR con el fin de descartar infecciones recientes. Solo en estas condiciones y manteniendo desde la primera toma de muestra de sangre al caballo en cuarentena es posible garantizar que el caballo esté en condiciones de ser exportado.

Equivalencias aproximadas con la prueba IFI:



Empresa con sistema de gestión de calidad certificada según norma UNE-EN ISO 9001:2008 por Bureau Veritas con el número ES051042-1. Responsable de validación: Carlos Barba. Procedimientos técnicos aplicados en su realización: 14, 56, 58, 62, 65, 66, 91, 92, 93, 95, 101, 173, 218, 221, 360, 361, 366, 367, 369, 370, 371, 372, 375, 376, 451, 452, 456, 457. Alcance de la certificación: diseño y la realización de análisis veterinarios en las áreas de hematología, bioquímica clínica, serología y microbiología.

Informe 2. Resultado analítico positivo frente a *Theileria equi*.