



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“PRESENCIA DE *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*, EN CABALLOS
CRIOLLOS DEL RANCHO “EL RELINCHO” UBICADO EN EL KM 12 VÍA
SAMBORONDÓN - SALITRE”**

TESIS DE GRADO

Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título de
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

AUTOR

ANDRADE BARROSO HUGO MANUEL

TUTOR

DRA. MIELES SORIANO GLORIA FABIOLA, MsC.

GUAYAQUIL – ECUADOR

2020



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, Dra. GLORIA MIELES SORIANO, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: “PRESENCIA DE *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*, EN CABALLOS CRIOLLOS DEL RANCHO “EL RELINCHO” UBICADO EN EL KM 12 VÍA SAMBORONDÓN - SALITRE” realizado por el estudiante; Hugo Manuel Andrade Barroso con cédula de identidad N° de la carrera Medicina Veterinaria y Zootecnia, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Firma del Tutor

Guayaquil, septiembre de 2020



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación “PRESENCIA DE *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*, EN CABALLOS CRIOLLOS DEL RANCHO “EL RELINCHO” UBICADO EN EL KM 12 VÍA SAMBORONDÓN – SALITRE” realizado por el estudiante ANDRADE BARROSO HUGO MANUEL el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Dra. Silvia Flor Alvarez, MS.c

PRESIDENTE

Dr. Fabrizio Arcos Alcivar, MS.c

EXAMINADOR PRINCIPAL

Dra. Gloria Mieles, MS.c

EXAMINADOR SUPLENTE

Guayaquil, septiembre de 2020

Dedicatoria

A Dios, principio y fin

A mi madre, por su infinito amor e incondicional apoyo

A mi padre, por ser mi roca

A mis familiares, por su cariño

A mis amigos por ser siempre compañía grata

A mis ángeles en el cielo, por protegerme siempre

Agradecimiento

Extiendo mis sinceros agradecimientos a la Universidad Agraria del Ecuador y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Gracias a mi tutora Dra. Gloria Mieles MsC. por su apoyo durante la elaboración de esta tesis de grado.

Gracias al Laboratorio Clínico Veterinario y a la Dra. Hialina Herrera, por los análisis de las muestras.

Gracias al personal del rancho “el Relincho” por su colaboración con la logística en terreno.

Gracias a G&T medicina bovina y equina y a Irina Trejo MVZ. MsC. Dplmd. Nut. Clin., por su apoyo en la logística de la parte experimental de toma de muestras y test rápidos.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo, Hugo Manuel Andrade Barroso en calidad de autor del proyecto realizado, sobre “PRESENCIA DE *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*, EN CABALLOS CRIOLLOS DEL RANCHO “EL RELINCHO” UBICADO EN EL KM 12 VÍA SAMBORONDÓN – SALITRE” para optar el título de MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, septiembre de 2020

ANDRADE BARROSO HUGO MANUEL

C.I. 0920625712

Índice general

APROBACIÓN DEL TUTOR	3
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	4
Dedicatoria.....	5
Agradecimiento	6
Autorización de Autoría Intelectual	7
Índice de tablas	10
Resumen	11
Abstract.....	12
APROBACIÓN DEL ABSTRACT	13
1 Introducción	14
1.1 Planteamiento y formulación del problema	15
1.2 Justificación de la investigación	16
1.3 Delimitación de la investigación	16
1.4 Objetivo general	17
1.5 Objetivos específicos	17
2 Marco teórico.....	18
2.1 Estado del arte	18
2.2 Bases teóricas.....	19
2.2.1 Alteraciones en Ehrlichiosis.....	19
2.2.2 Ehrlichiosis equina, signos relevantes.....	20
2.3 Métodos de diagnóstico.	24
2.3.1 Frotis de la capa blanca (FCB)	24
2.3.2 Hemograma:.....	24
2.3.3 Serología:	25
2.4 Alteraciones en Babesiosis.....	26
2.4.1 Diferencias de alteraciones entre <i>T. equi</i> y <i>B. Caballi</i>.....	27
3. Materiales y métodos.....	30
3.1 Enfoque de la investigación	30
3.2 Metodología	30
3.2.1 Variable independiente	30
3.2.2 Variables dependientes.....	30
3.3 Operacionalidad de las variables	30

3.4	Localización de estudio.....	31
3.5	Población y muestra.	31
3.5.1	Criterio de inclusión:.....	32
3.6	Recolección de datos	32
3.7	Recursos:.....	33
3.7.1	Materiales de campo:	33
3.7.2	Recurso humano:	33
3.8	Estadística	33
4	Resultados.....	34
4.1	Identificación de las alteraciones más frecuentes en hematías y plaquetas de caballos positivos a <i>Ehrlichia spp.</i> , y <i>Babesia spp.</i>	34
4.2	Identificación de las alteraciones más frecuentes en glóbulos blancos de caballos positivos a <i>Ehrlichia spp.</i> , y <i>Babesia spp.</i>	35
4.3	Identificación de las alteraciones morfológicas más frecuentes en glóbulos rojos y blancos en caballos positivos a <i>Ehrlichia spp.</i> , y <i>Babesia spp.</i>	36
5.	Discusión	41
6.	Conclusiones.....	46
7.	Recomendaciones	47
8.	Bibliografía	48

Índice de tablas

Tabla 1. Estadística descriptiva ($\bar{x} \pm s$) de las alteraciones en los valores de glóbulos rojos (RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, MPV, PDW, PCT) obtenidos mediante hemograma, en caballos positivos a <i>Babesia spp.</i>	35
Tabla 2. Estadística descriptiva ($\bar{x} \pm s$) de las alteraciones en los valores de glóbulos blancos (LYMP, MON, GRAN) obtenidos mediante hemograma, en caballos positivos a <i>Babesia spp.</i>	36
Tabla 3. Porcentaje (%) de las alteraciones en los valores de glóbulos rojos (RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, MPV, PDW, PCT) obtenidos mediante hemograma, en caballos positivos a <i>Babesia spp.</i>	37
Tabla 4. Porcentaje (%) de las alteraciones en los valores de glóbulos blancos (WBC, LYMP, MON, GRAN) obtenidos mediante hemograma, en caballos positivos a <i>Babesia spp.</i>	37
Tabla 5. Alteraciones morfológicas de glóbulos rojos y blancos, observación micro y macroscópica de plasma, bioquímica de PT (g/L) expresada en ($\bar{x} \pm s$) en caballos positivos a <i>Babesia spp.</i>	38

Resumen

Ehrlichiosis es una enfermedad riketsial transmitida por garrapatas del género *Ixoides*, que puede ser identificada en base al tipo de célula que parasitan; ya sean monocitos, granulocitos o enterocitos. Babesiosis es de carácter endémica especialmente en áreas tropicales y subtropicales del mundo y con menor extensión en las zonas templadas en relación con la distribución de las garrapatas, es de gran importancia económica y sujeta a regulaciones sanitarias en áreas no afectadas con presencia de vectores (Sellon y Wise, 2010). El objetivo general del presente estudio fue determinar la presencia de *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*, en caballos criollos del Rancho “El Relincho”. La investigación fue de tipo exploratoria, descriptiva, no experimental; en la cual se determinó la presencia de *Ehrlichia* y *Babesia spp.*, y se describieron las alteraciones hematológicas, comparando además con test rápidos. Se determinó: hematocrito, sólidos totales, recuento de glóbulos rojos, VCM, HCM, CHCM, RDWc, recuento de leucocitos, fórmula leucocitaria relativa y absoluta, hemoparásitos y morfología celular. Se muestrearon 20 caballos que representó en N° total de la población del rancho, donde dieron NEGATIVO a Ehrlichiosis y POSITIVO a Babesiosis, tanto en el análisis sanguíneo como en el test rápido. Se obtuvo que el promedio de recuento de glóbulos rojos (RBC) fue de $7 \pm 1,40 \times 10^{12}/L$, el promedio de glóbulos blancos (WBC) fue de $7,7 \pm 3,6 \times 10^9/L$, la anisocitosis se presentó en el 95% caballos. Se concluye que la alteración más frecuente en glóbulos rojos fue el MPV bajo con 85% y en glóbulos blancos fue monocitopenia y agranulocitosis con el 50% respectivamente.

Palabras clave: *caballos, hemoparásitos, glóbulos rojos, glóbulos blancos.*

Abstract

Ehrlichiosis is a riketsial disease which is transmitted by ticks of the *Ixoides*, this can be identified based on the type of cell they parasitize; these could be monocytes, granulocytes or enterocytes. Babesiosis is endemic especially in tropical and subtropical areas of the world and to a lesser extent in temperate zones in relation to the distribution of ticks, it is of great economic importance and subject to sanitary regulations in unaffected areas with the presence of vectors. The aim of the present study was to determine the presence of *Ehrlichia spp.*, and *Babesia spp.*, in creole horses of the “El Relincho” Ranch. The research was exploratory, descriptive, not experimental; in which the presence of *Ehrlichia* and *Babesia spp.* was determined, and hematological alterations were described, also comparing with rapid tests. It was determined: hematocrit, total solids, red blood cell count, VCM, HCM, CHCM, RDWc, leukocyte count, relative and absolute leukocyte formula, hemoparasites and cell morphology. Twenty horses were sampled, which represented the total number of the ranch population, where they gave NEGATIVE to Ehrliquiosis and POSITIVE to Babesiosis, both in the blood analysis and in the rapid test. It was obtained that the average red blood cell count (RBC) was $7 \pm 1.40 \times 10^{12} / L$, the average white blood cell (WBC) was $7.7 \pm 3.65 \times 10^9 / L$, anisocytosis occurred in 95 % horses. It is concluded that the most frequent alteration in red blood cells was low MPV with 85% and in white blood cells it was monocytopenia and agranulocytosis with 50% respectively.

Key Words: horses, hemoparasite, red blood cells, white blood cells



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL ABSTRACT

Yo, Ing. Washington Evangelista, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de ENGLISH TEACHER, **CERTIFICO** que he procedido a la **REVISIÓN DEL ABSTRACT** del presente trabajo de titulación: PRESENCIA DE *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*, EN CABALLOS CRIOLLOS DEL RANCHO “EL RELINCHO” UBICADO EN EL KM 12 VÍA SAMBORONDÓN – SALITRE, realizado por el estudiante HUGO MANUEL ANDRADE BARROSO; con cédula de identidad N° 0920625712 de la carrera MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, Unidad Académica Guayaquil, el mismo que cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Firma del Docente de Ingles
Email institucional

Guayaquil, 2020

1 Introducción

Ehrlichiosis es una enfermedad riketsial transmitida por garrapatas del género *Ixoides*, que puede ser identificada en base al tipo de célula que parasitan; ya sean monocitos, granulocitos o enterocitos.

En el caso de la Ehrlichiosis monocítica equina también conocida como fiebre del Potomac, es causada por *Neorickettsia ristici* e infecta a monocitos y enterocitos. El *Ixoides spp*, es el vector común, esta garrapata tiene distribución mundial, adaptándose a condiciones climáticas con 85% de humedad y temperaturas entre 28° y 33° (Allison R, 2013)

En el caso de la Ehrlichiosis granulocítica equina, es causada por *Anaplasma phagocytophilia* (nomenclatura anterior *Ehrlichia equi*) y tiene predilección por los granulocitos. Los signos clínicos en ambos tipos de patologías incluyen fiebre, decaimiento, trombocitopenia, anemia, siendo clásico en Ehrlichiosis monocítica, diarrea y cuadros entéricos asociados. (Breitschwerdt E, 2012)(Pérez 2010).

Babesiosis equina, es causada por los protozoos intraeritrocitarios: *Theileria equi* (nomenclatura anterior *Babesia equi*) y *Babesia caballi*. La transmisión se produce por la picadura de garrapatas de algunos de estos géneros: *Dermacentor*, *Hyalomma* y *Rhipicephalus*.

Se ha sugerido que el uso compartido de agujas en procedimientos clínicos, las transfusiones de sangre de donantes no testeados, son la segunda causa de infección (Allison R, 2013).

En ambas enfermedades observamos además de la presencia de garrapatas, anorexia, emaciación y decaimiento marcado, anemia e ictericia en

el caso de babesiosis, este conjunto de signos nos pueden aproximar al diagnóstico presuntivo.

Uno de los métodos usados ampliamente por décadas para comprobar la presencia de hemoparasitosis ha sido el análisis hematológico, donde la clásica trombocitopenia, eosinofilia y neutrofilia, presencia del hemoparásito en neutrófilos al frotis, han sido la forma clásica y efectiva para llegar al diagnóstico definitivo. (Herrín y col 2017).

Sin embargo, desde hace algunos años, tanto en la clínica de especies menores como en la clínica equina, el uso de test rápidos para comprobar la existencia de enfermedades causadas por vectores en aras, es cada vez más popular (Faccioli, 2011).

Estos test, que usan el principio de la inmunocromatografía, son rápidos, fáciles de usar, con una sensibilidad del 98% y una especificidad del 100%; detectan los anticuerpos de la Ehrlichia en sangre entera, suero o plasma, los resultados de la prueba aparecen en líneas de control y prueba. (CVM SensPERT Ehrlichia Ab Test. Ref. AI12)

1.1 Planteamiento y formulación del problema

1.1.1 Planteamiento del problema

El carácter cosmopolita del *Ixoides* y *Rhipicephalus* y otros vectores de enfermedades hemoparasitarias, suponen un desafío en cuanto al manejo, haciendo bastante complejo la erradicación total de garrapatas.

La frecuencia de presentación de *Babesia spp* por ejemplo, difiere mucho entre caballos estabulados 10,32% y caballos en potreros 3,17% según lo reportado por (Calderón A, 2013) en Colombia. Específicamente, *A. phagocytophilum* tiene una presentación del 32,9% en caballos, sin presentar

signos clínicos, según lo evidenciado por (Castellanos R, 2010) en Venezuela. Similares porcentajes realizados por investigadores venezolanos como Arreaga y col, que detectaron una frecuencia de presentación del 36,9% de *A. phagocytophilum* en caballos del estado de Zulia.

1.1.2 Formulación del problema

¿Existen alteraciones microscópicas en las células sanguíneas de caballos positivos a *Ehrlichia* y *Babesia spp*?

1.1.3 Justificación de la investigación

En consistencia de todo lo mencionado anteriormente, es prioritario detectar la presencia de estos hemoparásitos ya que al ser enfermedades de curso crónico, con diversas formas de presentación y con vectores de existencia masiva, representa uno de los tantos problemas de sanidad en el manejo de equinos. Está demostrado que équidos con algún tipo de hemoparásitos disminuyen el desempeño en carreras así como también la performance reproductiva, por ello el presente trabajo tiene como fin detectar Ehrliquiosis y babesiosis, corroborando su presencia con el uso de los test rápidos.

1.2 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** Se llevó a cabo en el rancho “el Relincho” ubicado en el km 12 vía Samborondón – Salitre
- **Tiempo:** 2 meses
- **Población:** Se utilizaron los caballos disponibles del rancho, y se los reunió por sexo y edad.

1.3 Objetivo general

Determinar la presencia de *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*, en caballos criollos del Rancho “El Relincho”

1.4 Objetivos específicos

- Identificar las alteraciones más frecuentes en hematíes y plaquetas de caballos positivos a *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*
- Identificar las alteraciones más frecuentes en glóbulos blancos de caballos positivos a *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*
- Identificar las alteraciones morfológicas más frecuentes en glóbulos rojos y blancos en caballos positivos a *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*

1.5 Hipótesis

Existen casos de *Ehrlichia* y *Babesia spp.*, en el rancho “El Relincho”

2 Marco teórico

2.1 Estado del arte

Hace aproximadamente 100 años, granjeros de Uruguay y el suroeste de Brasil cuyas explotaciones estaban en los límites del lago Merín, cada verano notaban que sus caballos presentaban diarreas, decaimiento, falta de apetito, pérdida de peso y fiebre; a este conjunto de signos le denominaron churrido equino. El churrido equino, cobró la muerte de algunos ejemplares introducidos en el área, entre los veranos de 1939 a 1942. (Dutra y cols, 2001).

Para que se denominara Ehrlichiosis, debían pasar algunas décadas, en 1969 la ehrliquiosis equina, ya que solo se refería enfermedades infecciosas transmitidas por vectores comunes como las garrapatas. (Madigan, 1993).

En 1979, se la denomina fiebre equina del Potomac, ya que en las granjas asentadas en las riberas del río Potomac, presentaban los mismos signos identificados en Sudamérica. Es sabido, que también en Canadá, Francia, Australia e India se reportaron casos de animales con los mismos signos, que se denominaría Ehrlichiosis monocítica equina (EME) (Dutra F, 2001).

Los estudios epidemiológicos anteriores demostraron que EME se presentaba en su mayoría en áreas cercanas a lagos o lugares con irrigación y con temperaturas elevadas. Debían de pasar años para que se hiciera pruebas complejas como de la reacción de cadenas de polimerasa (PCR) para aislar al causante de dicha enfermedad: *Ehrlichia risticii*. (Dutra F, 2001)

Al conocerse los agentes patógenos y estudiarse las infecciones espontáneas y experimentales, se pudo describir ampliamente las

implicaciones en la salud de los aras y los planes de control de garrapatas en todo el continente Americano y Europeo. (Dutra F, 2001)

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Alteraciones en Ehrlichiosis

Definición de anemia: Disminución de la masa de glóbulos rojos circulantes y/o periféricos; hematológicamente se caracteriza por la reducción del número de eritrocitos (RBC), del hematocrito (HCT) y concentración de hemoglobina (HBC) por debajo de los intervalos de referencia aceptados.

El valor HCT obtenido por centrifugación, es la medida más precisa, con un bajo error intrínseco ($\pm 1\%$) Vrs. del calculado por la mayoría de los contadores celulares automáticos, cuyo error potencial es mayor; seguida de la concentración de hemoglobina (MCH), con mayor coeficiente de variación ($\pm 5\%$). (Brockus y Andreasen, 2005; Sellon y Wise, 2010).

Al ser un microorganismo que infecta con predilección células mononucleares y plaquetas, una de las alteraciones más importantes es la vasculitis (aumento de la permeabilidad vascular) formación de inmunocomplejos y coagulación intravascular diseminada (CID), linfadenopatía, hipoplasia severa en médula ósea irreversible o no. (López A, 2015)

Es posible que los signos de una infección aguda cursen con fiebre, depresión y anorexia, epistaxis y petequias, se puede presentar edema. Aquí es importante señalar que estos signos, se pueden presentar o no en casos de Ehrlichiosis. (Madigan, 1993)

Las alteraciones crónicas sin embargo, clásicamente incluyen adelgazamiento progresivo y rápido, depresión, cojeras que aun siendo

tratadas, vuelven aparecer debido al dolor articular, signos neurológicos leves ya sean centrales o periféricos.

2.2.2 Ehrlichiosis equina, signos relevantes.

En equinos las especies de ehrlichia, en la mayoría de casos, son identificados dependiendo del tipo de células que infectan con mayor frecuencia: monocitos o neutrófilos. Dependiendo del glóbulo blanco infectado, se hará diferencia entre *ehrliquiosis monocítica* o *ehrliquiosis granulocítica*, cada una con características signológicas propias. (Aguiar y cols 2007).

2.2.2.1 Ehrlichiosis granulocítica:

Causada por *Anaplasma phagocytophilia*, nomenclatura antigua *Ehrlichia equi*, microorganismo Gram- tiene tropismo hacia neutrófilos y eosinófilos, de cuya transmisión es responsable las garrapatas del género *ixoides* spp (*ixoides scapularis*, *ixoides pacificus*). En primera instancia, se producen vacuolas dentro del citoplasma, formando cuerpos de inclusión o mórulas (Aguiar y cols 2007).

Se pueden infectar caballos de todas las edades, así mismo, al ser hospedador aberrante, no transmite la enfermedad por vía horizontal, sino por presencia de la garrapata en el rebaño. El periodo de incubación comprende entre 10-20 días y la severidad de los signos se relaciona positivamente con la edad, siendo los caballos viejos quienes evidencian mayor impacto, sobre todo con el edema de extremidades severo, en relación a los más jóvenes (Madigan, 1993)

Los signos clínicos típicos son: fiebre, anorexia, petequias, letargo, edema de los miembros, abdomen ventral y tórax, ataxia, ictericia y restricción

del movimiento. Los cambios sanguíneos incluyen trombocitopenia, anemia y leucopenia y cuerpos de inclusión. (López A, 2015).

2.2.2.2 Ehrlichiosis monocítica:

Causada por *Neorickettsia ristici*, anterior nomenclatura *Ehrlichia ristici*, presenta tropismo hacia monocitos, macrófagos tisulares y células epiteliales del intestino. Principalmente, la colitis aguda es el signo característico y diferencial con la Ehrlichiosis granulocítica, esto puede derivarse en cólicos de intensidad leve a moderada, disminución de sonidos intestinales, diarreas sanguinolentas o espumosas que conllevan a deshidratación y letargo. Otros signos incluyen: fiebre, edema de extremidades, laminitis, abortos y retención de placenta. (López A, 2015)

La Ehrlichiosis monocítica se transmite por la penetración por piel o ingestión de aguas infestadas por metacercarias o por un hospedador intermediario secundario como caracoles operculados o insectos de agua infectados por metacercarias. (Allison R, 2013)

Según varios autores, los signos típicos comienzan como un leve decaimiento y anorexia, seguidos por una respuesta febril que varía en un rango de 38,9 a 41,7°C seguido de enlentecimiento de los movimientos intestinales. Dentro de las siguientes 24 a 48 horas, se desarrolla una diarrea moderada que luego pasa a diarrea líquida en aproximadamente el 60% de los caballos afectados. De ahí que algunos caballos desarrollan severa toxemia y deshidratación, y un 40% terminan con laminitis como causa secundaria al exceso de ácido láctico en sangre. (Forlano y col, 2008)

Los cambios hematológicos varían; la leucopenia se caracterizan por una neutropenia y una linfopenia, hasta un hemograma normal, otros casos más avanzados se caracterizan por una leucocitosis marcada.

2.2.2.3 Vector y ciclo

Como se mencionó en párrafos anteriores, el vector de la Ehrlichiosis equina es la garrapata del género ixoides; solo en Costa Rica se han encontrado alrededor de 40 diferentes garrapatas de este género siendo identificadas: *I. affinis*, *I. auritulus*, *I. bicornis*, *I. boliviensis*, *I. venezuelensis*. En este mismo estudio, se destaca que solo 2 caballos resultaron ser hospederos, mientras que las otras especies se encontraron en bovinos, caninos, felinos silvestres, venados y humanos. En consecuencia es de suponer, que caballos que conviven con otras especies tienen mayor predisposición a infestarse de garrapatas. (López A, 2015) (Aguiar D, 2007)

Según Groves y col (1975), El modo de transmisión de Ehrlichia es transtadial, por lo cual la infección es transmitida subsecuentemente de larvas a ninfas y de ninfas a adultos, pero no de las hembras a los huevos de una nueva generación.

En cánidos, dónde se han llevado a cabo estudios más profundos, *R. sanguineus* (garrapata común del perro) infectada con *E. canis*, ocurre durante el estadio de larva o ninfa cuando éstas ingieren sangre de un perro con la enfermedad desarrollada. En el interior de la garrapata los microorganismos ingeridos se multiplican en células del intestino medio y posteriormente en sus glándulas salivales (Aguiar D, 2007)

Las garrapatas infectadas inoculan la Ehrlichia a un nuevo hospedador en la próxima ingesta sanguínea. Además se ha descrito la transmisión

intraestadial, al menos en condiciones experimentales; en este sentido, Bremer y col (2005) demostraron que los machos adultos pueden tomar múltiples comidas sanguíneas y por tanto adquirir y transmitir la bacteria a animales susceptibles.

Ehrlichia, ha desarrollado diversos mecanismos que aseguran la evasión de la respuesta inmune del huésped (garrapata), abarcan adaptaciones de ciertos procesos como: adhesión, internalización, proliferación, exocitosis y propagación intercelular de *Ehrlichia* spp., con la participación de diferentes vías de señalización que culminan con la adquisición de nutrientes, evasión lisosomal y la inhibición de la apoptosis de la célula huésped (Rikihisa 2010a, Mathema y col 2013, Alves y col 2014, Harrus 2015).

Estudios realizados con *E. chaffeensis* y *E. phagocytophilum* han demostrado que a diferencia de *Rickettsia* spp., y de la mayoría de las bacterias Gram -, les faltan los genes que codifican el LPS y el peptidoglicano de la pared celular, por lo tanto estas bacterias deben incorporar el colesterol derivado de las membranas de las células huésped para garantizar la integridad de su membrana. (Rikihisa 2006).

La ventaja de no poseer LPS y peptidoglicano es que se inhibe la unión de estos ligandos a los receptores, por lo que tanto los leucocitos hospedadores como los hemocitos de las garrapatas no se activan para eliminar al microorganismo. La pérdida de estos genes en *E. chaffeensis* y *A. phagocytophilum* ha facilitado la adaptación de estas bacterias a las células leucocíticas y las de la garrapata vector (Rikihisa 2010).

2.3 Métodos de diagnóstico.

2.3.1 Frotis de la capa blanca (FCB)

Se realiza el centrifugado de una muestra de sangre con EDTA en un capilar para micro hematocrito. Mediante este método se concentran los leucocitos y las plaquetas; con este concentrado se realiza un frotis y se realiza la tinción de Gram. A pesar de que es un método de fácil ejecución y económico requiere de personal muy entrenado en el reconocimiento de las inclusiones o mórulas dentro del citoplasma de monocitos y granulocitos. Dicha búsqueda, se hace con aceite de inmersión con objetivo de 1000X en 1000 campos. El tiempo empleado por este método se calcula entre 50 a 60 minutos. El FCB se recomienda para la etapa aguda de la infección durante las primeras semanas de infección (Mylonakis y col 2003, Allison y Little 2013).

2.3.2 Hemograma:

Sigue siendo la técnica más usada para corroborar las sospechas de Ehrlichiosis en caballos y otras especies, es de esperar, anemia, trombocitopenia y disminución de la línea blanca. Debe incluir la inspección macroscópica de la sangre y del plasma, la evaluación microscópica del frotis de sangre, un hemograma completo y los parámetros hematológicos (Tvedten, 2010).

La inspección microscópica de los eritrocitos puede ayudar al diagnóstico etiológico y permite comprobar la presunta presencia de aglutinación, hipocromía (algo difícil de reconocer en équidos porque sus eritrocitos son pequeños), parásitos, alteraciones que pueden indicar aumento de la fragilidad del eritrocito, hemólisis inmunomediada, coagulopatías y/o deficiencia férrica. Entre los índices eritrocitarios, los valores de MCHC son los

más exacto, estos disminuyen con reticulocitosis, en algunos casos de deficiencia de hierro (Fe) y centrifugación inadecuada y aumenta con la hemólisis (Morris, 2002; Brockus y Andreasen, 2005).

La disminución de los valores de volumen corpuscular medio (MCV) puede indicar deficiencia férrica y rara vez aumenta en la anemia regenerativa en el caballo y la MCH disminuye con deficiencia de hierro y aumenta con la hemólisis, *in vivo* o *in vitro*, dada la presencia de hemoglobina (HGB) libre en el plasma (Morris, 2002).

2.3.3 Serología:

Las técnicas serológicas incluyendo la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) han sido por mucho tiempo un pilar para confirmar la sospecha clínica de enfermedad por *Ehrlichia* spp. La desventaja de la prueba IFI es que los anticuerpos detectados contra *E. equi* no son específicos de la bacteria. Se ha descrito reacciones cruzadas en esta prueba serológica entre *E. canis*, *E. ewingii* y *E. chaffeensis*, por lo tanto no es posible utilizar los resultados de la IFI para distinguir entre infecciones entre estas tres especies (Kelly 2000).

Se ha descrito un número variable de ensayos basados en ELISA en forma de test rápidos, las cuales detectan anticuerpos desde *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi* y *E. canis*, *B. bigemina* hasta anticuerpos para *Anaplasma phagocytophilum*, *A. platys*, *Borrelia burgdorferi*, *E. canis* y *E. ewingii* dependiendo del test, país de fabricación, precio y sensibilidad del kit.

Es importante señalar que en estas pruebas los anticuerpos reconocen péptidos recombinantes de cada uno de los patógenos lo que les proporciona una alta especificidad (Breitschwerdt y Cohn 2012, Allison y Little 2013).

2.3.4 Kits de test rápido

El test rápido es un inmunoanálisis de flujo lateral que sirve para detectar cualitativamente el anticuerpo anti *Ehrlichia spp* en el suero, plasma o sangre del paciente. En tiempo del análisis es entre 15 a 20 min.

El fundamento del test rápido de *Ehrlichia spp* está basado en un inmunoanálisis de flujo lateral que tiene una ventana en la que hay una zona invisible (T) y una zona de control (C). Cuando las muestras se ponen en agujero del dispositivo, el líquido fluirá lateralmente en la superficie de la banda del test. Si hay suficientes anticuerpos contra el antígeno de *Ehrlichia* en la muestra, la banda T se hará visible. La banda C siempre será visible después de poner la muestra, indicando que el resultado es válido. Esto significa, que el dispositivo puede detectar con precisión si hay o no hay presencia de anticuerpos de *Ehrlichia* en la muestra. (Breitschwerdt y Cohn 2012).

2.4 Alteraciones en Babesiosis

Causada por *Babesia caballi* y *Theileria equi*, phylum *Apicomplexa*, orden *Piroplasmida* (Levine et al., 1980; Homer et al., 2000) sus vectores naturales son las garrapatas de los géneros *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus* y *Boophilus*, siendo esta última la más frecuente en países tropicales. (Mehlhorn y Schein, 1998).

Babesiosis es de carácter endémica especialmente en áreas tropicales y subtropicales del mundo y con menor extensión en las zonas templadas en relación con la distribución de las garrapatas, es de gran importancia económica y sujeta a regulaciones sanitarias en áreas no afectadas con presencia de vectores (Sellon y Wise, 2010).

Los signos clínicos son inespecíficos y pueden abarcar desde: fiebre, anemia hemolítica, ictericia y hemoglobinuria. La anemia se da por el aumento de la retirada de eritrocitos y en casos graves puede haber hemolisis intravascular desembocando en nefropatía pigmentaria con la subsecuente muerte en los siguientes días y/o semanas; aunque generalmente pueden sobrevivir, es posible que presenten fiebre y anemia de manera crónica. (Sellon y Wise, 2010).

En babesiosis se suman otros signos relacionados a anemia: como mucosas pálidas, ictericas o congestivas, equimosis en membrana nictitante, disnea, taquicardia, taquipnea, sudoración, cólico, anorexia, ataxia, baja tolerancia al ejercicio, esplenomegalia, depresión, petequias, epífora, descarga nasal mucosa, edema palpebral o dependiente, arritmias cardiacas y decúbito (Zobba et al., 2008; Sellon y Wise, 2010).

2.4.1 Diferencias de alteraciones entre *T. equi* y *B. Caballi*

Es considerada la más patógena y responsable de un curso clínico más grave y mayor incidencia de hemoglobinuria y muerte, Los caballos de edad avanzada y los recién llegados a áreas endémicas se afectan con mayor gravedad (Morris, 1998).

La reducción del número de eritrocitos (RBC), del hematocrito (HCT) y de la hemoglobina (HBG), la trombocitopenia, leucopenia o leucocitosis, son parte de las alteraciones hematológicas que se suelen encontrar en équidos infectados por *T. qui* (De Waal, 1992).

En la infección con *T. equi* se ha descrito un aumento del número relativo y absoluto de monocitos y ausencia de eosinófilos (Carlson et al., 2002), así como una disminución en plasma del fibrinógeno, hierro y fósforo; y

elevación de la bilirrubina, urea, creatinina, aspartato aminotransferasa (AST), gamma glutamil transpeptidasa (GGT) creatina quinasa y lactato deshidrogenasa (De Waal, 1992; Camacho et al., 2005).

La infección por *B. Caballi* es menos agresiva y más sostenida en tiempo, causando un síndrome más persistente con cuadros de fiebre, rara hemoglobinuria. Sin embargo la anemia, disminución de HGB y HCT son bastante comunes en la infección por este protozooario. (Sellon y Wise, 2010).

2.5 Ciclo biológico de *Ehrlichia* y *Babesia* spp.

Ehrlichia spp: La garrapata marrón del perro, *Rhipicephalus sanguineus*, actúa como el vector primario de transmisión transfiriendo al patógeno entre diferentes anfitriones a medida que se va alimentando con sangre. Las garrapatas se convierten en portadoras del patógeno cuando se alimentan de la sangre de un caballo infectado.

Almacenadas en el intestino y glándulas salivales de una garrapata infectada, las *E. caballi* son transferidas por medio de la saliva de las garrapatas portadoras a diferentes hospederos cuando se alimentan con sangre. Si la garrapata se infecta durante la etapa larval, retiene al patógeno durante los dos siguientes estadios de vida y puede inocular a diferentes hospederos mientras se alimenta de sangre, tanto en la etapa de ninfa, como en la etapa adulta. Esto se conoce como transmisión transestadial.

Ehrlichia spp es una bacteria pequeña, con forma de coco y un único cromosoma circular. La pared celular de este organismo carece de peptidoglicano y lipopolisacárido que se encuentran presentes al menos en pequeñas cantidades en otras bacterias Gram negativas, lo que se cree que contribuye con su habilidad a escapar de la respuesta inmune del hospedero. La

falta de estos dos materiales reduce la rigidez de la pared celular permitiendo que la pared celular exterior sea dinámica lo que también facilita que las células puedan evadirse de los anticuerpos del organismo hospedero.

Las células carecen de estructuras internas complejas que permiten el metabolismo de azúcares y en cambio usan aminoácidos como fuente de energía.

Luego de la introducción al organismo hospedero, penetra en los monocitos y macrófagos. La infección puede dejar al hospedero asintomático durante meses, o se pueden manifestar varios signos clínicos mientras se desarrolla la Ehrlichiosis.

Babesia spp: Cuando una garrapata pica a un roedor infectado, los gametos se fusionan en el intestino de la garrapata dando lugar a un cigoto. Los cigotos, a su vez, se convierten en oocinetos móviles que entran en las glándulas salivares de la garrapata. Comienza un ciclo de esporogonia que da como resultado nuevos esporozoitos, que pueden volver a ser inyectados en un roedor por la picadura de la garrapata.

3. Materiales y métodos

3.1 Enfoque de la investigación

- **Tipo de investigación**

La investigación fue tipo exploratoria, descriptiva, no experimental; en la cual se determinó la presencia de *Ehrlichia* y *Babesia spp.*, y se describieron las alteraciones hematológicas, comparando además con test rápidos.

3.2 Metodología

3.2.1 Variable independiente

Hemograma; alteraciones hematológicas; hematócrito, presencia de otros hemoparásitos.

3.2.2 Variables dependientes

Presencia de *Ehrlichia spp* y *Babesia spp.*, por frotis y por test rápido

3.3 Operacionalidad de las variables

MODELO	VARIABLE	TIPO	DESCRIPCIÓN Y ESCALA
Dependiente	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de <i>Ehrlichia spp</i> • Presencia de <i>Babesia spp</i> POR FROTIS 	<ul style="list-style-type: none"> • Cualitativa • Cualitativa 	<ul style="list-style-type: none"> • Solo casos positivos a <i>Ehrlichia spp.</i> • Solo casos positivos a <i>Babesia spp.</i> <p>Positivo(+) 1 Negativo (-) 0</p>
Dependiente	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de <i>Ehrlichia spp</i> • Presencia de <i>Babesia spp</i> POR TEST 	<ul style="list-style-type: none"> • Cualitativa • Cualitativa 	<ul style="list-style-type: none"> • Casos positivos a <i>Ehrlichia spp.</i> o negativos o sospechosos • Casos positivos a

	RÁPIDO		Babesia spp o negativos o sospechosos Positivo (+) 1 Negativo (-) 0
--	--------	--	---

Independiente	• Hemograma	• Cuantitativa	<ul style="list-style-type: none"> • Hematócrito 5-11 x10⁹/L • Hemoglobina 120,00-180,00 g/L • VCM: 60,00-77,00fL • HCM: 19,50-24,50 pg • RDWc: 12,00-15,00% • Neutrófilos en banda: 0,00-0,30 x10⁹/L • Neutrófilos segmentados: 3,00-11,50 x10⁹/L • Eosinófilos: 0,10-1,25 x10⁹/L • Linfocitos: 1,00-4,80 x10⁹/L • Monocitos: 0,15-1,35 x10⁹/L • Recuento de plaquetas: 150,00-500,00 x10⁹/L
---------------	-------------	----------------	---

3.4 Localización de estudio

El estudio se realizó en el aras “El Relincho” ubicado en la vía Samborondón- Salitre, dentro de la provincia de Guayas (LO; O79°54'28.62" LAT; S2°12'21.02") cuya temperatura media fluctúa entre los 25°C y 32°C y la precipitación anual es de 1550mm. (INAMHI, 2020)

3.5 Población y muestra.

Se muestreó al 100% de la población conformada por 20 caballos, cuya edad está entre los 3 a 7 años, se les realizó examen clínico y toma de condición corporal, posteriormente se les tomó muestras de sangre. La dieta base de estos caballos era de alimento balanceado comercial con mezcla mineral y pasto fresco al que accedían en horas de descanso. El agua se ofreció ofrecida *ad libitum*.

3.5.1 Criterio de inclusión:

Se muestrearon los animales independiente del sexo, cuya edad estaba entre los 3 a 7 años. Estos ejemplares son de raza criolla. Así mismo, se muestrearon los 20 animales que representaron la totalidad de la población de caballos del aras “El Relincho”.

3.5.2 Criterio de exclusión:

Se excluyeron animales que no estén dentro del rango de edad señalado (menor a 3 y pasado 7 años).

3.6 Recolección de datos

• Toma de muestras

Se realizó una inspección previa de la historia clínica de los animales del rancho.

Se llevó a cabo los siguientes procedimientos:

- **Revisión de ectoparásitos:** Se realizó una inspección del manto de los caballos, incluyendo orejas, patas y cascos.

- **Examen clínico:** Se inspeccionó de cabeza a cola, se evaluó color de mucosa, tiempo de llenado capilar y condición corporal, con el fin de hallar signos clínicos compatibles con Ehrlichiosis, Babesia u otra afección por vectores.

- **Hemograma:** Se tomó 5mL de muestras de sangre, mediante punción yugular, y se depositó en tubos al vacío con heparina sódica. Estas muestras fueron analizadas en el Laboratorio Clínico Veterinario, propiedad de la Dra. Hialina Herrera, en la ciudad de Guayaquil. Se determinó: hematocrito, sólidos totales, recuento de glóbulos rojos, VCM, HCM, CHCM, RDWc, recuento de leucocitos, fórmula leucocitaria relativa y absoluta, hemoparásitos

y morfología celular. Los tubos se identificaron mediante número y nombre del paciente.

- **Test rápido:** Con una pipeta Pasteur desechable, se tomaron 0,04mL de sangre entera, procediendo a colocarla en el pocillo del snap, la lectura se realizó inmediatamente colocada la muestra hasta 10 minutos. Los datos se archivaron mediante registro fotográfico e identificación por número y nombre de los pacientes.

3.7 Recursos:

3.7.1 Materiales de campo:

Tubos EDTA, tubos sin aditivo, campanas LUER, agujas de extracción, guantes, algodón, alcohol, pipetas Pasteur desechables, test rápido para *Ehrlichia spp*, test rápido para *Babesia spp*, botas, mandil, libreta para tomar datos, pluma, plumón para marcar tubos, orden de laboratorio, gel pack refrigerante, caja transportadora

Recursos bibliográficos: Papper, buscadores de revistas científicas indexadas, tesis.

3.7.2 Recurso humano:

Investigador: Hugo Andrade Barroso

Tutor guía: Dra. Gloria Mieles, MSc.

Tutor estadístico: Octavio Rugel González Ing., MSc., PhD (c)

Personal del rancho “El Relincho”

3.8 Estadística

Por la naturaleza de los resultados que se obtuvieron, se aplicó estadística descriptiva a los datos cuantitativos: media (\bar{x}) desviación estándar (\pm) y se estableció el porcentaje (%). En los datos cualitativos, se estableció el

porcentaje. Se utilizó el programa de Microsoft Excel[®] tanto para la estadística como para los gráficos.

4 Resultados

Los 20 caballos del estudio, resultaron negativos a *Ehrlichia spp*, tanto en el análisis sanguíneo y como en el test rápido.

Los 20 caballos del estudio, resultaron positivos a *Babesia spp*, tanto en el análisis sanguíneo como en el test rápido.

Los 20 caballos del estudio, dieron negativo a *Tripanosoma* y *Dirofilaria*.

4.1 Identificación de las alteraciones más frecuentes en hematíes y plaquetas de caballos positivos a *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp*.

Se obtuvo que el promedio de recuento de glóbulos rojos (RBC) fue de $7\pm 1,40 \times 10^{12}/L$. De los 20 caballos, 4 (20%), tuvieron valores bajos o cercanos al límite inferior del intervalo de referencia señalado para caballos (IR: 5,38- $13,0 \times 10^{12}/L$). los 16 (80%) no manifestaron alteraciones en el recuento, mostrándose dentro de los IR señalados para caballos.

Con respecto a la hemoglobina (HGB), se obtuvo una media de $125\pm 24,4 g/L$, se evidenció que 4 (20%) presentaron valores disminuidos, 2 caballos (10%) presentaron HGB sobre el límite superior del IR señalado para equinos (IR: 108- $150 g/L$), los 14 restantes (70%) no presentaron alteraciones.

Con respecto al hematócrito (HCT), se obtuvo una media de $0,268\pm 0,051 L/L$ se evidenció que 13 (65%) presentaron valores disminuidos en relación al IR señalado para equinos (IR: 0,280- $0,460 L/L$), 7 (35%) caballos no presentaron alteraciones en el HCT.

El volumen plaquetario medio (MPV) tuvo una media de $4,4 \pm 0,4^{\text{fL}}$, se evidenció que 17 (85%) caballos, tuvieron un MPV por debajo de los límites referenciales establecidos (IR: 5,0- 0,9^{fL}). Los 3 (15%) restantes no presentaron alteraciones.

En relación al volumen corpuscular medio (MVC), se obtuvo una media de $38,7 \pm 3,7^{\text{fL}}$. De los 20 caballos muestreados, 6 (30%) presentaron valores bajos en relación al IR señalados para equinos (IR: 36,0- 55,0^{fL}) los 14 (70%) no presentaron alteraciones.

En relación a la concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC), la media fue de $4642,9 \pm 9,3 \text{ g/L}$. Los 20 caballos muestreados presentaron valores sobre el límite de referencia establecido para caballos (IR: 360-426^{g/L}).

Con respecto a las de plaquetas (PLT) la media fue de $146,0 \pm 54,3 \times 10^9/\text{L}$. De los 20 animales muestreados, 5 (25%) mostraron valores inferiores al intervalo de referencia señalado para caballos, los 15 (75%) restantes, no presentaron alteraciones.

En relación a los parámetros de: hemoglobina corpuscular media (MCH) amplitud de distribución eritrocitaria (RDW) distribución de plaquetas (PDW) procalcitonina (PCT) no se evidenciaron alteraciones.

Estos resultados se pueden apreciar en su totalidad en las tablas 1 y 2.

4.2 Identificación de las alteraciones más frecuentes en glóbulos blancos de caballos positivos a *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*

El promedio de glóbulos blancos (WBC) fue de $7,7 \pm 3,6 \times 10^9/\text{L}$. De los 20 caballos, 8(40%) presentaron leucopenia, los 12 (60%) restantes se

mantuvieron dentro de los intervalos de referencia señalados para caballos (IR: 5,0-11,0^{5x10⁹/L}).

En relación al recuento absoluto de glóbulos blancos, se evidenció lo siguiente: la media de los linfocitos (LYMP) fue de 3,4±1,0^{5x10⁹/L}, se evidenció linfopenia en 1 (5%) caballo, mientras que los 19 (95%) mantuvieron valores dentro de los intervalos referenciales para equinos (IR: 1,4-5,6^{5x10⁹/L}). Los monocitos (MON) mostraron un promedio de 0,3^{5x10⁹/L}. se evidenció monocitopenia en 10 (50%) caballos, 3(15%) presentaron monocitosis y los 7 (35%) restantes, mantuvieron valores dentro de los intervalos de referencia (IR: 0,2-0,8^{5x10⁹/L}).

Los granulocitos (GRAN) mostraron una media de 4,0±3,3^{5x10⁹/L}, 10 (50%) evidenciaron agranulocitosis, 6 (30%) mostraron granulocitosis y 4 (20%) no evidenciaron alteraciones en el intervalo de referencia (IR: 2,8-6,8^{5x10⁹/L}).

En relación al recuento relativo, se obtuvo los siguientes datos: no existió alteración en los linfocitos ni monocitos, sin embargo 3 (15%) caballos presentaron agranulocitosis, 2 (10%) presentaron granulocitosis y los 15 (75%) restantes, no presentaron alteraciones dentro de su intervalo de referencia (IR: 20-70%). La media relativa fue de 43,4±21,7%.

Los resultados se pueden apreciar de mejor manera en las tablas 3 y 4.

4.3 Identificación de las alteraciones morfológicas más frecuentes en glóbulos rojos y blancos en caballos positivos a *Ehrlichia spp.*, y *Babesia spp.*

La anisocitosis se presentó en 19 (95%) caballos (1+), seguida de rouleaux (1+) en 9 (45%) individuos y cuerpos de Heinz (2+) en 7 (35%) animales de los 20 muestreados. La alteración morfológica más frecuente que se encontró en

los glóbulos blancos de caballos fueron los neutrófilos tóxicos, presentándose en 11 (55%) de los 20 individuos muestreados. La morfología de los glóbulos blancos fue normal 10 (50%) de los animales muestreados, mientras que los 10 (50%) restantes, presentaron neutrófilos tóxicos. Los 20 (100%) de caballos evidenciaron ausencia de blastos

El plasma no tuvo alteraciones micro y macroscópicas evidentes, la media de las proteínas totales (PT) fue de $72 \pm 7,6$ g/L, la cual estuvo dentro del intervalo de referencia señalado para equinos (IR: 58-87 g/L).

Los resultados se pueden apreciar de mejor manera en la tabla 5.

Tabla 1. Estadística descriptiva ($\bar{x} \pm$) de las alteraciones en los valores de glóbulos rojos (RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, MPV, PDW, PCT) obtenidos mediante hemograma, en caballos positivos a *Babesia spp.*

CABALLOS		ANALITOS									
#	RBC x10 ¹² /L	HGB g/L	HCT L/L	MCV f/L	MCH pg	MCHC g/L	RDW %	PLT x10 ⁹ /L	MPV f/L	PDW x10 ⁹ /L	PCT μmol/L
1	8,87	169**	0,357	40,3	19,0	473**	17,1	127	4,4*	16,4	0,55
2	5,50*	111	0,246*	44,8	20,1	451**	15,9	93*	5,1	16,0	0,47
3	9,31	157**	0,336	36,1*	16,8	467**	17,6	122	4,6*	16,2	0,56
4	3,33*	63*	0,137*	41,3	18,9	459**	16,7	41*	4,0*	15,8	0,16
5	7,47	145	0,317	42,5	19,4	457**	15,9	93*	5,0*	16,2	0,46
6	6,43	122	0,263*	41	18,9	463**	16,3	87*	4,9*	16,1	0,42
7	6,63	122	0,260*	39,3	18,4	469**	15,8	12	4,5*	16,1	0,54
8	6,06	115	0,257*	42,5	18,9	447**	16,3	96	4,3*	16,3	0,41
9	7,52	142	0,310	41,3	18,8	458**	15,9	105	5,0	16,4	0,52
10	7,37	128	0,274*	37,3	17,3	467**	16,2	85*	4,5*	16,3	0,38
11	7,31	132	0,282*	38,6	18,0	468**	17,5	210	4,2*	16,0	0,88
12	7,40	111	0,231*	31,3*	15,0	480**	18,7	227	4,0*	15,9	0,9
13	5,20*	105*	0,235*	45,3	20,1	446**	17,4	210	3,9*	16,1	0,81
14	6,61	101*	0,212*	32,2*	15,2	476**	18,2	214	4,4*	15,7	0,94
15	7,28	119	0,254*	35,0*	16,3	468**	18,1	194	4,3*	16,1	0,83
16	7,74	142	0,300	38,8	18,3	473**	18,4	205	4,1*	16,0	0,84
17	7,98	128	0,270*	33,9*	16,0	474**	18,1	196	4,3*	16,0	0,84
18	7,96	148	0,308	38,8	18,3	474**	18,7	171	5,0	16,2	0,85

19	5,14*	87*	0,189*	36,9*	16,9	460**	16,2	144	4,3*	16,2	0,61
20	8,61	149	0,318	37,	17,3	468**	18,0	179	4,0*	16,0	0,71
PROM	7,0	125	0,268	38,7	17,9	464,9	17,2	146	4,4	16,1	0,6
DESVEST	1,4	24,4	0,051	3,7	1,5	9,3	1,0	54,3	0,4	0,18	0,2

*resultados bajo en relación al IR **resultados altos en relación al IR.

RBC: células rojas, HGB: hemoglobina, HCT: hematócrito, MCV: volumen corpuscular medio, MCH: hemoglobina corpuscular media, MCHC : concentración de hemoglobina corpuscular media, RDW: amplitud de distribución eritrocitaria, PLT: plaquetas, MPV: volumen plaquetario medio, PDW: distribución de plaquetas, PCT: procalcitonina.

Tabla 2. Estadística descriptiva ($\bar{x} \pm$) de las alteraciones en los valores de glóbulos blancos (LYMP, MON, GRAN) obtenidos mediante hemograma, en caballos positivos a *Babesia spp.*

Caballos	ANALITOS							
	#	WB C x10 ⁹ /L	LYM P x10 ⁹ /L	MO N x10 ⁹ /L	GRA N x10 ⁹ /L	LY M %	MO N %	GRA N %
1		4,7*	3,5	0,1*	1,1*	74,5	2,9	22,6
2		5,4*	3,6	0,1*	1,7*	66,0	2,7	31,3
3		5,6*	4,2	0,1*	1,2*	73,4	4,4	22,2
4		2,4*	1,9*	0,1*	0,5*	77,9	3,0	19,1*
5		5,1*	3,6	0,1*	1,3*	69,9	3,8	26,3
6		3,2*	2,5	0,1*	0,6*	77,0	4,5	18,5*
7		5,1*	3,5	0,1*	1,4*	67,4	4,9	27,7
8		6,6	4,9	0,1*	1,5*	74,7	2,4	22,9
9		5,6*	4,2	0,1*	1,2*	74,9	4,4	20,7*
10		6,0	4,5	0,1*	1,4*	74,5	2,5	23,0
11		8,9	3,3	0,3	5,3	37,6	3,4	59,0
12		13,3	4,3	0,9*	8,1**	32,7	7,1	60,2
13		7,3	2,4	0,3	4,6	32,4	4,3	63,3
14		9,6	5,1	0,4	4,1	53	4,8	42,2
15		16,2	2,12	1,2*	12,8*	13,7	7,5	78,8*
16		10,7	3,9	0,3	6,5**	36	3,3	60,7
17		9,7	3,5	0,5	5,7	36	4,8	59,2
18		8,6	2	0,4	6,2**	23,7	4,8	71,5

19	9,6	2,1	0,7	6,9**	21,9	7,4	70,7*
20	11,0	2,9	0,6	7,5**	26,5	5,7	67,7
PROM	7,7	3,4	0,3	4,0	52,2	4,4	43,4
DESVEST	3,5	1,0		3,3	22,8	1,5	21,7

*resultados bajo en relación al IR **resultados altos en relación al IR, WBC: células blancas, LYMP: linfocitos, MON: monocitos, GRAN: granulocitos. LYMP%: recuento relativo de linfocitos, MON%: recuento relativo de monocitos, GRAN%: recuento relativo de granulocitos

Tabla 3. Porcentaje (%) de las alteraciones en los valores de glóbulos rojos (RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, MPV, PDW, PCT) obtenidos mediante hemograma, en caballos positivos a *Babesia spp.*

ANALITOS	N	Bajo límite IR	%	Sobre límite IR	%	Sin alteración	%
RBC	20	4	20%	0	0%	16	80%
HGB	20	4	20%	2	10%	14	70%
HCT	20	13	65%	0	0%	7	35%
MCV	20	6	30%	0	0%	14	70%
MCH	20	0	0%	0	0%	0	100%
MCHC	20	0	0%	20	100%	0	0%
RDW	20	0	0%	0	0%	20	100%
PLT	20	5	25%	0	0%	15	75%
MPV	20	17	85%	0	0%	3	15%
PDW	20	0	0%	0	0%	20	100%
PCT	20	0	0%	0	0%	20	100%

RBC: células rojas, HGB: hemoglobina, HCT: hematócrito, MCV: volumen corpuscular medio, MCH: hemoglobina corpuscular media, MCHC : concentración de hemoglobina corpuscular media, RDW: amplitud de distribución eritrocitaria, PLT: plaquetas, MPV: volumen plaquetario medio, PDW: distribución de plaquetas, PCT: procaltitonina.

Tabla 4. Porcentaje (%) de las alteraciones en los valores de glóbulos blancos (WBC, LYMP, MON, GRAN) obtenidos mediante hemograma, en caballos positivos a *Babesia spp.*

Analitos	N	Bajo límite IR	%	Sobre límite IR	%	Sin alteración	%
WBC x10 ⁹ /L	2	8	40%	0	0%	12	60%
LYMP x10 ⁹ /L	2	1	5%	0	0%	19	95%
MON	2	10	50%	2	15%	7	35%

x10 ⁹ /L	0		%		%		
GRAN	2	10	50	6	30	4	20%
x10 ⁹ /L	0		%		%		
LYMP%	2	0	0%	0	0%	20	100
	0						%
MON%	2	0	0%	0	0%	20	100
	0						%
GRAN%	2	3	15	2	10	15	75%
	0		%		%		

WBC: células blancas, LYMP: linfocitos, MON: monocitos, GRAN: granulocitos. LYMP%: recuento relativo de linfocitos, MON%: recuento relativo de monocitos, GRAN%: recuento relativo de granulocitos

Tabla 5. Alteraciones morfológicas de glóbulos rojos y blancos, observación micro y macroscópica de plasma, bioquímica de PT (g/L) expresada en (x±) en caballos positivos a *Babesia spp.*

CABALLOS	GLÓBULOS ROJOS			GLÓBULOS BLANCOS		OBSERVACIÓN MICRO-MACROSCÓPICA	BIOQUÍMICA
	#	Roleux	Anisocitosis	Cuerpos de Heinz	Neutrófilos	Blastos	Plasma
1	1+	1+	2+	N	NEGATIVO	N	72
2		1+	2+	N	NEGATIVO	N	72
3	1+		2+	N	NEGATIVO	N	72
4	1+	1+	2+	N	NEGATIVO	N	62
5	1+	1+	2+	N	NEGATIVO	N	75
6	1+	1+	2+	N	NEGATIVO	N	72
7	1+	1+	2+	N	NEGATIVO	N	62
8	1+	1+	2+	N	NEGATIVO	N	68
9	1+	1+	2+	N	NEGATIVO	N	60
10	1+	-	-	N	NEGATIVO	N	80
11	-	1+	-	NT	NEGATIVO	N	80
12	-	1+	-	NT	NEGATIVO	N	68
13	-	-	-	NT	NEGATIVO	N	80
14	-	1+	-	NT	NEGATIVO	N	68
15	-	1+	-	NT	NEGATIVO	N	93
16	-	1+	-	NT	NEGATIVO	N	70
17	-	1+	-	NT	NEGATIVO	N	70
18	-	1+	-	NT	NEGATIVO	N	82
19	-	1+	-	NT	NEGATIVO	N	70
20	-	1+	-	NT	NEGATIVO	N	72

x 72
± 7,6

N: normal, NT: neutrófilos tóxicos, PT: proteínas totales, - no hay presencia.

5. Discusión

De los caballos muestreados dieron positivo a *Babesia spp.*, el 100 % y ninguno de ellos presentó al examen clínico fiebre, ictericia, anemia o emaciación, discrepando con Calderón y col (2013), en cuyo trabajo observaron una frecuencia de presentación de *Babesia spp.*, del 18,25% en caballos en la región de Córdoba, Colombia.

En el caso del actual estudio, no se analizó frecuencia ya que usó el n° (20) disponible de équidos del harás, por tanto la frecuencia de aparición va a ser bastante grande, en relación a otros estudios donde se usaron arriba de una centena de unidades experimentales.

En la presente investigación se obtuvo un 65% de caballos con HCT bajo en relación al intervalo de referencia señalado para equinos (IR: 0,260-0,480 L/L), compatible con anemia, este porcentaje es superior a lo reportado por Díaz-Sánchez y col (2018) donde encontraron anemia en el 27,5% de caballos muestreados. Sin embargo, Calderón y col (2013), reportaron un 33% de anemia en sus investigaciones.

Cabe mencionar que la diferencia porcentual de anemia en caballos positivos a *babesia spp.*, se establece por factores como: expresión de los resultados (ya sean en % o L/L) y muestras con n° variables. Sin embargo, el

HCT bajo (o VGA, abreviación de volumen globular agregado) en positivos se debe a la destrucción del glóbulo rojo por acción del protozoo.

Se ha reportado que la infección con *T. equi* causa anemia más severa que en las infecciones con *B. caballi*, así también los signos clínicos son más graves y de presentación aguda Vrs *B. caballi*, cuya cronicidad es sostenida en el tiempo, a pesar de que no se hizo PCR para determinar cuál tipo de babesia presentaron, se infiere que es posible que los caballos del presente estudio, tuviesen *B. caballi*., (Sumbria y col, 2017).

No obstante, la causa de anemia es multifactorial y bastante compleja todas las especies, sobretodo en la equina, ya que la respuesta de la médula ósea a la pérdida de eritrocitos puede estar comprometida por anemias de origen hemorrágico, lisis de hematíes por anemia hemolítica, o la falta de producción de eritrocitos por anemia hipo proliferativa. (Lording y col, 2011)

Otra situación típica de caballos deportivos es el secuestro esplénico de glóbulos rojos en respuesta al ejercicio, lo que puede significar un incremento de hasta el 60% del hematócrito sistémico, por tanto el monitoreo del hematocrito debe ser constante para determinar anemias o presencia de hemoparásitos. (Zobba y col, 2011)

Conceptualmente, la HGB es una hemoproteína, cuya función es el transporte de O₂ desde las células pulmonares hasta el resto de los tejidos, así mismo transporta el CO₂ de los tejidos hasta las células pulmonares para su eliminación, por ende participa en la mantención de pH sanguíneo. Dependiendo de la cantidad de HGB, recordemos que es un pigmento que le da el típico color rojo a los hematíes, se pueden clasificar las anemias en: hipo o normo crómicas y al evaluarse junto con los rangos de HCT, MCV y MCH, se

puede establecer si dichas anemias son regenerativas o no. (Paoli y col, 1996).

En el caso particular de la presente investigación, el 20% de caballos presentó rangos de HGB bajo, estos mismos, presentaron HCT bajo, 2 de ellos presentaron MCV bajo y el MCH sin ningún tipo de alteración, contrastando con Díaz-Sánchez y col (2018), donde reportan solo un 7% de hemoglobina baja en equinos.

El 100% de los caballos del presente trabajo investigativo, evidenciaron valores elevados de la concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC), autores señalan que valores fuera de los IR (330-426 g/L) son compatibles con anemia hemolítica, podemos inferir, en este caso, que la anemia hemolítica es uno de los signos característicos de babesiosis en caballos.

Según Morris (2002), esta situación que debe ser tratada de manera detallada, ya que el equino tiene ciertas particularidades hematológicas: a) los glóbulos rojos son pequeños ($5,7\mu$) y tienden apilarse lo cual genera una mayor tasa de sedimentación eritrocitaria en relación a canes y félidos, b) inestabilidad del hematocrito por la especial anatomía esplénica.

Cualquier tipo de estrés genera secuestro de hematíes por el bazo, causando primero una disminución de HCT, lo cual desencadena la liberación de eritrocitos de depósito a la sangre periférica, aumentado hasta en un 50% el hematocrito, hemoglobina y concentración de hemoglobina corpuscular media (Morris, 2002). Por tanto, inferimos, que el aumento del MCHC, se debe más a una respuesta de estrés durante la toma de muestra sanguínea, que una anemia hemolítica *per se*.

Con respecto a la integridad plaquetaria, el 25% de los caballos positivos a *Babesia spp.*, presentó trombocitopenia. Uno de los signos clásicos en babesiosis es la baja de plaquetas, y puede ser producido por a) incremento de la destrucción de glóbulos rojos a nivel periférico, b) incremento de la destrucción a nivel esplénico o hepático (Morris, 2002). Recordemos que, *Babesia spp.*, destruye los hematíes generando sobrecargo esplénico, lo cual justificaría la trombocitopenia en los casos positivos.

En relación a los glóbulos blancos, se evidenció que el 40% presentó reducción en el recuento de WBC en relación al IR, contrastando con Díaz-Sánchez y col (2018) en cuyo estudio reporta el 17,1%. Es importante señalar, que esta leucopenia es provocada por monocitopenia y agranulocitosis, ya que los mismos sujetos presentan alteraciones tanto en monocitos y granulocitos, por tanto es de esperar que esto sea una respuesta mediada por una infección reciente.

El restante 15% de caballos presentaron monocitosis y el 10% granulocitosis, lo cual nos habla de un proceso infeccioso crónico o de aparición a mediano plazo, en donde el sistema inmune está tratando de controlar al antígeno (Kaneko, 2005).

En estudios experimentales realizados en canes, se ha demostrado que la leucopenia está presente en casos complicados leves y graves (46- 31%) y no complicadas (60%) evidenciando que al inicio de la infección, el recuento de WBC decrece entre los primeros 5 días de infección, mejorando dentro del IR hacia los días 10 u 11, sin embargo esta evolución, depende de la respuesta inmune, tipo de babesia y curso de la enfermedad (Schetters y col, 2009).

El 95% de los caballos presentaron anisocitosis, tal como es de esperarse en pacientes con algún grado de anemia, sin embargo, no se evidenció alteración en la amplitud de distribución eritrocitaria (RDW). Podemos inferir en este caso, que la anisocitosis, puede estar ligada al tamaño del eritrocito equino lo cual hace más fácil que se apile y al momento de observar el frotis se vean células de diferentes tamaños. (Sellon y Wise, 2010).

El 35% presentó cuerpos de Heinz (2+) y tal como se lo indica en las tablas 1 y 2. Según lo reportado por Sellon y Wise (2010) estos son agregados de hemoglobina precipitada por desnaturalización oxidativa, haciendo frágiles a los eritrocitos y acortando su periodo de vida (vida media del eritrocito es de 150d) haciéndolos más susceptibles a la hemólisis intravascular o extravascular. En el caso particular de esta investigación, el 30% presentó alteraciones en los valores de HGB, lo cual indica fragilidad de los hematíes derivada a la presencia de *Babesia spp.*

El 45% de los caballos presentaron Roleux. Kaneko y col (2005), atribuyen que esta alteración se presenta por que la superficie de los glóbulos rojos es plana y al hacer contacto se apilan, por tanto no es de extrañar que entre el 30% o 40% de hematíes equinos presenten esta formación. Es posible que en ciertos casos, ocurra este “fenómeno” Roleux cuando las proteínas plasmáticas son altas, incrementado también la velocidad de sedimentación de los eritrocitos, lo cual podría ser un signo inespecífico de enfermedad (Kaneko, 2005). (Y., 2010)

Se puede inferir, que el Roleux, evidenciado en los glóbulos rojos de estos caballos, no ocurrió por la babesiosis, sino por el apilamiento de estos al

generar contacto, ya que las proteínas plasmáticas (PT) se muestran dentro del intervalo de referencia señalado para caballos adultos.

La presencia de neutrófilos tóxicos en el 50% de los caballos sugiere presencia de infección e inflamación, lo cual era de esperarse en enfermedades hemoparasitarias, por respuesta de proteínas de fase aguda, las cuales no fueron medidas dentro de este estudio.

6. Conclusiones

Luego del trabajo investigativo desarrollado en los 20 caballos del Rancho “El Relincho”, se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- No hay presencia de *Ehrlichia spp.* pero se pudo diagnosticar la presencia de *Babesia spp* en un 100 %
- La alteración más frecuente en glóbulos rojos positivos a *Babesia spp* fue el MPV bajo en relación al IR en el 85%, seguido por HCT bajo en el 65% de los caballos muestreados.
- La alteración de mayor frecuencia en glóbulos blancos fue la monocitopenia y agranulocitosis con el 50% respectivamente.
- La alteración morfológica más importante en glóbulos rojos fue la anisocitosis, encontrada en el 95% de los caballos muestreados.

7. Recomendaciones

A fin de hacer de las investigaciones de pre grado mucho más científicas, se recomienda incentivar realizar PCR para poder secuenciar el tipo de Babesia presente en los caballos del trabajo.

Así mismo, se recomienda difundir y educar a los criadores sobre la importancia clínica de estas enfermedades hemoparasitarias.

Se recomienda también, el control de vectores, ya que es un hecho de que existe presencia de garrapatas en todas las explotaciones pecuarias.

8. Bibliografía

Allison R, Little S. 2013. Diagnosis of rickettsial diseases in dogs and cats. *Vet. Clin. Pathol.* 42(2):127-144.

Aguiar D, Cavalcante G, Pinter A, Gennari S, Camargo L, Labruna M. 2007. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. *J. Med. Entomol.* 44(1):126-132.

Castellanos R, Canelón J, Calzolaio V, Aguinaco F, López A y Montesinos R. 2010. Estudio hematológico y detección de hemoparásitos en caballos criollos venezolanos de dos hatos del estado apure, Venezuela. *Rev. Cient. Maracaibo.* ISSN 0798-2259

Díaz-Sánchez A, Fonseca-Rodríguez O, Del Castillo Domínguez L, Alfonso-Dorta Y, Lobo-Rivero E, Corona-González B, Vega-Cañizares E. Alteraciones hematológicas encontradas en caballos (*Equus caballus*)

infectados con *Babesia caballi* y *Theileria equi*. Cuba. Rev. Salud Anim., Vol. 40, No. 1 (enero-abril 2018), ISSN: 2224-470

Dutra F, Schuch L, Delucchi E, Curcio B, Coimbra H, Raffi M, Dellagostin O, Riet-Correa F. 2001. Equine monocytic Ehrlichiosis (Potomac horse fever) in horses in Uruguay and southern Brazil. *J Vet Diagn Invest* 13:433–437

Faccioli, V., 2011. Garrapatas (Acari: *Ixodidae* y *Argasidae*) de la colección de invertebrados del Museo Provincial de Ciencias Naturales Florentino Ameghino

Forlano M, Mujica F, Coronado A, Meléndez RD, Linardi PM, Botelho JR, Bellosta P, Barrios N. 2008. Especies de *Amblyomma* (Acari: *Ixodidae*) parasitando perros (*Canis familiaris*) en áreas rurales de los estados Lara, Yaracuy, Carabobo y Falcón, Venezuela. *Rev. Cient. FCV-LUZ*. 18(6):662-666.

Harrus S. 2015. Perspectives on the pathogenesis and treatment of canine monocytic Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). *Vet. J.* 204(3):239-240.

Kelly PJ. 2000. Canine Ehrlichiosis: an update. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 71(2):77-86

King L. 2004. Enfermedades zoonóticas emergentes y reemergentes: desafíos y oportunidades. Paris.

Kaneko. J, Harvey. J, Bruss. 2008. CLINICAL BIOCHEMISTRY OF DOMESTIC ANIMALS. M. Sixth edition. 916 pág.

López A, Alfaro A, Sancho E. 2001. Aspectos importantes sobre la *Ehrlichia* spp., en caballos de Costa Rica. Escuela de Medicina Veterinaria, UNA. APDO 86-3000, Heredia, Costa Rica.

Lording PM. Erythrocytes. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 2008; 24(2):225-237. 28.

Madigan John E and Pusterla Incola. 2000. Ehrlichial Diseases. In The Veterinary Clinics of North America. *Equine Practice*. Ed W B Saunders Company 16(3):487-497.

Morris DD. Clinical evaluation of the hemolymphatic system. En: Colahan PT, Mayhew IG, Merritt AM, Moore JN editors. *Equine Medicine and Surgery*: Vol. II. 4^a ed. California: American Veterinary Publications 1991, p 1753-1754.

Morris DD. Alterations in the Erythron. En: Smith BP eds/Carlson GP consultig ed. *Large Animal Internal Medicine*. 3^a ed. St. Louis: Mosby 2002, p 415-419.

Morris DD. Diseases of the Hemolymphatic System. En: Reed SM, Bayly WM, eds. *Equine Internal Medicine*. Philadelphia: WB Saunders 1998, p 558-60

Mylonakis ME, Koutinas AF, Billinis C, Leontides LS, Kontos V, Papadopoulos O, Rallis T, Fytianou A. 2003. Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a comparison between five methods. *Vet. Microbiol.* 2:91(2-3):197-204.

Paoli M, Liddington R, Tame J, Wilkinson A, Dodson G (March 1996). "Crystal structure of T state haemoglobin with oxygen bound at all four haems". *J. Mol. Biol.* 256 (4): 775–92. DOI:10.1006/jmbi.1996.0124

Pérez R. 2010. *Farmacología Veterinaria*. Universidad de Concepción. FCV. Dpto. CC Clínicas. 417 pág.

Rikihisa Y. 2010. *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis*: subversive manipulators of host cells. *Nat. Rev. Microbiol.* 8(5):328-339.

Sumbria D, Singla LD, Sharma A, Bal MS, Randhawa CS. Molecular survey in relation to risk factors and haematobiochemical alteration in *Theileria*

equi infection of equines in Punjab Province, India. *Vet Parasitol: Regional Studies and Reports*. 2017;8:43-50.

Zobba R, Ardu M, Niccolini S, Cubeddu F, Dimauro C, Bonelli P, et al. Physical, Hematological, and Biochemical Responses to Acute Intense Exercise in Polo Horses. *J Equine Vet Sci*. 2011; 31 (9):542-548