

## Piroplasmosis equina

### Equine Piroplasmosis

Adrian Alberto Díaz-Sánchez <sup>1</sup>, Lisset Roblejo-Arias <sup>1</sup>,

Roxana Marrero-Perera <sup>1</sup>, Belkis Corona-González <sup>1\*</sup>

<https://eqrcode.co/a/UZEB0e>



<sup>1</sup>Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Carretera de Tapaste y Autopista Nacional km 22 1/2, CP 32700 San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

**RESUMEN:** Las enfermedades transmitidas por vectores en el equino constituyen un problema emergente y reemergente en todo el mundo, debido a que causan un enorme impacto económico en los rebaños equinos afectados. La piroplasmosis equina se considera como la enfermedad transmitida por vectores más importante que afecta a la especie equina, que incluye a caballos, asnos, mulas y cebras. Esta enfermedad es causada por los parásitos intraeritrocíticos *B. caballi* y *T. equi*, principalmente en regiones de clima tropical, subtropical y templado, donde la enfermedad es endémica. Estos hemoparásitos son responsables de importantes pérdidas económicas en la industria equina, que incluyen los costos por tratamiento veterinario, abortos, la disminución en el desempeño, la muerte de los animales en casos agudos de la enfermedad; además de la imposición de restricciones internacionales para la exportación o la participación en eventos ecuestres deportivos y expositivos de animales seropositivos a *B. caballi* o *T. equi*. Los ensayos de cELISA para *T. equi* y *B. caballi* son las pruebas de diagnóstico recomendadas por la Organización Mundial de Sanidad Animal para el movimiento internacional de equinos. Se describen diferentes terapias de tratamiento para el control y la esterilización de ambos hemoparásitos en los equinos infectados. El presente trabajo tuvo como objetivo proporcionar información sobre los principales aspectos relacionados con la piroplasmosis equina.

**Palabras clave:** piroplasmosis equina, babesiosis, fiebre biliar, *Babesia caballi*, *Theileria equi*.

**ABSTRACT:** Vector-borne diseases in horses are an emerging and re-emerging problem worldwide, because they have a huge economic impact on affected equine herds. Equine piroplasmosis is considered the most important vector-borne disease affecting the equine species, which includes horses, donkeys, mules and zebras. This disease is caused by the intra-erythrocyte parasites *B. caballi* and *T. equi*, mainly in tropical, subtropical and temperate climate regions, where the disease is endemic. These hemoparasites are responsible for significant economic losses in the equine industry, including costs for veterinary treatment, abortions, decreased performance, and death of animals in acute cases of the disease; besides the imposition of international restrictions on the export or participation in equestrian sporting and exhibition events of animals seropositive to *B. caballi* or *T. equi*. The cELISA assays for *T. equi* and *B. caballi* are the diagnostic tests recommended by the World Organization for Animal Health for the international movement of equines. Different treatment therapies are described for the control and sterilization of both hemoparasites in infected equines. This paper aimed at providing information on the main aspects related to equine piroplasmosis.

**Key words:** equine piroplasmosis, babesiosis, biliary fever, *Babesia caballi*, *Theileria equi*.

### INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por vectores en la especie equina (EVBD, del inglés *Equine Vector-Borne Diseases*) son causadas por numerosos patógenos transmitidos por diferentes artrópodos vectores, principalmente garrapatas e insectos (1). La piroplasmosis equina se considera la enfermedad transmitida por vectores

más importante que afecta a la especie equina en regiones con clima tropical, subtropical y templado (2). Es una infección intraeritrocítica, aguda, subaguda o crónica, causada por los hematozoos *Theileria equi* y *Babesia caballi* (3). Estos hemoparásitos se transmiten por garrapatas de tipo ixódido de los géneros *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Hyalomma* (4).

\*Autor para la correspondencia: Belkis Corona-González. E-mail: [bcorona@censa.edu.cu](mailto:bcorona@censa.edu.cu)

Recibido: 20/12/2019

Aceptado: 23/02/2020

Esta enfermedad presenta una elevada prevalencia en países endémicos, donde ocasiona un enorme impacto económico en la producción equina, ya que causa daños que van desde una disminución en el rendimiento hasta la muerte del animal (5). El cuadro clínico agudo de la enfermedad en caballos es variable e inespecífico; en el caso de *T. equi* produce una forma clínica más grave que *B. caballi*, pero generalmente, para ambos protozoos está caracterizado por fiebre, edema, debilidad progresiva, pérdida del apetito, además de síntomas de anemia hemolítica que causan membranas mucosas pálidas o ictéricas, taquicardia, taquipnea y pigmenturia, producidas por hemoglobinuria o bilirrubinuria (6,7). Generalmente, los animales nativos en áreas endémicas están infectados y cursan la enfermedad en su forma subaguda o crónica y no muestran ningún síntoma clínico de la infección, ya que la exposición prolongada a los parásitos induce una respuesta inmune eficiente del hospedero. Estos animales desempeñan un papel esencial en la propagación y el mantenimiento de la piroplasmosis equina, ya que constituyen una fuente de infección de *T. equi* y *B. caballi* para vectores competentes, que realizan la transmisión natural de la enfermedad.

La vigilancia epidemiológica es esencial para el establecimiento de programas de medidas dirigidos al control y manejo de la piroplasmosis equina en países endémicos, con el objetivo de reducir el impacto económico de la enfermedad, las afectaciones en el mercado internacional y la introducción en países libres (8). Estos hemoparásitos son responsables de importantes pérdidas económicas en la industria equina, que incluyen los costos por tratamiento veterinario, abortos, la disminución en el desempeño, la muerte de los animales en casos agudos de la enfermedad, además de la imposición de restricciones internacionales para la exportación o la participación en eventos ecuestres deportivos y expositivos de animales seropositivos a *T. equi* y *B. caballi*. El presente trabajo tuvo como objetivo proporcionar información sobre los principales aspectos relacionados con la piroplasmosis equina.

## CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Los hemoprotozoos *T. equi* y *B. caballi* pertenecen a los géneros *Theileria* y *Babesia*, familias Theileriidae y Babesiidae, respectivamente, orden Piroplasmida, en el filo Apicomplexa que es una bifurcación temprana del linaje eucariota, que se caracteriza por presentar mitocondrias con crestas tubulares, complejo apical y citoesqueleto diferenciado (9). *B. caballi* se considera por sus características estructurales y morfológicas, como una especie de “babesia” clásica, perteneciente al grupo de las grandes babesias junto a *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* y *Babesia canis* (10).

En el caso de *B. equi* se clasificó como *T. equi* por Mehlhorn y Schein (11), basado en estudios de sus características estructurales, morfológicas, antigénicas y análisis filogenético. La culminación de la secuenciación del genoma de *T. equi* y posterior análisis filogenético, basado en la secuencia de 150 proteínas putativas, sustenta su posición filogenética como un grupo monofilético independiente de los grupos *Babesia* sensu stricto y *Theileria* sensu stricto, lo cual apoya la hipótesis de la creación de un nuevo género para *T. equi* (12). Sin embargo, este tema aún está en discusión y se necesitan estudios adicionales para determinar finalmente la ubicación taxonómica de este hemoparásito (13).

## CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y MORFOLÓGICAS

Ambos protozoos hemáticos, causantes de la piroplasmosis equina, no producen esporas, carecen de flagelos y cilios, no forman pseudópodos y su locomoción es por flexión o deslizamiento (10). Se caracterizan por la presencia de un complejo apical poco desarrollado y su reproducción asexual es por fisión binaria o esquizogonia en el interior de los eritrocitos equinos (14). Estos parásitos intraeritrocíticos se pueden identificar sobre la base de parámetros morfológicos observados por microscopía óptica en frotis sanguíneos con tinción tipo Romanowsky (Giemsa, Wright, o Diff-Quik) (15). Los merozoitos de *B. caballi* aparecen en el interior de los eritrocitos como

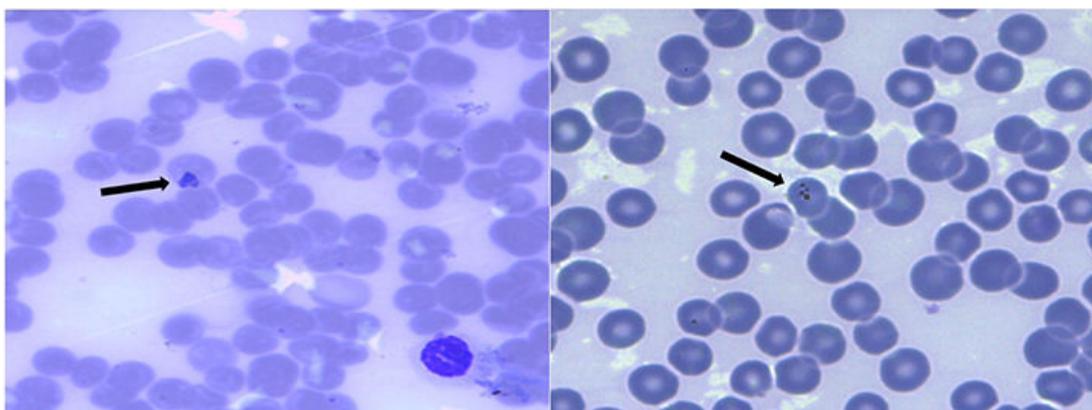
cuerpos periformes unidos en pares por sus extremos posteriores y forman un ángulo agudo entre sí, con dimensiones que varían entre 2 a 5  $\mu\text{m}$  de longitud y 1,3 a 3,0  $\mu\text{m}$  de diámetro (Figura 1A) (16). En el caso de *T. equi*, los merozoitos de este microorganismo son relativamente pequeños con dimensiones menores a 2 a 3  $\mu\text{m}$  de longitud; fáciles de confundir con artefactos de la técnica de tinción, debido a su pequeño tamaño. Al microscopio óptico se observan como estructuras periformes, de forma redonda u ovoide, dispuestos en tétradas formando un arreglo conocido como “Cruz de Malta” (Figura 1B) (16).

### DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

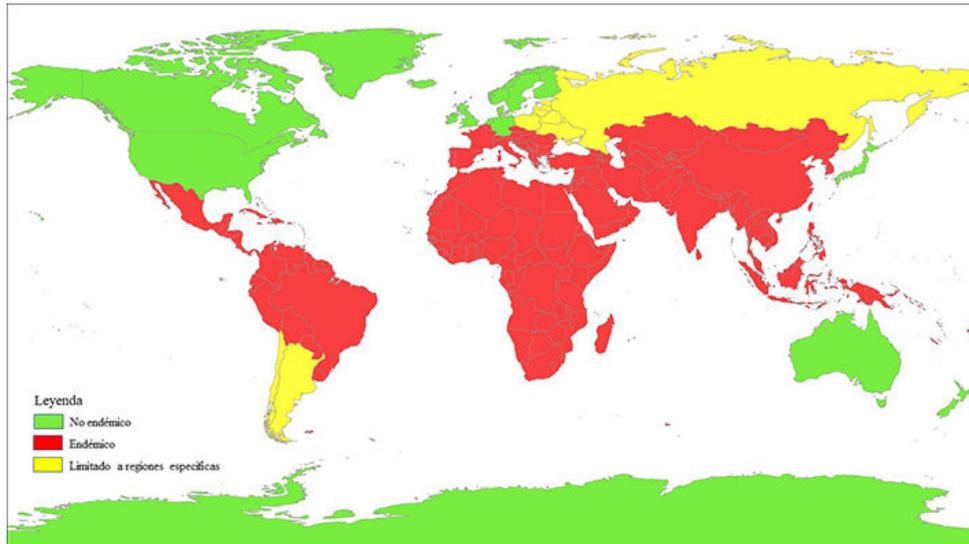
En la actualidad, se reporta que el 90 % de la población equina mundial vive en áreas endémicas de piroplasmosis equina, por lo que se reconoce una distribución global de la enfermedad, principalmente en regiones con clima tropical, subtropical y templado (2) (Figura 2). En informes publicados por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) sobre la distribución geográfica de rebaños equinos infectados, se consideran como regiones endémicas de piroplasmosis equina Centro y Sur América, África, Asia, Oriente Medio y el Sur de Europa (17). En América Latina la enfermedad es enzoótica y se identifica fácilmente en todas las regiones, con excepción del sur de Chile y Argentina. La enfermedad está muy extendida en África (18), con la más alta prevalencia reportada

en Sudáfrica, donde se considera la principal enfermedad en equinos (19). En Europa la piroplasmosis equina se reporta con frecuencia en regiones de España (20), Portugal (21), y el sur de Francia e Italia (22), donde las infecciones por *T. equi* son más frecuentes que las causadas por *B. caballi*.

La prevalencia y distribución de la piroplasmosis equina en las naciones del Caribe son cuestionables; aunque la presencia de *T. equi* y *B. caballi* ha sido reportada en la mayoría de las naciones caribeñas, la información disponible sobre el estado de la enfermedad en la región es escasa e insuficiente (23-25). En Trinidad y Tobago la piroplasmosis equina se diagnostica periódicamente en establos de caballos destinados a actividades hípicas. Sin embargo, solo se reportó la presencia de *T. equi* hasta principios del presente siglo cuando Rampersad *et al.* (26) detectan también *B. caballi* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR del inglés, *Polymerase Chain Reaction*). Según los autores, la detección de *B. caballi* hasta ese momento no se debe a la ausencia del parásito, sino a errores previos en el diagnóstico, debido a dificultades en la diferenciación entre ambas especies de protozoarios. Posteriormente, Asgarali *et al.* (23) en un estudio epidemiológico detectaron una elevada prevalencia de animales seropositivos a *T. equi* y *B. caballi*, con mayor frecuencia de animales positivos para *B. caballi* que para *T. equi*, con valores de 68,8 % y 33,3 %, respectivamente.



**Figura 1.** Visualización al microscopio de cuerpos de inclusión compatibles con (A) *Babesia caballi* y (B) *Theileria equi* en el interior de eritrocitos. Microscopía óptica con lente de inmersión x100. / Microscopic visualization of inclusion bodies compatible with (A) *Babesia caballi* and (B) *Theileria equi* inside erythrocytes. Optical microscopy with immersion lens x100.



**Figura 2.** Mapa de la distribución mundial de la piroplasmosis equina reportada hasta abril de 2020. / *Map of the worldwide distribution of equine piroplasmosis reported up to April 2020.*

Estados Unidos se considera como zona controlada, ya que después de declararse en 1988 como territorio libre de piroplasmosis equina, a partir de 2008 numerosos casos de infección por *T. equi* se han identificado en Florida, California, Georgia, Colorado, Oklahoma y Texas (27,28). Mientras que, países con una importante industria equina como Canadá, Nueva Zelanda, Australia, Japón, Alemania, Reino Unido, Irlanda, los Países Bajos y Escandinavos son considerados libres de piroplasmosis equina (29), donde para la protección de estas regiones solo se pueden importar caballos libres de garrapatas y sin tasas detectables de anticuerpos anti-*B. caballi* o anti-*T. equi*. Australia es el único país donde no se ha establecido la piroplasmosis equina a pesar de la introducción de *T. equi*, probablemente debido a la no existencia de un vector competente (2). Estudios recientes describen que la garrapata común del ganado bovino en Australia fue redescrita como una nueva especie, *Rhipicephalus australis*, cuya diversidad genética entre *R. microplus* y *R. australis* explica la incapacidad de esta última para transmitir *T. equi* y/o *B. caballi* (30,31). Las diferencias en la prevalencia de *T. equi* y *B. caballi* que se reportan entre países endémicos debe evaluarse con precaución, debido a que estos valores pueden estar condicionados por variaciones en las características ambientales locales, las prácticas de manejo aplicadas al rebaño equino

en estudio, la dinámica poblacional de las garrapatas vectores, la aplicación de medidas de control de garrapatas y el principio de las pruebas de diagnóstico empleadas en los diferentes estudios (32).

## TRANSMISIÓN

La transmisión de la piroplasmosis equina está directamente influenciada por la dinámica de las poblaciones de garrapatas que actúan como vectores biológicos, las cuales a su vez están directamente influenciadas por las condiciones climáticas (3). Varias especies de garrapatas de tipo ixódido se han descrito como vectores biológicos o experimentales de la piroplasmosis equina. *Theileria equi* se transmite por 14 especies de garrapatas del género *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus* y *Amblyomma*, mientras que *B. caballi* por 15 especies del género *Dermacentor*, *Hyalomma* y *Rhipicephalus* (Tabla 1) (4). *Theileria equi* se transmite de forma transtadial e intraestadial (33), y *B. caballi* se transmite solo de forma transovárica (Figura 3) (34). La transmisión transovárica de *T. equi* ha sido documentada, pero aún se desconoce su función precisa en la epidemiología de la enfermedad (35).

La transmisión de *T. equi* y *B. caballi* también puede ocurrir de forma iatrogénica directamente entre equinos infectados y sanos. Esto ocurre con

**Tabla 1.** Distribución mundial de las garrapatas vectores de piroplasmosis equina. / *Global distribution of tick vectors of equine piroplasmosis.*

Continentes	Garrapatas vectores	Piroplasmosis equina
África	<i>D. marginatus</i> <sup>a,b</sup> , <i>H. anatolicum</i> <sup>a,b</sup> , <i>H. detritum</i> <sup>a,b</sup> , <i>H. dromedarii</i> <sup>a</sup> , <i>H. excavatum</i> <sup>a</sup> , <i>H. lusitanicum</i> <sup>a</sup> , <i>H. marginatum</i> <sup>a,b</sup> , <i>H. truncatum</i> <sup>b</sup> , <i>R. annulatus</i> <sup>a</sup> , <i>R. bursa</i> <sup>a,b</sup> , <i>R. evertsi</i> <sup>a,b</sup> , <i>R. microplus</i> <sup>a</sup> , <i>R. sanguineus</i> <sup>a,b</sup>	Endémico
Australia	<i>R. australis</i>	No presente
Asia	<i>H. anatolicum</i> <sup>a,b</sup> , <i>H. detritum</i> <sup>a,b</sup> , <i>H. dromedarii</i> <sup>a</sup> , <i>H. arginatum</i> <sup>a,b</sup> , <i>H. uralense</i> <sup>a</sup> , <i>R. microplus</i> <sup>a</sup>	Endémico, excepto Japón
Europa	<i>D. marginatus</i> <sup>a,b</sup> , <i>D. nuttalli</i> <sup>b</sup> , <i>D. silvarum</i> <sup>b</sup> , <i>D. reticulatus</i> <sup>a,b</sup> , <i>H. anatolicum</i> <sup>a,b</sup> , <i>H. detritum</i> <sup>a,b</sup> , <i>H. dromedarii</i> <sup>a</sup> , <i>H. lusitanicum</i> <sup>a</sup> , <i>H. marginatum</i> <sup>a,b</sup> , <i>R. bursa</i> <sup>a,b</sup>	Endémico, excepto el norte de Europa
Norteamérica	<i>A. mixtum</i> <sup>a</sup> , <i>D. albipictus</i> <sup>b</sup> , <i>D. nitens</i> <sup>b</sup> , <i>D. variabilis</i> <sup>a,b</sup> , <i>R. annulatus</i> <sup>a</sup> , <i>R. microplus</i> <sup>a</sup>	Endémico, excepto Estado Unidos y Canadá
Suramérica	<i>A. mixtum</i> <sup>a</sup> , <i>D. nitens</i> <sup>b</sup> , <i>R. annulatus</i> <sup>a</sup> , <i>R. microplus</i> <sup>a</sup>	Endémico

*A* Amblyomma, *D* Dermacentor, *H* Hyalomma, *R* Rhipicephalus

<sup>a</sup> *Theileria equi*

<sup>b</sup> *Babesia caballi*

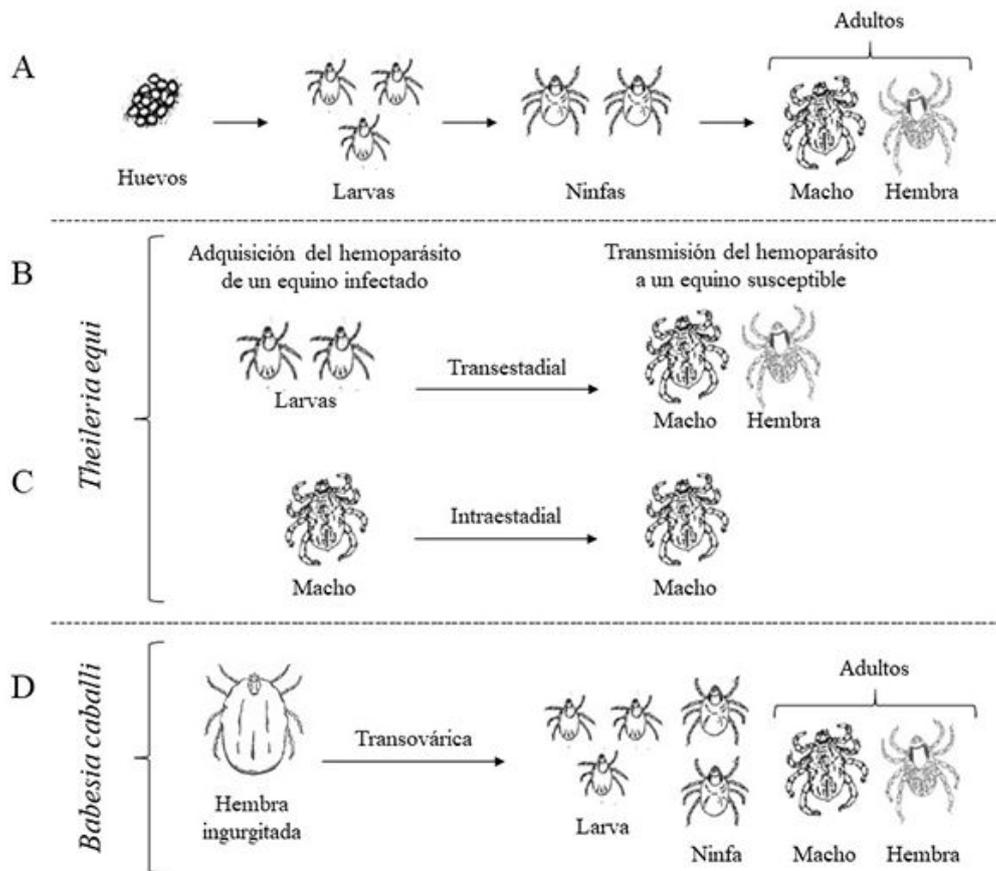
mayor frecuencia mediante el empleo de agujas, jeringas o transfusiones de sangre contaminadas (27), así como durante el intercambio de equipos quirúrgicos, dentales o de tatuaje; aunque está demostrado que el uso de cualquier equipo contaminado con sangre puede resultar en la transmisión de ambos agentes patógenos (36). *T. equi* también se puede transmitir por vía transplacentaria, cuando la infección ocurre en hembras gestantes, aunque comúnmente la infección causa aborto en las etapas finales de la gestación, muerte fetal o infección aguda neonatal (37). Esta vía de transmisión ocasiona enormes pérdidas económicas en rebaños equinos de áreas endémicas, ya que constituye la principal causa de aborto y muerte neonatal (38). La transmisión transplacentaria de *B. caballi* se ha citado en raras ocasiones, y la mayoría de los autores no consideran que la evidencia encontrada sea confiable (37).

## FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD

La prevalencia de la piroplasmosis equina es un reflejo de la distribución de las garrapatas vectores, que varía en función de las diferentes poblaciones y regiones. Cuando el control del vector no se realiza en un área endémica, aproximadamente el 100 % de los animales se encuentran expuestos a hemoparásitos en algún momento de sus vidas (39). Numerosas

investigaciones demuestran la existencia de diferencias en la prevalencia de *T. equi* en equinos sometidos a sistemas de crianza extensiva, semiextensiva e intensiva; así como a actividades de trabajo, paseo y reproducción, debido a que estos animales están sometidos a programas de manejo y control vectorial con diferentes niveles de eficiencia (40). Botteon *et al.* (41) observaron diferencias en la seroprevalencia para *T. equi* en animales sometidos a diferentes sistemas de manejo. En el sistema de crianza extensivo, el 89,58 % de los animales fueron positivos, mientras que en sistema semiextensivo fue 87,89 % y apenas 45,24 % en los animales estabulados, probablemente debido a que estos últimos tienen menos contacto con los vectores.

La especie es un factor de riesgo que se describe en regiones endémicas, donde en rebaños de asnos y mulas se reportan valores de prevalencia para *T. equi* y *B. caballi* significativamente superiores a los caballos. Este resultado está condicionado porque tanto asnos como mulas son animales de trabajo, los cuales son incluidos en escasas ocasiones en los programas de manejo y control de la piroplasmosis equina, aunque ambas especies son reconocidas como reservorios de la enfermedad (42). La edad también se reporta como factor de riesgo asociado al número de animales positivos para uno u otro hemoparásito. Asgarali *et al.* (23)



**Figura 3.** Modelo de transmisión por garrapatas de los agentes etiológicos de la piroplasmosis equina *Theileria equi* y *Babesia caballi*. **(A)** Ciclo de vida de las garrapatas. **(B)** Transmisión transestadial, cuando la adquisición del hemoparásito ocurre en un estadio y la transmisión de la infección ocurre durante los estadios posteriores del ciclo de vida de la garrapata. **(C)** Transmisión intraestadial, cuando la adquisición y transmisión del hemoparásito ocurre completamente dentro de un estadio del ciclo de vida de la garrapata. **(D)** Transmisión transovárica, cuando la hembra ingurgitada adulta adquiere el hemoparásito, los cigotos de *Babesia* se multiplican como ‘vermiculos’ que invaden los ovarios de la garrapata, lo que permite la transmisión del hemoparásito a la siguiente generación de garrapatas. / Tick transmission model of the etiological agents of the equine piroplasmosis *Theileria equi* and *Babesia caballi*. **(A)** Tick life cycle. **(B)** Trans-staging transmission, where acquisition of the haemoparasite occurs at one stage and transmission of the infection occurs during the later stages of the tick life cycle. **(C)** Intrastatistical transmission, when acquisition and transmission of the blood parasite occur entirely within one stage of the tick life cycle. **(D)** Transovarian transmission, when the adult engorged female acquires the haemoparasite, the *Babesia* zygotes multiply as ‘vermicules’ that invade the tick ovaries, allowing the transmission of the haemoparasite to the next generation of ticks.

obtuvieron una mayor frecuencia de anticuerpos anti-*T. equi* en animales de avanzada edad; en cambio, las respuestas de anticuerpos anti-*B. caballi* fueron más comunes en equinos de dos a cuatro años de edad. Estos resultados pueden deberse a que los animales infectados por *T. equi* desarrollan infecciones persistentes, causando

periódicamente una estimulación antigénica que mantiene los niveles de anticuerpos; mientras que las infecciones por *B. caballi* son autolimitadas de uno a cuatro años antes de ser eliminadas de forma natural por el sistema inmunológico del hospedero independientemente de la aplicación de tratamiento (3).

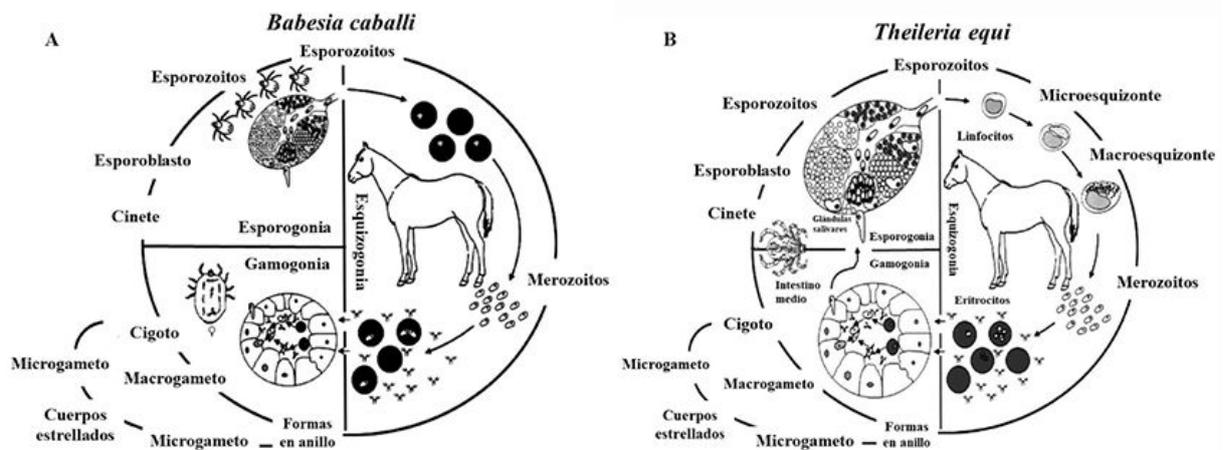
## PATOGENIA, ALTERACIONES CLÍNICAS Y HEMATOLÓGICAS

La fase infectante de *T. equi* y *B. caballi* es el esporozoito, que se multiplica en las glándulas salivales de las garrapatas y se inocula en el hospedero a través de la saliva, la cual posee propiedades antiinflamatorias, por lo que facilita la evasión del sistema inmune del hospedero (43). Una vez en el torrente sanguíneo, los esporozoitos de *B. caballi* se adhieren y penetran directamente la membrana de los eritrocitos equinos por endocitosis, forman una vacuola parasitofora y dentro de esta se multiplican y desarrollan, primeramente en trofozoitos y luego en merozoitos, los cuales son liberados mediante lisis celular e infectan otros eritrocitos (Figura 4A) (44). La invasión inicial de *T. equi* es diferente, ya que primero infecta los linfocitos donde los esporozoitos se convierten en grandes esquizontes y, después de aproximadamente nueve días, se liberan los merozoitos que se adhieren y penetran la membrana de los eritrocitos completando el ciclo similar a *B. caballi*; este evento justifica la más reciente clasificación taxonómica como miembro del género *Theileria* (Figura 4B) (11).

La lisis de los eritrocitos equinos maduros durante la liberación de los merozoitos resulta en diversos grados de anemia hemolítica; los eritrocitos infectados son eliminados de la circulación por macrófagos del bazo, lo cual

agrava aún más el cuadro clínico en animales infectados. Datos obtenidos de animales esplenectomizados infectados experimentalmente indican que la estructura bioquímica de la membrana celular de los eritrocitos sufre cambios drásticos durante la infección por *T. equi*, que conducen a una reducción del flujo sanguíneo microvascular (45). Por su parte, los eritrocitos infectados por *B. caballi* causan microtrombosis mediante el agrupamiento en el interior de los capilares y vasos de pequeño calibre de la circulación periférica, causando éxtasis venoso y vasculitis (46). En caballos coinfectados por *T. equi* y *B. caballi* se observan diversos grados de trombocitopenia registrando tiempos prolongados de coagulación, así como la disminución en el recuento de plaquetas debido a la destrucción mediada por el sistema inmune y el secuestro esplénico (47). En casos graves de piroplasmosis equina se produce hipercoagulabilidad y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, lo cual conlleva a una disfunción multiorgánica sistémica y muerte del animal (6).

Generalmente, la infección por *T. equi* causa una enfermedad clínica más grave que *B. caballi*, con una tasa de mortalidad entre 5 y 10 % en regiones endémicas para rebaños sanos, donde los signos y la gravedad de la enfermedad pueden variar significativamente de una región a otra, dependiendo de la dosis infectiva, el estado general de salud del animal y la administración de tratamiento (39). El periodo de incubación



**Figura 4.** Ciclo de vida de (A) *Babesia caballi* y (B) *Theileria equi* durante la infección en el equino y la garrapata vector. Ilustraciones tomadas de Wise et al. (48). / Life cycle of (A) *Babesia caballi* and (B) *Theileria equi* during infection in the equine and tick vector. Illustrations taken from Wise et al. (48).

varía de 10 a 30 días para *B. caballi* y de 12 a 19 días para *T. equi*, con la presentación de un cuadro clínico de la enfermedad variable y a menudo inespecífico, la cual puede cursar de forma hiperaguda, aguda, subaguda o crónica (48).

Los casos agudos y subagudos son los más comunes; se caracterizan por fiebre intermitente, que suele superar los 40°C, disminución del apetito, pérdida de peso, anorexia, letargo, elevación del pulso y de la actividad respiratoria, congestión de las membranas mucosas y deposiciones fecales más pequeñas y secas de lo normal (49). A menudo se observan petequias causadas por trombocitopenia en las membranas mucosas, incluyendo la membrana nictitante; además de síntomas de anemia hemolítica que causan membranas mucosas pálidas o ictéricas, taquicardia, taquipnea, debilidad y pigmenturia, producida por hemoglobinuria o bilirrubinuria (50). Algunos caballos muestran signos de complicaciones gastrointestinales, como cólicos seguidos de diarrea; en el caso de infección congénita es común que se produzcan abortos o muerte neonatal (51). La mayoría de los caballos infectados, independientemente de exhibir o no síntomas clínicos, muestran algún grado de anemia caracterizada por una disminución de los niveles de hemoglobina, del recuento de eritrocitos y/o del valor de hematocrito (7).

## RESPUESTA INMUNE

La respuesta del sistema inmune ante la infección con *T. equi* y/o *B. caballi* no está completamente definida, pero es sin dudas un fenómeno complejo y multifacético, donde la infección por cualquiera de estos hemoparásitos conlleva al estado de reservorio o portador asintomático que puede conferir protección contra la enfermedad. No existen evidencias sobre la ocurrencia de inmunidad cruzada entre *T. equi* y *B. caballi*, ya que los équidos pueden ser infectados simultáneamente por ambos hemoparásitos (52). El sistema inmune es incapaz de eliminar a *T. equi* del organismo, por lo que los animales desarrollan infecciones persistentes y permanecen como reservorio para la infección de garrapatas que actúan como vectores (53); en el caso de las infecciones por *B. caballi* son

autolimitadas, con una duración de uno a cuatro años después de la infección independientemente de la aplicación de tratamiento veterinario (3).

El bazo juega un papel esencial en el control de la mayoría de las infecciones causadas por hemoparásitos. Estudios experimentales realizados en equinos esplenectomizados muestran que los animales mueren invariablemente a causa de la enfermedad (80 % de eritrocitos parasitados), mientras que los equinos con el bazo son normalmente capaces de superar la enfermedad aguda inducida por *T. equi* (45,54). En cambio, equinos esplenectomizados inoculados experimentalmente con *B. caballi* pueden o no desarrollar la enfermedad, aunque la muerte causada por este hemoparásito ha sido documentada por varios autores (55). Esta discrepancia puede deberse a diferencias en la patogenicidad de la cepa del parásito, la dosis infecciosa, el estado inmunológico y de salud del animal, o a una combinación de factores.

La respuesta de anticuerpos se correlaciona con el control de la parasitemia. En equinos infectados por *T. equi* el sistema inmune produce anticuerpos contra las proteínas inmunodominantes, principalmente contra el antígeno de superficie del merozoito 1 (EMA-1 del inglés, *Equine Merozoite Antigen 1*) (52). Recientemente, la nomenclatura de la IgG equina ha sido reajustada para acomodar los siete genes de cadena pesada de IgG descritos en el genoma equino (56). En la fase aguda de la infección por *T. equi* los niveles de IgG1, IgG4 e IgG7 son altos, lo cual se correlaciona con el control ejercido por el sistema inmune sobre el patógeno. En la fase crónica de la infección se produce un aumento de IgG5 y en menor medida IgG3, fundamentalmente después de eliminar el hemoparásito (57). Los anticuerpos son detectados en los primeros siete a 11 días después de la infección natural, con un pico dentro de los próximos 30 a 45 días (58).

En el caso de *B. caballi* existen muy pocos estudios sobre la respuesta inmune protectora, aunque está demostrado, experimentalmente, que la producción de óxido nítrico por los macrófagos es un mecanismo efector esencial del control inmune contra la infección por *B. caballi* (44). Los anticuerpos que se producen por el sistema inmune van dirigidos contra la proteína asociada

a la ropria-1 (RAP-1 del inglés, *Rhoptry Associated Protein-1*). Esta proteína ha sido parcialmente caracterizada en *B. caballi*, pero varias investigaciones realizadas en infecciones causadas por *B. bovis* evidencian que esta proteína desempeña un papel fundamental en la inducción de la respuesta inmune humoral (59).

Sant *et al.* (37) realizaron estudios en potros procedentes de áreas endémicas en Trinidad y Tobago, y demostraron la existencia de inmunidad pasiva mediante la transmisión de anticuerpos maternos a través del calostro, por lo que solo en raras ocasiones ocurre la presentación clínica de la enfermedad en dichos animales. Otros estudios sobre la duración de los anticuerpos maternos en crías de equinos infectados señalan que estos animales pueden permanecer protegidos durante los primeros tres a nueve meses de edad (60). Con el transcurso del tiempo los anticuerpos maternos disminuyen y el animal se vuelve susceptible, por lo que en regiones endémicas es común que las infecciones por *T. equi* y *B. caballi* se produzcan a temprana edad (48).

## DIAGNÓSTICO

El diagnóstico clínico de la piroplasmosis equina tiene gran importancia en los casos donde se manifiesta clínicamente la enfermedad; los síntomas pueden ser variables, dependiendo de la patogenicidad de la cepa involucrada y de la susceptibilidad del hospedero. Generalmente, los síntomas clínicos son similares a los causados por otras enfermedades como son la anaplasmosis equina, la anemia infecciosa equina, la peste equina africana y la arteritis viral equina, por lo que para hacer un diagnóstico confirmativo es necesario realizar pruebas diagnósticas de laboratorio (61). La inoculación de eritrocitos infectados en caballos esplenectomizados se considera como el método estándar de oro para la detección de animales portadores, pero es costoso y poco práctico para el diagnóstico de rutina (17). Como alternativa, en los últimos años varios estudios han logrado con éxito el cultivo *in vitro* de *B. caballi* (62) y *T. equi* (63) aislados de caballos portadores y cebras (64), pero igualmente la naturaleza laboriosa y costosa hace que sea una metodología inapropiada para su uso

en el diagnóstico de rutina, a pesar de su ventaja de no utilizar caballos vivos (65).

El diagnóstico directo más común de la piroplasmosis equina, dada su alta especificidad, operatividad y bajo costo, es la observación microscópica de frotis sanguíneos, donde los mejores resultados se obtienen con métodos de tinción tipo Romanovsky (Giemsa, Wright, o Diff-Quik) (47). La principal desventaja de esta técnica es su baja sensibilidad analítica, que no permite detectar hemoparásitos en las etapas crónica y subclínica de la enfermedad debido a los bajos niveles de parasitemia (Tabla 2) (66). El diagnóstico serológico de hemoparásitos en el equino se realiza a través de diversos ensayos, como la reacción de fijación del complemento (CFT), la inmunofluorescencia indirecta (IFA) y el enzimoimmunoensayo (ELISA), los cuales por lo general se caracterizan por tener baja especificidad analítica debido a reactividad cruzada entre los anticuerpos contra *T. equi* y *B. caballi* (67,68). En las dos últimas décadas estas herramientas de diagnóstico se han perfeccionado, sobre todo con la introducción de dos ensayos ELISA de tipo competitivo (cELISA), los cuales con el empleo de antígenos recombinantes y anticuerpos monoclonales han demostrado una sensibilidad superior al resto de los ensayos serológicos utilizados (69,70).

**Tabla 2.** Ensayos diagnósticos empleados para la detección de *Theileria equi* y *Babesia caballi*. / *Diagnostic tests used for the detection of Theileria equi and Babesia caballi.*

Ensayo diagnóstico	Fase de la infección	
	Infección aguda	Infección crónica
Frotis sanguíneo	D	ND
PCR	D	D
IFA	D	D
CFT	D	ND
cELISA	D	D

*D* detecta, *ND* no detecta

Actualmente, ambos ensayos de cELISA se comercializan por VMRD (Veterinary Medical Research and Development Inc., Pullman, WA, EE.UU) y han sido establecidos por la OIE como pruebas reglamentarias para el comercio equino

internacional (17). Sin embargo, estos juegos comerciales no están disponibles en todos los países y han presentado problemas en el diagnóstico de *B. caballi* en países como África del Sur (71), Egipto (72), Jordania (73) e Israel (74), debido al amplio polimorfismo encontrado en la región de la proteína RAP-1 que contiene el epítipo celular mAB 79/17.18.5 empleado en el ensayo de cELISA. Otra desventaja de estas técnicas es que no permiten discriminar entre infecciones previas y latentes, incluidas las crías de madres inmunes. No obstante, estos ensayos de cELISA son empleados con frecuencia en estudios epidemiológicos para determinar la seroprevalencia de *T. equi* y *B. caballi* en rebaños equinos de regiones endémicas, que permiten la identificación de los factores de riesgo asociados con las infecciones para la implementación de programas de manejo y control (75).

Las técnicas moleculares basadas en la PCR presentan una mayor sensibilidad, especificidad y eficiencia en el diagnóstico en comparación con las pruebas serológicas y el examen microscópico de frotis sanguíneos (26). Numerosos estudios describen el uso de la PCR en su formato convencional, anidado, multiplex y tiempo real, desarrollados o adaptados para el diagnóstico de *T. equi* y *B. caballi* con el empleo de cebadores basados en las secuencias específicas del gen ARN ribosomal 18S, así como en los genes que codifican para los antígenos de superficie del merozoíto BC48 (*B. caballi*) y EMA-1 (*T. equi*) (76,77). Entre los más empleados se encuentran los ensayos de PCR anidada desarrollados por Battsetseg *et al.* (78) orientados a los genes que codifican para BC48 (*B. caballi*) y EMA-1 (*T. equi*), con excelentes resultados en estudios epidemiológicos, ya que debido a su elevada sensibilidad y especificidad analítica permiten la detección de estos hemoparásitos en equinos y vectores portadores, con bajos niveles de parasitemia. No obstante, el riesgo de contaminación con ADN extraño debido a la manipulación de producto amplificado en una segunda etapa de PCR, constituye el principal inconveniente de esta técnica.

A su vez, los ensayos de nPCR han sido superados por los ensayos de PCR en tiempo real (rtPCR o qPCR del inglés, *real-time PCR*), que son igualmente sensibles, permiten la

cuantificación del producto amplificado y la reacción ocurre en un sistema cerrado que no requiere de la manipulación del producto amplificado, lo que reduce los riesgos de contaminación de las reacciones. Para la detección de *T. equi* y *B. caballi* en rebaños equinos y vectores asociados se han desarrollado diversos ensayos, basados en la técnica del rtPCR tanto en su formato *singleplex* (76,79) como *multiplex* (80). Sin embargo, a pesar de todas las ventajas que ofrece esta técnica, el uso del rtPCR todavía no es una práctica masiva, por lo costoso que resulta el equipamiento y los insumos necesarios (81). En las últimas décadas se han desarrollado nuevas técnicas moleculares como la amplificación isotérmica de ácidos nucleicos, tipo LAMP (82) y pruebas de hibridación reversa (RLB) (83), herramientas con una elevada sensibilidad que permiten la detección y diferenciación simultánea de todas las posibles especies de piroplasmas presentes en una muestra, así como la identificación de nuevas cepas y genotipos (84); sin embargo, la técnica más usada en las rutinas de diagnóstico continúa siendo la PCR.

## TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

En regiones endémicas, el tratamiento de la piroplasmosis equina se utiliza solo como un medio de disminuir los síntomas clínicos y la mortalidad, mientras que en regiones no endémicas que tratan de permanecer libres de piroplasmosis, el tratamiento de los equinos infectados está dirigido a lograr la esterilización quimioterapéutica (85). Se han descrito numerosos fármacos que tienen una eficacia variable en la eliminación de *T. equi* y *B. caballi*, tanto en cultivo celular como *in vivo*. El dipropionato de imidocarbo (IMIZOL®, Schering Plough Animal Health) muestra los mejores resultados y es el principal fármaco utilizado para el tratamiento de la piroplasmosis equina (86,87). La aplicación de un régimen de dosis relativamente altas de dipropionato de imidocarbo, a razón de 4,0 mg/kg de peso corporal administrado cuatro veces a intervalos de 72 h, produce la eliminación eficaz de ambos hemoparásitos de la sangre periférica (88). Estudios experimentales describen que los

caballos tratados recobraron su estado seronegativo, así como el fracaso en la transmisión de *T. equi* y *B. caballi* a animales susceptibles a partir de la subinoculación de sangre o el intento de transmisión de garrapatas colectadas de los caballos tratados (86,87).

Posterior a la aplicación de dipropionato de imidocarbo, se recomienda aplicar sulfato de atropina para prevenir la aparición de los síntomas colinérgicos como salivación, cólicos leves e hipermotilidad intestinal, causados por el dipropionato de imidocarbo. En algunos casos graves de deshidratación, se indica la reposición de fluido por suero intravenoso, así como transfusiones de sangre en aquellos animales con anemia grave o hemorragia y, en caso de infecciones bacterianas secundarias, debe aplicarse un antibiótico eficaz contra el agente oportunista (15).

Además del dipropionato de imidocarbo, se utilizan otros tratamientos farmacológicos comúnmente para el tratamiento de la piroplasmosis equina en su etapa aguda, que muestran una eficacia variable en el control de *T. equi* y *B. caballi*, ya que no eliminan la infección. Entre estos fármacos se encuentra la amicarbalida (Diampron, May and Baker, Inglaterra), una diamidina aromática utilizada como antiprotozoario en el tratamiento de la babesiosis a razón de 10 mg / kg de peso corporal mediante inyección intramuscular, es eficaz en la disminución de los síntomas de la enfermedad aguda asociada a la infección con *T. equi* y/o *B. caballi* (46). El diminazene (Berenil, Hoechst, Alemania) se administra a razón de 11 mg / kg de peso corporal por vía intramuscular, es eficaz contra la enfermedad aguda asociada con ambos hemoparásitos, aunque para la infección causada por *T. equi* se recomienda la aplicación de dos tratamientos adicionales a intervalos de 24 h (48). Finalmente, la parvacuona (Clexon) y la buparvacuona (Butalex) (Burroughs Wellcome & Co., Inglaterra) administradas a razón de 20 mg / kg y 5 mg / kg de peso corporal mediante inyección intramuscular, respectivamente, son eficaces contra la infección aguda causada por *T. equi* (89).

La prevención de la infección por *T. equi* y *B. caballi* en áreas endémicas es prácticamente imposible, y se asume que la preinmunidad o

inmunidad estéril conferida con una infección previa protege a los equinos de la enfermedad recurrente durante exposiciones posteriores. Actualmente, no existen vacunas eficaces disponibles en el mercado para el control de la piroplasmosis equina causada por *T. equi* o *B. caballi*; las estrategias de manejo y control se basan en gran medida en la terapia con medicamentos, el control de vectores y la restricción del comercio de animales infectados. En países no endémicos, la piedra angular para el control es la regulación del comercio equino con naciones endémicas (48). Aunque el sistema de regulación puesto en marcha por la OIE ha tenido éxito, aun se reportan la ocurrencia de casos aislados en países no endémicos, los cuales comúnmente son causados por transmisión iatrogénica (27).

En las zonas con estabilidad enzoótica es apropiado mantener dicha estabilidad, que se relaciona con los niveles de infestación por garrapatas para mantener las tasas de inoculación de *T. equi* y *B. caballi*, estimulando de esta manera una respuesta inmune para controlar las infecciones y mantener el estado de portador (90). En el caso de la crianza de equinos para el mercado de exportación, así como de caballos de alto valor genético criados para el deporte de alto rendimiento, estos deben estar libres de la infección, así que debe evitarse la exposición a las garrapatas a fin de evitar la infección (41). La vigilancia epidemiológica, apoyada en técnicas de diagnóstico eficientes y estrictos protocolos de cuarentena, constituye un pilar fundamental para prevenir la introducción de *T. equi* y/o *B. caballi* en rebaños susceptibles y países libres de la enfermedad.

## REFERENCIAS

1. Pusterla N, Madigan JE. Equine Granulocytic Anaplasmosis. J Equine Vet Sci. 2013;33(7):493-496.
2. Friedhoff K, Soule C. An account on equine babesiosis. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics). 1996;15(3):1191.
3. de Waal DT. Equine piroplasmosis: a review. Br Vet J. 1992;148(1):6-14.

4. Scoles GA, Ueti MW. Vector ecology of equine piroplasmiasis. *Annu Rev Entomol.* 2015;60:561-580.
5. Uilenberg G. International collaborative research: significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health. *Vet Parasitol.* 1995;57(1):19-41.
6. Zobba R, Ardu M, Niccolini S, Chessa B, Manna L, Cocco R, et al. Clinical and Laboratory Findings in Equine Piroplasmiasis. *J Equine Vet Sci.* 2008;28(5):301-308.
7. Al-Obaidi Q, Mohd M, Al-Sultan I, Azlinda A, Mohd A. Equine piroplasmiasis in Kelantan, Malaysia: clinico-hematobiochemical alterations in subclinically and clinically infected equids. *Trop Biomed.* 2016;33(4):619-631.
8. Camacho A, Guitian F, Pallas E, Gestal J, Olmeda A, Habela M, et al. Theileria (Babesia) equi and Babesia caballi infections in horses in Galicia, Spain. *Trop Anim Health Prod.* 2005;37(4):293-302.
9. Gordon JL, Sibley LD. Comparative genome analysis reveals a conserved family of actin-like proteins in apicomplexan parasites. *BMC genomics.* 2005;6(1):1-13.
10. Homer MJ, Aguilar-Delfin I, Telford SR, Krause PJ, Persing DH. Babesiosis. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13(3):451-469.
11. Mehlhorn H, Schein E. Redescription of Babesia equi Laveran, 1901 as Theileria equi Mehlhorn, Schein 1998. *Parasitol Res.* 1998;84(6):467-475.
12. Kappmeyer LS, Thiagarajan M, Herndon DR, Ramsay JD, Caler E, Djikeng A, et al. Comparative genomic analysis and phylogenetic position of Theileria equi. *BMC genomics.* 2012;13:603.
13. Schreeg ME, Marr HS, Tarigo JL, Cohn LA, Bird DM, Scholl EH, et al. Mitochondrial Genome Sequences and Structures Aid in the Resolution of Piroplasmida phylogeny. *PLoS one.* 2016;11(11):e0165702.
14. Chauvin A, Moreau E, Bonnet S, Plantard O, Malandrin L. Babesia and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Vet Res.* 2009;40(2):37.
15. Nantes JH, Zappa V, da FAMED-Garça E. Nutaliose: revisão de literatura. *Revta Cient Eletrôn Med Vet ISSN.* 2008:1679-7353.
16. Holbrook A. Biology of equine piroplasmiasis. *J Am Vet Med Assoc.* 1969;155(2):453-454.
17. OIE TM. Equine piroplasmiasis. NB: Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE. 2014:8.
18. Hawkins E, Kock R, McKeever D, Gakuya F, Musyoki C, Chege SM, et al. Prevalence of Theileria equi and Babesia caballi as well as the identification of associated ticks in sympatric Grevy's zebras (Equus grevyi) and donkeys (Equus africanus asinus) in northern Kenya. *J Wildlife Dis.* 2015;51(1):137-147.
19. Bhoora RV, Pienaar R, Cornelius F, Josemans A, Matthee O, Marumo R, et al. Multiplex hydrolysis-probe assay for the simultaneous detection of Theileria equi and Babesia caballi infections in equids. *Vet Parasitol.* 2018;255:61-68.
20. Garcia-Bocanegra I, Arenas-Montes A, Hernandez E, Adaszek L, Carbonero A, Almeria S, et al. Seroprevalence and risk factors associated with Babesia caballi and Theileria equi infection in equids. *Vet J.* 2013;195(2):172-178.
21. Ribeiro AJ, Cardoso L, Maia JM, Coutinho T, Cotovio M. Prevalence of Theileria equi, Babesia caballi, and Anaplasma phagocytophilum in horses from the north of Portugal. *Parasitol Res.* 2013;112(7):2611-2617.
22. Guidi E, Pradier S, Lebert I, Leblond A. Piroplasmiasis in an endemic area: analysis of the risk factors and their implications in the control of Theileriosis and Babesiosis in horses. *Parasitol Res.* 2015;114(1):71-83.
23. Asgarali Z, Coombs DK, Mohammed F, Campbell MD, Caesar E. A serological study of Babesia caballi and Theileria equi in Thoroughbreds in Trinidad. *Vet Parasitol.* 2007;144(1-2):167-171.
24. Zhang J, Kelly P, Li J, Xu C, Wang C. Molecular Detection of Theileria spp. in Livestock on Five Caribbean Islands. *BioMed Res Int.* 2015;2015:624728.
25. Diaz-Sanchez AA, Pires MS, Estrada CY, Canizares EV, Del Castillo Dominguez SL, Cabezas-Cruz A, et al. First molecular evidence of Babesia caballi and Theileria equi

- infections in horses in Cuba. *Parasitol Res.* 2018;117(10):3109-3118.
26. Rampersad J, Cesar E, Campbell MD, Samlal M, Ammons D. A field evaluation of PCR for the routine detection of *Babesia equi* in horses. *Vet Parasitol.* 2003;114(2):81-87.
27. Short MA, Clark CK, Harvey JW, Wenzlow N, Hawkins IK, Allred DR, et al. Outbreak of equine piroplasmiasis in Florida. *J Am Vet Med Assoc.* 2012;240(5):588-595.
28. Hall CM, Busch JD, Scoles GA, Palma-Cagle KA, Ueti MW, Kappmeyer LS, et al. Genetic characterization of *Theileria equi* infecting horses in North America: evidence for a limited source of U.S. introductions. *Parasit Vectors.* 2013;6:35.
29. Ogunremi O, Halbert G, Mainar-Jaime R, Benjamin J, Pfister K, Lopez-Rebollar L, et al. Accuracy of an indirect fluorescent-antibody test and of a complement-fixation test for the diagnosis of *Babesia caballi* in field samples from horses. *Prev Vet Med.* 2008;83(1):41-51.
30. Estrada-Peña A, Venzal JM, Nava S, Mangold A, Guglielmone AA, Labruna MB, et al. Reinstatement of *Rhipicephalus (Boophilus) australis* (Acari: Ixodidae) With Redescription of the Adult and Larval Stages. *J Med Ent.* 2012;49(4):794-802.
31. Ueti MW, Palmer GH, Kappmeyer LS, Stadfield M, Scoles GA, Knowles DP. Ability of the Vector Tick *Boophilus microplus* To Acquire and Transmit *Babesia equi* following Feeding on Chronically Infected Horses with Low-Level Parasitemia. *J Clin Microbiol.* 2005;43(8):3755-3759.
32. Myagmarsuren P, Sivakumar T, Enkhtaivan B, Davaasuren B, Zoljargal M, Narantsatsral S, et al. A Seroepidemiological Survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses in Mongolia. *J Parasitol.* 2019;105(4):580-586.
33. Ueti MW, Palmer GH, Scoles GA, Kappmeyer LS, Knowles DP. Persistently Infected Horses Are Reservoirs for Intrastadial Tick-Borne Transmission of the Apicomplexan Parasite *Babesia equi*. *Infect Immun.* 2008;76(8):3525-3529.
34. De Waal DT. The transovarial transmission of *Babesia caballi* by *Hyalomma truncatum*. *Onderstepoort J Vet Res.* 1990;57(1):99-100.
35. Ikadai H, Sasaki M, Ishida H, Matsuu A, Igarashi I, Fujisaki K, et al. Molecular evidence of *Babesia equi* transmission in *Haemaphysalis longicornis*. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;76(4):694-697.
36. Gerstenberg C, Allen W, Phipps L, editors. The mechanical transmission of *Babesia equi* infection in a British herd of horses. Proceedings of the Eighth International Conference on Equine Infectious Diseases, Dubai, United Arab Emirates; 1998.
37. Sant C, d'Abadie R, Pargass I, Basu AK, Asgarali Z, Charles RA, et al. Prospective study investigating transplacental transmission of equine piroplasmiasis in thoroughbred foals in Trinidad. *Vet Parasitol.* 2016;226:132-137.
38. Sudan V, Jaiswal AK, Srivastava A, Saxena A, Shanker D. A rare clinical presentation of transplacental transmission and subsequent abortion by *Babesia (Theileria) equi* in a mare. *J Parasit Dis.* 2015;39(2):336-338.
39. Ueti MW, Mealey RH, Kappmeyer LS, White SN, Kumpula-McWhirter N, Pelzel AM, et al. Re-Emergence of the Apicomplexan *Theileria equi* in the United States: Elimination of Persistent Infection and Transmission Risk. *PloS one.* 2012;7(9):e44713.
40. Peckle M, Pires MS, Dos Santos TM, Roier EC, da Silva CB, Vilela JA, et al. Molecular epidemiology of *Theileria equi* in horses and their association with possible tick vectors in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Parasitol Res.* 2013;112(5):2017-2025.
41. Botteon PdTL, Massard CL, Botteon RDC, Loss ZG, LINHARES GF. Seroprevalencia de *Babesia equi* en tres diferentes sistemas de crianza de equinos: Rio de Janeiro-Brasil. *Parasitol Latinoam.* 2002;57(3-4):141-145.
42. Oduori DO, Onyango SC, Kimari JN, MacLeod ET. A field survey for the seroprevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in donkeys from Nuus Division, Kenya. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015;6(5):683-688.
43. Moltmann UG, Mehlhorn H, Schein E, Voigt WP, Friedhoff KT. Ultrastructural study on the development of *Babesia equi* (Coccidia: Piroplasmia) in the salivary glands of its vector ticks. *J Protozool.* 1983;30(2):218-225.

44. Hanafusa Y, Cho K-O, Kanemaru T, Wada R, Sugimoto C, Onuma M. Pathogenesis of Babesia caballi infection in experimental horses. J Vet Med Sci. 1998;60(10):1127-1132.
45. Ambawat H, Malhotra D, Kumar S, Dhar S. Erythrocyte associated haemato-biochemical changes in Babesia equi infection experimentally produced in donkeys. Vet Parasitol. 1999;85(4):319-324.
46. De Waal D, Van Heerden J, Potgieter F. An investigation into the clinical pathological changes and serological response in horses experimentally infected with Babesia equi and Babesia caballi. Onderstepoort J Vet Res. 1987;54(4):561-568.
47. da Cunha CW, da Silva SS, Osório BL, Dutra CL. Alterações hematológicas e sorológicas em equinos experimentalmente infectados com Babesia equi. Cien Rural. 1998;28(2):283-286.
48. Wise L, Kappmeyer L, Mealey R, Knowles D. Review of equine piroplasmiasis. J Vet Intern Med. 2013;27(6):1334-1346.
49. 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.
50. Diana A, Guglielmini C, Candini D, Pietra M, Cipone M. Cardiac arrhythmias associated with piroplasmiasis in the horse: a case report. Vet J. 2007;174(1):193-195.
51. Chhabra S, Ranjan R, Uppal SK, Singla LD. Transplacental transmission of Babesia equi (Theileria equi) from carrier mares to foals. J Parasit Dis. 2012;36(1):31-33.
52. Knowles D, Kappmeyer LS, Perryman LE. Specific immune responses are required to control parasitemia in Babesia equi infection. Infect Immun. 1994;62(5):1909-1913.
53. Moltmann UG, Mehlhorn H, Schein E, Rehbein G, Voigt WP, Zwegarth E. Fine structure of Babesia equi Laveran, 1901 within lymphocytes and erythrocytes of horses: an in vivo and in vitro study. J Parasitol. 1983;111-120.
54. de Sousa SH, Paludo GR, Freschi CR, Machado RZ, de Castro MB. Theileria equi infection causing abortion in a mare in Brazil. Vet Parasitol Reg Stud Reports. 2017;8:113-116.
55. De Waal D, Van Heerden J, Van den Berg S, Stegmann G, Potgieter F. Isolation of pure Babesia equi and Babesia caballi organisms in splenectomized horses from endemic areas in South Africa. Onderstepoort J Vet Res. 1988;55(1):33-35.
56. Lewis MJ, Wagner B, Woof JM. The different effector function capabilities of the seven equine IgG subclasses have implications for vaccine strategies. Mol Immunol. 2008;45(3):818-827.
57. Cunha CW, McGuire TC, Kappmeyer LS, Hines SA, Lopez AM, Dellagostin OA, et al. Development of specific immunoglobulin G<sub>a</sub> (IgG<sub>a</sub>) and IgG<sub>b</sub> antibodies correlates with control of parasitemia in Babesia equi infection. Clin Vaccine Immunol. 2006;13(2):297-300.
58. Baldani CD, Machado RZ, Botteon PdTL, Takakura FS, Massard CL. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of IgG antibodies against Babesia equi in horses. Cien Rural. 2004;34(5):1525-1529.
59. Yokoyama N, Okamura M, Igarashi I. Erythrocyte invasion by Babesia parasites: Current advances in the elucidation of the molecular interactions between the protozoan ligands and host receptors in the invasion stage. Vet Parasitol. 2006;138(1-2):22-32.
60. Sumbria D, Moudgil AD, Singla LD. Equine Piroplasmiasis: Current status. Veterinaria. 2014;1:9-14.
61. Alward A, Corriher CA, Barton MH, Sellon DC, Blikslager AT, Jones SL. Red Maple (Acer rubrum) Leaf Toxicosis in Horses: A Retrospective Study of 32 Cases. J Vet Intern Med. 2006;20(5):1197-1201.
62. Holman P, Frerichs W, Chieves L, Wagner G. Culture confirmation of the carrier status of Babesia caballi-infected horses. J Clin Microbiol. 1993;31(3):698-701.
63. Zwegarth E, Just M, De Waal D. In vitro cultivation of Babesia equi: Detection of carrier animals and isolation of parasites. Onderstepoort J Vet Res. 1997;64(1):51-56.
64. Zwegarth E, Lopez-Rebollar LM, Meyer P. In vitro isolation of equine piroplasms derived from Cape Mountain zebra (Equus zebra

- zebra) in South Africa. Onderstepoort J Vet Res. 2002;69(3):197-200.
65. Baldani CD, Canola PA, Neto J, Machado RZ. In vitro culture, PCR, and nested PCR for the detection of *Theileria equi* in horses submitted to exercise. Arq BrasMed Vet Zootec. 2008;60(3):550-558.
66. Habibi G, Esmaeilnia K, Hablolvarid MH, Afshari A, Zamen M, Bozorgi S. Microscopic and Molecular Detection of *Theileria* (*Babesia*) *Equi* Infection in Equids of Kurdistan Province, Iran. Iran J Parasitol. 2016;11(1):86-90.
67. Baldani CD, Machado RZ, Raso TF, Pinto AA. Serodiagnosis of *Babesia equi* in horses submitted to exercise stress. Pesq Vet Bras. 2007;27(4):179-183.
68. Santos TMD, Ferraz PN, Almeida FQD, Massard CL, Baldani CD, Botteon PDDL, et al. Estudo comparativo de três métodos de diagnóstico para detecção de anticorpos anti-*Theileria equi* em equinos de áreas endêmicas do estado do Rio de Janeiro. Bray J Vet Res Anim Sci. 2009;46(6):484-490.
69. Ikadai H, Osorio CR, Xuan X, Igarashi I, Kanemaru T, Nagasawa H, et al. Detection of *Babesia caballi* infection by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant 48-kDa merozoite rhoptry protein. Int J Parasitol. 2000;30(5):633-635.
70. Kappmeyer LS, Perryman LE, Hines SA, Baszler TV, Katz JB, Hennager SG, et al. Detection of Equine Antibodies to *Babesia caballi* by Recombinant *B. caballi* Rhoptry-Associated Protein 1 in a Competitive-Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. J Clin Microbiol. 1999;37(7):2285-2290.
71. Bhoora R, Quan M, Zwegarth E, Guthrie AJ, Prinsloo SA, Collins NE. Sequence heterogeneity in the gene encoding the rhoptry-associated protein-1 (RAP-1) of *Babesia caballi* isolates from South Africa. Vet Parasitol. 2010;169(3-4):279-288.
72. Mahmoud MS, El-Ezz NTA, Abdel-Shafy S, Nassar SA, El Namaky AH, Khalil WKB, et al. Assessment of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in equine populations in Egypt by molecular, serological and hematological approaches. Parasit Vectors. 2016;9(1):260.
73. Abutarbush SM, Alqawasmeh DM, Mukbel RM, Al-Majali AM. Equine babesiosis: seroprevalence, risk factors and comparison of different diagnostic methods in Jordan. Transbound Emerg Dis. 2012;59(1):72-78.
74. Rapoport A, Aharonson-Raz K, Berlin D, Tal S, Gottlieb Y, Klement E, et al. Molecular characterization of the *Babesia caballi* rap-1 gene and epidemiological survey in horses in Israel. Infec Genet Evol. 2014;23:115-120.
75. Akkoyun Z, Oguz B. Seroprevalance of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses of Mus Province, Turkey. AJVS.2019;60(1):22-29.
76. Heim A, Passos LM, Ribeiro MF, Costa-Júnior LM, Bastos CV, Cabral DD, et al. Detection and molecular characterization of *Babesia caballi* and *Theileria equi* isolates from endemic areas of Brazil. Parasitol Res. 2007;102(1):63-68.
77. Alhassan A, Pumidonming W, Okamura M, Hirata H, Battsetseg B, Fujisaki K, et al. Development of a single-round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in horse blood. Vet Parasitol. 2005;129(1-2):43-49.
78. Battsetseg B, Xuan X, Ikadai H, Bautista JLR, Byambaa B, Boldbaatar D, et al. Detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in *Dermacentor nuttalli* adult ticks. Int J Parasitol. 2001;31(4):384-386.
79. Bhoora R, Quan M, Franssen L, Butler CM, van der Kolk JH, Guthrie AJ, et al. Development and evaluation of real-time PCR assays for the quantitative detection of *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses from South Africa. Vet Parasitol. 2010;168(3-4):201-211.
80. Lobanov VA, Peckle M, Massard CL, Brad Scandrett W, Gajadhar AA. Development and validation of a duplex real-time PCR assay for the diagnosis of equine piroplasmiasis. Parasit Vectors. 2018;11:125.
81. OIE TM. Principles and methods of validation of diagnostic assays for infectious diseases. 2014. p. 1-18.
82. Alhassan A, Thekisoe OM, Yokoyama N, Inoue N, Motloang MY, Mbatia PA, et al.

- Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for diagnosis of equine piroplasmiasis. *Vet Parasitol.* 2007;143(2):155-160.
83. Nagore D, Garcí'a-Sanmartín J, Garcí'a-Pérez AL, Juste RA, Hurtado A. Detection and identification of equine *Theileria* and *Babesia* species by reverse line blotting: epidemiological survey and phylogenetic analysis. *Vet Parasitol.* 2004;123(1-2):41-54.
84. Kouam MK, Kantzoura V, Masuoka PM, Gajadhar AA, Theodoropoulos G. Genetic diversity of equine piroplasms in Greece with a note on speciation within *Theileria* genotypes (*T. equi* and *T. equi*-like). *Infect Genet Evol.* 2010;10(7):963-968.
85. Rizk MA, El-Sayed SAE-S, AbouLaila M, Yokoyama N, Igarashi I. Evaluation of the inhibitory effect of N-acetyl-L-cysteine on *Babesia* and *Theileria* parasites. *Exp Parasitol.* 2017;179:43-48.
86. Schwint ON, Ueti MW, Palmer GH, Kappmeyer LS, Hines MT, Cordes RT, et al. Imidocarb dipropionate clears persistent *Babesia caballi* infection with elimination of transmission potential. *Antimicrob Agents Ch.* 2009;53(10):4327-4332.
87. Wise LN, Kappmeyer LS, Silva MG, White SN, Grause JF, Knowles DP. Verification of post-chemotherapeutic clearance of *Theileria equi* through concordance of nested PCR and immunoblot. *Ticks TickBorne Dis.* 2017.
88. Grause JF, Ueti MW, Nelson JT, Knowles DP, Kappmeyer LS, Bunn TO. Efficacy of imidocarb dipropionate in eliminating *Theileria equi* from experimentally infected horses. *Vet J.* 2013;196(3):541-546.
89. Zaugg JL, Lane VM. Evaluations of buparvaquone as a treatment for equine babesiosis (*Babesia equi*). *Am J Vet Res.* 1989;50(5):782-785.
90. Coletto L. Equine babesiosis: A disease linked to the extensive horse raising in the pasture land of Extremadura (dehesa). *Cahiers Options Méditerranéennes (CIHEAM).* 1999.

**Contribución de los autores:** AADS y BCG concibieron la idea y el contenido del documento, realizaron su escritura y supervisaron el manuscrito; RMP y LRA participaron en la escritura del documento. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final.

**Conflicto de Intereses:** Los autores declaran que no existen conflictos de intereses relacionados con el presente artículo.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)