

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**COMPARACIÓN DE DOS SITIOS ANATÓMICOS DE
EXTRACCIÓN DE MUESTRA SANGUÍNEA PARA EL
DIAGNÓSTICO DE PIROPLASMOSIS EQUINA**

ABIGAIL MUÑOZ CATALÁN

Médica Veterinaria

GUATEMALA, MAYO DE 2016

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**COMPARACIÓN DE DOS SITIOS ANATÓMICOS DE EXTRACCIÓN
DE MUESTRA SANGUÍNEA PARA EL DIAGNÓSTICO DE
PIROPLASMOSIS EQUINA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

ABIGAIL MUÑOZ CATALÁN

Al conferírsele el título profesional de

MÉDICA VETERINARIA

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, MAYO DE 2016

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	M.Sc. Juan José Prem González
VOCAL II:	Lic. Zoot. Edgar Amílcar García Pimentel
VOCAL III:	M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Marylin Eliza Reyes Valenzuela
VOCAL V:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez

ASESORES

M.SC. JUAN JOSÉ PREM GONZÁLEZ
M.V CARMEN G. ARIZANDIETA ALTAN

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

**COMPARACIÓN DE DOS SITIOS ANATÓMICOS DE EXTRACCIÓN
DE MUESTRA SANGUÍNEA PARA EL DIAGNÓSTICO DE
PIROPLASMOSIS EQUINA**

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO A:

A Dios: Por la vida, la salud y sabiduría que derramó sobre mí durante toda la carrera y por ser mi fortaleza en los momentos difíciles.

A mis padres: Lucilo Muñoz y Norma Catalán, por sus oraciones y por haber entregado incondicionalmente sacrificios y esfuerzos para que yo pueda estar hoy cumpliendo mi sueño.

A mis hermanos: Andrea, Débora, Rebeca, Samuel, Marie, Lucy y José Ángel, porque ustedes fueron mi motivación para luchar.

A mis sobrinos: Porque estoy segura que un día estarán en donde yo estoy ahora, cumpliendo su sueño.

A mis amigos: Por su apoyo incondicional, y por cada granito de aprendizaje y experiencia que aportaron que me hacen hoy estar acá.

AGRADECIMIENTOS

- A Dios:** Por la vida, por su amor y por esta profesión tan grata que me concede adquirir.
- A mi papá:** Por ser mi ejemplo de vida, de ser una persona íntegra, perseverante y luchadora, sin olvidar la humildad y sencillez en mi corazón. Y por estar conmigo siempre, en cada sacrificio, alegría y momentos difíciles.
- A mi mamá:** Por apoyarme y alentarme a seguir luchando.
- A mis hermanos:** Porque cuando los necesité siempre estuvieron para darme un abrazo, palabras de aliento, una escapada, sonrisas y carcajadas, momentos de charlas serias y otras cuantas sin sentido, regañadas y gritadas, momentos de llorar juntos, consejería, y otro sin fin de regalos.
- A mis amigos:** Que su presencia fue fundamental en muchos momentos de mi vida, y a todos mis compañeros que día a día compartimos aprendizajes y experiencias. A mis amigos de vida, gracias por comprender los eternos días de estudio y brindarme su apoyo. También, agradezco a mis amigos, que ahora puedo llamar colegas, Dr. Juan Prem, Dr. Edgar Melgar, Dra. Grizelda Arizandieta, Dr. Mario Llerena, Dra. Marisol Pineda, y a todos los profesionales que de alguna manera me apadrinaron y me hicieron participe de sus experiencias y me apoyaron en este camino de aprendizaje sin terminar.
- A la FMVZ:** Por ser mi casa de estudio y formación profesional.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	3
III. OBJETIVOS	4
3.1 General	4
3.2 Específicos	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1 Sinónimos	5
4.2 Etiología	5
4.3 Transmisión	5
4.4 Período de Incubación	6
4.5 Importancia	6
4.6 Patogénesis	7
4.7 Signos Clínicos	8
4.8 Lesiones post mortem	9
4.9 Diagnóstico	10
4.9.1 Clínico-epidemiológico	10
4.9.2 Anatomopatológico	10
4.9.3 Diagnóstico a través de exámenes de laboratorio.....	10
4.9.3.1 Parasitológico directo	10
4.9.3.2 Examen serológico	11
4.10 Diagnóstico diferencial	12
4.11 Tratamiento	12
4.12 Prevención y control	13
4.13 Salud pública	13
V. MATERIALES Y MÉTODOS	14
5.1 Materiales	14
5.1.1 Recursos Humanos	14

5.1.2 Recursos de Campo	14
5.1.3 Recursos de Laboratorio	14
5.2 Metodología	15
5.2.1 Áreas de Estudio	15
5.2.2 Criterios de Inclusión	15
5.2.3 Identificación de las Muestras	15
5.2.4 Toma de muestra	15
5.2.5 Realización, Coloración y Observación de Frote Sanguíneo .	16
5.2.6 Registro de datos y resultados	17
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
VII. CONCLUSIONES	22
VIII. RECOMENDACIONES	23
IX. RESUMEN	24
SUMMARY	25
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
XI. ANEXOS	28

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Resultados de muestras tomadas de la vena yugular 18

Cuadro 2. Resultados de muestras tomadas de Pabellón auricular 18

I. INTRODUCCIÓN

La piroplasmosis equina es una enfermedad causada por hemoparásitos protozoarios del género *Babesia*: *Babesia caballi* y *Theileria equi* (antes conocida como *Babesia equi*). Afecta a caballos, mulas, asnos y cebras. En equinos que no reciben tratamiento, la enfermedad puede causar síntomas variados e incluso la muerte. La forma sub aguda y crónica de la enfermedad provoca debilidad, anemia, fiebre, inapetencia, disminución de la condición corporal y bajo rendimiento atlético; además puede generar complicaciones secundarias como fallo renal, cólico, laminitis, infertilidad y aborto(3, 7, 10, 11, 12, 13).

Los animales infectados y recuperados quedan como portadores y pueden desarrollar la enfermedad en situaciones de estrés; en ellos, y en pacientes con enfermedad crónica, es difícil diagnosticar piroplasmosis a través de un frote sanguíneo, debido a que es poco probable encontrar al hemoparásito dentro de una muestra tomada de la vena yugular (13).

Para su diagnóstico, se puede demostrar la presencia del parásito en frotis de órganos o sangre, teñidos con Giemsa. A nivel mundial las pruebas más utilizadas son las serológicas, donde se determina la presencia de anticuerpos específicos, tales como la prueba de Fijación de Complemento (FC), Inmunofluorescencia indirecta con anticuerpo (IFI), y los enzimoimmunoensayos (ELISA).

Para el transporte o exportación de equinos a países libres de piroplasmosis, es obligatorio presentar un examen serológico, que afirme que el animal está libre de ésta enfermedad. En Guatemala, para este diagnóstico, solamente está disponible el frotis sanguíneo, siendo necesario enviar las muestras al extranjero para que tenga validez, lo cual representa un gasto considerable.

En animales portadores o con enfermedad crónica es difícil detectar y diferenciar *T. equi* y *B. caballi* a través del frotis sanguíneo.

Aunque existen otros métodos de diagnóstico, el frotis sanguíneo es el que se utiliza en Guatemala para diagnosticar la piroplasmosis equina, por lo que el presente estudio determina si existe diferencia en la toma de muestra de la vena yugular, que es donde comúnmente se obtiene, a diferencia de los vasos periféricos, con el fin de obtener resultados que propicien la sensibilidad y especificidad del diagnóstico.

II. HIPÓTESIS

Existe diferencia en la toma de muestra de sangre para el diagnóstico de piroplasmosis equina, por medio de frote sanguíneo, entre la punción de la vena yugular vrs. capilares del pabellón auricular.

III. OBJETIVOS

3.1 General:

- Generar información sobre las técnicas de toma de muestra sanguínea para la aproximación diagnóstica de piroplasmosis equina.

3.2 Específicos:

- Determinar la proporción de animales positivos y negativos a piroplasmosis equina.
- Determinar si existe diferencia significativa entre las muestras positivas colectadas por punción de la vena yugular y pabellón auricular.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Sinónimos

Babesiosis equina, theileriosis equina, fiebre biliar.

4.2 Etiología

Babesia caballi es una de las babesias más grandes, un merozoito dentro de un glóbulo rojo mide aproximadamente 2-5 μm de largo y 1.5-3 μm de diámetro. Los merozoitos pueden tener forma redondeada, ovalada o piriforme y son de coloración basófila. Es común observar los merozoitos en pareja, unidos del extremo posterior y formando un ángulo agudo (6, 11). A diferencia de *T. equi*, se desarrolla en células intestinales, en ovario y en glándulas salivales de larvas, ninfas y garrapatas adultas. Existe transmisión ovárica; transmite los parásitos a su descendencia y convierte la garrapata en uno de los principales reservorios (3, 6).

Theileria equi es más pequeña que *B. caballi*, mide aproximadamente 2 μm de largo, es basófila, pleomórfica, más comúnmente redonda, ovalada o piriforme, a veces en forma anular. Posee uno o varios merozoitos, principalmente uno o cuatro; cuando se encuentran cuatro merozoitos en un glóbulo rojo se denomina "cruz de malta". (3, 6, 11). *Babesia equi* fue reclasificada como *Theileria equi* en 1998. A través de varios estudios se demostró la diferencia en cuanto al ciclo de vida, proteínas superficiales y el ADN de este parásito al de los de la familia Babesidae y la similitud con los de la familia Theileridae.(4, 6).

4.3 Transmisión

Los caballos se infectan con *Babesia caballi* y *Theileria equi* cuando son parasitados por garrapatas portadoras de éstos; estas garrapatas adquieren estos protozoos al ingerir sangre, dentro de ella se dan varios ciclos de replicación; las células intestinales, los ovarios y las glándulas salivales se infectan, luego se da

una constante liberación de esporozoitos en el lumen de la glándula salival a través de la hemolinfa. Estos hemoparásitos son transmitidos cuando las garrapatas, ya sea adultas o ninfas muerden a un equino, infectándolo. (4, 6). La *B. caballii* a diferencia de *T. equi* posee transmisión transovárica, transmitiendo el parásito a su descendencia, convirtiendo a la garrapata en uno de los principales reservorios de este parásito. (4).

Los agentes etiológicos son transmitidos por varias especies de garrapatas del género *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Hyalomma*. Es frecuente en regiones tropicales y subtropicales; pero también se presenta en climas templados donde las condiciones son aceptables para el desarrollo de las garrapatas (2, 4, 6).

La Asociación Americana de Medicina Veterinaria describió a *Dermacentor variabilis* como vector de ambos parásitos; a algunas garrapatas del género *Boophilus* como vectores de estos parásitos y además a otros insectos hematófagos. (4). Puede ser transmitida iatrogénicamente a través de agujas o instrumental quirúrgico contaminado con sangre infectada. (4, 6). En yeguas preñadas no se transmite al potrillo, y éste adquiere inmunidad a través del calostro; por ello, los análisis en potrillos al pie de la madre positivas también son serológicamente positivos; sin embargo, en una zona libre de garrapatas sin factores predisponentes, estos potrillos se negativizan a los 4 a 5 meses de destetados. (10).

4.4 Período de incubación

Cuando es causada por *T. equi* es de 12 a 19 días y por *B. caballii* es de 10 a 30 días. (11).

4.5 Importancia

Según la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) la piroplasmosis equina es una enfermedad endémica en muchas regiones tropicales y subtropicales que

incluyen partes de África, Medio Oriente, Asia, América Central y del Sur, el Caribe y Europa (11, 12). Epidemiológicamente la presencia del vector - garrapatas - hace que la enfermedad prevalezca en algunos lugares del 15-20% y en otros hasta el 100% (10). Después de la recuperación los animales pueden quedar como portadores del agente convirtiéndose en una importante fuente de infección. El bajo rendimiento que provoca en animales infectados o portadores se traduce en importantes pérdidas económicas, y en su momento, restricción al transporte internacional.

En Salud Pública, no se considera una zoonosis importante, sin embargo, no se ha descartado que exista la posibilidad de infección con el agente etiológico a través de los vectores (11).

4.6 Patogénesis

Cuando los eritrocitos son parasitados, se provoca estrés metabólico de estas células. Esto causa hipofosfatemia y debilitamiento de las membranas de los eritrocitos resultando en hemólisis. (6, 10). La presencia del parásito y destrucción de eritrocitos produce activación del complemento y liberación de mediadores inflamatorios, incluyendo bradiquinina, histamina y 5-hydroxytryptamina que poseen efecto pirógeno provocando la fiebre característica de los equinos con piroplasmosis. (4, 9).

Al haber menos eritrocitos circulando en la sangre se reduce la capacidad para oxigenar a todos los tejidos del cuerpo del animal; por esto es que la respiración y la frecuencia cardíaca aumentan. (4). La hemólisis disminuye el hematocrito, considerándose una anemia hemolítica regenerativa. También se observa monocitosis y eosinopenia. (6, 10).

Las células afectadas se van juntando en pequeños vasos y capilares obstruyendo el fluido normal de sangre predisponiendo a causar coagulopatía

intravascular diseminada (CID). Estos acúmulos de eritrocitos, al ser filtrados, dañan el riñón pudiendo causar un fallo renal. (6, 11). Debido a que el órgano encargado de remover los eritrocitos viejos, dañados o destruidos es el bazo, éste se encuentra agrandado. (4).

Los potros hasta alrededor de los 6 meses de edad se encuentran protegidos por anticuerpos de inmunidad pasiva; este hecho se presenta como de especial interés en zonas endémicas, en las que los équidos conviven con el hospedador invertebrado y el parásito, existiendo en ellos una adaptación a la convivencia con los mismos y desarrollando una inmunidad muy duradera (10).

4.7 Signos Clínicos

Los signos clínicos varían y dependen de varios factores como; el número de eritrocitos afectado, agente etiológico (*B. caballi*, *T. equi* o ambos), respuesta de la activación del complemento, liberación de mediadores inflamatorios y principalmente, estado inmunológico del animal. (4, 14). *T. equi* es considerado más patógeno que *B. caballi* debido a que este parásito infecta normalmente más del 20% de los eritrocitos. (4, 14).

Cuando se presenta en forma hiperaguda, los caballos pueden morir súbitamente, o presentarse moribundos y morir de 24 a 72 horas. Esta forma de presentación no es muy común, se le atribuye más a *Theileria equi* o cuando se presentan ambos parásitos. (4, 6, 10, 11).

La temperatura normal de un equino oscila entre 37.5 y 38.5 °C. La forma aguda se caracteriza por presentar fiebre arriba de 40 °C, anorexia, depresión, ictericia, hemoglobinemia, hemoglobinuria, mucosas pálidas y con hemorragias petequiales, taquicardia, taquipnea, depresión, decaimiento. En algunas ocasiones sudor, cólico, lagrimeo, incoordinación, murmullos cardíacos, edema subcutáneo alrededor de la cabeza, párpados y extremidades, heces fecales más pequeñas y

más secas de lo normal. Las hembras gestantes que contraen la enfermedad obtienen potrillos anémicos y débiles o, los abortan. (4, 6, 11, 14).

La forma subaguda presenta fiebre intermitente, anorexia, pérdida de peso, taquicardia, taquipnea, membranas mucosas pálidas y/o ictericas con posibles hemorragias petequiales o equimóticas, estas hemorragias también pueden verse a nivel de la esclerótica, hemoglobinuria y bilirrubinuria. Hay una leve depresión de los movimientos intestinales provocando un leve cólico. (6, 7, 11).

En la forma crónica los signos son inapetencia, pérdida de peso y condición corporal, desempeño físico pobre, debilidad, leve anemia; al realizar palpación rectal, se encuentra el bazo agrandado de tamaño. (6, 10, 11).

Si el animal sobrevive a la enfermedad aguda inicial, ésta se torna crónica, convirtiéndose en equinos portadores. Los caballos infectados con *T. equi* se convierten en portadores, el parásito permanece en su sangre en pocas cantidades, pero puede seguir siendo transmitido por la garrapata. Cuando estos animales sufren inmunosupresión por enfermedad o estrés pueden llegar a desarrollar nuevamente la infección. La infección con *B. caballii* puede llegar a persistir por 1 a 4 años, pudiendo llegar a ser eliminadas espontáneamente luego de 12 a 42 meses, a diferencia de *T. equi* donde la eliminación espontánea no ocurre. (4, 10, 14).

Varias complicaciones secundarias pueden resultar, incluyendo fallo renal agudo, cólico, enteritis, laminitis, neumonía, infertilidad y aborto. (6).

4.8 Lesiones post-mortem

Dentro de los hallazgos encontrados en la necropsia están: sangre acuosa, ictericia, efusión pericárdica, hígado color café-anaranjado y agrandado de tamaño, esplenomegalia, riñones pálidos, friables y con hemorragias petequiales,

en corazón hemorragias subpericárdicas y subendocárdicas. También se observa edema en pulmones y signos de neumonía. (4, 6, 12).

4.9 Diagnóstico

4.9.1 Clínico-Epidemiológico:

Tiene valor únicamente orientativo. Se basa en la sintomatología (síntomas generales), presencia de garrapatas (época del año y zona geográfica), presentación de la enfermedad en la zona (endemia). Existen otros signos epidemiológicos (edad, sitios donde ha estado en los últimos días, infección antigua por garrapatas, transporte, estrés, etc.). Además de los síntomas, pueden ser de gran ayuda el estudio hematológico y sérico: hematocrito (disminuido por la anemia), recuento leucocitario (aumentado: eosinofilia), urianálisis.

4.9.2 Anatomopatológico

Se basa en las lesiones macroscópicas (diátesis hemorrágica, generalizada, fenómenos de coagulación intravascular diseminada (CID) y muerte por shock hipovolémico) y lesiones microscópicas (cortes histológicos e improntas de órganos como bazo, riñón e hígado).

4.9.3 Diagnóstico a través de exámenes de laboratorio

4.9.3.1 Parasitológico Directo – Parasitoscopia: Con este método pretendemos observar las formas parasitarias de ambas especies, tras la fijación y tinción con Giemsa de improntas de ganglios o extensiones de sangre periférica (frote sanguíneo) (18). La toma de muestra se hace de forma aséptica, si el frote se prepara de forma inmediata no se precisa el uso de anticoagulantes; se deja caer una gota de sangre periférica sobre el portaobjetos y con otra laminilla se realiza la extensión de la gota, luego

se fija con metanol libre de acetona para ser transportado al laboratorio donde será teñido.

Como se había mencionado anteriormente los trofozoitos de *T. equi* son redondos, ameboides o piriformes, de 2-3 mm, y se suele asociar en número de cuatro adquiriendo el aspecto de "Cruz de Malta". Los trofozoito de *B. caballi* son piriformes, redondos u ovaes, de 3-5 mm, habitualmente dispuestos en pareja formando ángulo agudo entre sí. *T. equi* se diferencia de la otra especie, por su replicación en los linfocitos (fase linfoproliferativa) previa a la multiplicación en el interior de los glóbulos rojos (fase hemoproliferativa). Se puede hacer un diagnóstico precoz y fiable tras verificar la infartación ganglionar observando al microscopio células multinucleadas (esquizontes) en el interior de los linfocitos (18).

El hallazgo de los protozoos depende de la fase parasitaria en la que se encuentre y de la cantidad de eritrocitos infectados. (3, 4, 11). Otra alternativa es la realización de un frotis sanguíneo de garrapata parasitante del caballo a muestrear, sin embargo en algunas garrapatas las formas sanguíneas de Babesia desaparecen. (6, 12). En estos casos una opción es realizar un frotis a través de la hemolinfa de la garrapata, lo cual consiste en arrancar de la garrapata cualquier segmento de alguna de las patas, y tomar una gota de hemolinfa, se fija y colorea con Giemsa para luego observar al microscopio (15).

4.9.3.2 Examen Serológico: Es de gran ayuda, especialmente en casos crónicos o de portadores. Dentro de este grupo están: fijación de complemento, inmunofluorescencia (IFA), ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), reacción de polimerasa en cadena (PCR). Para el transporte internacional de caballos, IFA y ELISA son los métodos que

se recomiendan. (11). A pesar de esto, los métodos más utilizados han sido, la fijación de complemento (a diferencia de IFA no diferencia las dos especies de babesias) y ELISA. Otros métodos diagnósticos incluyen pruebas de DNA y cultivos en vitro. (12). También se pueden utilizar garrapatas especiales libres de parásitos y alimentarlas del animal a sospechar para luego ya sea examinarlas a ellas o por la transmisión a otro animal susceptible. (11, 12).

4.10 Diagnóstico diferencial

La babesiosis equina se debe de diferenciar con: Anemia Infecciosa Equina, Anaplasmosis, Púrpura hemorrágica, Leptospirosis, Tripanosomiasis, Peste Africana, Erlichiosis Granulocítica Equina e intoxicaciones con plantas o químicos (6, 7, 10, 12, 18).

4.11 Tratamiento

Cuando la Babesiosis es diagnosticada y tratada temprano existen buenas posibilidades de recuperación, las infecciones con *T. equi* son más resistentes que las infecciones causadas por *B. caballii* (6). Los tratamientos con babesidas son los siguientes:

Aceturato de diminaceno (Berenil):

4 – 5 mg/kg/día vía I.M hasta la desaparición de los síntomas

11 mg/kg vía I.M en dosis única

Dipropionato de imidocarb (Imizol)

2 – 3 mg/kg vía I.M doble inyección con intervalo de 24 horas. Normalmente para el tratamiento de *B. caballii* de 2.2 mg/kg con repetición a las 24 horas.

Existen tratamientos para *T. equi* con theilericidas, sin embargo en nuestro medio no se utilizan ya que no se diagnostica.

En pacientes con enfermedad aguda, se trata de brindar un tratamiento de sostén, según los síntomas que presente.

4.12 Prevención y control

Se requiere un estricto control de garrapatas, así como evitar la transmisión de manera iatrogénica realizando todos los procedimientos médicos bajo condiciones de asepsia.

4.13 Salud pública

Según un artículo de la Asociación Americana de Medicina Veterinaria e informes de la OIE, *Theileria equi* ha sido implicada en infecciones humanas, pudiéndose observar fiebre, anemia hemolítica y hemoglobinuria. (4, 12).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos Humanos

- Estudiante Investigador
- Médicos Veterinarios asesores y colaboradores del estudio
- Caballerangos

5.1.2 Recursos de Campo

- Hoja de Control: Equinos a muestrear y resultados.
- Lapiceros
- Marcador
- Tape
- Algodón
- Alcohol etílico al 70%
- Maquina de Rasurar y rasuradora de uso humano
- 70 Agujas para obtener la muestra del pabellón auricular
- 70 agujas vacutainer (21 G x 1 ½)
- 70 tubos de ensayo estériles de 4.5 ml con anticoagulante (EDTA)
- Gradilla para tubos
- Gradilla para portaobjetos
- Capilares microhematocrito

5.1.3 Recursos de Laboratorio

- 250 laminas porta objetos
- Metanol libre de acetona para análisis
- Giemsa solución madre para análisis
- Buffer pH 7 para análisis

- Capilares y centrifuga para microhematocrito
- Microscopio binocular óptico con objetivo de inmersión

5.2 Metodología

5.2.1 Áreas de Estudio

Las muestras se obtuvieron de distintas fincas de las regiones de:

- Escuintla: Masagua, La Gomera y Siquinalá
- Santa Rosa: Barberena y Chiquimulilla

El horario de toma de muestra fue entre las 11:00 a.m. y 3:00 p.m. Durante los meses de agosto y septiembre que corresponde a la época de invierno en nuestro país.

5.2.2 Criterios de Inclusión

Los 70 equinos muestreados cumplen con las siguientes características:

- Hembras, machos y machos sin castrar de distintas edades.
- Condición corporal: de regular a mala.
- Presencia de garrapatas

5.2.3 Identificación de las Muestras

Las muestras fueron identificadas con los números del 1 al 70. De cada equino se obtuvo dos muestras: A. muestra de la vena yugular y B. muestra del pabellón auricular.

5.2.4 Toma de Muestra

La mayoría de las muestras se obtuvieron del equino dentro de su tramo. Con algunos se necesitó el uso de manga y tortola, principalmente para la toma de muestra de la oreja. Se obtuvo ayuda de los caballerangos y de Médicos colaboradores del estudio para la sujeción del equino y la toma de la muestra.

Muestra A: Vena yugular. Previo a la toma de la muestra se desinfectó el área con gaza y alcohol, utilizando agujas vacutainer (21 G x 1 ½) se recolectó 3 ml de sangre depositándolo en un tubo con anticoagulante EDTA ya identificado.

Muestra B: Previo a la toma de la muestra se desinfectó el área del pabellón auricular, se realizó una punción precisa con agujas # 25, se descartó la primer gota y con la segunda gota se llenó un tubo capilar de microhematocrito, con el fin de realizar un frote delgado en la lámina porta objetos, la cual se identificó, secó y fijó con metanol libre de acetona.

Los tubos y las laminillas fueron transportadas en gradillas para ser procesadas en el laboratorio Clínico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC.

5.2.5 Realización, Coloración y Observación del Frote Sanguíneo

- Del colorante Giemsa solución madre para análisis, se tomó 1 ml, al cual se le agregaron 9 ml de solución bufferada, para así obtener la solución de trabajo.
- Las muestras del grupo A, se homogenizaron individualmente y llenando un tubo de microhematocrito con la muestra, se realizó el frote, se identificaron, se fijaron con metanol libre de acetona durante 4 minutos luego se tiñeron con la solución de trabajo Giemsa durante 8 minutos, se lavaron y se dejaron secar. El tubo de microhematocrito de cada una se selló y se colocó en la centrifuga durante 5 minutos para luego medir el hematocrito.
- Las muestras del grupo B, previamente fijadas con metanol, se tiñeron con Giemsa solución de trabajo durante 8 minutos, luego se lavó el excedente con agua y se dejaron secar.

5.2.6 Registro de Datos y Resultados

Los datos de los equinos muestreados se registraron en la hoja de control de datos y resultados (anexo). Se registró el sexo, raza y hematocrito como parámetros que podríamos correlacionar con los resultados, y la condición física es un parámetro ya establecido en este estudio.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 70 muestras analizadas del grupo A (Yugular), 69 fueron negativas (98.57%) y 1 fue positiva (1.43%); de igual manera con las muestras analizadas del grupo B (Pabellón auricular), 69 negativas y 1 positiva.

Cuadro 1. Resultados de muestras tomadas de la vena yugular

Muestra	
POSITIVA	1
NEGATIVA	69
Total	70

Cuadro 2. Resultados de muestras tomadas de pabellón auricular

Muestra	
POSITIVA	1
NEGATIVA	69
Total	70

Para el diagnóstico de piroplasmosis equina a nivel de laboratorio se utilizan pruebas directas e indirectas. Las pruebas directas son las que evidencian la presencia del agente etiológico; como en el caso de la observación de glóbulos rojos infestados con Babesia en el frote sanguíneo; lo cual depende del período de parasitemia y de la cantidad de eritrocitos infectados.

Las pruebas indirectas son las que detectan cambios secundarios a través de la medición de antígenos o anticuerpos (IgG o IgM), siendo las más comunes ELISA e IFA; cuya seropositividad indica que el equino ha sido expuesto al agente infeccioso en algún momento de su vida; lo cual puede interpretarse como: Presencia de enfermedad o Proceso de recuperación post enfermedad. La

seronegatividad se interpreta como: Animal sano o Enfermedad subclínica con bajos niveles de antígenos o anticuerpos, no medibles por la prueba utilizada. (17).

En estudios previos se reportan: NCBI (Nacional Center for Biotechnology Information) (2005) publica el resultado de 74 equinos con una prevalencia de 92.7% para *B. caballii*, utilizando ELISA. (16). Addair (1978) a través de Inmunofluorescencia Indirecta (IFA), determinó 70% de prevalencia de Piroplasmosis Equina: 52% de *T. equi* y 48% de *B. caballii*.(1).Peña, (2009) compara ELISA y Frote Sanguíneo, encontrando mayor porcentaje de positividad por la técnica de ELISA. (13).

En nuestro medio el diagnóstico de piroplasmosis, se realiza comúnmente por la técnica de frote sanguíneo, a pesar que se describe como la prueba menos sensible y específica, por lo que el clínico deberá tomar en cuenta lo anteriormente supracitado, para la interpretación de los resultados.

En el presente estudio, a pesar que se esperaba una alta infestación de los equinos muestreados, los frotos sanguíneos provenientes de vena yugular y de oreja, evidenciaron baja presencia de eritrocitos infestados con Babesia, 1.43%de positividad.

Para evidenciar la confiabilidad de la técnica del frote sanguíneo para el diagnóstico de hemoparásitos en general y de piroplasmosis en particular, en el presente trabajo de investigación, se enfatizó en lo siguiente:

Condiciones para la obtención de la muestra en campo:

- La condición corporal de los equinos era de regular a mala, con presencia de garrapatas.

- Las muestras se obtuvieron de 11:00 a.m a 3:00 p.m., debido a que en casos crónicos el parásito se almacena principalmente en hígado y bazo saliendo a circulación cuando hay más exigencia de sangre, regularmente durante el período más caluroso del día.
- Realización de frotos, delgados y fijados con metanol.

Condiciones de los procedimientos de Laboratorio:

- Para el procesamiento de las muestras se utilizaron reactivos con pureza analítica, en este caso, Metanol y Giemsa (solución madre), preparando la solución de trabajo previo a la tinción de la muestras, para evitar precipitado sobre la lámina, que pudiera dar lugar a falsos positivos o negativos.
- Se descarta o minimiza la subjetividad del observador, debido a la experiencia del personal de laboratorio para el diagnóstico microscópico de hemoparásitos, tanto en lo cotidiano como en la realización de estudios similares en distintas especies; sabiendo que, la presentación microscópica de *B. caballii* y *T. equi* es pleomórfica, a excepción de la típica “cruz de malta” de *T. equi*.

En el presente estudio, no se determinó diferencia significativa entre las muestras positivas colectadas de vena yugular y pabellón auricular, debido al bajo porcentaje de positividad el cual no es estadísticamente representativo.

Para la interpretación de la positividad o negatividad de las pruebas directas e indirectas para el diagnóstico de hemoparásitos, se debe tener en cuenta que la babesiosis al ser una enfermedad endémica en nuestro país, el hospedador presenta diferentes mecanismos de defensa que lo hacen resistente a la enfermedad, lo cual se evidencia con la escasa presencia del agente etiológico infestando los glóbulos rojos en el frote sanguíneo, en un lugar anatómico y en un momento determinado. A esto se suma el tratamiento médico indiscriminado que

se administra a los equinos cuando la signología hace sospechar de hemoparásitos sin haber realizado un diagnóstico confirmatorio. (8, 17).

Así mismo, al analizar el porcentaje de positividad reportado en estudios utilizando pruebas serológicas, debe tomarse en cuenta que para los mismos, se utilizan kits provenientes de otros países, cuyo punto de corte se realiza con equinos cuyas condiciones integrales, no son las mismas que las de nuestro país; sin embargo se utilizan porque son pruebas de referencia para el transporte y comercio internacional de equinos. (5, 17).

VII. CONCLUSIONES

- Del 100% de los equinos muestreados, 1.43% fue positivo a piroplasmosis equina en ambos sitios anatómicos.
- Del 100% de los equinos muestreados, 98.57% fue negativo a piroplasmosis equina en ambos sitios anatómicos.
- No se determinó diferencia significativa entre las muestras positivas colectadas de vena yugular y pabellón auricular, debido al bajo porcentaje de positividad el cual no es estadísticamente representativo.

VIII. RECOMENDACIONES

- Correlacionar la fase clínica de la enfermedad con la sensibilidad y especificidad del frote sanguíneo, debido a que la piroplasmosis es una enfermedad endémica en nuestro medio.
- Utilizar reactivos de pureza analítica para la tinción de frotos sanguíneos, para evitar precipitados que den lugar a falsos positivos o negativos.
- Para futuras investigaciones se recomienda el uso de pruebas serológicas, más específicas (ej: Fijación de complemento, ELISA) para obtener una muestra estadísticamente significativa de positivos a piroplasmosis equina, y en base a esa población, realizar la comparación de ambos sitios anatómicos por medio del frote sanguíneo, por ser la prueba diagnóstica con la que cuenta nuestro medio.

IX. RESUMEN

Para el diagnóstico de piroplasmosis equina a través de frote sanguíneo, se demuestra la presencia del hemoparásito dentro del glóbulo rojo, siendo ésta prueba directa la más utilizada en nuestro medio para su diagnóstico; en el presente estudio se busca comparar entre la toma de muestra de la vena yugular, que es donde comúnmente se obtiene, a diferencia de los vasos sanguíneos periféricos, con el fin de obtener resultados que propicien la sensibilidad y especificidad del diagnóstico.

Se obtuvieron 70 muestras de equinos adultos: machos y hembras que presentan garrapatas y de condición corporal de regular a mala. De las 70 muestras analizadas del grupo A (Yugular), 69 fueron negativas (98.57%) y 1 fue positiva (1.43%); de igual manera con las muestras analizadas del grupo B (Pabellón auricular), 69 negativas y 1 positiva.

A pesar que se esperaba una alta infestación de los equinos muestreados, los frotos sanguíneos evidenciaron baja presencia de eritrocitos infestados con *Babesia*, 1.43% de positividad; por lo que no se determinó diferencia significativa entre las muestras positivas colectadas de vena yugular y pabellón auricular ya que no es estadísticamente representativo.

Tomando en cuenta que la piroplasmosis es una enfermedades endémica en nuestro país, el hospedador presenta diferentes mecanismos de defensa que lo hacen resistente a la enfermedad, lo cual se evidencia con la escasa presencia del agente etiológico infestando lo glóbulos rojos en los frotos sanguíneos realizados, en un lugar anatómico y en un momento determinado.

SUMMARY

For identifying the Equine Piroplasmosis diagnose through a blood smear it is demonstrated the presence of hemoparasites within the red blood cell, which is the most used diagnose proof in the country. Throughout the current study will compare between the blood sample of the jugular vein, where it is usually obtained, (Group A) and peripheral blood vessels, auricular pavilion (Group B) for obtaining the sensibility and specificity of the diagnose.

Were taken 70 blood samples of adult equines of one and other sex that showed tick vectors infestation with medium to low complexión. Of the 70 samples analyzed of Group A (jugular) and B (auricular pavilion), 69 were negative (98.59%) and 1 positive (1.43%).

Evidence demonstrates that although the equines had a high infestation rate the blood smears showed a low presence of erythrocytes with Babesia, 1.43% positive. There was no statistically significant result from the positive collected samples at the jugular vein and the auricular pavilion.

In our country Equine Piroplasmosis is endemic. The host shows different defense mechanism that makes them resistant to the malady which evidences low presence of the etiological vector in the performed red blood cells smears with no importance on the anatomic place on a determined moment.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adair, W.E. (1978). *Prevalencia de piroplasmosis equina, (B. equi y B. caballii), en la república de Guatemala*. Tesis de Licenciatura, Med.Vet.: FMVZ/USAC: Guatemala.
2. Ali, S., Sugimoto, C. & Onuma, M. (1996). Equine Piroplasmosis. *JA Review*. 7 (4): 67-77.
3. Antipin, D.N., Ershov, V.S., Zolotarev, N.A. & Salyaev, V.A. (1960). *Parasitology and parasitic diseases of livestock*. Trad. Birrion, A., Hechter, H. G., Lengy, J. I. Jerusalem, Israel: VS Ershov.
4. Asociación Americana de Medicina Veterinaria. (2006). *Equine Piroplasmosis*. Recuperado de http://www.avma.org/reference/backgrounders/equine_piroplasmosis_bgnd.asp.
5. Clifford, B.R y Taylor, R.A. (2008). *Bioestadística*. México: Pearson educación.
6. Edwards, R.Z., Moore, H., LeRoy, B.E. & Latimer, K.S. (2005). *Equine babesiosis*. Georgia, Estados Unidos: Recuperado de <http://www.vet.uga.edu/vp/p/clerk/edwards/index.php>.
7. Hall, H.T.B. (1986). *Diseases and parasites of livestock in the tropics*. Londres, Inglaterra: Prentice Hall Press.
8. Jaramillo Arango, C.J. y Martínez Maya, J.J. (2010). *Epidemiología Veterinaria*. México: El Manual Moderno.
9. Manley, W.G. (2004). *El caballo con piroplasmosis*. España: Recuperado de http://www.spillers.es/art_EL%20CABALLO%20CON%20PIROPLASMOSIS.htm
10. Cordero del Campillo, M., Rojo Vázquez, F.A., Martínez Fernández, A. R., Sánchez Acedo, C., Hernández Rodríguez, S., Navarrete Lopez-Cozar, J.,... Carvalho Varela, M. (1999). *Parasitología Veterinaria*. Madrid, España: McGRAW-HILL-INTERAMERICANA.
11. Organización mundial de sanidad animal. (2004). *Piroplasmosis*. Recuperado



- de http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.506_Piroplasmosis_equina.pdf
12. Organización mundial de sanidad animal. (2008). *Equinepiroplasmosis*. Recuperado de http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/piroplasmosis_equina.pdf
 13. Peña, A.L. (2009). *Concordancia entre la prueba ELISA y el Frotis Sanguíneo como Método Diagnóstico para Babesiosis Equina (Babesia caballi y Theileria equi)*. Tesis de Licenciatura, Med. Vet. FMVZ / USAC: Guatemala.
 14. Schering-Plough Veterinaria. (s.f.). *Imizol*. Recuperado de <http://mexico.spah.com/mexico/products/fulldescr.cfm?prodid=500&SID=0>
 15. Smith, R.D. (1978). *Ciclo biológico de Babesia en la garrapata*. Recuperado de http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol2/CVv2_c9.pdf
 16. Teglas, M., Matern, E., Lein, S., Foley, P., Mahan, S.M. & Foley, J. (2005). *Ticks and tick-borne disease in Guatemalan cattle and horses*. *Vet. Parasitology*. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15936147>.
 17. Tizard, I. (1989). *Inmunología Veterinaria*. México: Mc Graw-Hill.
 18. Townson, J.P. (2005). *Babesiosis equina*. Recuperado de <http://equisan.com/images/pdf/babe.pdf>



XI. ANEXOS

Hoja de control de datos y resultados

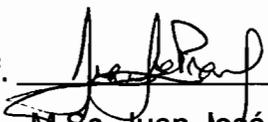
No.	Sexo		Raza	Condición Física	Hematocrito	Resultados FS	
	Macho	Hembra				Yugular	Oreja
1	•		Holandes	Regular	37	Negativo	Negativo
2	•		Holandes	Regular	39	Negativo	Negativo
3	•		Holandes	Regular	31	Negativo	Negativo
4		•	Holandes	Regular	31	Negativo	Negativo
5		•	Holandes	Regular	35	Negativo	Negativo
6	•		Holandes	Regular	35	Negativo	Negativo
7		•	Holandes	Regular	30	Negativo	Negativo
8	•		Arabe	Regular	35	Negativo	Negativo
9	•		Holandes	Regular	33	Negativo	Negativo
10		•	Holandes	Mala	35	Negativo	Negativo
11		•	Criolla	Regular	35	Negativo	Negativo
12		•	Arabe	Mala	36	Negativo	Negativo
13		•	Arabe	Regular	34	Negativo	Negativo
14		•	Angloarabe	Regular	34	Negativo	Negativo
15		•	Holandes	Regular	30	Negativo	Negativo
16		•	Holandes	Mala	34	Negativo	Negativo
17		•	Arabe	Mala	35	Negativo	Negativo
18		•	PRE	Regular	34	Negativo	Negativo
19		•	Arabe	Regular	32	Negativo	Negativo
20		•	1/4 de milla	Mala	31	Negativo	Negativo
21		•	1/4 de milla	Regular	28	Negativo	Negativo
22		•	KWPN	Regular	40	Negativo	Negativo
23		•	KWPN	Regular	34	Negativo	Negativo
24	•		Arabe	Regular	37	Negativo	Negativo
25		•	KWPN	Regular	40	Negativo	Negativo
26		•	KWPN	Regular	35	Negativo	Negativo
27		•	Arabe	Mala	35	Negativo	Negativo
28		•	KWPN	Regular	34	Negativo	Negativo
29		•	Arabe	Regular	39	Negativo	Negativo
30	•		Holandes	Regular	35	Negativo	Negativo
31	•		Arabe	Regular	34	Negativo	Negativo
32	•		Arabe	Regular	32	Negativo	Negativo
33	•		PRE	Mala	39	Negativo	Negativo

34	.		criollo	Mala	41	Negativo	Negativo
35		.	criollo	Mala	32	Negativo	Negativo
36	.		criollo	Mala	33	Negativo	Negativo
37		.	PRE	Regular	39	Negativo	Negativo
38	.		PRE	Regular	32	Negativo	Negativo
39		.	Ibero	Regular	36	Negativo	Negativo
40		.	PRE	Regular	33	Negativo	Negativo
41		.	PRE	Regular	45	Negativo	Negativo
42		.	KWPN	Regular	26	Negativo	Negativo
43		.	KWPN	Regular	24	Negativo	Negativo
44		.	KWPN	Mala	31	Negativo	Negativo
45		.	KWPN	Regular	28	Negativo	Negativo
46		.	KWPN	Regular	23	Negativo	Negativo
47		.	KWPN	Regular	30	Negativo	Negativo
48		.	KWPN	Regular	27	Negativo	Negativo
49		.	KWPN	Regular	32	Negativo	Negativo
50		.	KWPN	Mala	25	Negativo	Negativo
51		.	KWPN	Regular	26	Negativo	Negativo
52		.	KWPN	Regular	29	Negativo	Negativo
53		.	KWPN	Mala	28	Negativo	Negativo
54		.	KWPN	Regular	29	Negativo	Negativo
55	.		PRE	Regular	30	Negativo	Negativo
56	.		PRE	Mala	27	Negativo	Negativo
57		.	PRE	Mala	33	Negativo	Negativo
58		.	PRE	Mala	29	Negativo	Negativo
59		.	PRE	Mala	25	Positivo	Positivo
60	.		PRE	Regular	27	Negativo	Negativo
61	.		PRE	Regular	25	Negativo	Negativo
62	.		PRE	Regular	31	Negativo	Negativo
63		.	Arabe	Regular	27	Negativo	Negativo
64		.	Arabe	Regular	30	Negativo	Negativo
65		.	Arabe	Mala	27	Negativo	Negativo
66	.		Arabe	Regular	27	Negativo	Negativo
67		.	Arabe	Mala	31	Negativo	Negativo
68		.	Arabe	Mala	25	Negativo	Negativo
69	.		Arabe	Regular	33	Negativo	Negativo
70	.		Arabe	Regular	29	Negativo	Negativo

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**COMPARACIÓN DE DOS SITIOS ANATÓMICOS DE EXTRACCIÓN
DE MUESTRA SANGUÍNEA PARA EL DIAGNÓSTICO DE
PIROPLASMOSIS EQUINA**

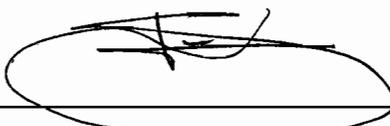
f. 
ABIGAIL MUÑOZ CATALÁN

f. 
M.Sc. Juan José Prem González
ASESOR PRINCIPAL

f. 
M.V Carmen Grizelda Arizandieta Altan
ASESOR

f. 
M.V Mario Llerena Quan
EVALUADOR

IMPRÍMASE

f. 
M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
DECANO

