

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

Seroprevalencia de Piroplasmosis Equina en equinos de trabajo del cantón Quinindé en Esmeraldas, Ecuador

Artículo Académico

Paúl Esteban Vega Auz

Medicina Veterinaria

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 22 de mayo de 2018

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO CIENCIAS DE LA SALUD

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Seroprevalencia de Piroplasmosis Equina en equinos de trabajo del cantón
Quinindé en Esmeraldas, Ecuador**

Paúl Esteban Vega Auz

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Juan Sebastián Galecio, MV., MSc

Firma del profesor

Quito, 22 de mayo de 2018

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

Nombres y apellidos:

Paúl Esteban Vega Auz

Código:

00116033

Cédula de Identidad:

1716078918

Lugar y fecha:

Quito, 22 de mayo de 2018

RESUMEN

La Piroplasmosis Equina (PE) es una enfermedad transmitida por garrapatas causada por los parásitos intraeritrocitarios *Theileria equi* o *Babesia caballi*. Potencialmente, ambos pueden ser transmitidos a todas las especies equinas. Ecuador, el segundo principal productor de aceite palma africana en el Sudamérica, los equinos se utilizan para diversas labores en la industria. De esta manera, la PE puede comprometer el bienestar animal de los équidos, resultando en un rendimiento disminuido.

El objetivo de este trabajo es determinar la seroprevalencia de PE en equinos de trabajo del cantón Quinindé – Ecuador, un área altamente productora de aceite de palma africana, e identificar las especies de garrapatas encontradas en los animales.

Se colectaron muestras de suero de 79 equinos involucrados en la labor de la cosecha de aceite de palma africana en Quinindé, provincia de Esmeraldas – Ecuador. Se realizó un Ensayo Competitivo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISAc) para cuantificar anticuerpos contra tanto *B. caballi* como *T. equi*. Adicionalmente, se colectó una garrapata por animal con fórceps de partes del cuerpo aleatorias. Las garrapatas fueron preservadas en una solución de formaldehído al 10%. Para la identificación de la especie, se observaron las características morfológicas bajo un estereoscopio.

La seroprevalencia de PE fue del 100%, de *T. equi* fue del 94% y la de *B. caballi* fue 93.6%. Además, hubo casos simultáneos positivos 88.6% de las veces. La especie de garrapata identificada fue *Amblyomma cajennense* en el 100% de los especímenes colectados.

Palabras clave: Piroplasmosis Equina, hemoparásitos, equinos de trabajo, seroprevalencia, *Amblyomma cajennense*.

ABSTRACT

Equine Piroplasmosis (EP) is a tick-borne disease caused by intraerythrocytic parasites *Theileria equi* or *Babesia caballi*. Both can be potentially transmitted to all equine species. In Ecuador, the second largest African oil palm producer in South America, equines are widely used for labor in such industry. Thus, EP can be associated to compromise on equine welfare leading to impaired performance.

This work aims to determine the seroprevalence of EP in draught equines from Quinindé – Ecuador, an African oil palm high producing location, and to identify the tick species that can be found on the animals.

Serum samples from 79 equines involved in African oil palm harvesting labor in Quinindé, Esmeraldas province – Ecuador were collected. An Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISAc) was performed to quantify antibodies against both *B. caballi* and *T. equi*. In addition, one tick was collected per animal with forceps from random parts of the body. They were preserved in 10% formaldehyde solution. For identification, morphologic features were observed under a stereoscope.

Seroprevalence for *T. equi* was 94.9% and for *B. caballi* was 93.6%. Simultaneous cases were positive 88.6% of times. The identified species of tick was *Amblyomma cajennense* in 100% of specimens collected.

Keywords: Equine Piroplasmosis, hemoparasites, draught equines, seroprevalence, *Amblyomma cajennense*.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	9
Materiales y Métodos.....	12
Lugar y animales.....	12
Muestreo	13
Análisis de muestras	14
Resultados y Discusión	15
Referencias.....	20

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cálculo del tamaño de la muestra de acuerdo a las prevalencias encontradas por Tenter, 1988	13
Tabla 2. Seroprevalencia Piroplamosis Equina en 4 recintos del cantón Quinindé.....	15

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Garrapatas de la especie <i>Amblyomma cajense</i> obtenidas de equinos de trabajo en el cantón Rosa Zárate. a. Forma juvenil. b. Forma adulta.	15
---	----

INTRODUCCIÓN

La Piroplasmosis Equina (PE) es una enfermedad infecciosa transmitida por garrapatas que afecta a todas las especies de équidos independientemente de la especie (caballos, mulares, burros y cebras). Tiene dos agentes causales identificados como *Theileria equi* y *Babesia caballi*. Ambos son protozoarios intraeritrocitarios que producen lisis de los eritrocitos. La presentación clínica difiere de un animal a otro. Los hospedadores pueden exhibir una presentación aguda que incluye signos inespecíficos como fiebre, letargia, anorexia, pérdida de peso y edema periférico. Podrían observarse petequias en las mucosas como resultado de una trombocitopenia. Además, se describen signos de anemia hemolítica con mucosas ictéricas o pálidas, taquicardia, taquipnea, debilidad y pigmenturia. Por otro lado, el cuadro puede ser crónico mostrando signos inespecíficos como letargia, anorexia parcial, pérdida de peso y disminución del desempeño. Los animales con infección crónica son considerados los mayores reservorios y las hembras gestantes pueden presentar abortos o producir infección transplacentaria (Wise *et al*, 2013).

La transmisión puede ser de 3 formas: intraestadial, transestadial y transovárica. La intraestadial se refiere a la transmisión sin previa transición de una etapa a otra del parásito. En la transestadial se describe la capacidad de la garrapata de transmitir la infección durante varios estados fisiológicos. En ese caso, el parásito se mantiene dentro del vector por varios estadios. La transovárica sucede cuando la hembra adquiere los parásitos y los transmite a su prole, lo cual permite la permanencia del parásito durante varias generaciones de vectores (Wise *et al*, 2013). En Ecuador se desconoce con exactitud la distribución de las especies de garrapatas presentes. Bustillos (2014) menciona que en Ecuador se ha reportado la presencia de las especies: *Amblyomma cajennense*, *A. maculatum*, *A. multipunctum*, *A. naponense*, *A. triste*, *Anocentor nitens*, *Haemaphysalis juxtakochi*, *Ixodes boliviensis*, *Boophilus microplus*; de la familia Ixodidae y *Ornithodoros furcosus* y *O. talaje*; de la familia Argasidae.

La infección está presente a nivel mundial y se mantiene en poblaciones equinas mientras el vector esté presente. La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) indica que son zonas endémicas: América Central y del Sur, África, Asia, el Medio Oriente y Europa del Sur. Se menciona que establecer una lista de distribución exacta ha sido un reto debido a que la vigilancia epidemiológica es variable de un lugar a otro. En muchos países no existen datos sobre la situación epidemiológica de PE. Sin embargo, la piroplasmosis equina es una enfermedad de notificación obligatoria para la OIE (OIE, 2009). Específicamente en Ecuador se desconocen datos sobre el estatus epidemiológico y del impacto que esta enfermedad tiene en los animales. No obstante, es una enfermedad regulada por la autoridad sanitaria. Agrocalidad ha publicado en 2016 el “Manual de Procedimientos para la Prevención y Control de la Piroplasmosis Equina en el Ecuador” que especifica los lineamientos generales en caso de sospecha y recomendaciones generales para la prevención y control de PE. Adicionalmente, se establece la obligatoriedad de notificar a la autoridad sanitaria la presencia de casos sospechosos y el diagnóstico exclusivamente en laboratorios certificados por Agrocalidad (Agrocalidad, 2016). El último reporte de la presencia de PE en Ecuador presentado a la OIE registró un brote con 38,78% animales diagnosticados mediante la técnica de Ensayo Competitivo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISAc) de un total de 98 equinos adultos (OIE, 2015). Un estudio realizado con muestras de 148 animales en el cantón Palenque de la provincia de Los Rios estableció un 6,08% de casos positivos diagnosticados mediante observación de los protozoarios en frotis sanguíneos (Mendoza, 2016). El manual establece que el diagnóstico debe llevarse a cabo en uno de los 3 laboratorios certificados a nivel nacional con la técnica de ELISAc correspondiente. Dicha técnica mide la presencia de anticuerpos arrojando un porcentaje de inhibición (%I) a partir de una reacción colorimétrica. Se consideran los resultados positivos con un %I mayor a 40 (Agrocalidad, 2016).

La República del Ecuador es el segundo productor de aceite crudo de palma en Latinoamérica y el séptimo en el mundo. La zona de mayor producción está al noroccidente del país entre los cantones de Quinindé (conocido también como Rosa Zárate) y La Concordia (Potter, 2011). Dentro de las labores extrativistas, los equinos de trabajo desempeñan un papel fundamental como fuerza de carga. Por tal motivo, resulta relevante conocer más sobre el estado sanitario de dichos animales.

Se ha realizado un muestreo de ciertos recintos palmicultores y agricultores del cantón Rosa Zárate en la provincia de Esmeraldas. Al tratarse de una zona tropical, con presencia de vectores, se presume la presencia de la infección. El objetivo de este trabajo fue estimar la prevalencia de PE mediante el análisis serológico de equinos de trabajo del cantón Quinindé. Además, se pretende identificar un posible vector tomando muestras de garrapatas en diversos estadios al azar de diferentes zonas corporales de los equinos. Como se mencionó previamente, la Piroplasmosis Equina puede afectar severamente el desempeño del equino. En este caso es particularmente importante por el papel protagónico que tienen los animales en la carga de los productos de la industria plamicultora.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los procedimientos y manipulación de animales fueron aprobados por el comité de bioética de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ) mediante el oficio 2017-014, el 16 de julio de 2017.

Lugar y animales

El estudio se llevó a cabo en el mes de julio de 2017. El cantón Rosa Zárate, también conocido como Quinindé, que se localiza en la provincia de Esmeraldas con latitud 0°20' N y longitud 79°29' O, con una elevación de 115 msnm. Según el Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), el cantón registra una temperatura anual promedio de 25,52°C, una precipitación anual de 2646,2mm y un promedio de humedad relativa anual de 86,6% (INAMHI, 2015).

La población considerada fue de 334 équidos con labores en la extracción de palma africana concentrados en 4 recintos del cantón Quinindé. De acuerdo a la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) en la provincia de Esmeraldas existe una población equina estimada total de 1357 asnales, 19824 caballares y 13032 mulares; incluyendo machos y hembras de todas las edades. Los propietarios de los equinos son contratados para múltiples cosechas por semana en distintas explotaciones. Los animales recorren las interlíneas de los sembríos cargando los racimos de fruta hasta los vehículos que la transportarán a la planta extractora (Ayala, 2008; INEC, 2016)

Muestreo

Para estimar el tamaño de la muestra se aplicó la siguiente fórmula (Naing, Winn & Rusli, 2006) que toma en cuenta una población finita, con un nivel de confianza del 95%.

$$n' = \frac{NZ^2 \times P(1 - P)}{d^2(N - 1) + Z^2 \times P(1 - P)}$$

Donde:

n'= Tamaño de la muestra en una población finita

N= Tamaño de la población= 334 en este estudio

Z= Estadístico Z para el nivel de confianza= 1,95 en este estudio

P= Prevalencia esperada (en proporción a 1)

d= Precisión (en proporción a 1)= 0,05 en este estudio

Se tomaron en cuenta los valores de 90% de prevalencia de *B. caballi*, 94% de *T. equi* y 100% de prevalencia de Piroplasmosis Equina sin importar el agente etiológico (Tenter, 1988). Los valores de n' correspondientes se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Cálculo del tamaño de la muestra de acuerdo a las prevalencias encontradas por Tenter, 1988

Agente	Prevalencia esperada (%)	n'
<i>B. caballi</i>	90	97,3
<i>T. equi</i>	94	68,4
PE	100	0

Finalmente se estableció una muestra de 79 individuos.

Todos los animales fueron sometidos a una evaluación de su estado general de salud que forma parte de un estudio complementario. Se obtuvieron muestras de sangre de toda la población por venopunción yugular. Se utilizaron jeringas descartables estériles de 10ml con aguja hipodérmica de calibre 21G y 1.5 pulgadas de largo. Una vez tomada la muestra, la sangre fue transferida a tubos vacutainer de 10ml sin anticoagulante (tapón rojo) para transporte de suero. Los mismos que eran almacenados en una gradilla en posición vertical.

Simultáneamente, se recolectó una garrapata al azar por cada animal. Fueron extraídas utilizando fórceps metálicos y se colocaron en tubos de cristal estériles de 10ml con solución

de formol al 10%. Todos los tubos de cristal con las muestras de sangre y garrapatas se transportaron en un mismo contenedor frío (4° C). Al final de cada jornada, el contenedor correspondiente era transportado durante la noche para su recepción en el laboratorio del Hospital Docente de Especialidades Veterinarias de la USFQ. Una vez allí, los tubos con sangre fueron centrifugados (3000rpm por 10 minutos) y se separó el suero en tubos Eppendorf de 1,5ml debidamente identificados y preservados en -80°C.

Análisis de muestras

Las 79 muestras de suero que se incluyeron en el estudio fueron enviadas al laboratorio LIVEXLAB en Quito, certificado por el organismo de control nacional (Agrocalidad). Cada muestra fue procesada para su cuantificación de anticuerpos específicos para *Theileria equi* y *Babesia caballi*. Se hizo uso del método ELISAc VMRD (Veterinary Medical Research &Development) en ambos casos.

Para la identificación de garrapatas se observaron las características morfológicas de cada ejemplar bajo un estereoscopio. En base a esto se identificó la especie con ayuda de un cuadro de identificación publicado por la Universidad de Rhode Island (2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a la cuantificación del %I de cada muestra procesada con el método ELISAc existe una seroprevalencia (Tabla 2) del 100% de PE con al menos uno de los dos agentes causales. La seroprevalencia de animales con ambos agentes simultáneamente es del 88,61%, sin embargo. Para *T. equi* se encontró un 94,94% de animales positivos y un 93,67% de positivos a *B. caballi*. Por otro lado, la especie de garrapatas identificada correspondió a *Amblyomma cajense* (Figura 1) en el 100% de los ejemplares obtenidos.

Tabla 2. Seroprevalencia Piroplamosis Equina en 4 recintos del cantón Quinindé

Agente	n	Total positivos	Prevalencia (%)
<i>B. caballi</i>	79	74	93,6
<i>T. equi</i>	79	75	94,9
PE*	79	79	100,0
Infección simultánea**	79	70	88,6

*PE: Son todos los animales que se consideran positivos a Piroplamosis Equina, sin importar el agente causal.

**Infección simultánea: Son los animales que se consideran positivos a la infestación con *B. caballi* y *T. equi* a la vez.

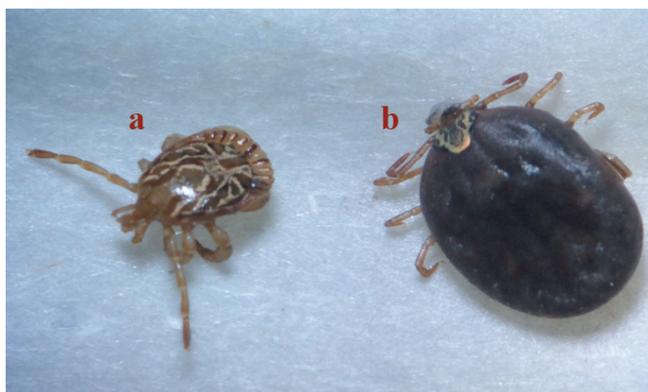


Figura 1. Garrapatas de la especie *Amblyomma cajense* obtenidas de equinos de trabajo en el cantón Rosa Zárate. a. Forma juvenil. b. Forma adulta.

El reporte a la OIE (2015) con 38,78% de animales positivos de 98, el estudio realizado por Mendoza en 2016 con 6,08% de animales positivos de 148 y el presente estudio con 100% de casos positivos sugiere que la presencia de PE en la costa ecuatoriana es de distribución heterogénea. En cuanto a estrategias de diagnóstico de PE, la OIE (Igarashi &

Knowles, 2014) estableció una escala de valoración que califica las pruebas disponibles de acuerdo a su propósito en los niveles: “método recomendado”, “método apropiado”, “puede ser usado en ciertos casos, pero su confiabilidad limita su aplicabilidad”, “método no apropiado” y “no aplicable”. Los métodos de ELISAc, junto con la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), son las herramientas de diagnóstico que la OIE considera “método recomendado” para vigilancia epidemiológica y determinar la prevalencia de infección. Seguidos por la Inmunofluorescencia Indirecta (IFAT), considerada como “método adecuado”. Particularmente, la especificidad aparente del método ELISAc tanto para *B. caballi* o *T. equi* oscila entre 99.2% a 99.5% (USDA, 2005). Cabe mencionar que, de los otros dos estudios de PE en Ecuador, solamente en el reporte de 2015 a la OIE se utilizó la misma técnica de ELISAc como en este caso, pero no se mencionan las condiciones en las que se encuentran ni las actividades que realizan los animales incluidos en su muestra. Mendoza (2016), por su parte, realizó el diagnóstico mediante observación directa de los protozoarios en los eritrocitos en frotis sanguíneos, método que según la OIE “puede ser usado en ciertos casos, pero su confiabilidad limita su aplicabilidad” (Igarashi & Knowles, 2014). Por tal motivo, este se convierte en el primer estudio de PE en Ecuador usando ELISAc para diagnosticar su prevalencia en una población de equinos sometidos a trabajo de carga. Resultaría relevante investigar sobre el impacto que tiene la PE sobre el desempeño y bienestar de estos animales y, por ende, el impacto en la productividad del sector palmicultor.

Internacionalmente existen estudios de prevalencia para EP con resultados muy variables al igual que en Ecuador. En Montería, Colombia, Calderón (2013) estableció una prevalencia de 18,25% usando la técnica de observación de frotis sanguíneo en 126 caballos. En la misma región, Tenter (1988) identificó una prevalencia de 100% usando la técnica de IFAT en suero. En Galicia, España se identificó una prevalencia de 40% para *T. equi* y 28,3% para *B. caballi* (Camacho *et al*, 2005). En ciertas metrópolis de Paquistán se identificó una

seroprevalencia de 52,6% para EP (Hussain *et al*, 2014). Estos datos nos sugieren que la prevalencia tiende a ser más alta en regiones diagnosticadas con serología, en climas tropicales, en animales sometidos a condiciones de trabajo con pobre manejo en general. En Brasil se han identificado valores como 54,1% para *B. caballi* y 21,6% para *T. equi* en granjas de sementales (Kerber *et al*, 2009); así como valores de 97,5% para PE, 69,2% y 78,3% para *B. caballi* y *T. equi* respectivamente en una población rural de equinos de trabajo (Vieira *et al*, 2013). En México (Cantú *et al*, 2012) se llevó a cabo un estudio serológico con 248 individuos usando IFAT y regresiones logísticas con datos de encuestas epidemiológicas. Se determinó que su valor de prevalencia de 61,7% de PE, 45,2% de *T. equi* y 27,4% de *B. caballi* no se asocian al sexo, la edad ni el propósito de los animales; dentro de los cuales incluyó: caballos de tiro, de policía montada, de “charrería”, de recreación, de salto y de polo.

En el presente estudio no se incluye metodología que asegure que la especie de garrapata *A. cajennense* es el vector responsable en los casos positivos de PE. Cabe mencionar el hallazgo de Scoles *et al* (2011) que consideró a *A. cajennense* el vector predominante en un brote de PE en 292 caballos del sur de Texas, Estados Unidos que llegó a tener valores hasta 100% de casos positivos en ciertas áreas. Además, se comprobó su capacidad de transmisión con un caso experimental. También, Scoles & Ueti (2013) identificaron en un estudio experimental que *A. cajennense* tiene la capacidad de producir transmisión de tipo intraestadial vigilando el proceso con técnicas de PCR y serología para los hospedadores en el estudio e identificando la presencia de los piroplasmas en las garrapatas con PCR. En Brasil, Pires *et al* (2013) evaluaron la presencia y el nivel de infestación por *A. cajennense* en 635 caballos. Con un valor de 41,6% de animales infestados y encuestas epidemiológicas, aseguran que la presencia de *A. cajennense* se relaciona a condiciones de baja altitud, manejo sanitario y zootécnico poco satisfactorio y crianza extensiva. Puede decirse que el control de PE debería incluir un adecuado control del impacto

de *A. cajennense* en los equinos. En un ensayo en Brasil (Bahia *et al*, 2004) que prueba el tratamiento de baños con compuestos piretroides en equinos cada 7 días, se determinó que su efectividad es mayor cuando se realiza en los meses en los que predomina la infestación por larvas y ninfas. Época que corresponde a los meses de abril a octubre donde se llevó a cabo el estudio. En el predio donde se aplicó el tratamiento de dicha forma se observó el 89,7% de reducción en formas adultas y el 95,4% de reducción de hembras adultas. Sin embargo, donde se aplicó tratamiento solamente durante la época de larvas (de abril a julio) los porcentajes de reducción obtenidos fueron 58,6% y 69% respectivamente. Más allá de esto, es importante la inmunidad adquirida de los equinos frente a *A. cajennense*. Castagnolli *et al* (2003) realizaron experimentalmente 3 infestaciones consecutivas de *A. cajennense* en caballos “naive”, que no habían sido expuestos al vector, y compararon los resultados de rendimiento larvario y el peso de ninfas hinchadas sobre el animal con los datos de una población de caballos y burros expuestos de forma natural en campo. Se observó que al cabo de la primera infestación la resistencia al vector era mucho menor en el grupo experimental con respecto a la referencia. Sin embargo, la resistencia aumentó casi hasta el nivel de la referencia al cabo de la tercera infestación. Como dato adicional, se pudo comprobar que los burros poseen mayor resistencia con respecto a los caballos.

Al no existir estrategias de vacunación efectivas y al tratarse de una población donde EP es endémica, es recomendable la estrategia de “premunición” para prevenir brotes de enfermedad. Se refiere a un estado de infección previa del individuo y obtención de un estatus de portador con el fin de mantener inmunidad protectora. En este tipo de poblaciones deberían evitarse los intentos para eliminar la parasitemia farmacológicamente a los animales positivos. Los babesicidas deben ser usados solamente en animales con manifestación clínica de moderada a severa. Otra estrategia que resulta factible es controlar la infestación de garrapatas aplicando agentes acaricidas. En estas zonas endémicas es más efectivo realizar el

control de acuerdo a la estacionalidad de la infestación del vector, siempre y cuando los animales se mantengan en el mismo sitio. Debe tomarse en consideración que la resistencia a acaricidas es un problema serio y su uso debe hacerse con cierto criterio. En potros, la exposición a garrapatas e infección natural puede resultar en inmunidad sin signos evidentes de enfermedad (Rothschild & Knowles, 2007).

REFERENCIAS

- Agrocalidad (2016) *Manual de procedimientos para la prevención y control de la piroplasmosis equina en el Ecuador*. Recuperado en línea desde: <http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2016/09/DAJ-2016398-0201.0219-reso-piroplasmosis.pdf>
- Ayala, M. (2008) *Palma Africana, Estudio Agroindustrial en el Ecuador: Competitividad de la Cadena de Valor y Perspectivas de Mercado*. Quito, Ecuador: Ministerio de Industrias y Competitividad y Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial.
- Bahia, M., Cerqueira, R., de Oliveira, A., Gennari, S., Kasai, N. (2004). Controle estratégico do carrapato *Amblyomma cajennense* em eqüinos. *Ciência Rural*, 34(1), 195-200.
- Bustillos, R. (2014) *Ecología Parasitaria de la Garrapata (Acari: Ixodidae) en Bovinos en dos Áreas Geográficas del Ecuador*. Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Calderón, A., Cardona, J., Vergara, O. (2013) Frecuencia de *Babesia* spp. en Caballos de Montería, Córdoba (Colombia). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 16 (1): 451 – 458.
- Camacho, A., Guitian, F., Pallas, E., Gestal, J., Olmeda, A., Habela, M., Telford, S., Spielman, A. (2005) *Theileria (Babesia) equi* and *Babesia caballi* infections in horses in Galicia, Spain. *Trop Anim Health Prod.* 37(4):293-302.
- Cantú, M., Segura, J., Silva, M., Avalos, R., Wagner, G. (2012) Prevalence of Antibodies to *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses from Northeastern Mexico. *Journal of Parasitology*, 98(4):869-870.

- Castagnolli, K., De Figueiredo, L., Santana, D., De Castro, M., Romano, M., Szabó, M. (2003) Acquired resistance of horses to *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) ticks. *Veterinary Parasitology*, 117(4): 271-283.
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) (2005). Competitive ELISA for Serodiagnosis of Equine Piroplasmosis (*Babesia equi* and *Babesia caballi*). Ames, Iowa, EEUU: USDA, Animal and Plant Health Inspection Service, Veterinary Services, National Veterinary Services Laboratories.
- Hussain, M., Saqiba, M., Raza, F., Muhammad, G., Asi, M., Mansoor, M., Saleem, M., Jabbar, A. (2014) Seroprevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in fivedraught equine populated metropolises of Punjab, Pakistan. *Veterinary Parasitology*, 202, 248–256.
- Igarashi, I., Knowles, D. (2014) Equine Piroplasmosis. En Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (Ed.) *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2017*. Recuperado en línea desde:
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.05.08_EQUINE_PIROPLASMOSIS.pdf
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) (2016) *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC 2016*. Quito, Ecuador: Unidad de Estadísticas Agropecuarias.
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI) (2015) *Anuario Meteorológico Nro. 52-2012*. Quito, Ecuador.
- Kerber, C., Labruna, M., Ferreira, F., De Waal, D., Knowles, D., Gennari, S. (2009) Prevalence of equine Piroplasmosis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 18(4), 1-8.

- Mendoza, H. (2016) *Determinación de la incidencia de Piroplasmosis equina (Babesiosis) en los recintos Santa Rosa y la Cabaña del Cantón Palenque*. Vinces, Ecuador: Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias para el Desarrollo.
- Naing, L., Winn, T., Rusli, B. (2006) Practical Issues in Calculating the Sample Size for Prevalence Studies. *Archives of Orofacial Sciences*, 1: 9-14
- OIE (2009) *Equine Piroplasmosis: Aetiology, Epidemiology, Diagnosis, Prevention and Control References*. Recuperado en línea desde: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/EQUINE_PIROPLASMOSIS.pdf
- OIE (2015) *Equine piroplasmosis, Ecuador*. Recuperado en línea desde: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=18337
- Pires, M., dos Santos, T., Santos, H., Rezende, J., Peckle, M., Rocha, E., Silva, Bezerra, C., Dias, J., Sampaio, E., Massard, C. (2013). *Amblyomma cajennense* infestation on horses in two microregions of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 22(2), 235-242.
- Potter, L. (2011) La industria del aceite de palma en Ecuador: ¿un buen negocio para los pequeños agricultores?. *EUTOPIA*, 2: 39-54.
- Rothschild, C., Knowles, D. (2007). Equine Piroplasmosis. En Sellon, D., Long, M. (Ed.) *Equine Infectious Diseases*. St Louis, Missouri, EEUU. Saunders, Elsevier.
- Scoles, G., Hutcheson, H., Schlater, J., Hennager, S., Pelzel, A., Knowles, D. (2011). Equine Piroplasmosis Associated with *Amblyomma cajennense* Ticks, Texas, USA. *Emerging Infectious Diseases*, 17(10), 1903–1905.
- Scoles, G., Ueti, M. (2013). *Amblyomma cajennense* is an intrastadial biological vector of *Theileria equi*. *Parasites & Vectors*, 6, 306.

- Tenter, A., Otte, M., Gonzalez, C., Abuabara, Y. (1998) Prevalence of Piroplasmosis in Equines of the Colombian Province of Cordoba. *Trop Anim Health Prod.* 20, 93-98.
- University of Rhode Island (2018) *TickEncounter Resource Center*. Recuperado en línea desde: http://www.tickencounter.org/tick_identification/tickid_nonflash
- Vieira, T., Vieira, R., Finger, M., Nascimento, D., Sicupira, P., Dutra, L., Deconto, I., Barros-Filho, I., Dornbusch, P., Biondo, A., Vidotto, O. (2013) Seroepidemiological survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses from a rural and from urban areas of Paraná State, southern Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 4 (6): 537-541.
- Wise, L., Kappmeyer, L., Mealey, R., Knowles, D. (2013) Review of Equine Piroplasmosis. *J Vet Intern Med*, 27:1334–1346.