

**Universidad Nacional
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria**

**Seroprevalencia de Piroplasmosis equina
en caballos mantenidos en cuadra y caballos destinados a
matadero en Costa Rica**

Modalidad: Proyecto de Graduación

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado
Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria**

Cinthy Alexandra Vega Bolaños

**Tutor: Dr. Víctor Montenegro
Lectores: Dra. Ana Jiménez
Dra. Ana Meneses**

Campus Presbítero Benjamín Núñez

2011

**SEROPREVALENCIA DE PIROPLASMOSIS EQUINA EN CABALLOS
MANTENIDOS EN CUADRA Y CABALLOS DESTINADOS A MATADERO EN
COSTA RICA.**

COMITÉ ASESOR

Vicedecano: Dr. Rafael Vindas Bolaños Firma: _____

Directora: Dra. Laura Castro Firma: _____

Tutor: Dr. Víctor M. Montenegro Firma: _____

Lectora: Dra. Ana Jiménez Firma: _____

Lectora: Dra. Ana Meneses Firma: _____

Fecha 10-08-2011

DEDICATORIA

Dedico este trabajo final de graduación a mi papá Minor Vega Arroyo, quien desde muy pequeña me motivó y me impulsó en los estudios y me enseñó la importancia de superarme a mi misma y alcanzar siempre mis metas. ¡Gracias Papi!

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá, Maribel, por su apoyo y comprensión a lo largo de estos años de estudio. A mi tutor Victor Montenegro y mis dos lectoras Ana Jiménez y Ana Meneses, por su paciencia y dedicación con este proyecto, sin su ayuda nunca hubiera podido desarrollar esta tesis. A Jorge Hernández por todas las horas que me ayudó en el laboratorio en la parte experimental de este trabajo. A Marco Salgado por todas las veces que me ayudó y me acompañó a lo largo de estos años, igual a mi hermana Stephanie, por las veces que me acompañó a recolectar muestras y con las estadísticas. A mi tía Eliza, que estuvo conmigo a lo largo del todo camino. A mis amigos Fabiola, Laura, Tahiana, Adriana, Alvaro, Katerine y Cristian, por todas las cosas vividas y compartidas en nuestros años de carrera. A mi abuela, a mi tía Valerie y mi tío Papillo, que sin ellos no hubiera llegado a la matrícula de carrera. Gracias a mi tía Sonia y a Pelón, por su apoyo y por la confianza en mí que siempre me dieron y a todos aquellos que creyeron en mí y me apoyaron.

RESUMEN

El propósito de este estudio fue estimar la prevalencia de la piroplasmosis equina en los caballos mantenidos en cuadra y destinados a matadero en Costa Rica. Los niveles de anticuerpos a *Babesia caballi* y *Theileria equi* fueron evaluados, con una prueba comercial de c-ELISA a 149 caballos mantenidos en cuadra aparentemente sanos y 51 caballos destinados a matadero. La piroplasmosis equina es una enfermedad causada por los protozoarios hemotrópicos *T. equi* y *B. caballi*. La babesia destruye los eritrocitos huésped y provoca fiebre, anemia e ictericia en los caballos infectados. Los parásitos son generalmente detectables en muestras de sangre sólo durante la fase aguda de la infección. En contraste, los caballos que se recuperan de la enfermedad siguen siendo portadores de parásitos, pero solamente son identificados serológicamente. Los anticuerpos contra *B. caballi* se encontraron en 66 caballos en cuadra (44,3%) y 40 caballos a matadero (78,4%), mientras que 70 animales en cuadra (47,0%) y 48 animales a matadero (96,1%) fueron detectados como seropositivos para *T. equi*. Además, para el caballo en cuadra, el 28,2% fueron positivos para ambos agentes, el 16,1% sólo para *B. caballi*, el 18,8% sólo para *T. equi* y el 36,9% fueron negativos para ambos agentes. Para los caballos a matadero, el 76,5% fueron positivos para ambos agentes, un 2,0% sólo para *B. caballi*, el 17,6% sólo para *T. equi* y el 3,9% fueron negativos para ambos agentes. Se determinó que la tasa de seroprevalencia a *T. equi* es igual a la seroprevalencia de *B. caballi* en caballos de cuadra. En caballos de matadero la proporción de seroprevalencia a *T. equi* es mayor que la seroprevalencia de *B. caballi*. El número de caballos seropositivos a *T. equi*, que además sufrían de bajo hematocrito en caballos en cuadra y de matadero fue de un 45% y a *B. caballi* 42%.

ABSTRACT

The purpose of this study was to estimate the prevalence of equine piroplasmosis in stable horses and slaughterhouse horses in Costa Rica. The presence of antibodies against *Babesia caballi* and *Theileria equi* was found in serum samples obtained from 149 apparently healthy stable horses and 51 slaughterhouse horses raised in different locations in Costa Rica by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Equine piroplasmosis is a disease caused by blood parasites named *B. caballi* and *T. equi*. Parasites destroy host erythrocytes and induce fever, anemia, and icterus in infected horses. These parasites are usually detectable in blood smears only during the acute stage of the infection. In contrast, horses that recover from disease continue to be parasite carriers, and these carriers as well as previously exposed animals should be identified serologically. Antibodies for *B. caballi* were found in 66 stable horses (44.3%) and 40 slaughterhouse horses (78.4%), whereas 70 stable animals (47.0%) and 48 slaughterhouse animals (96.1%) were detected as seropositives to *T. equi*. In addition, for horse-block, 28.2% were positive for both agents, 16.1% only for *B. caballi*, 18.8% only for *T. equi* and 36.9% were negative for both agents. For slaughterhouse horses, 76.5% were positive to both agents, 2.0% only for *B. caballi*, 17.6% only for *T. equi* and 3.9% tested negative for both agents. It was determined that the rate of seroprevalence for *T. equi* is equal to the seroprevalence for *B. caballi* in stables horse. In the slaughterhouse horses the proportion of seroprevalence for *T. equi* is higher than the seroprevalence for *B. caballi*. The number of seropositive horse which also suffered low hematocrit, was 45% for *T. equi* and 42% for *B. caballi*.

INDICE DE CONTENIDOS

pág

1.INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedente	1
1.2 Justificación	5
1.2.1 <i>Hipótesis</i>	6
1.3 Objetivos	7
1.3.1 <i>Objetivo general</i>	7
1.3.2 <i>Objetivos específicos</i>	7
1. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS	8
2.1 Tamaño de la muestra	8
2.2 Población de estudio	8
2.3 Toma de la muestra	9
2.4 Análisis de hematocrito	10
2.5 Análisis de frotis sanguíneo	10
2.6 Técnica de ELISA	11
2.6.1 <i>Principio de la técnica</i>	11
2.6.2 <i>Interpretación de resultados</i>	11
2.7 Encuesta	12
2.8 Definición de variables y análisis estadísticos	12
2.8.1 <i>Seroprevalencia para <u>T. equi</u> y <u>B. caballi</u></i>	12
2.8.2 <i>Porcentaje de sensibilidad c-ELISA versus frotis sanguíneo (prueba de oro)</i>	13
2.8.3 <i>Porcentaje de especificidad c-ELISA versus frotis sanguíneo (prueba de oro)</i>	13

2.8.4 Relación entre hematocrito y estado serológico	14
2.8.5 Comparación entre seroprevalencia a piroplasmosis con el control de ectoparásitos.....	15
3. RESULTADOS.....	16
3.1 Seroprevalencia de <i>T. equi</i> y <i>B. caballi</i> en Costa Rica en caballos en cuadra y matadero.....	16
3.1.1 Seroprevalencia de <u><i>T. equi</i></u> en Costa Rica en caballos en cuadra y matadero por medio de un c-ELISA.....	16
3.1.2 Prevalencia de <u><i>B. caballi</i></u> en Costa Rica en caballos en cuadra y caballos a matadero por medio de un c-ELISA.....	17
3.1.3 Seroprevalencia de <u><i>T. equi</i></u> , <u><i>B. caballi</i></u> o ambas en Costa Rica en caballos en cuadra y matadero por medio de un ELISA competitivo.....	17
3.1.4 Prevalencia de animales positivos y negativos a anticuerpos contra Piroplasmosis equina en caballos en cuadra y destinados a matadero en Costa Rica.....	18
3.2 Equivalencia de seroprevalencia entre <i>T. equi</i> y <i>B. caballi</i> en caballos en cuadra y caballos de matadero.....	19
3.2.1 Hipótesis a probar para el total de las muestras.....	19
3.2.2 Hipótesis a probar para los datos agrupados por el tipo de caballo.....	19
3.3 Estimación de la sensibilidad y especificidad del frotis sanguíneo con respecto al ELISA competitivo.....	20
3.4 Resultados de la prueba de hematocrito en caballos provenientes de cuadra y destinados a matadero.....	21

3.4.1 Relación tipo de caballo con niveles de hematocrito en sangre.....	21
3.4.2 Relación entre el hematocrito y el estado serológico a <i>T. equi</i> y <i>B. caballi</i> en equinos de cuadra y de matadero.....	22
3.5 Historia de garrapatas en los animales muestreados.....	25
4. DISCUSIÓN.....	27
5. CONCLUSIONES.....	32
6. RECOMENDACIONES.....	33
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
8. ANEXO.....	41
8.1 Anexo 1: Distribución absoluta y relativa del lugar de muestreo, según tipo de caballo en Costa Rica, 2010.....	41
8.2 Anexo 2: Encuesta.....	42
8.3 Anexo 3: Equivalencia de seroprevalencia entre <i>T. equi</i> y <i>B. caballi</i> en caballos de cuadra y matadero. Hipótesis a probar para el total de la muestra.....	43
8.4 Anexo 4: Equivalencia de seroprevalencia entre <i>T. equi</i> y <i>B. caballi</i> en caballos de cuadra y matadero, hipótesis a probar para los datos agrupados por tipo de caballo.....	44
8.5 Anexo 5: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el tipo de caballo en Costa Rica, 2010.....	45
8.6 Anexo 6: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico a <i>B.</i> <i>caballi</i> , en ambos tipos de caballos en Costa Rica, 2010.....	45
8.7 Anexo 7: Relación entre presencia o ausencia de y el estado serológico a <i>T. equi</i> para ambos tipos de caballos en Costa Rica 2010.....	46

8.8 Anexo 8: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico <i>B. caballi</i> en caballos de matadero en Costa Rica 2010.....	46
8.9 Anexo 9: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico <i>B. caballi</i> en caballos de cuadra en Costa Rica 2010.....	47
8.10 Anexo 10: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico <i>T. equi</i> en caballos de matadero en Costa Rica, 2010.....	47
8.11 Anexo 11: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico <i>T. equi</i> en caballos de cuadra en Costa Rica, 2010.....	48
8.12 Anexo 12: Relación entre el tipo de caballo y la historia de garrapatas en Costa, 2010.....	49
8.13 Anexo 13: Relación entre el estado serológico <i>T. equi</i> y el historial de garrapatas en Costa Rica, 2010.....	49
8.14 Anexo 14: Relación entre el estado serológico <i>B. caballi</i> y el historial de garrapatas en Costa Rica, 2010.....	50

INDICE DE CUADROS

pág

Cuadro 1. Relación entre c-ELISA para <i>B. caballi</i> en relación al frotis sanguíneo.....	20
Cuadro 2. Relación entre el c-ELISA para <i>T. equi</i> en relación al frotis sanguíneo.....	20
Cuadro 3. Estadísticas descriptivas e intervalos de confianza del valor de hematocrito, según tipo de caballo.....	21
Cuadro 4. Relación entre presencia o ausencia de anemia y el tipo de caballo.....	22
Cuadro 5. Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico <i>B. caballi</i> total de caballos.....	23
Cuadro 6. Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico <i>T. equi</i> total de caballos.....	23
Cuadro 7. Relación entre presencia o ausencia de y el estado serológico <i>B. caballi</i> caballos en matadero.....	23
Cuadro 8. Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico <i>B. caballi</i> caballos en cuadra.....	24
Cuadro 9. Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico <i>T. equi</i> caballos en matadero.....	24
Cuadro 10. Relación presencia o ausencia de anemia y el estado serológico <i>T. equi</i> caballos en cuadra.....	25
Cuadro 11. Relación entre el tipo de caballo y la presencia de garrapatas.....	26
Cuadro 12. Relación entre el estado serológico <i>T. equi</i> y el historial de garrapatas.....	26
Cuadro 13. Relación entre el estado serológico <i>B. caballi</i> y el historial de garrapatas.....	26

INDICE DE FIGURAS

pág

Figura 1. Porcentaje de seroprevalencia a <i>T. equi</i> , según caballos en cuadra y a matadero.....	16
Figura 2. Porcentaje de seroprevalencia a <i>B. caballi</i> , según caballos en cuadra o en matadero.....	17
Figura 3. Porcentaje de seroprevalencia a <i>T. equi</i> , <i>B. caballi</i> , según caballos en cuadra o a matadero.....	18
Figura 4. Seroprevalencia de animales a piroplasmosis equina, según tipo de caballo.....	19
Figura 5. Estadísticas descriptivas e intervalos de confianza del valor de hematocrito, según tipo de caballo.....	21

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

T. equi: *Theileria equi*.

B. caballi: *Babesia caballi*.

IFI: Inmunofluorescencia Indirecta.

ELISA: Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas.

FC: Fijación de Complemento.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

E. coli: *Escherichia coli*.

c-ELISA: ELISA de complemento.

OIE: Organismo Internacional de Epizootias.

HRP: Horse Redish Peroxidase.

H₀: Hipótesis donde dos variables son iguales.

H_a: Hipótesis donde una variable es mayor que la otra.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

A finales del siglo XIX, Víctor Babés observó al microscopio parásitos intraeritrocitarios en sangre de ovinos y bovinos. En 1891, Smith y Kilborne designaron como *Babesia* spp. al microorganismo causante de enfermedad en bovinos, que se conoció y se conoce como “Fiebre de Texas”, “Fiebre de la garrapata”, o “Fiebre del agua roja”, haciendo alusión a la hemoglobinuria. Ahora se le conoce como piroplasmosis o babesiosis (Cordero del Campillo y Rojo, 1999).

La babesiosis (piroplasmosis) es una enfermedad causada por un protozooario hemotrópico del género *Babesia*, que pertenece a la familia Babesiidae, orden Piroplasmida, dentro del filo Apicomplexa (Uilenberg, 2006).

En medicina veterinaria su importancia es bien reconocida en animales domésticos y silvestres. Recientemente, ha llamado la atención como enfermedad zoonótica (Penzhorn, 2006). Se han identificado más de 100 especies de *Babesia* sp que afectan diferentes mamíferos incluyendo humanos. Entre ellas están: *B. canis* y *B. gibsoni* (perros), *B. felis* (gatos), *B. perroncitoides* (cerdos), *B. ovis* (ovejas o cabras), *B. bovis* y *B. bigenima* (vacas), *Theileria (Babesia) equi* y *B. caballi* (caballos), entre otras. Recientemente se han designado dentro del género *Theileria* especies que previamente se denominaban *Babesia*, por ejemplo *Theileria (Babesia) equi* (Uilenberg, 2006).

La babesiosis equina es una enfermedad de caballos, mulas, asnos y cebras (Robinson, 1997), cuyos agentes causales son la *T. equi* (*B. equi*) y *B. caballi* (Holman et al., 1997; Hirata et al., 2003). Dichos hemoparásitos son transmitidos por garrapatas de la familia Ixodidae (*Dermacentor*, *Hyaloma*, *Rhipicephalus*, *Amblyomma*) (Uilenberg, 2006). Los esporozoítos son inyectados en el huésped a través de la saliva del vector, e infectan a los glóbulos rojos, donde se multiplican en 2 ó 4 células hijas que parasitan otros glóbulos rojos. Los esporozoítos del género *Babesia* entran directamente a los glóbulos rojos, mientras que en el género *Theileria*, los esporozoítos infectan los linfocitos (o macrófagos). Luego se desarrollan en esquizontes, los cuales liberan los merozoítos que parasitan a los glóbulos rojos. El vector se infecta cuando ingiere glóbulos rojos conteniendo piroplasmas, seguidamente ellos producen gametos machos y hembras en el intestino de la garrapata (Uilenberg, 2006). En *T. equi* la transmisión es transtadial y en *B. caballi* es transovárica (Uilenberg, 2006).

La piroplasmosis se presenta en forma aguda o crónica, caracterizada por fiebre, anemia hemolítica, hemoglobinuria, hematuria e ictericia (Huang et al., 2006). Las infecciones sobreagudas pueden ocasionar la muerte en 48 horas (Reed y Bayly, 1998). Si el animal sobrevive a la enfermedad aguda inicial, la enfermedad se torna crónica y, sobre todo con *B. equi*, el animal se convierte en portador (Taraneh et al., 2007). A pesar de los altos títulos de anticuerpos que se desarrollan, por sí solos no son capaces de proteger contra la infección por *T. equi* y *B. caballi*; esto se correlaciona con la reducción de la replicación y la eliminación del parásito (Donald et al., 1994).

Los caballos seropositivos presentan una inmunidad conocida como resistencia específica. Esta inmunidad se manifiesta como respuesta a la exposición previa del hospedador a la *Babesia* y puede apreciarse en los animales que se recuperan de una infección (Morilla, 1981).

Los caballos infectados se pueden diagnosticar por la presencia de los parásitos en sangre por medio de un frotis utilizando la tinción de Giemsa; también por pruebas serológicas como la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), la prueba Fijación de Complemento (FC) y por pruebas que detectan fragmentos del material genético del parásito, como la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). (Robinson, 1997; OIE, 2004; Salin et al., 2008).

Para el diagnóstico de la babesiosis se han utilizado técnicas con ELISA de inhibición competitiva (c-ELISA) gracias a la producción de antígenos recombinantes, de la *Escherichia coli* se ha producido la proteína recombinante (EMA-1) del merozoíto de *T. equi* (Knowles et al., 1992; OIE, 2004). También de la *E. coli* se ha producido el antígeno recombinante del gen *Be 82* de *T. equi* fusionado con la proteína de la glutatión-S-transferasa (Hirata et al., 2003; OIE, 2004). El antígeno EMA-2, y un anticuerpo monoclonal específico (Mab) que define el epitopo de esta proteína superficial del merozoíto se han utilizado en ensayos c-ELISA para *T. equi* (Xuan et al., 2004).

La piroplasmosis equina presenta una amplia distribución y diversas características epidemiológicas según la localización geográfica. Los équidos de climas tropicales y

subtropicales están constantemente expuestos al agente patógeno, desarrollando una respuesta inmune activa. Solo Canadá, Estados Unidos, Australia, Japón, Inglaterra e Irlanda no se consideran áreas endémicas (Robinson, 1997).

Estudios en PCR, IFI y ELISA en equinos de Latinoamérica revelan que tanto la *T. equi* como la *B. caballi* prevalecen en grado variable en casi toda la región, excepto al sur de Chile y de Argentina (Riquelme, 2008). En Brasil se determinó una prevalencia de un 91 % de caballos positivos a *T. equi* y un 83% a *B. caballi* por medio de la prueba de PCR, este trabajo se realizó en caballos de matadero (Heim et al., 2007). En Trinidad y Tobago por medio de la prueba IFI encontraron un 83% de caballos fueron positivos a Babesiosis (Asgaralis et al., 2007), mientras que en Guatemala, un estudio realizado con PCR determinó un 93,7% de caballos positivos a *T. equi* (Teglas et al., 2005).

En Costa Rica existen solo dos trabajos que hacen referencia a la seroprevalencia de la babesiosis equina en el país. El primero de ellos fue realizado a 44 caballos de resistencia en un rally efectuado en Tilarán en 1994, en el que se encontraron 26 (59,1%) caballos seropositivos a *B. caballi* y 15 (34,10%) seropositivos a *T. equi.*, por medio de la prueba de IFI (Pineda, 1998). El segundo se realizó mediante la modalidad de pasantía (18 semanas) en Medicina Ambulatoria Equina realizado a 21 caballos aparentemente sanos en 91 cuadras a lo largo del país, como requisito para su exportación a USA. De las 21 muestras analizadas por el método de c-ELISA, 14 (66,6%) fueron negativas y en 7 (33,3%) se detectaron anticuerpos contra *T. equi* y *B. caballi* (Gómez, 2007).

1.2 Justificación

La piroplasmosis equina es una enfermedad de importancia sanitaria (enfermedad frecuente en caballos que presentan un proceso grave), económica (con el desarrollo del comercio internacional), y social (bajo desempeño en actividades deportivas) (Cordero del Campillo y Rojo, 1996; Huang, et al., 2006). Dicha enfermedad tomó relevancia cuando los Estados Unidos no permitió la importación de caballos serológicamente positivos a la babesiosis (Holman, et al., 1997; Ribota, 2003), convirtiéndola en una enfermedad de reporte obligatorio por el Organismo Internacional de Epizootias (OIE). También la piroplasmosis equina supone un condicionante para el tránsito internacional de caballos deportivos, tal y como ocurrió en las Olimpiadas de Montreal, donde se impidió la participación de caballos provenientes de Francia, Italia, Bélgica, Suiza, Polonia y todo el equipo de Chile, debido a que eran portadores inaparentes de *Babesia* (Cordero, E; et al., 2000)

Así mismo, desde el punto de vista de la transmisión es importante por la presencia de portadores crónicos como fuente de infección para las garrapatas que actúan como vectores (OIE, 2003). Los bajos niveles de parasitemia en los animales portadores hacen extremadamente difícil la detección de los parásitos en los frotis, especialmente en el caso de infecciones con *B. caballi*.

La prueba de ELISA de inhibición competitiva (c-ELISA) puede ser superior a las pruebas de FC, en especial para detectar animales portadores crónicos cuyo título por FC ha disminuido a pesar de que aún son seropositivos por IFI (OIE, 2004). La utilización del

c-ELISA como método de diagnóstico para detectar infecciones por *T. equi* y *B. caballi*, ha demostrado ser altamente específico para ambas especies, 92,2% y 99,5%, respectivamente. Esta técnica es reproducible, específica y sensible para el serodiagnóstico de la piroplasmosis equina (Avarzed, et al., 1998; USDA, 2003).

Tomando en cuenta el impacto económico, sanitario, social y de ámbito deportivo que tiene la babesiosis equina, y la disponibilidad de contar con el c-ELISA como herramienta de diagnóstico, el presente trabajo se propone estudiar la prevalencia de la babesiosis con el fin de conocer el estado serológico de los equinos de cuadra y de matadero en relación a *T. equi* y *B. caballi*.

1.2.1 Hipótesis

- La prevalencia de *Babesia* en el suero de equinos de cuadra en Costa Rica es menor que la prevalencia de *Babesia* en equinos seleccionados de matadero, destinados para el consumo de carne.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

- Determinar la seroprevalencia a *Theileria equi* y *Babesia caballi* en caballos en cuadra y de matadero en Costa Rica por medio de un c-ELISA.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Estimar si la seroprevalencia a *T. equi* en caballos en cuadra y caballos destinados a matadero en Costa Rica es mayor que la seroprevalencia encontrada para *B. caballi*.
- Estimar la sensibilidad y especificidad del frotis sanguíneo con respecto al c-ELISA que se considera la prueba de oro.
- Evaluar si existe una relación entre el hematocrito y el estado serológico a *T. equi* y *B. caballi* en equinos de cuadra y matadero.
- Realizar una asociación entre la seroprevalencia a *T. equi* y *B. caballi* con la presencia de ectoparásitos (garrapatas) en equinos en cuadra en Costa Rica.

METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Tamaño de la muestra

El número total de caballos muestreados (de matadero y de cuadra) se determinó utilizando el programa Win Episcopy 2.0, con un error aceptado de 5%, un nivel de confianza de 95%, y una prevalencia esperada del 15%. El 15% de prevalencia se tomó con base en los estudios de seroprevalencia a *T. equi* y *B. caballi* más recientes realizados entre 2009-2010. Uno de ellos fue realizado en el año 2010 en Grecia donde la seroprevalencia rondó el 11%, uno en Brasil en el 2009, con una seroprevalencia del 21% y un tercero realizado en el 2009 en Turquía donde la prevalencia a *B. caballi* fue del 14% (Thursfield, 1998, Karatepe et al., 2009, Kerber et al., 2009, Kouam et al., 2010,). Un total de 200 caballos fueron analizados, 50 de matadero y 150 de cuadra.

2.2 Población de estudio

Se seleccionaron dos grupos de equinos: grupo 1, caballos destinados a matadero y grupo 2, caballos en cuadra, procedentes de diferentes zonas del país (anexo 1); las regiones del país estuvieron sujetas a la disponibilidad de animales, por parte de los dueños. Las cuadras que se visitaron fueron aquellas donde los dueños estuvieron dispuestos a que sus caballos participaran del estudio, sin importar mucho la región del país donde se encontraba la cuadra. Para el primer grupo se seleccionó el Matadero Tuetal de Alajuela, el cual está autorizado para el sacrificio de equinos y donde el regente veterinario, estuvo anuente a

colaborar en el estudio. Los equinos que llegan a este matadero son animales de descarte, por lo cual no se conoció su historia, ni su estado de salud. De este grupo los empleados del matadero seleccionaron 50 animales, de los cuales se registró su procedencia, sexo, y presencia de garrapatas al momento del muestreo. Para la selección de estos animales se visitó el matadero en tres ocasiones diferentes, en las cuales, cada día los empleados del matadero apartaron los primeros 15 ó 20 caballos que lograron atrapar del corral, donde se encontraban juntos todos los caballos que se mataban ese día. Como en el grupo de caballos de matadero no se necesitó ningún rasgo específico, solo que fueran animales para descarte, se utilizaron los primeros equinos accesibles cada día. Para el segundo grupo se seleccionaron caballos de cuadra que contaban con un control tanto preventivo como curativo para diferentes enfermedades, y que a la hora de la toma de muestra, presentaban un examen físico general bueno, sin signos de ningún tipo de patología. De este grupo se seleccionaron 150 animales, distribuidos en diferentes regiones del país.

2.3 Toma de la muestra de sangre

A los 200 caballos analizados se les tomó una muestra de sangre de la vena yugular por medio el sistema de vacío (vacutainer). Se extrajo un volumen de sangre suficiente para depositar una parte en un tubo con sal disódica del ácido etilendiamino tetracético (EDTA), y el restante volumen en un tubo sin anticoagulante. La sangre con anticoagulante se utilizó para realizar frotis sanguíneos y el análisis del hematocrito, los cuales se realizaron en menos de 24 horas después de tomada la muestra. La sangre sin anticoagulante se utilizó para separar y extraer el suero mediante centrifugación.

El análisis serológico se realizó por medio de la técnica ELISA competitivo. Las muestras de suero fueron debidamente identificadas y almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ previo al procesamiento.

2.4 Análisis de hematocrito

Se realizó la centrifugación del microcapilar utilizando la centrifuga Haematokirt 210, de la marca Hettich zentrifuger y posteriormente se realizó la medición del hematocrito por medio del lector Micro-capillary reader Damon/ IEC Division. La prueba se realizó en el laboratorio de Análisis Clínicos de la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.

2.5 Análisis de frotis sanguíneo

Se prepararon extensiones densas colocando una pequeña gota de sangre (aproximadamente $50\text{ }\mu\text{l}$) sobre un portaobjeto limpio. Dicha gota se secó al aire, se tiñó con Giemsa por 1 minuto, posteriormente se agregó buffer de fosfato $\text{pH}= 7$ por 12 minutos y finalmente se lavó con agua del fregadero y se secó al aire (OIE, 2004). La observación de los hemoparásitos se realizó en un microscopio a 100 x de aumento. Las extensiones de sangre y la búsqueda de hemoparásitos se realizaron en el laboratorio de Parasitología de la Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional.

2.6 Técnica de ELISA competitivo

2.6.1. Principio de la técnica

Se utilizó la c-ELISA para la detección de anticuerpos de *T. equi* y *B. caballi* en los sueros analizados. Se utilizaron dos kit comerciales de la marca VMRD, uno que detecta anticuerpos contra *B. caballi* y el otro contra *T. equi*. La presencia de anticuerpos contra *T. equi* o *B. caballi* inhibe la unión de un anticuerpo monoclonal primario. La unión del anticuerpo monoclonal primario a la placa sensibilizada con el antígeno es detectada con un anticuerpo secundario ligado a una Peroxidasa Rojisa del Caballo (HRP). La presencia del anticuerpo ligado a la HRP se cuantificó adicionando una enzima-sustrato, y subsecuentemente aparición de color. El desarrollo de una coloración fuerte indicó poca o ninguna inhibición del anticuerpo monoclonal primario, y por ende la ausencia de anticuerpos contra *T. equi* o *B. caballi* en suero. La aparición de una coloración leve indicó que hubo inhibición en la unión de los anticuerpos monoclonales primarios con el antígeno en la fase sólida, y por lo tanto, indica la presencia de anticuerpos contra *B. equi* en la muestra. Para el procedimiento de la prueba de c-ELISA se siguió el protocolo previamente establecido por la marca fabricante de los reactivos, VMRD. Las pruebas se realizaron en el Laboratorio de Parasitología anteriormente mencionado.

2.6.2 Interpretación de resultados

- Si la muestra produce $\geq 40\%$ de inhibición el animal se considera positivo.
- Si la muestra produce $<40\%$ de inhibición el animal se considera negativo.

2.7 Encuesta

De cada caballo analizado se llenó una encuesta con datos individuales, médicos de manejo, presencia de garrapatas y otros, que fue contestada por el dueño de la cuadra, o el dueño del caballo (Anexo 2).

2.8 Definición de variables y análisis estadísticos

2.8.1 Seroprevalencia para *Theileria equi* y *Babesia caballi*

Para estimar si la seroprevalencia a *T. equi* en caballos de cuadra y caballos destinados a matadero en Costa Rica es mayor que la seroprevalencia encontrada para *B. caballi*, se realizó una prueba de hipótesis para una proporción.

El análisis se realizó con el total de datos de la muestra y por tipo de caballo, así mismo suponiendo igualdad de varianzas y varianzas desiguales.

Las hipótesis a probar para el total de la muestra; es decir, sólo teniendo en cuenta la seroprevalencia fueron:

$$H_0: P_{SPT.equi} = P_{SPT.caballi}$$

$$H_a: P_{SPT.equi} > P_{SPT.caballi}$$

Las hipótesis a probar para los datos agrupados por tipo de caballo fueron:

$$H_0: P_{SPT.equi}^{CCuadra} = P_{SPT.caballi}^{CMatadero}$$

Ha: $P_{SPT.equi\ CCuadra} > P_{SPT.caballi\ CMatadero}$

2.8.2 Porcentaje de sensibilidad ELISA competitivo versus frotis sanguíneo (prueba de oro)

Sensibilidad:

Es la probabilidad de tener un resultado en la prueba positivo (anormal), dado que se está enfermo; es decir, clasifica a los verdaderos enfermos.

$$S = \frac{VP}{VP + FN} = \frac{a}{a + c} = FVP \quad (\text{Fracción de verdaderos positivos})$$

$$S = 1 - FFN = 1 - \frac{c}{a + c} = (1 - \text{Fracción de falsos negativos})$$

FVP: fracción verdaderos positivos

FFN: fracción falsos negativos

VP: verdaderos positivos

FN: falsos negativos

2.8.3 Porcentaje de especificidad ELISA competitivo versus frotis sanguíneo (prueba de oro)

Especificidad:

Es la probabilidad de tener un resultado en la prueba negativo (normal), dado que no está enfermo; es decir, clasifica a los verdaderos sanos.

$$E = \frac{VN}{VN + FP} = \frac{d}{b + d} = FVN \quad (\text{Fracción de verdaderos negativos})$$

$$E = 1 - FFP = 1 - \frac{b}{b + d} = (1 - \text{Fracción de falsos positivos})$$

FFP: fracción de falsos positivos

FVN: fracción verdaderos negativos

VN: verdaderos negativos

FP: falsos positivos

2.8.4 Relación entre hematocrito y estados serológico

Para evaluar si existe una relación entre el hematocrito y el estado serológico a *T. equi* y *B. caballi* en equinos de cuadra y matadero se realizó la prueba chi-cuadrado, donde las variables fueron: tipo de caballo, valor del hematocrito y estado serológico para *B. caballi* y para *T. equi*.

Hipótesis a probar

Ho: En cada categoría de la variable X, las proporciones de la variable Y son idénticas

Ha: En cada categoría de la variable X, las proporciones de la variable Y no son idénticas.

Otra forma de expresar las hipótesis

Ho: No existe asociación entre las dos variables cualitativas

Ha: Existe asociación entre las dos variable cualitativas

Cuando se analiza una variable numérica en función de una variable cualitativa, si esta es nominal o ordinal, lo que se hace es una comparación de promedios de la variable numérica en función de la variable agrupadora (cualitativa), por medio de un análisis de varianza, independiente del número de categorías de la variable cualitativa, dos o más categorías.

2.8.5 Comparación entre seroprevalencia a Piroplasmosis con el control de ectoparásitos

Para evaluar si existe una asociación entre la seroprevalencia a *T. equi* y *B. caballi* con la presencia de ectoparásitos (garrapatas) en equinos de cuadra en Costa Rica se realizó la prueba chi-cuadrado, donde las variables eran tipo de caballo, estado serológico del caballo e historia de garrapatas.

3. RESULTADOS

3.1. Seroprevalencia de *Theileria equi* y *Babesia caballi* en Costa Rica en caballos de cuadra y matadero

3.1.1. Seroprevalencia de *Theileria equi* en Costa Rica en caballos de cuadra y de matadero por medio de un ELISA competitivo

El 47,0% de los sueros analizados en caballos en cuadra resultaron positivos a anticuerpos contra *T. equi* y 94,1% de los caballos de matadero resultaron positivos a anticuerpos contra *T. equi* (Figura 1).

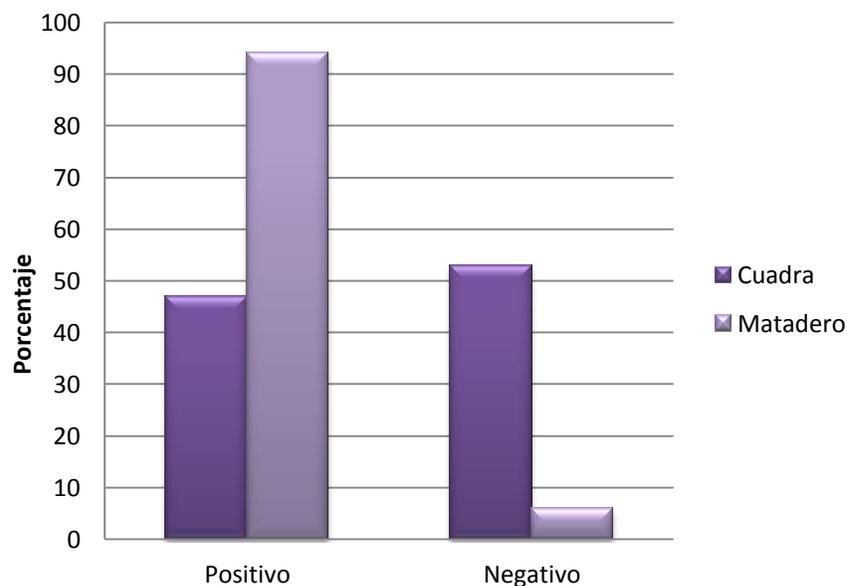


Figura 1: Porcentaje de seroprevalencia a *Theileria equi*, según caballos de cuadra o de matadero en Costa Rica, 2010.

3.1.2. Seroprevalencia de *Babesia caballi* en Costa Rica en caballos de cuadra y de matadero por medio de un c-ELISA.

De los sueros analizados de caballos de cuadra, 44,3% resultaron positivos a anticuerpos contra *B. caballi* y 78,4% resultaron positivos a anticuerpos contra *B. caballi* en caballos a matadero (Figura 2).

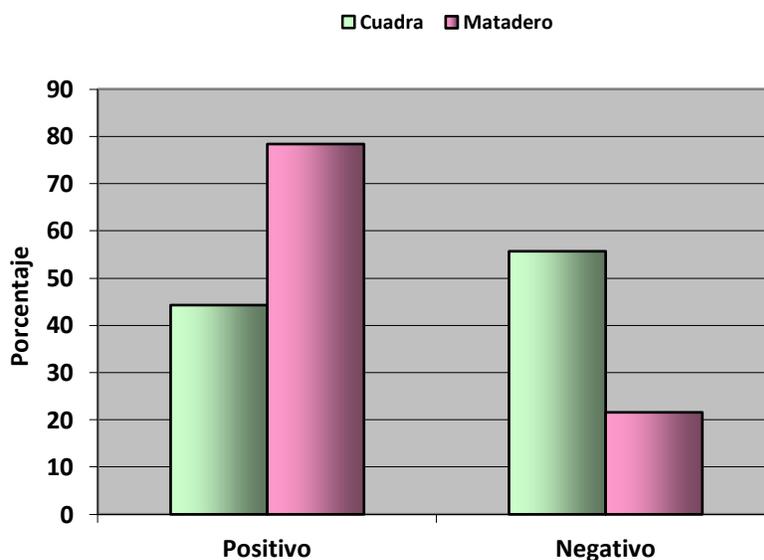


Figura 2: Porcentaje de seroprevalencia a *B. caballi*, según caballos de cuadra o de matadero en Costa Rica, 2010.

3.1.3. Seroprevalencia de *Theileria equi*, *Babesia caballi* o ambas en Costa Rica en caballos de cuadra y de matadero por medio de un ELISA competitivo

Para los caballos en cuadra, 18,8% resultaron positivos sólo a *T. equi*, 16,1% solo a *B. caballi*, 28,2% a ambos agentes y 36,9% caballos resultaron negativos a ambos agentes. Para los caballos a matadero, 2,0% sólo para *B. caballi*, 17,6% sólo para *T. equi*, 76,5%

resultaron positivos a ambos agentes, y 3,9% resultaron negativos a ambos agentes (Figura 3).

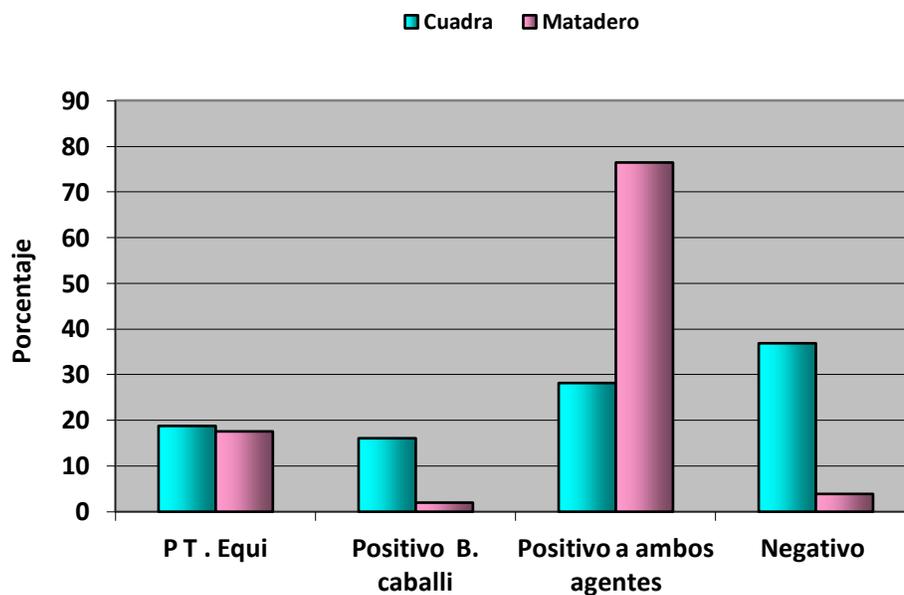


Figura 3: Porcentaje de seroprevalencia a *T. equi* y *B. caballi*, en caballos de cuadra o de matadero en Costa Rica, 2010.

3.1.4. Prevalencia de animales positivos y negativos a anticuerpos contra los agentes causales de piroplasmosis equina en caballos de cuadra y destinados a matadero en Costa Rica

En los caballos en cuadra 63,1% resultaron positivos a los agentes causales de piroplasmosis equina y el 96,1% en los caballos de matadero resultaron positivos a los agentes causales a piroplasmosis equina (Figura 4).

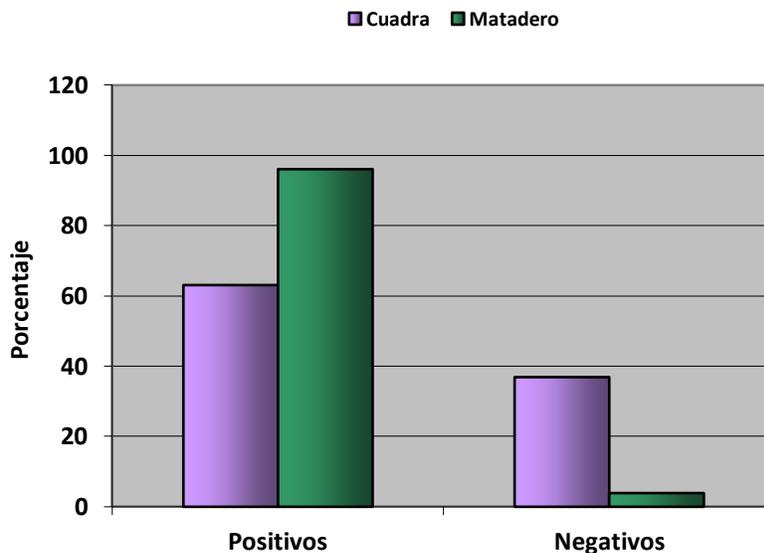


Figura 4: Porcentaje de seroprevalencia de animales a los agentes causales de piroplasmosis equina, según tipo de caballo en Costa Rica, 2010.

3.2. Equivalencia de seroprevalencia entre *T. equi* y *B. caballi* en caballos de cuadra y caballos de matadero

3.2.1. Hipótesis a probar para el total de la muestra.

Se determinó que la proporción de seroprevalencia a *T. equi* es igual que la seroprevalencia de *B. caballi* [$\Pr(T > t) = 0.1139 > 0.05$] (Anexo 3).

3.2.2. Hipótesis a probar para los datos agrupados por tipo de caballo

Se determinó que la proporción de seroprevalencia a *T. equi* es mayor que a *B. caballi*, en caballos a matadero [$\Pr(T > t) = 0.0106 < 0.05$] (Anexo 4)

Se determinó que la proporción de seroprevalencia a *T. equi* es igual que a *B. caballi*, en caballos en cuadra [$\Pr(T > t) = 0.3216 > 0.05$] (Anexo 4).

3.3. Estimación de la sensibilidad y especificidad del frotis sanguíneo con respecto al ELISA competitivo que se considera la prueba de oro

El cuadro 1 y 2 nos muestran la relación entre el c-ELISA para *B. caballus* y *T. equi* en relación con el frotis sanguíneo.

Cuadro N° 1: Relación entre el c-ELISA para *B. caballus* en relación al frotis sanguíneo en Costa Rica, 2010.

c-ELISA para <i>B. caballus</i>	Frotis Sanguíneo		
	<i>Positivo</i>	<i>Negativo</i>	<i>Total</i>
<i>Positivo</i>	1	106	107
<i>Negativo</i>	0	93	93
<i>Total</i>	1	199	200

Sensibilidad = 0.9%

Especificidad = 96.7%

Cuadro N° 2: Relación entre el c-ELISA para *T. equi* en relación al frotis sanguíneo en Costa Rica, 2010.

c-ELISA para <i>B. equi</i>	Frotis Sanguíneo		
	<i>Positivo</i>	<i>Negativo</i>	<i>Total</i>
<i>Positivo</i>	1	118	119
<i>Negativo</i>	2	79	81
<i>Total</i>	3	197	200

Sensibilidad = 1,7%

Especificidad = 97,5%

3.4 Resultados de la prueba de hematocrito en caballos provenientes de cuadra y destinados a matadero

3.4.1. Relación tipo de caballo con niveles de hematocrito en sangre.

El promedio de hematocrito en los caballos de cuadra es de $32,8\% \pm 6,8$ y en los caballos de matadero es $27,1\% \pm 7,5$. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas al 5% entre estos promedios; es decir, el hematocrito en los caballos de cuadra es mayor que en los caballos de matadero ($p < 0.0001$) (Figura 5 y Cuadro 3).

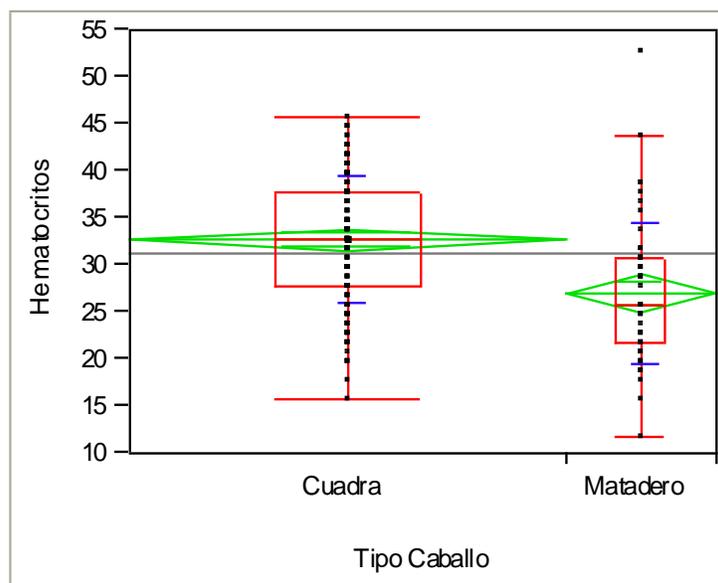


Figura 5: Estadísticas descriptivas e intervalos de confianza del hematocrito, según tipo de caballo en Costa Rica, 2010.

Cuadro 3: Estadísticas descriptivas e intervalos de confianza del hematocrito, según tipo de caballo en Costa Rica, 2010.

Tipo de Caballo	Casos	Promedio	Desviación estándar	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
					L. Inferior	L. Superior
Cuadra	149	32.8	6.8	0.6	31.7	33.9
Matadero	51	27.1	7.5	1.0	25.2	29.1

El rango normal de hematocrito en equinos en Costa Rica es 36-45%, valores menores a ese se consideran como casos con anemia (Meneses, 1993). Existe asociación entre la variable valor del hematocrito y el tipo de caballo; es decir, un caballo promedio de matadero tiene 3,6 veces más riesgo de tener bajo hematocrito, que un caballo promedio de cuadra. (OR = 3.6, Intervalo de confianza al 95%, [1.4; 10.0], Chi-cuadrado = 9.09, p = 0.0026) (Cuadro 4 y Anexo 5).

Cuadro 4: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el tipo de caballo en Costa Rica, 2010.

<i>Condición de hematocrito</i>	<i>Caballo de cuadra</i>	<i>Caballo de matadero</i>	Total
Anemia	95	44	139
Normal	54	7	61
Total	149	51	200

3.4.2 Relación entre el hematocrito y el estado serológico a *T. equi* y *B. caballi* en equinos de cuadra y matadero

- Estado serológico a *B. caballi* para ambos tipos de caballos, cuadra y matadero:

Existe asociación entre la variable condición de hematocrito y el estado serológico *B. caballi*; es decir, un caballo promedio con bajo conteo de hematocrito tiene 2,7 veces más riesgo de tener estado serológico positivo, que un caballo promedio sin anemia (OR = 3.6, Intervalo de confianza al 95%, [1.4; 5.3], Chi-cuadrado = 10.10, p = 0.0015) (Cuadro 5 y Anexo 6).

Cuadro 5: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico a *B. caballi*, en ambos tipos de caballos en Costa Rica, 2010

Condición hematocrito	Estado serológico <i>B. caballi</i>	
	Negativo	Positivo
Normal	19.5% (39)	11% (22)
Anemia	27.5% (55)	42% (84)

- Estado serológico a *T. equi* para ambos tipos de caballos, cuadra y matadero:

Existe asociación entre la variable condición de hematocrito y el estado serológico *T. equi*; es decir, un caballo promedio con anemia tiene 2,2 veces más riesgo de tener estado serológico positivo, que un caballo promedio sin anemia (OR = 2.2, Intervalo de confianza al 95%, [1.1; 4.2], Chi-cuadrado = 6.23, p = 0.0126) (Cuadro 6 y Anexo 7).

Cuadro 6: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico a *T. equi* para ambos tipos de caballos en Costa Rica, 2010.

Condición hematocrito	Estado serológico <i>B. caballi</i>	
	Negativo	Positivo
Normal	16.5% (33)	14% (28)
Anemia	24.5% (49)	45% (90)

- Estado serológico *B. caballi* en caballos de matadero:

No existe asociación entre la variable condición de hematocrito y el estado serológico *B. caballi*; es decir, las dos variables son independientes (Chi-cuadrado = 0.24, p = 0.6277) (Cuadro 7 y anexo 8).

Cuadro 7: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico a *B. caballi* en caballos de matadero en Costa Rica, 2010.

Condición hematocrito	Estado serológico <i>B. caballi</i>	
	Negativo	Positivo
Normal	3.9% (2)	9.8% (5)
Anemia	17.6% (9)	68.6% (35)

- Estado serológico *B. caballi* en caballos de cuadra:

Existe asociación entre la variable condición de hematocrito y el estado serológico *B. caballi*; es decir, un caballo promedio de cuadra con anemia tiene 2,3 veces más riesgo de tener estado serológico positivo, que un caballo promedio de cuadra sin anemia (OR = 2.3, intervalo de confianza al 95%, [1.1; 5.0], Chi-cuadrado = 5.64, $p = 0.0176$) (Cuadro 8 y anexo 9).

Cuadro 8: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico *B. caballi* en caballos en cuadra en Costa Rica, 2010.

Condición hematocrito	Estado serológico <i>B. caballi</i>	
	Negativo	Positivo
Normal	24.16% (36)	10.8% (16)
Anemia	30.2% (45)	34.9% (52)

- Estado serológico a *T. equi* en caballos de matadero:

De acuerdo a la prueba chi-cuadrado (Chi-cuadrado = 7.54, $p = 0.006$) existe asociación entre la variable condición de hematocrito y el estado serológico *T. equi*; pero al calcular la magnitud de la asociación (OR = 17.2, intervalo de confianza al 95%, [0,69; 1036,7], el intervalo de confianza contiene al 1, lo que indica que esta asociación es espuria; es decir, las dos variables son independientes (Cuadro 9 y anexo 10).

Cuadro 9: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico *T. equi* en caballos de matadero en Costa Rica, 2010.

Condición hematocrito	Estado serológico <i>T. equi</i>	
	Negativo	Positivo
Normal	3.9% (2)	9.8% (5)
Anemia	1.96%(1)	84.3% (43)

No existe asociación entre la variable condición de hematocrito y el estado serológico *T. equi*; es decir, las dos variables son independientes (Chi-cuadrado = 0,65, $p = 0,4185$) (Cuadro 10 y Anexo 11).

Cuadro 10: Relación entre presencia o ausencia de anemia y el estado serológico *T. equi* en caballos de cuadra en Costa Rica, 2010.

Condición hematocrito	Estado serológico <i>T. equi</i>	
	Negativo	Positivo
Normal	20.8% (31)	15.4% (23)
Anemia	32.2% (48)	31.5% (47)

3.5 Historia de garrapatas en los animales muestreados

A la hora de tomar las muestras de sangre a los caballos destinados a matadero, la presencia de garrapatas fue de 94.1% y solamente 3 no presentaron infestación por garrapatas.

Tras la encuesta realizada a los dueños de los equinos de cuadra, 117 afirmaron que sus animales nunca habían sufrido de infestación de garrapatas, ni al momento del muestreo, ni en el pasado y solo 32 admitieron que sus caballos tenían o habían tenido problemas con garrapatas.

Se determinó que existe asociación entre la variable tipo de caballo y la historia de garrapatas; es decir, un caballo de matadero promedio tiene 58.8 veces más riesgo de tener garrapatas, que un caballo de cuadra promedio (OR = 58.8, intervalo de confianza al 95%, [17.2; 200.0], Chi-cuadrado = 83.537, $p = 0.000$) (Cuadro 11 y Anexo 12).

Cuadro 11: Relación entre el tipo de caballo y la presencia de garrapatas en Costa Rica, 2010.

Tipo de caballo	Presencia de garrapatas	
	No	Si
Matadero	5.8%	94.2%
Cuadra	78.5%	21.5%

- Estado serológico *T. equi* en caballos de cuadra:

No existe asociación entre el estado serológico y el historial de garrapatas (Chi-cuadrado = 2,514, $p = 0,113$) (Cuadro 12 y Anexo 13).

Cuadro 12: Relación entre el estado serológico *T. equi* y el historial de garrapatas en Costa Rica, 2010.

Tipo de caballo	Presencia de garrapatas	
	No	Si
Matadero	5.9%	94.1%
Cuadra	78.5%	21.5%

En los caballos en cuadra no existe asociación entre el estado serológico y el historial de garrapatas (Chi-cuadrado = 2.514, $p = 0.113$) (Cuadro 13 y Anexo 14).

Cuadro 13: Relación entre el estado serológico *B. caballi* y el historial de garrapatas en Costa Rica, 2010.

Tipo de caballo	Historia de garrapatas	
	No	Si
Matadero	44.96%	10.7%
Cuadra	75.5%	24.4%

4. DISCUSIÓN

La seropositividad a *T. equi* y *B. caballi* fue alta (71,5%) en los 200 caballos muestreados en el estudio. Un 96% para caballos de matadero y 63% en caballos en cuadra.

Como se esperaba, la infección por *T. equi* en caballos de matadero, fue más frecuente que la de *B. caballi*, lo que concuerda con los resultados de otros estudios donde la seroprevalencia a *T. equi* fue mayor que la de *B. caballi* en equinos de potrero, es decir, no estabulados. Estudios realizados a equinos en diferentes ciudades de España estimaron una seropositividad para *B. caballi* del 14,12 % y una seropositividad a *T. equi* del 58,17% (Cordero del Campillo y Rojo, 1999). Por otro lado, en los caballos de cuadra la proporción de seroprevalencia a *T. equi* fue igual que la seroprevalencia a *B. caballi*; lo mismo ocurrió con un trabajo de investigación realizado en Brasil en caballos estabulados, en donde estos presentaron una seroprevalencia de un 91 % a *T. equi* y un 83% a *B. caballi* (Heim et al., 2007).

Un gran número de caballos especialmente de matadero, fueron seropositivos a ambos agentes, mostrando una tendencia en los equinos del país a sufrir de infecciones mixtas más que de infecciones simples. Lo mismo ocurrió en Italia, donde un estudio realizado a 412 caballos, determinó una seroprevalencia a piroplasmosis equina del 68.4 %, con 12,4% seropositivos a *T. equi*, 17,9% seropositivos a *B. caballi* y el restante 38,1%, seropositivos a ambas especies (Moretti et al., 2009).

El porcentaje de caballos de matadero seropositivos a Piroplasmosis equina, fue considerablemente más alto que en el grupo de caballos de cuadra, habiendo un 96,1% de positividad en este primer grupo de equinos. Esto comprueba la hipótesis previamente planteada que la seroprevalencia en caballos de cuadra es menor que la seroprevalencia presentada en caballos destinados a matadero. Lo mismo ocurrió en previos estudios realizados a 544 equinos de diferentes regiones en Grecia, donde el nivel de infección para *T. equi*, *B. caballi* o infecciones mixtas fue significativamente mayor en caballos de potrero, que en caballos de cuadra (Kouam et al., 2010). Los caballos destinados a matadero son caballos de desecho, muchos de ellos a la hora de muestrear presentaban una condición corporal bastante deplorable a la vista, y todos ellos presentaban infestación por garrapatas (vector de la *Babesia* y *Theileria*) en diferentes áreas del cuerpo, lo que los convierte en animales de mayor riesgo a sufrir o haber sufrido la enfermedad. El alto porcentaje de seropositividad en este tipo de caballos, concuerda con los estudios realizados a 92 caballos de zonas muy pobres del noreste de Sur África, donde los caballos presentaban condiciones similares a los de nuestros caballos destinados a matadero. En dicho estudio, la seroprevalencia a *T. equi* fue del 97,8% (90) y la seroprevalencia a *B. caballi* fue del 52,2 % (48) (Motloang et al., 2008), una seroprevalencia muy similar a la seroprevalencia presentada en los caballos de matadero.

Estudios previos realizados sobre seroprevalencia de piroplasmosis equina en caballos en Grecia, estimaron un mayor riesgo a infecciones por *B. caballi* en caballos de deporte, en relación con caballos de recreación (Kouam et al., 2010). En el caso del presente estudio ocurrió lo mismo con los caballos utilizados para deporte. De los 149 caballos muestreados en cuadra, 11 eran utilizados para deporte (Anexo 2). De estos, 6 fueron

seropositivos solo a *B. caballi*, dos seropositivos solo a *T. equi*, uno presentaba infección mixta y los dos restantes fueron negativos, lo que estima un mayor riesgo a sufrir infecciones por *B. caballi* en animales destinados al deporte.

Los bajos niveles de parasitemia en los animales portadores hace extremadamente difícil la detección de los parásitos en los frotis sanguíneos, especialmente en los casos de infecciones por *B. caballi* (OIE, 2004), por lo que era de esperarse el bajo porcentaje de equinos en cuadra positivos a esta prueba, al ser estos caballos portadores asintomáticos y no enfermos activos. En el caso de los animales de matadero, al desconocerse su historial médico no se puede determinar que los caballos positivos al c-ELISA fueran equinos portadores de la enfermedad o enfermos activos, pero el alto porcentaje de negativos al frotis sanguíneo da la idea que también fueran en su mayoría animales solo portadores y por ello, no se encontró presencia de hemoparasitos en un 98% de los frotis. La *T. equi* al tener la capacidad de persistir en los equinos portadores por años, convierte a estos animales en fuente de contagio para garrapatas y otros caballos, por lo que es de importancia su identificación y posterior control (Corchero et al., 2000). Como resulta difícil diagnosticar en animales portadores la Piroplasmosis equina por detección en frotis, son preferibles los métodos serológicos como el c-ELISA para un diagnóstico más confiable (OIE, 2004).

Algunos textos sugieren que la piroplasmosis equina puede causar anemia hemolítica por varios meses en caballos portadores (Vial et al., 2006). En el caso de los animales en cuadra se determinó que en caballos con bajo hematocrito, existen 2,3 veces más

probabilidad de ser portadores de piroplasmosis equina que en caballos con el hematocrito dentro del rango normal.

En el caso de los animales en matadero no se encontró asociación entre las variables. Muchos presentaban caquexia y signos de desnutrición a la hora de tomar las muestras sanguíneas, por lo que los bajos niveles de hematocrito en sangre de estos caballos, aunque salieron seropositivos al c-ELISA, no se pueden considerar un resultado significativo, ya que la anemia podría relacionarse con la caquexia u otro tipo de deficiencia y no con el hecho de ser portadores de Piroplasmosis equina. Además se desconocía el historial médico de estos equinos por lo que no se conocía información sobre enfermedades recientes que podrían haber influido en los niveles de hematocrito en la sangre. Animales caquéticos pueden presentar anemia debido a trastornos alimenticios a raíz de una combinación de déficit de vitaminas y minerales, y un equilibrio negativo entre energía y proteína (Robinson, 1997).

La alta presencia de garrapatas a la hora de muestrear a los caballos del matadero, permite suponer que existía un bajo o tal vez inexistente, control antiparasitario en estos animales, lo que los convierte en animales de alto riesgo hacia la piroplasmosis equina, al ser las garrapatas el vector de transmisión de la *B. caballi* y *T. equi* (Motloang et al., 2008). Los altos niveles de seropositividad presentados en este grupo, están altamente relacionados a las grandes infestaciones ectoparasitarias que padecían estos animales, dado que un 94% de ellos presentaban garrapatas a la hora de muestrear.

A la hora de realizar la encuesta a los dueños de los caballos en cuadra, los dueños de 117 caballos aseguraron que sus animales no habían sufrido previamente de infestación por garrapatas, aunque 43,5% de estos caballos fueron seropositivos a piroplasmosis, lo que nos deja a evaluar dos opciones, la primera, que haya poco control ectoparasitario en los equinos de nuestro país, o dos, que los datos suministrados por algunos de los caballistas fueron poco confiables. Además, de los 94 equinos de cuadra seropositivos, solamente en 3 de ellos los dueños reportaron que el animal hubiera sufrido previamente de la enfermedad, mientras que en los demás casos los caballistas aseguraron que sus mascotas nunca habían padecido esta enfermedad o que hubieran presentado sintomatología compatible con piroplasmosis equina, lo que nos lleva a cuestionar el control médico y parasitario en algunos caballos nacionales, aunado al poco conocimiento sobre la enfermedad que manifiestan muchos dueños de caballos en Costa Rica. El número de caballos de cuadra seropositivos a ambos agentes fue de un 63%, más de la mitad del número total, lo que quiere decir que este 63% de caballos estuvieron en contacto con garrapatas en el pasado, y no solo el 21,4% de caballos que reportaron en la encuesta.

Los únicos dos caballos de cuadra que tenían historia previa de haber sufrido de garrapatas y de haber sido tratados con imidocarb, fueron seronegativos a la prueba de c-ELISA, lo que nos lleva a estimar la eficacia de este producto para eliminar la *T. equi* y *B. caballi* de la sangre de los caballos portadores, como se ha descrito en diferentes textos (Robinson, 1997, Cordero del Campillo y Rojo, 1999, Corchero et al., 2000, Ribota, 2003).

Considerando nuestros resultados, debemos decir que la Piroplasmosis equina es una enfermedad que actualmente afecta a una parte considerable de la población de caballos

mantenidos en cuadra en nuestro país, lo que la convierte en una enfermedad que debe ser tomada en cuenta por los propietarios de caballos así como por los médicos veterinarios que atienden a estos animales, recordando su compromiso con la salud del animal.

5. CONCLUSIONES

- La seroprevalencia a Piroplasmosis equina fue considerablemente alta en los caballos muestreados aunque fue más alta en los caballos destinados a matadero (96.1%) que en caballos de cuadra (63.1%).
- La seroprevalencia contra *T. equi* fue mayor que la seroprevalencia contra *B. caballi*, en ambos grupos de caballos, y hay una mayor tendencia a sufrir infecciones mixtas.
- La prueba c-ELISA para la detección de anticuerpos contra *T. equi* y *B. caballi*, es más efectiva para el diagnóstico en animales portadores que la prueba de frotis sanguíneo.
- Caballos de cuadra con bajo hematocrito presentan una mayor probabilidad de ser portadores de *T. equi* y *B. caballi*, que caballos con un hematocrito dentro del rango normal. En caballos de matadero no existe relación.
- Existe una asociación entre la seroprevalencia a *T. equi* y *B. caballi* con la presencia de garrapatas en equinos de Costa Rica. Esto se da debido al deficiente control contra las garrapatas en los caballos, lo que facilita la distribución de la enfermedad a lo largo de todo el país.

6. RECOMENDACIONES

- Mejorar el control y manejo de garrapatas en los equinos y en sus instalaciones. Al disminuir las posibilidades del caballo a entrar en contacto con el vector, disminuimos las probabilidades de este a contagiarse de la enfermedad.
- Realizar pruebas a animales que se sospechan de ser caballos portadores de piroplasmosis equina y a caballos recién adquiridos antes de introducirlos a las caballerizas para evitar una fuente de infección para las garrapatas y para los otros caballos y facilitar la propagación de la enfermedad.
- Analizar serológicamente a los animales por el método de c-ELISA, en especial cuando son caballos destinados a viajar a países como USA o cuando son caballos que se sospeche que están padeciendo la infección.
- Tratar de manera profiláctica con imidocarb a los caballos que han entrado en contacto con el vector (garrapatas). Los caballos tratados con imidocarb revierten su estado a seronegativo en los test serológicos acorde con los estándares internacionales para el transporte de animales a países libres de Piroplasmosis equina (Schiwint et al., 2009).
- Mejorar el manejo de información sobre la Piroplasmosis equina por parte de los dueños de caballos y asistentes de cuadra para facilitar el control y profilaxis de la enfermedad en las caballerizas y fuera de ellas.

7. BILIOGRAFÍA

APHIS, 2008. Piroplasmosis equine [en línea]. USDA, APHIS, Veterinary Services, National Animal Health Programs. www.aphis.usda.gov/. (Consulta: 24-02-10).

Asgaralis, Z., Coombs, D.K., Mohammed, F., Campbel, M.D. 2006. A serological study of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Thoroughbreds in Trinidad. *Vet. Parasitol*: 15;144(1-2):167-71.

Avarzed, A., I. Igarashi, D.T. De Waal, S. Kawai, Y. Oomori, N. Inoue, Y. Maki, Y. Omata, A. Saito, H. Nagasawa, Y. Toyoda, and N. Suzuki. 1998. Monoclonal Antibody against *Babesia equi*: Characterization and Potential Application of Antigen for Serodiagnosis. *J. Clin. Microbiol.* 36(7): 1835-1839.

Barriga, O.O. 1997. *Veterinary Parasitology for Pretitioners*. 2da edición. Burges International Group Inc. Minnesota, U.S.A. pág 27.1 27.9

Corchero, E. Habela, M.A. Peña, J. Sevilla, R.G. 2000. Diagnósis y Tratamiento de Piroplasmosis equina. *M.G.* 127: 62-68

Cordero del Campillo, M.; Rojo, F.A. 1999. *Parasitología Veterinaria*. 1ra Ed. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid España. Pág 587-592

Donald, P. J.R. Knowles, L.S. Kappmeyer, y L. E. Perryman. 1994. Specific Immune Responses Are Required To Control Parasitemia in *Babesia equi* Infection. Amer. Soc. Microbiol. 62(5): 1909-1913.

Gomés-García, A. 2007. Medicina Ambulatoria Equina. Pasantía para optar al grado de Licenciatura en Medicina Veterinaria, Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica.

Gorham, J.R. , y D.P. Knowles. 1993. Advances in the diagnosis of some parasitic diseases by monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assays. Rev Sci Tech. 12(2): 425-33.

Heim A, Passos LM, Ribeiro MF, Costa-Júnior LM, Bastos CV, Cabral DD, Hirzmann J, Pfister K. 2007. Detection and molecular characterization of *Babesia caballi* and *Theileria equi* isolates from endemic areas of Brazil. Parasitol. Res.102(1):63-8.

Hirata, H., X. Xuan, N. Yokoyama, Y. Nishikawa, K. Fujisaki, N. Suzuki, y I. Igarashi. 2003. Identification of a Specific Antigenic Region of the P82 Protein of *Babesia equi* and Its Potential Use in Serodiagnosis. J. Clin. Microbiol. 41(2): 547–551.

Holman, P.J., S. K. Hietala, y L. R. Kayashima. 1997. Case Report: Field Acquired Subclinical *Babesia equi* Infection Confirmed by In Vitro Culture. J. Clin. Microbiol. 35(2): 474-476.

- Huang, X., X. Xuan, R. A. Verdida, S. Zhang, N. Yokoyama, L. Xu, y I. Igarashi. 2006. Immunochromatographic Test for Simultaneous Serodiagnosis of *Babesia caballi* and *B. equi* Infections in Horses. Clin. Vaccine Immunol. 13(5): 553–555.
- Jacobson, L.S. 2006. Babesiosis Pathophysiology. Vetpar. 138: 129-139.
- Karatepe B., M. Karatepe, A. Cakmak, Z. Karaer, G. Ergün. 2009. Investigation of seroprevalence of *Babesia caballi* in horses in Nigde province, Turkey. Trop. Anim. Health Prod. 41(1):109-13.
- Kerber C.E, M.B. Labruna , F. Ferreira, D.T. De Waal, D.P. Knowles, S.M. Gennari. 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.
- Knowles D.P., L. S. Kappmeyer, D Stiller, S. G. Hennager, y L. E. Perryman. 1992. Antibody to a recombinant merozoite protein epitope identifies horses infected with *Babesia equi*. J. Clin. Microbiol. 30(12): 3122–3126.
- Kouam, M.K. Kantzoura, V. Gajadhar, A.A. Theis, J.H. Papadopoulos, E. Theodoropoulos, G. 2010. Seroprevalence of equine piroplasms and host-related factors associated with infection in Greece. Vet Parasitol. 169(3-4):273-8.
- Kumar, S., Y. Kumar, D. V. Malhotra, S. Dhar, y A. K. Nichani. 2003. Standardisation and comparison of serial dilution and single dilution enzyme linked immunosorbent assay

(ELISA) using different antigenic preparations of the *Babesia (Theileria) equi* parasite. Vet. Res. 34: 71-83.

Manley, W.G. 2009. El caballo con piroplasmosis [en línea]. Clínica Horsepital Coby Bolger - wHORSE1. es - Centro de Nutrición Equina. http://www.sectorproductivo.com.py/index.php?view=article&catid=10%3Anoticias&id=221%3Abrasilcancillerafirmaquelulaestaafavordelreclamoparaguayoyformat=pdf&option=com_content&Itemid=13. (consulta: 12 ene 2010).

Meneses, A., J. Villalobos, E. Sancho. 1993. Manual de Hematología y Química Clínica en Medicina Veterinaria. 1ra ed. EFEUNA, Heredia, Costa Rica.

Moretti, A. Manguili, V. Salvatori, R. Maresca, C. Scoccia, E. Torina, A. Gabrielli, S. 2009. Prevalence and diagnosis of *Babesia* and *Theileria* infections in horses in Italy: A preliminary study. Vet. J. 12: 215-225.

Morilla, A. 1981. Inmunología de la *Babesiosis*. CienciaVet. 3: 240-275.

Motloang, M.Y. Thekiso, O.M. Alhassan, A. Motheo, M.P. Mansagane, F.E. Igarashi, I. Sugimoto, C. 2008. Prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in horses belonging to resource-poor farmers in the north-eastern Free State Province, South Africa. Onderstepoort J Vet Res. 75(2):141-6.

OIE. 2004. Piroplasmosis. [en línea]. Manual de la OIE sobre animales terrestres.
http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.5.06_Piroplasmosis_equina.pdf.
(Consulta: 27-06-08).

Penzhorn, B.L. 2006. Babesia of wild carnivores and ungulates. *Vet.par.* 138: 22-21.

Pineda-Calles, R. A. 1998. Influencia de la anemia infecciosa Equina y Babesiosis en Caballos de Resistencia en Costa Rica. Tesis para optar al grado de Licenciatura en Medicina Veterinaria, Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica.

Quiroz, H. 2000. Parasitología y las Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. 1ra ed. Editorial Limusa. México.

Reed, S.M. y Bayly, W.M. 1998. *Equine Internal Medicine*. 1ra ed. Saunders Company, Pennsylvania, USA.

Rhalem, A., H. Sahibi, S. Lasri, W. C. Johnson, L. S. Kappmeyer, A. Hamidouch, D. P. Knowles, W. L. Goff. 2001. Validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosing *Babesia equi* infections of Moroccan origin and its use in determining the seroprevalence of *B. equi* in Morocco. *J Vet Diagn Invest.* 13: 249–25.

Ribotta, F. 2003. Piroplasmosis Equina. *Peruvian Paso Horse magazine.* 19: 20-23.

- Riquelme, A. 2008. Piroplasmosis y realidad en Chile. [en línea]. 1ra ed. Ergomix. Chile.
http://www.ergomix.com/who_see.asp?cod=7yid=1904yarea. (Consulta: 28-06-08).
- Robinson, N.E. 1997. Current Therapy in Equine Medicine. 4th ed. Saunders Company, Pennsylvanis, USA.
- Ruíz, J.A. 2010. Parásitos más comunes en los caballos y antiparasitarios de elección[en línea]. Mascotanet. http://www.mascotanet.com/caballos/medicina_prev/02_desparasitacion_1.htm. (Consulta: 13-01-2010).
- Schiwint, O.N. Ueti, M.W. Palmer, G.H. Hines, M.T. Knowles, D.P. 2009. Imidocarb dipropionate clears persistent *Babesia caballi* infection with elimination of transmission potential. Antimicrob. Agents Chemother. 53(10):4327-32.
- Salim, B.O. Hassan, S.M. Bakheit, M.A. Alhassan, A. Igarashi, I. Karanis, P. Abdelrahman, M.B. 2008. Diagnosis of *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses in Sudan using ELISA and PCR. Parasitol. Res. 103(5):1145-50.
- Taraneh Ö., V. Gülay, Y. Gicik, M. Özkan. 2007. Detection of *Babesia (Theileria) equi* (Laveran, 1901) in Horses in the Kars Province of Turkey. Turkiye Parazitoloji Dergisi. 31: 170-172.
- Teglas M, Matern E, Lein S, Foley P, Mahan SM, Foley J. 2005. Ticks and tick-borne disease in Guatemalan cattle and horses. Vet Parasitol.: 15;131(12):119-27.

Thrusfield, M., Ortega, C., de Blas, I., Noordhuizen, J.P., Frankena, K., WIN EPISCOPE 2.0, Improved epidemiological software for veterinary medicine. *Vet. Rec.* 148, 567-572.

Uilemberg, G. 2006. Babesia – A historical overview. *Vet.par.* 138: 3-10.

Vial, H.J., Gorenflat, A. 2006. Chemotherapy against babesiosis. *Vet.par.* 138: 147-160.

Xuan, X., X. Huang, L. Xu, S. Zhang, N. Yokoyama, N. Suzuki, y I. Igarashi. 2004. Development of an Immunochromatographic Test with Recombinant EMA-2 for the Rapid Detection of Antibodies against *Babesia equi* in Horses. *J. Clin. Microbiol.* 42(1): 359–361.

8. ANEXOS

8.1 Anexo 2: Distribución absoluta y relativa del lugar de muestreo, según tipo de caballo en Costa Rica, 2010.

Tipo de caballo	Lugar	Casos	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Matadero	Upala	20	39.2	39.2
	Sarapiquí	16	31.4	70.6
	Zona Sur	15	29.4	100.0
	Total	51	100.0	
Cuadra	San Isidro	31	20.8	20.8
	La Virgen	17	11.4	32.2
	Sarapiquí	17	11.4	43.6
	Caño San José	15	10.1	53.7
	Moravia	15	10.1	63.8
	San Ramón	14	9.4	73.2
	Santa Ana	11	7.8	80.5
	Desamparados	8	5.4	85.9
	Palmares	8	5.4	91.4
	Atenas	6	4.0	95.3
	Malinche	5	3.4	98.7
	Limón	2	1.3	100.0
	Total	149	100.0	

8.2 Anexo 2: Encuesta

8.3 Anexo 3: Equivalencia de seroprevalencia entre *T. equi* y *B. caballi* en caballos de cuadra y matadero. Hipótesis a probar para el total de la muestra.

- Total de la muestra y asumiendo varianzas iguales

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
T.equi	200	.59	.0348651	.4930675	.5212475	.6587525
B.caballi	200	.53	.0353802	.5003516	.4602318	.5997682
combined	400	.56	.0248504	.4970086	.5111459	.6088541
diff		.06	.0496723		-.0376529	.1576529
diff = mean(bequil) - mean(bcaballi)				t =	1.2079	
Ho: diff = 0				degrees of freedom =	398	
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0		
Pr(T < t) = 0.8861		Pr(T > t) = 0.2278		Pr(T > t) = 0.1139		

Pr(T > t) = 0.1139 > 0.05 entonces no existe suficiente evidencia para rechazar Ho; es decir, la proporción de seroprevalencia a *T. equi* es igual que la seroprevalencia de *B. caballi*.

- Total de la muestra y asumiendo varianzas desiguales

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
bequil	200	.59	.0348651	.4930675	.5212475	.6587525
bcabal~1	200	.53	.0353802	.5003516	.4602318	.5997682
combined	400	.56	.0248504	.4970086	.5111459	.6088541
diff		.06	.0496723		-.0376529	.1576529
diff = mean(bequil) - mean(bcaballi)				t =	1.2079	
Ho: diff = 0				Satterthwaite's degrees of freedom =	397.914	
Ha: diff < 0		Ha: diff != 0		Ha: diff > 0		
Pr(T < t) = 0.8861		Pr(T > t) = 0.2278		Pr(T > t) = 0.1139		

Pr(T > t) = 0.1139 > 0.05 entonces no existe suficiente evidencia para rechazar Ho; es decir, la proporción de seroprevalencia a *T. equi* es igual que la seroprevalencia de *B. caballi*.

Con los dos supuestos las conclusiones son las mismas.

8.4 Anexo 4: Equivalencia de seroprevalencia entre *T. equi* y *B. caballi* en caballos de cuadra y de matadero. Hipótesis a probar para los datos agrupados por tipo de caballo.

- La muestra agrupada por tipo de caballo y asumiendo varianzas iguales

➤ Para caballos de matadero

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
T.equi	51	.9411765	.0332756	.2376354	.8743404	1.008013
B.caballi	51	.7843137	.0581663	.4153902	.6674833	.9011441
combined	102	.8627451	.0342408	.3458156	.7948205	.9306697
diff		.1568627	.0670118		.0239133	.2898122

diff = mean(bequil) - mean(bcaballi)
 Ho: diff = 0 t = 2.3408
 degrees of freedom = 100

Ha: diff < 0 Ha: diff != 0 Ha: diff > 0
 Pr(T < t) = 0.9894 Pr(|T| > |t|) = 0.0212 Pr(T > t) = 0.0106

$Pr(T > t) = 0.0106 < 0.05$ entonces existe suficiente evidencia para rechazar H_0 ; es decir, la proporción de seroprevalencia a *T. equi* es mayor que la seroprevalencia para *B. caballi*, en caballos de matadero.

➤ Para caballos de cuadra

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
T. equi	149	.4697987	.0410247	.5007703	.3887288	.5508685
B.caballi	149	.442953	.0408314	.4984103	.3622652	.5236408
combined	298	.4563758	.0289023	.4989311	.3994966	.5132551
diff		.0268456	.0578811		-.0870651	.1407563

diff = mean(bequil) - mean(bcaballi)
 Ho: diff = 0 t = 0.4638
 degrees of freedom = 296

Ha: diff < 0 Ha: diff != 0 Ha: diff > 0
 Pr(T < t) = 0.6784 Pr(|T| > |t|) = 0.6431 Pr(T > t) = 0.3216

$Pr(T > t) = 0.3216 > 0.05$ entonces no existe suficiente evidencia para rechazar H_0 ; es decir, la proporción de seroprevalencia a *T. equi* es igual que la seroprevalencia para *B. caballi*, en caballos de cuadra.

8.5 Anexo 5: Relación **entre tener o no anemia** y el tipo de caballo en Costa Rica, 2010

Condición hematocrito		Tipo de caballo		
		Cuadra	Matadero	Total
Anemia	Casos	95	44	139
	% fila	68.3	31.7	100.0
	% columna	63.8	86.3	69.5
	Total	47.5	22.0	69.5
Normal	Casos	54	7	61
	% fila	88.5	11.5	100.0
	% columna	58.5	79.2	30.5
	Total	27.0	3.5	30.5
Total	Casos	149	51	200
	% fila	74.5	25.5	100.0
	% columna	100.0	100.0	100.0
	Total	74.5	25.5	100.0

8.6 Anexo 6: Relación **entre tener o no anemia** y el estado serológico a *B. caballi*, en ambos tipos de caballos en Costa Rica, 2010.

Condición hematocrito		Estado serológico <i>B. caballi</i>		
		Negativo	Positivo	Total
Normal	Casos	84	22	61
	% fila	63.9	36.1	100.0
	% columna	41.5	20.8	30.5
	Total	19.5	11.0	30.5
Anemia	Casos	55	84	139
	% fila	39.6	60.4	100.0
	% columna	58.5	79.2	69.5
	Total	27.5	42.0	69.5
Total	Casos	94	106	200
	% fila	47.0	53.0	100.0
	% columna	100.0	100.0	100.0
	Total	47.0	53.0	100.0

8.7 Anexo 7: Relación entre tener o no anemia y el estado serológico a *T. equi* para ambos tipos de caballos en Costa Rica, 2010.

Condición hematocrito		Estado serológico <i>T. equi</i>		
		Negativo	Positivo	Total
Normal	Casos	33	28	61
	% fila	54.1	45.9	100.0
	% columna	40.2	23.7	30.5
	Total	16.5	14.0	30.5
Anemia	Casos	49	90	139
	% fila	35.3	64.7	100.0
	% columna	59.8	76.3	69.5
	Total	24.5	45.0	69.5
Total	Casos	82	118	200
	% fila	41.0	59.0	100.0
	% columna	100.0	100.0	100.0
	Total	41.0	59.0	100.0

8.8 Anexo 8: Relación entre tener o no anemia y el estado serológico *B. caballi* en caballos de matadero en Costa Rica, 2010.

Condición hematocrito		Estado serológico <i>B. caballi</i>		
		Negativo	Positivo	Total
Normal	Casos	2	5	7
	% fila	28.6	71.4	100.0
	% columna	18.2	12.5	13.7
	Total	3.9	9.8	13.7
Anemia	Casos	9	35	44
	% fila	20.5	79.5	100.0
	% columna	81.8	87.5	86.3
	Total	17.6	68.6	86.3
Total	Casos	11	40	51
	% fila	21.6	78.4	100.0
	% columna	100.0	100.0	100.0
	Total	21.6	78.4	100.0

8.9 Anexo 9: Relación entre tener o no anemia y el estado serológico *B. caballi* en caballos de cuadra en Costa Rica, 2010.

Condición hematocrito		Estado serológico <i>B. caballi</i>		
		Negativo	Positivo	Total
Normal	Casos	84	22	61
	% fila	63.9	36.1	100.0
	% columna	41.5	20.8	30.5
	Total	19.5	11.0	30.5
Anemia	Casos	55	84	139
	% fila	39.6	60.4	100.0
	% columna	58.5	79.2	69.5
	Total	27.5	42.0	69.5
Total	Casos	94	106	200
	% fila	47.0	53.0	100.0
	% columna	100.0	100.0	100.0
	Total	47.0	53.0	100.0

8.10 Anexo 10: Relación entre tener o no anemia y el estado serológico *T. equi* en caballos de matadero en Costa Rica, 2010.

Condición hematocrito		Estado serológico <i>T. equi</i>		
		Negativo	Positivo	Total
Normal	Casos	2	5	7
	% fila	28.6	71.4	100.0
	% columna	66.7	10.4	13.7
	Total	3.9	9.8	13.7
Anemia	Casos	1	43	44
	% fila	2.3	97.7	100.0
	% columna	33.3	89.6	86.3
	Total	2.0	83.4	86.3
Total	Casos	3	48	51
	% fila	5.9	94.1	100.0
	% columna	100.0	100.0	100.0
	Total	5.9	94.1	100.0

8.11 Anexo 11: Relación entre tener o no anemia y el estado serológico *T. equi* en caballos de cuadra en Costa Rica, 2010.

Hematocrito		Estado serológico <i>T. equi</i>		
		Negativo	Positivo	Total
Normal	Casos	31	23	54
	% fila	57.4	42.6	100.0
	% columna	39,2	32.9	36.2
	Total	20.8	15.4	36.2
Anemia	Casos	48	47	95
	% fila	50.5	49.5	100.0
	% columna	60.8	67.1	63.8
	Total	32.2	31.5	63.8
Total	Casos	79	70	149
	% fila	53.0	47	100.0
	% columna	100.0	100.0	100.0
	Total	53.0	47	100.0

8.12 Anexo 12: Relación entre el tipo de caballo y la historia de garrapatas en Costa, 2010.

Tipo de caballo		Historia de Garrapatas		
		No	Si	Total
Matadero	Casos	3	48	51
	% fila	5.9	94.1	100.0
	% columna	2.5	60.0	25.5
	Total	1.5	24.0	25.5
Cuadra	Casos	117	32	149
	% fila	78.5	21.5	100.0
	% columna	97.5	40	74.5
	Total	58.5	16.0	74.5
Total	Casos	120	80	200
	% fila	60	40.0	100.0
	% columna	100.0	100.0	100.0
	Total	60	40.0	100.0

8.13 Anexo 13: Relación entre el estado serológico *T. equi* y el historial de garrapatas en Costa Rica, 2010.

Tipo de caballo		Historia de Garrapatas		
		No	Si	Total
Matadero	Casos	3	48	51
	% fila	5.9	94.1	100.0
	% columna	2.5	60.0	25.5
	Total	1.5	24.0	25.5
Cuadra	Casos	117	32	149
	% fila	78.5	21.5	100.0
	% columna	97.5	40	74.5
	Total	58.5	16.0	74.5
Total	Casos	120	80	200
	% fila	60	40.0	100.0
	% columna	100.0	100.0	100.0
	Total	60	40.0	100.0

8.14 Anexo 14: Relación entre el estado serológico *B. caballi* y el historial de garrapatas en Costa Rica, 2010.

Estado serológico		Historia de Garrapatas		
		No	Si	Total
	Casos	67	16	83
Negativo	% fila	80.7	19.3	100.0
	% columna	57.3	50.0	55.7
	Total	45.0	10.7	55.7
	Casos	50	16	66
Positivo	% fila	75.8	24.2	100.0
	% columna	42.7	50.0	44.3
	Total	33.6	10.7	44.3
	Casos	117	32	149
Total	% fila	78.5	21.5	100.0
	% columna	100.0	100.0	100.0
	Total	78.5	21.5	100.0