

# EHRlichiosis EQUINA EN EL ESTADO ZULIA, VENEZUELA. REPORTE DE 232 CASOS

## Equine Ehrlichiosis in the Zulia State, Venezuela. Report of 232 cases

**Cruz María Arraga de Alvarado\***  
**Geovanny Finol\***  
**Omaira Parra\***  
**Miriam Riquelme\***  
**Américo Savodra\*\***

\* Facultad de Ciencias Veterinarias.  
 Universidad del Zulia,  
 Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

\*\* Hipódromo Nacional de Santa Rita.  
 Santa Rita, Estado Zulia, Venezuela.

### RESUMEN

La Ehrlichiosis equina es una enfermedad rickettsial que afecta a caballos y otros equinos en algunos estados de Norteamérica, principalmente en el estado de California. En Venezuela, específicamente en el Estado Zulia, se demostró la enfermedad por primera vez, en el mes de julio de 1987. Utilizando frotis de capa blanca teñidos, se pudo demostrar *Ehrlichia* equina en 232 de las 629 muestras de sangre de equinos de la zona, remitidas para la detección de agentes hemotrópicos, al Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias Veterinarias, de la Universidad del Zulia, durante los años 1989-1990. En las muestras se determinó además el volumen globular, la concentración de hemoglobina, el conteo de leucocitos, el conteo diferencial de leucocitos y la bilirrubina total y directa.

La enfermedad estuvo presente durante todo el año, observándose mayor número de casos en los meses de enero, junio, octubre y noviembre. Muchos de los casos positivos detectados en muestras de chequeos esporádicos fueron asintomáticos. La inmunidad producida por la enfermedad resultó menor que la reportada en la literatura. La respuesta al tratamiento fue favorable, excepto en los casos cuando la enfermedad se encontraba muy avanzada.

Palabras claves: Ehrlichia equi, equinos, hematología.

### ABSTRACT

Equine ehrlichiosis is a rickettsial disease founded in horses and other equidae from some northamerican states, especially from California. In Venezuela equine

ehrlichiosis was demonstrated for the first time in Zulia State, in July of 1987 using stained buffy coat films. Ehrlichia equi was demonstrated in 232 of the 629 blood samples submitted to the Clinical Pathology Laboratory at the Veterinary Faculty of the University of Zulia during 1989-1990. Packed cell volume (PCV), haemoglobin, leucocyte count, differential count, total and conjugated bilirubin were determined in the majority of the positive cases. The disease was present in all the months of the year, but most of the positive cases were seen on January, June, October and November. Many of the positive cases were subclinical and submitted to the laboratory only for periodical chequing. The disease immunity was lower than the reported for other investigators. After treatment, most of the horses recovered soon with the exception of those with severe disease.

Key words: Ehrlichia equi, equine, haematology.

### INTRODUCCION

La ehrlichiosis equina es una enfermedad rickettsial infecciosa, no contagiosa, que afecta principalmente a caballos pura sangre de carrera, pero que también se puede presentar en poneys, caballos de paseo, trabajo, etc. y en otros equinos como mulas y asnos. La enfermedad fue reportada por primera vez en 1968 por Gribble<sup>[4]</sup>, en el norte de California, Estados Unidos, y su agente etiológico es la *Ehrlichia* equi, que pertenece al género Ehrlichia, familia Rickettsiaceae, orden Rickettsiales.

En Estados Unidos se considera como una enfermedad estacional, ya que se presenta principalmente a finales de otoño, en invierno y en primavera. La mayoría de los reportes provienen del estado California<sup>[4,8,10,11]</sup>, sin embargo se han reportado casos individuales en otros estados como Colorado, Illinois y Washington<sup>[10]</sup>, Florida<sup>[3,10]</sup> y New Jersey<sup>[10,18]</sup>

Inicialmente la mayoría de los casos se presentaron en las laderas de montañas del norte de California<sup>[10]</sup>. Recientemente un estudio seroepidemiológico de la enfermedad en ese estado demostró que aun que la prevalencia y los títulos de anticuerpos eran mayores en las laderas de montaña, también se encontraba la enfermedad en los valles<sup>[11]</sup>.

El modo de transmisión y el periodo de incubación de la enfermedad aun se desconocen<sup>[3,4,10,11]</sup>. Transmisiones experimentales por transfusiones de 20 ml. o más de sangre de caballos con infecciones agudas, a caballos susceptibles<sup>[10]</sup>, dieron como resultado la aparición de los signos clínicos entre 1 y 9 días después<sup>[4]</sup>. Se puede transmitir los organismos experimentalmente a otros animales, tales como burros, ovejas, cabras, perros, gatos, monos y baboos. Los signos clínicos asociados con la infección experimental son leves en la mayoría de los animales, a excepción de burros y caballos<sup>[7,8]</sup>. Nyindo y col.<sup>[12]</sup> realizaron transmisiones experimentales en poneys para estudiar la respuesta inmune.

Los signos clínicos en caballos incluyen fiebre, depresión, anorexia parcial, edema de los miembros, petequias en el septum nasal, ictericia y algo muy común es la ataxia y resistencia para moverse.

La severidad de los signos clínicos está en función de la edad del animal y de la duración de la enfermedad. Se ha observado en casos naturales y experimentales que caballos menores de 4 años de edad desarrollan signos clínicos leves; en potros menores de 1 año los signos clínicos pueden ser difíciles de reconocer, manifestándose solo fiebre, anorexia parcial y depresión<sup>[4,10]</sup>.

Los signos clínicos por lo general duran entre 3 y 16 días. Durante los dos primeros días la fiebre es generalmente alta, fluctúa entre 39.4 y 41.3° C. después disminuye ligeramente; sin embargo, en animales adultos la fiebre alta se puede mantener hasta por 7 días acompañada de los signos antes descritos, el animal no quiere moverse, el edema de los miembros es doloroso y le es difícil echarse: en ocasiones pueden sufrir heridas en las zonas inflamadas<sup>[10]</sup>.

En caballos adultos es común que se observen los signos clínicos en forma más aguda, presentándose complicaciones como severas inflamaciones en heridas menores de los miembros y en infecciones pulmonares secundarias<sup>[10]</sup>.

Infecciones experimentales en poneys, usando sangre de caballos en fase aguda de la enfermedad, permitieron reproducir los mismos signos clínicos que se presentan en caballos (fiebre mayor de 40° C. depresión severa, anorexia, rigidez de los miembros y trombocitopenia marcada); los mismos síntomas se observaron al inocular otros poneys con sangre de los poneys infectados en fase aguda. Cuando la inoculación fue realizada con sangre de poneys convalescentes, el único signo clínico mostrado fue fiebre moderada, acompañada de ligera trombocitopenia<sup>[12]</sup>.

El diagnóstico de la ehrlichiosis equina se realiza demostrando la presencia del agente etiológico en los neutrófilos o eosinófilos, en frotis sanguíneos teñidos con coloraciones de Giemsa, Wright o similares. En ellos se podrán observar los diferentes estadios de la ehrlichia

(cuerpos elementales, cuerpos iniciales y morulas), los cuales se presentan en el citoplasma de los **polimorfonucleares** incluidos dentro de una vacuola al igual que otras especies del mismo género<sup>[3,4,6,8,9,10,18]</sup>.

El otro método de diagnóstico que puede usarse es el serológico, utilizando la prueba (IFI)\*, descrita por Ristic y col.<sup>[15]</sup>, para el diagnóstico de ehrlichiosis canina, también utilizada para el diagnóstico de ehrlichiosis monocítica equina ocolitis equina por ehrlichia<sup>[16]</sup>.

Para la técnica de IFI, el antígeno utilizado es una preparación de células infectadas, el cual en el caso de *E. equi* resulta bastante complicado de lograr, ya que se requieren neutrófilos infectados que no se pueden cultivar in vitro, como se hace con *E. canis* y *E. risticii*. Para preparar el antígeno de *E. equi*, se requiere tener un caballo infectado donde el 60% de los neutrófilos tengan la ehrlichia. De él se extraen 2 litros de sangre y se separan los neutrófilos infectados mediante el uso de sedimentación y centrifugación, para preparar el antígeno<sup>[11]</sup>.

Debido a las dificultades existentes en la preparación del antígeno, muy pocos laboratorios utilizan el diagnóstico serológico y siempre se recomienda demostrar las ehrlichias en los frotis sanguíneos teñidos<sup>[10]</sup>.

La observación de los frotis teñidos, generalmente se acompaña con pruebas hematológicas y de química sanguínea, las cuales brindarán una mejor información sobre las condiciones del animal enfermo.

En caballos enfermos del norte de California, Madigan y col.<sup>[10]</sup> citan que el volumen globular, medido por el hematocrito, varió entre 19 y 36% con una media de 27.9% en los 49 casos que estudiaron durante el periodo 1968-1981; de igual forma el conteo de leucocitos varió entre 2.300 y 13.000 leucocitos/ul con una media de 5.301 leucocitos/ul.

Brewer y col.<sup>[3]</sup>, reportaron en un caso de Florida, un hematocrito de 32%, conteo de leucocitos de 8.200/ul, con conteo diferencial normal, plaquetas 22.000/ul, proteínas totales 6,9 gr/dl, fibrinógeno 700 mg/dl, bilirrubina libre de 3.2 mg/dl y observaron que 20,6% de los neutrófilos contenían una o más morulas de Ehrlichia.

Ziemer y col.<sup>[18]</sup>, en un potro de 2 1/2 meses de edad, reportaron hematocrito de 35%, conteo de leucocitos de 9.300/ul, con desviación a la izquierda leve, conteo de plaquetas adecuado y proteínas plasmáticas de 6.7 gr/dl.

La respuesta natural del sistema inmunológico animal es elaborar anticuerpos en presencia de agentes extraños y esto también sucede con Ehrlichia. Nyindo y col.<sup>[12]</sup>, estudiaron la respuesta inmune en poneys infectados experimentalmente con sangre positiva a *E. equi*, obtenida de caballos que se encontraban en la fase aguda de la enfermedad y observaron una buena respuesta inmune celular y humoral. Para medir la respuesta celular ellos usaron la prueba de inhibición a la migración de leucocitos, y para la respuesta humoral la técnica de IFI.

La respuesta celular y humoral se hizo evidente a partir del día 21 post-inoculación y se mantenía con títulos no mayores de 1:320. La respuesta al desafío eran títulos de anticuerpos sumamente altos que en algunos casos

\* IFI = Inmunofluorescencia Indirecta.

llegaban a 1: 5.120 y ausencia de signos clinicos. por lo cual se llegó a la conclusion de que se producian anticuerpos protectores.

Estas experiencias demuestran que. a diferencia del perro, donde existen anticuerpos que expuestos de nuevo al agente pueden permitir reinfección, en los equinos los anticuerpos producidos por infeccion con *E. equi* son protectores. Algunos autores citan que la inmunidad puede persistir por lo menos 2 años<sup>[10]</sup>.

En estudios experimentales en poneys usando *E. risticii* también se han demostrado anticuerpos protectores<sup>[16]</sup>.

Recientes estudios seroepidemiológicos en el norte de California<sup>[11]</sup>, denostraron que un gran numero de la población estudiada (50%) mostraban anticuerpos contra *E. equi*, aun cuando no habian mostrado signos clinicos. lo cual indica que muchos caballos pueden desarrollar infecciones subclinicas y que la enfermedad es más común de lo que se creia.

Basados en la experiencia obtenida en perros para el tratamiento de ehrlichiosis, en equinos se ha usado la oxitetraciclina como terapia para la enfermedad.

Madigan y col.<sup>[10]</sup> recomiendan iniciar el tratamiento por via intravenosa a la dosis de 7 mg/kg cada 24 horas por 48 horas, la cual se podria continuar cada 24 horas por 3 a 7 días o usar el antibiótico via oral cada 12 horas por 7 días a la dosis de 22 mg/kg. Otros autores<sup>[3]</sup> usaron la dosis de 2,4 mg/kg via intravenosa una vez al dia. En el caso del potro<sup>[16]</sup>, la dosis usada fue de 7 mg/kg, via intravenosa, solo por un dia y en poneys se usó 10 mg/kg de peso. via intravenosa por 8 días consecutivos<sup>[12]</sup>.

Palmer y col.<sup>[14]</sup>, en un estudio del efecto de la oxitetraciclina durante el periodo de incubación de infecciones de *E. risticii* en poneys. concluyen que el antibiótico interfiere con el desarrollo de la enfermedad. reflejándose por la aparicion tardia del inicio de signos clinicos en algunos animales y por la ausencia o sólo aparicion de signos clinicos leves en otros poneys. Asimismo. ellos citan autores que observaron en enfermedades de humanos, que la administración de antimicrobianos en etapas tempranas de enfermedades, pueden interferir con el desarrollo de una respuesta inmunológica efectiva. Esta no fue la respuesta en los poneys ya que la enfermedad no se desarrollo sino hasta que se elimino el efecto inhibitor de la oxitetraciclina sobre las rickettsias, siñ embargo la estimulación antigénica fue suficiente para proteger los animales cuando fueron inoculados a los 60 días, no presentándose la enfermedad en los siguientes 30 días. Quizás con *E. equi* pueda ocurrir algo semejante.

Además del tratamiento con oxitetraciclina que lleva a la eliminacion del agente causante de la enfermedad, se recomienda tratamiento de soporte para ayudar a la más rápida recuperaci3n. Según las necesidades pueden usarse fluidoterapia. vendas de soportes para los miembros edematizados. confinamiento para los caballos atáxicos, con el fin de evitar injurias fisicas mayores, administracion de dexametasona (10 mg cada 24 horas por 2 ó 3 días) en caballos que muestren mucho edema, etc.<sup>[10]</sup>. Otros autores han utilizado fenilbutazona en dosis de 3 mg/kg de peso vivo, via intravenosa por 1 o 2 días<sup>[18]</sup>.

Como patrones de normalidad en los valores hemato-

lógicos y de química sanguinea. para ser comparados con nuestros resultados utilizamos los descritos por Schalm y col.<sup>[17]</sup> y Benjamín<sup>[2]</sup>, pero siempre teniendo en cuenta que son valores obtenidos en otros paises con altitud. temperatura, manejo y ambiente diferentes al nuestro, todo ello por no haber obtenido informaci3n semejante en la investigacion bibliografica realizada en el área, a excepci3n del trabajo en hematología en equinos pura sangre de carrera realizado por Ovio<sup>[13]</sup> en el Hipódromo Santa Rita, quien tambien tomó como base a los autores citados.

En Venezuela. la ehrlichiosis canina fue denostrada por primera vez en la ciudad de Maracaibo, por la autora<sup>[1]</sup> en el año 1982. estableciéndose a partir de esa fecha, como diagnóstico de rutina en nuestro laboratorio. La experiencia de la enfermedad en caninos y la oportunidad de asistir en 1985 al estado de Illinois, USA, al Taller sobre Ehrlichiosis, nos incentivo a trabajar tambien en pro de demostrar la presencia de la enfermedad en equinos. Aun cuando el Estado Zulia está clasificado como el primer estado ganadero de Venezuela. en los últimos años se ha incrementado la cria de caballos pura sangre de carrera y en su moderno hipódromo se alojan un gran numero de valiosos ejemplares, lo que ha contribuido a que se le preste atención a las enfermedades que afectan a esta especie de animal en el Estado Zulia.

El dia 6 de junio de 1987, un medico veterinario solicitó asesoramiento al laboratorio por una extraña enfermedad que estaba afectando a varios caballos Pura sangre de carrera del Hipodromo Nacional de Maracaibo. Habian realizado algunos exámenes de laboratorio y aplicado tratamientos con antibióticos y corticosteroides sin lograr mejoría, por lo que era necesario un estudio más profundo de los casos.

Los animales tenian fiebre alta, anorexia, depresion. disnea, ataxia de los miembros posteriores. Algunos presentaron edema muy marcado en los labios con posterior ruptura de los mismos y en otros edema en los miembros. sobre todo en los posteriores, así como en los testiculos. En algunos caballos hubo evidencia de petequias en las mucosas oculares y en las encias, en otros sobrelevantamiento de la piel y pelo en numerosos sitios y también casos de ictericia.

En base a los síntomas clinicos se sospechó de ehrlichiosis, enfermedad reconocida en caninos desde 1983 en nuestra ciudad, pero que no se habia podido demostrar en equinos, aunque se sospechaba su presencia desde hace varios años.

## MATERIALES Y METODOS

### Animales

Inicialmente se utilizaron 6 equinos pura sangre de carrera, alojados en una misma cuadra del Hipódromo Nacional de Maracaibo, los cuales manifestaban signos clinicos de ehrlichiosis equina. En el mes de junio de 1987 en uno de estos caballos se produjo el primer hallazgo del agente etiológico.

También fueron utilizadas 232 muestras de sangre de equinos, en su mayoría pura sangre de carrera, alojados en el Hipódromo Nacional de Santa Rita, también del estado Zulia, sitio donde fueron trasladados los equinos alojados anteriormente en el Hipódromo de Maracaibo. Otros equinos procedían de haras o fincas de crias de caballos del mismo estado. Seis caballos pertenecían a un parque de diversiones para niños y dos eran caballos de un circo.

Todas las muestras eran de animales mayores de 2 años de edad; fueron escogidas por su positividad a E. equi entre un número de 629 muestras que fueron recibidas en el Laboratorio de Diagnóstico Clínico, de la Policlínica Veterinaria de la Universidad del Zulia durante el periodo enero 1969 a diciembre 1990 con la finalidad de realizar despistaje de agentes hematópicos.

## Recepción y procesamiento de las muestras

Las muestras fueron recolectadas en tubos conteniendo EDTA\* como anticoagulante y remitidas al laboratorio por médicos veterinarios y preparadores que laboraban en los sitios ya mencionados, solicitando sólo determinados análisis, por lo cual no existe homogeneidad en las pruebas realizadas, así como también variaciones en el número de observaciones en los diferentes análisis realizados.

Los seis caballos del estudio inicial antes mencionado, mostraban signos clínicos. Entre los 232 caballos de los años 89-90, algunos mostraban signos clínicos severos, razón por la cual se remitieron las muestras, otros mostraban signos leves y otros tantos se enviaban sólo para chequeo.

La metodología de las pruebas hematológicas realizadas, aparecen en Schalm y col.<sup>[17]</sup>, la de la prueba de van der Bergh para bilirrubina, en el de Benjamin<sup>[2]</sup>.

Se utilizó la técnica del microhematocrito para determinar el volumen globular y para facilitar la realización de un frotis de capa blanca que permitiera la concentración de los leucocitos infectados. Los frotis fueron teñidos con un colorante rápido, semejante al colorante Wright-Giemsa, llamado Diff Quik Stain<sup>[18]</sup>, elaborado por American Scientific Products, Illinois. Al realizar la observación del frotis teñido, se insistió en buscar por las orillas y en la cola del mismo, cualquiera de los estadios de *Ehrlichia* equi.

La hemoglobina se determinó utilizando la técnica de cianometahemoglobina; el conteo de leucocitos se realizó utilizando el método de hemocitometro con cámara de Neubauer modificada y pipeta de Thomas.

## Presentación de la información

Se presenta la información directa de 3 de los primeros caballos que mostraron signos clínicos, en uno de los cuales se pudo evidenciar cuerpos iniciales y mórulas de *Ehrlichia* equi. Utilizando el paquete de

análisis estadístico en microcomputadora personal denominado SAS (Statistic Analysis System) versión 6.02, se realizó la evaluación de los datos obtenidos durante los dos años del estudio, determinándose media, desviación estándar, máximo y mínimo de cada una de las variables estudiadas.

En base a los resultados se clasificaron las variables por grupos y se prepararon TABLAS y Figuras para la presentación de la información.

También se presentan Figuras de frecuencia de casos positivos por mes, tanto del año 1989 como de 1990 y de la relación de casos positivos y negativos de E. equi en la población de estudio.

## RESULTADOS

Se iniciaron los estudios hematológicos y el de algunos exámenes de química sanguínea de los animales más afectados (TABLAS I, II, III) realizándose en forma secuencial, y tomando en cuenta también los resultados obtenidos con anterioridad.

En la TABLA I se puede observar que los exámenes de laboratorio revelaron valores normales de hematocrito y hemoglobina con leucocitosis, neutrofilia, linfopenia y eosinopenia en todas las fechas excepto el día 11-06-87 donde el conteo fue normal pero con desviación a la izquierda.

La bilirrubina se mantuvo siempre alta, la urea ligeramente elevada y creatinina normal, al igual que las proteínas totales.

Otro examen practicado a esta yegua fue un examen de orina el día 16-07-87, el cual reveló: Densidad 1.026, glucosa 500 mg/dl, Bilirrubina (—), Urobilinogeno normal. Otras pruebas de química negativas. Hematíes ausentes. Leucocitos 0-2/campo, piocitos ausentes, células epiteliales escasas. Presencia de abundantes levaduras y micelios de hongos.

La yegua sufrió infección pulmonar y laminitis. Se sacrificó.

En el equino de la TABLA II tampoco existió anemia. Se presentó una leucocitosis inicial con neutrofilia, linfopenia y eosinopenia posiblemente por efecto de los corticosteroides, igual que en el caso "A". El día 05 el conteo disminuyó pero con desviación a la izquierda y el día 08 lo que llamó la atención fue el incremento de monocitos. La bilirrubina también en este caso se encontró aumentada.

Los equinos "A" y "B" y más aun el "C" mostraron monocitos con abundantes vacuolas y neutrófilos fagocitando eritrocitos (eritrofagocitosis). En el caballo "C" (TABLA III) se pudo evidenciar claramente un neutrófilo con un cuerpo inicial y otro con una mórula, Fig. 1 y 2, pero estos hallazgos no fueron abundantes como se describen en la literatura<sup>[3,4,9,17]</sup>.

Se inició el tratamiento según lo indicado por Madigan y col.<sup>[10]</sup> y los caballos mostraron una rápida mejoría como estaba descrito. Pero al atardecer aparecía de nuevo el estado febril. Se decidió dividir la dosis aplicándola dos

\* EDTA = Etilen diamino tetra acetato de sodio.

veces al día como esta indicado en caninos<sup>(5,6)</sup>, obteniendo como resultado que los caballos manifestaran una **mejoría** transitoria, pero al mismo tiempo presentarían complicaciones pulmonares y laminitis. lo cual **produjo** en algunos **la** muerte y a otros hubo que sacrificarlos.

A este grupo de caballos les siguieron muchos otros con signos clínicos similares. la mayoría con respuesta favorable al tratamiento con tetraciclina, acompañado con otros antibióticos para controlar las afecciones **pulmonares** y con butazolidina en los casos de mucho edema. para evitar el uso de corticosteroides.

El tratamiento fue indicado en base al diagnóstico clínico ya que no se podía demostrar en los frotis la ehrlichia en forma de **mórula**, y sólo se observaban **neutrófilos conteniendo cuerpos** individuales incluidos en una vacuola pero que no daban seguridad del diagnóstico hematológico.

No fue sino hasta que se prestó atención a las fotografías de cultivos de macrófagos murinos infectados por *Ehrlichia risticii*, reportados por Ristic<sup>(16)</sup> las cuales al compararlas con nuestras fotografías de células citadas de **pulmón**, obtenidas por aposición de tejido pulmonar de otro de los caballos sacrificados con signos severos de ehrlichiosis equina. llegamos a **la conclusión** de que podíamos usar la presencia de cuerpos elementales en los

neutrófilos para diagnosticar la enfermedad. sin que necesariamente tuviera que evidenciarse la forma de **morulas**.

Es así como durante el **año 1988** se reportaron casos esporádicos por **la** imprecisión del diagnóstico y **la** poca credibilidad de **la** existencia de la enfermedad. Por la concordancia entre los signos clínicos. la respuesta al tratamiento y los hallazgos del laboratorio se le dio fuerza al diagnóstico por frotis y se comenzó a acumular información a partir de **1989**.

Se tomó como premisa que para denominar a una muestra positiva a *E. equi* se requería encontrar varios neutrófilos con moruías o en su defecto con cuerpos elementales de *E. equi*.

En **la** casi totalidad de los casos la *E. equi* se acompaña de monocitos vacuolados y eritrofagocitosis. **razón** por **la** cual para evitar confusiones se solicitó una prueba de Anemia infecciosa Equina negativa, Fig. 3, 4, 5 y 6.

A muchos de los casos con signos clínicos. monocitos **reactivos** y eritrofagocitosis. administramos tratamiento y obtuvimos respuesta, pero los consideramos como casos sospechosos de *E. equi* por lo cual no fueron incluidos en la investigación.

TABLA I

VALORES **HEMATOLOGICOS** Y DE **QUIMICA** SANGUINEA EN EL EQUINO "A",  
HEMERA DE 4 AÑOS, CON SIGNOS **CLINICOS** DE **EHRlichiosis EQUINA**

Fecha: Junio	04	07	08	09	11	16
Hct (%)	33	(*)	32	33	35	34
Hb (gr%)	11.4		11.2	11.4	—	—
GB/ul	26.600		17.300	20.100	10.350	14.150
Linfocitos (%)	—		2	—	1	6
Neut. Seg (%)	—		94	—	91	89
Neut Banda (%)	—		1	—	6	2
Monocitos (%)	—		3	—	2	3
Eosinofiiis (%)	—		0	—	0	0
Ehrlichia	SOSP		NEG	—	—	—
Bil. Total (mg/dl)	5.54		8.9	7.04	6.72	—
Bil. Directa (mg/dl)	0.42		0.58	0.5	0.21	—
Bil. Ind. (mg/dl)	5.12		8.32	6.54	6.51	—
Urea (mg/dl)	—		38.4	—	—	—
Creatinina (mg/dl)	—		1.0	—	—	—
Proteínas tot. (gr/dl)	—		—	6.0	—	—
Fibrinógeno (mg/dl)	—		—	600	—	—

Hct = hematocrito; Hb = hemoglobina;  
GB = glóbulos blancos o leucocitos;  
(\*) Inicio del tratamiento

TABLA II

VALORES HEMATOLOGICOS Y DE **QUIMICA SANGUINEA** EN EL EQUINO "B",  
HEMERA DE 4 **AÑOS** CON SIGNOS **CLINICOS** DE **EHRlichiosis EQUINA**

Fecha: Junio	04	05	07	08
Hct (%)			(*)	33
Hb (gr %)	—	—		11,1
<b>GB/ul</b>	23.200	7.500		8.250
Linfocitos (%)	2	3		3
Neut. Seg. (%)	95	82		86
Neut. Banda (%)	3	12		1
Monocitos (%)	0	3		10
Eosinofilos (%)	0	0		0
Ehrlichia	NEG	NEG		NEG
<b>Bil. Total (mg/dl)</b>				7.56
<b>Bil. Directa (mg/dl)</b>				0,42
<b>Bil. Indir. (mg/dl)</b>		—		7,14
Urea (mg/dl)		34,7		
Creatinina (mg/dl)		1,0		

Hct = hematocrito; Hb = hemoglobina;

**GB** = **glóbulos** blancos o leucocitos:

(\*) inicio del tratamiento.

TABLA III

VALORES HEMATOLOGICOS Y DE **QUIMICA SANGUINEA** EN EL EQUINO "C",  
MACHO DE 4 ANOS CON SIGNOS DE **EHRlichiosis EQUINA**

Fecha: Junio	06	* 08	09	1	16
Hct (%)	38	37	41	35	42
Hb (gr %)	—	12,1	13,8	—	—
<b>GB/ul</b>	9.150	9.050	21.850	9.550	11.150
Linfocitos (%)	3	6	—	4	5
Neut Seg. (%)	92	85	—	84	90
Neut. Banda (%)	1	0	—	3	0
Monocitos (%)	4	9	—	9	5
Eosinofilos (%)	0	0	—	0	0
Ehrlichia	Positivo				
<b>Bil. Total (mg/dl)</b>	—	3.36	2,52	2.52	—
<b>Bil. Directa (mg/dl)</b>	—	0,5	0.33	0.25	—
<b>Bil. Ind. (mg/dl)</b>		2,86	2,19	2,27	
Proteínas tot. (gr/dl)	—	—	6,4	—	—
Fibrinogeno (mg/dl)	—		200	—	—

Inicio del tratamiento.

TABLA IV

VALORES **HEMATOLOGICOS** Y **DETERMINACION DE BILIRRUBINA** EN 232 **EQUINOS**  
DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA, POSITIVOS A **EHRlichIA EQUI**

N° Obs.	Variables	N	Minimo	Máximo	Media	D.E.**
232	Hct (%)	227	16.00	52,00	37,31	6,07
	Hb (gr%)	179	6,8	17,20	12.25	2,02
	GB/ul	180	3.750,00	14.850,00	8.114.50	1.944,38
	Bil. Total (mg/dl)	154	0.67	5,46	2,18	0,96
	Bil. Directa (mg/dl)	154	0,12	0.96	0.38	0,15
	Bil. Ind. (mg/dl)	154	0.30	5.00	1,80	0,92
	Sin exámenes	5				

\* N = numero

\*\* DE = desviación estándar

Los resultados de la evaluación de los 232 casos positivos a *E. equi* aparecen en la TABLA IV.

Puede observarse que el volumen globular promedio fue de 37,31%, pero el 15,0% de los caballos padecían de anemia.

Algo semejante se presentó con los valores de hemoglobina, donde la media fue de 12.25 gr% y donde 21.8% de las muestras mostraban valores por debajo de lo normal.

En cuanto al conteo de leucocitos, el promedio fue de 8.114,5/ul, encontrándose algunos animales con leucopenia y otros con leucocitosis, que será comentado posteriormente.

La bilirrubina total en la mayoría de los equinos estudiados se mantenía por debajo de 3 mg/dl, siendo el valor medio 2,18 mg/dl. Sólo 24 caballos (15,6%), mostraron niveles más altos, los cuales fluctuaban entre 3.10 y 5.46 mg/dl, con promedio de 3.92 mg/dl. El 41,6%

de estos animales mostraron ligera elevación de la bilirrubina directa con valores fluctuantes entre 0.42 y 0,96 mg/dl con media de 0.52 mg/dl, mientras que el 7,8% tenían elevada la bilirrubina indirecta con valores que variaban entre 3,27 y 5,0 mg/dl con promedio de 4.07 mg/dl.

En la TABLA V se puede observar que 163 equinos (90.6%) se encontraban en el rango de normalidad, con un conteo promedio de 8.245,77 leucocitos/ul. Se encontró que 4 equinos (2,2%), mostraban leucocitosis con valores que fluctuaban entre 12.600 y 14.850/ul y que otros 13 (7,2%) mostraban leucopenia con valores fluctuantes entre 3.750 y 5.450/ul.

Los porcentajes de anemia, leucocitosis y leucopenia están expresados en la Fig. 7

Las variaciones porcentuales de la bilirrubina total, directa e indirecta aparecen en la Fig. 8.

Se observa que la enfermedad se presenta durante

TABLA V

**CONTAJE LEUCOCITARIO (LEUCOCITOS/ul) EN 180 MUESTRAS DE SANGRE DE EQUINOS**  
DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA, POSITIVOS A **EHRlichIA EQUI**

Grupo	N	Mínimo	Máximo	Media	D.E.**
Normal	163	5.500	12.450	8.245,77	1.585,34
Leucocitosis	4	12.600	14.850	13.525,00	952,63
Leucopenia	13	3.750	5.450	4.803.85	609,8

\* N = numero.

\*\* DE = desviación estándar.



Fig. 1. Un neutrófilo segmentado presenta dos cuerpos iniciales de *E. equi* esta acompañado de un monócito y otro neutrófilo segmentado. Aumento: 1.200X.

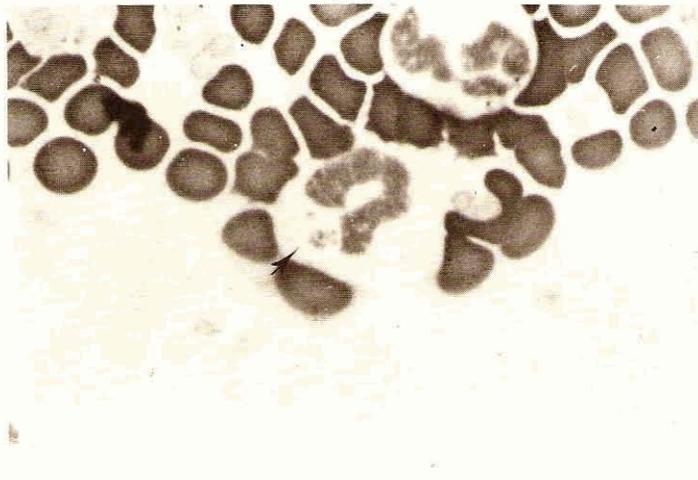


Fig. 2. Frotis de capa blanca nos muestra dos neutrófilos, uno de los cuales tiene en el citoplasma un cuerpo inicial y una mórula de *E. equi*. Aumento: 1.200X.

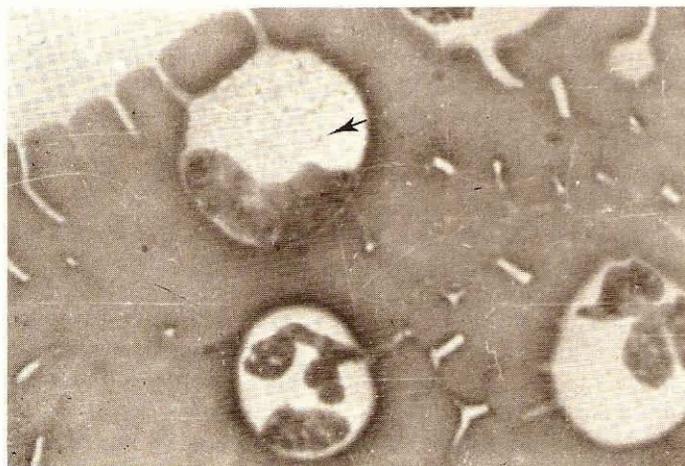


Fig. 3. Frotis mostrando dos neutrófilos segmentados y uno en banda, el cual contiene abundantes cuerpos elementales incluidos en pequeñas vacuolas. Aumento: 1.200X.

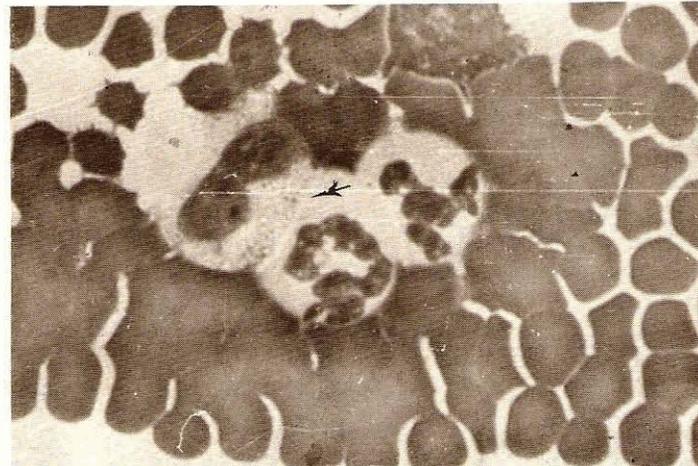


Fig. 4. Frotis de capa blanca con dos neutrófilos segmentados y uno en banda. Nótese en este último abundantes cuerpos elementales incluidos en pequeñas vacuolas. Aumento: 1.200X.

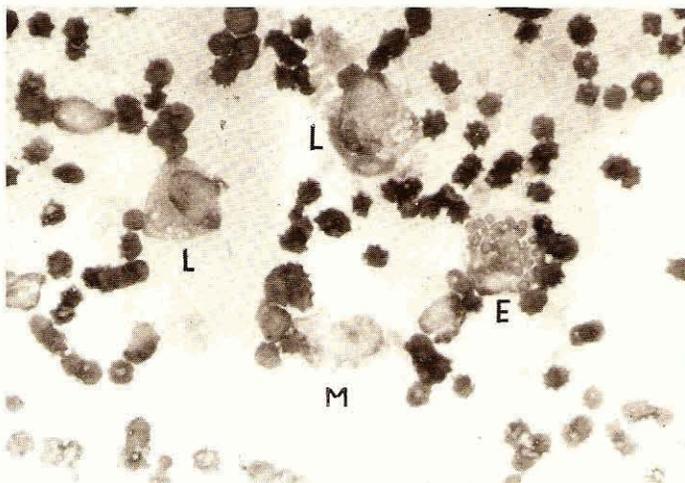


Fig. 5. Frotis de capa blanca de un equino positivo a *E. equi*. Nótese un eosinófilo (E) característico de la especie, dos linfocitos (L) y un monócito (M) muy vacuolado. Aumenta: 480X.

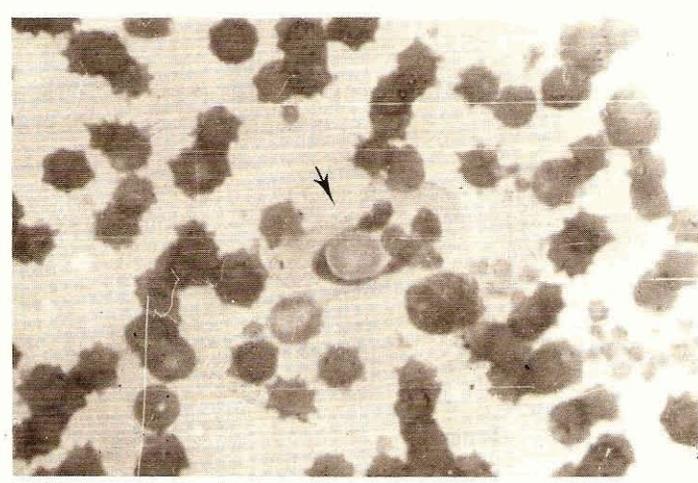


Fig. 6. Neutrófilo segmentado fagocitando un eritrocito de un caballo positivo a *E. equi*. Aumento: 1.200X.

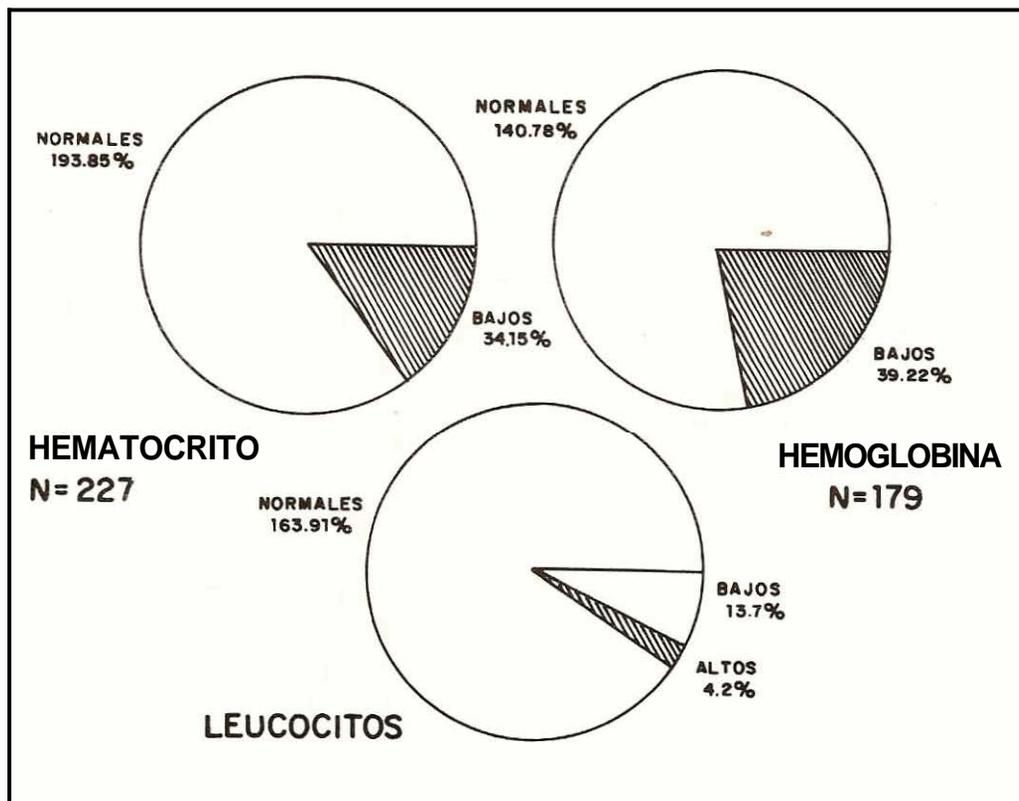


FIG.7 DEMOSTRACION DEL PORCENTAJE DE NORMALIDAD Y ANEMIA EN BASE A DETERMINACION DEL HEMATOCRITO Y LA HEMOGLOBINA Y DE LAS VARIACIONES LEUCOCITARIAS EN EQUINOS POSITIVOS A Ehrlichia equi

todo el año. pero existen meses donde el numero de casos se incrementa. como lo son los meses de enero. julio y octubre-noviembre. La ausencia de casos positivos durante el mes de diciembre de 1990, probablemente se debió a que solo hubo 5 solicitudes para determinar hemotipicos en ese mes. Fig. 9.

Al comparar el numero de casos positivos con el número de casos negativos de cada mes. se observa que no existe una relacion directa entre el número de muestras analizadas y la positividad. por lo que consideramos que la mayor incidencia de la enfermedad en determinados meses del año es estacional. segun lo muestra la Fig. 10.

## DISCUSION

En el presente estudio no se obtuvo suficiente información clinica para relacionar severidad de los casos con la edad. como lo han podido establecer otros autores. pero coincidimos con Madigan y col.<sup>[10]</sup> en que la severidad de la enfermedad esta en funcion de la duracion de la misma. En los primeros casos de ehrlichiosis del año

1987, los signos clinicos fueron muy severos. ya que por desconocimiento de la enfermedad se dejó avanzar mucho. Mas de 10 caballos que sufrieron de infecciones secundarias. manifiestas en su hematologia por leucocitosis, neutrofilia y desviación a la izquierda, murieron en el hipódromo. Durante los años 89 y 90 pocos caballos llegaron a tener signos clinicos severos, y estos solo se observaron en aquellos casos atendidos por medicos veterinarios que desconocian la enfermedad. El diagnostico temprano ayudo al reestablecimiento de todos los casos, posterior al tratamiento.

El tratamiento utilizado fue el de oxitetraciclina. 7 mg/kg intravenosa. dividida en dos dosis diarias, acompañada de electrolitos. vitamina C y algunos medicamentos de soporte necesarios en cada caso, administrandose el tratamiento de 5 a 7 días. Se ha recomendado evitar en lo posible el uso de corticosteroides. por considerar que agrava el estado de inmunosupresion que produce la enfermedad.

En coincidencia con otros autores; <sup>[16]</sup> respecto a los valores hematologicos que muestran los caballos enfermos, la anemia presente en un 15 a 21% de los casos esta asociada a la eritrofagocitosis que se presenta como un hallazgo permanente. La anemia fue moderada y solo

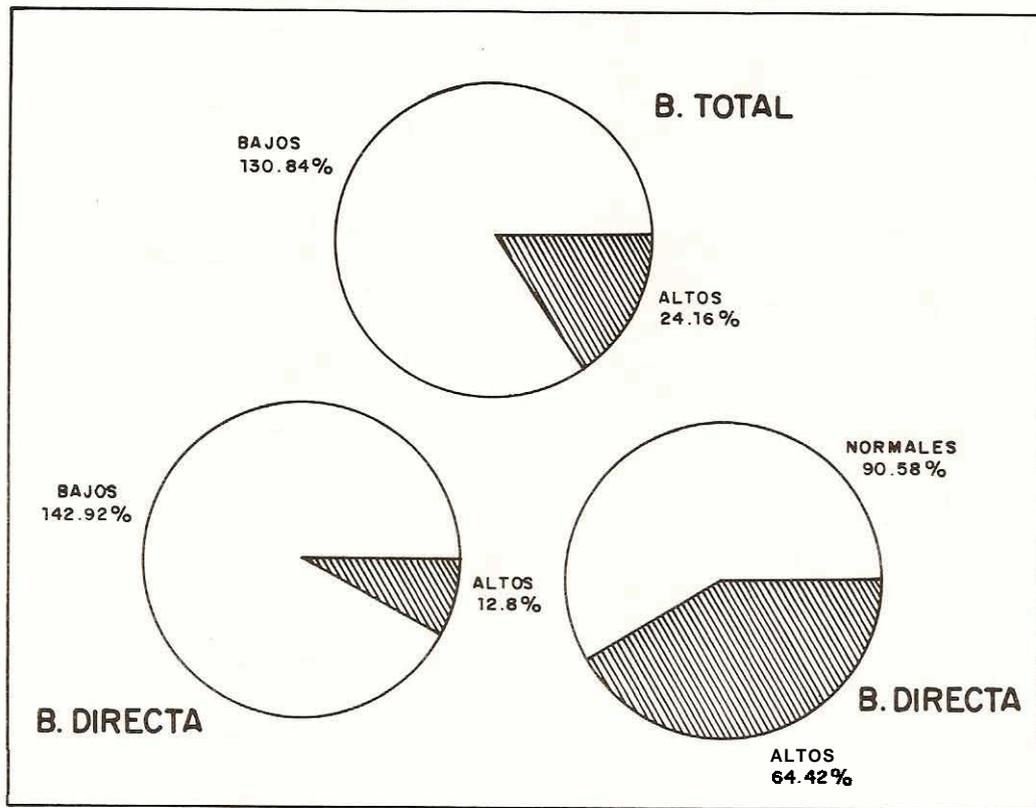


FIG. 8 VARIACIONES DE LA BILIRRUBINA EN EQUINOS POSITIVOS A *Ehrlichia equi* SE TOMO 3 mg/dl COMO VALOR TOPE PARA DESIGNAR VALORES ALTOS O BAJOS A LA BILIRRUBINA TOTAL E INDIRECTA.

en un caso existió hematocrito de 16%. animal que también dio positivo a *Babesia caballi*, se le aplicó transfusión sanguínea. Los porcentajes de animales anémicos variaron en nuestro estudio, ya que tomamos el hematocrito y la hemoglobina como indicadores de anemia y para ambos parámetros la población de estudio fue diferente.

Los valores leucocitarios observados están dentro de los reportados en la literatura<sup>[3,10,18]</sup>, al igual que los valores de bilirrubina. Se observó que los valores más elevados de bilirrubina total e indirecta correspondían a los animales con signos clínicos más severos.

En el norte de California se ha reportado que la enfermedad es estacional<sup>[10,11]</sup>, presentándose mayor número de casos en otoño, invierno y primavera, o sea, de noviembre a abril. En la investigación realizada durante 2 años consecutivos se determinó que existen meses donde la incidencia de la enfermedad es mayor en enero, junio y octubre-noviembre, aun cuando estamos en una zona geográfica de clima tropical donde la temperatura no tiene mucha variación, por lo cual pensamos que debe existir una correlación de estos hallazgos con la presencia de un agente transmisor que hasta ahora desconocemos.

Consideramos que debe existir una alta incidencia de

animales en fase subclínica de la enfermedad, como lo encontraron Madigan y col.<sup>[11]</sup> en el estudio epidemiológico en el norte de California en 1990.

En efecto una buena parte de los casos positivos correspondieron a caballos que no tenían signos clínicos, con muestras de sangre enviadas para chequeos esporádicos, sin embargo nuestro método diagnóstico no es tan efectivo como lo es la IFI para realizar estudios seroepidemiológicos.

Nyindo y col.<sup>[12]</sup>, en sus investigaciones en poneys reportan que durante la enfermedad se producen anticuerpos protectores y Madigan y col.<sup>[11]</sup> citan que la inmunidad persiste al menos durante 2 años; sobre este particular nuestra experiencia fue diferente, ya que se observaron equinos afectados en forma severa por primera vez y al año siguiente volvieron a enfermarse con signos leves, y mostrando en sus neutrofilos de nuevo *E. equi*. Posiblemente esta diferencia en la duración de la inmunidad pueda deberse a la administración del tratamiento en una etapa temprana de la enfermedad, lo cual interfiere con el desarrollo de una respuesta inmune efectiva, como se observa en otras rickettsiosis en humanos y en la infección experimental con *Ehrlichia risticii* en poneys<sup>[12]</sup>.

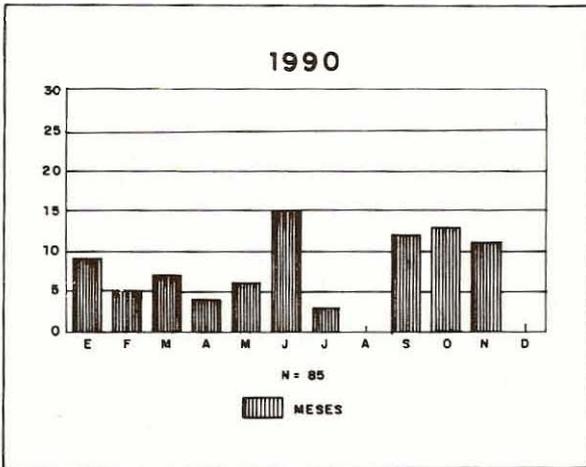
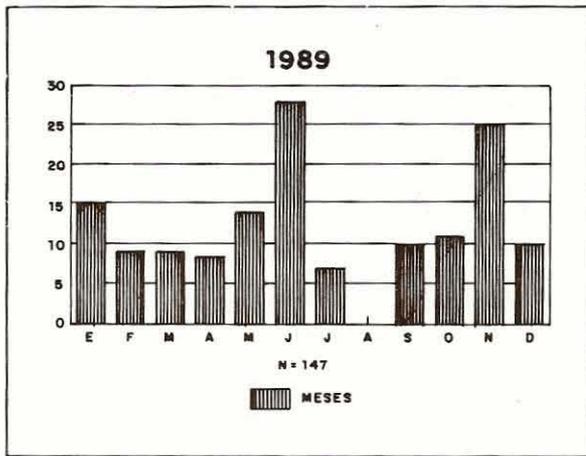


FIG.9 CASOS POSITIVOS DE *Ehrlichia equi* EN EQUINOS DEL ESTADO ZULIA - VENEZUELA, DURANTE LOS AÑOS 1989-1990 NO SE REALIZARON PRUEBAS EN LOS MESES DE AGOSTO EN EL MES DE DICIEMBRE DE 1990 NO SE PRESENTARON CASOS

El hecho de no haber observado un gran número de neutrófilos conteniendo morulas de *E. equi* como lo describen otros autores. creemos que se deba a que no dejamos avanzar suficientemente la enfermedad, sin embargo nos inquieta que en 2 casos que hemos tenido en los últimos 7 años de *E. equi* en perros<sup>[1]</sup> también las morulas eran escasas, contrario a lo que sucede con *E. canis*.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

—Se ha demostrado la existencia de *Ehrlichiosis equina* en Venezuela desde 1987. manteniéndose parte de la población equina infectada durante todos los meses del año.

—Se presenta un mayor número de casos en determinados meses del año como lo son enero, junio y octubre-noviembre, lo cual podría ser clave para realizar estudios en pro del descubrimiento de él o los agentes transmisores de la enfermedad.

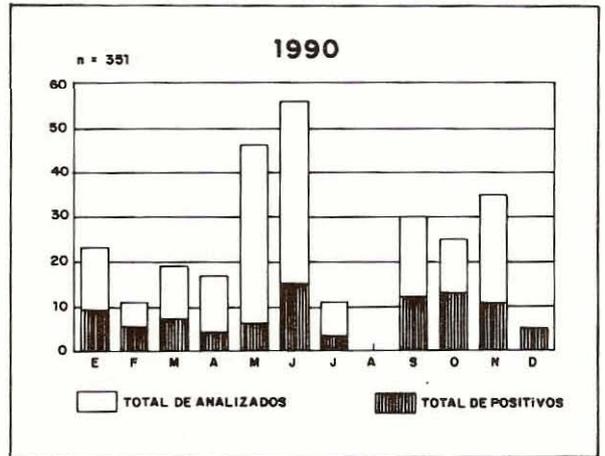
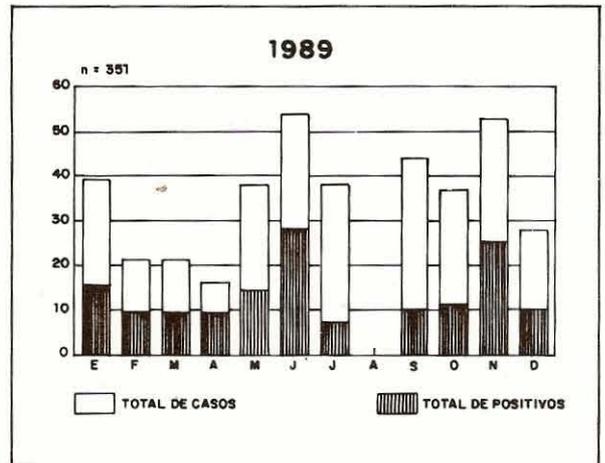


FIG.10 RELACION DE CASOS POSITIVOS Y NEGATIVOS A *Ehrlichia equi* EN LA POBLACION ESTUDIADA DURANTE LOS AÑOS 89-90.

—La asociación de signos clínicos generales con la presencia de monocitos reactivos y eritrofagocitosis en sangre de equinos.. es de gran importancia para el reconocimiento temprano de la enfermedad.

—El uso de la oxitetraciclina intravenosa cada doce horas. resulto mas beneficiosa que la dosis unica recomendada por otros autores.

—En nuestra region la inmunidad producida por la enfermedad es de menor duracion que la descrita en Estados Unidos de América.

—Se hace necesario realizar estudios de inoculacion experimental para aclarar algunas dudas sobre el diagnostico.

—Ya que la mayoría de los casos presentados se ubican en un hipódromo, creemos que sería un sitio ideal para un estudio entomológico que nos permitiera determinar el agente transmisor de la enfermedad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

[1] Arraga de Alvarado. C.M. Ehrlichiosis canina en Maracaibo.

- Venezuela. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracaibo. Venezuela. Trabajo de Ascenso. **1987**.
- [2] Benjamin, M.N. Manual de Patología Clínica en Veterinaria. Editorial LIMUSA S.A. Mexico. **Primera Edición** en español. Páginas **55-60**. **1984**.
- [3] Brewer, B.D., Harvey, J.W., Mayhew, I.G. and Simpson, Ch. F. Ehrlichiosis in a Florida horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **185**: 446-447. **1984**.
- [4] Gribble, D.H. Equine Ehrlichiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **155**: 462-469. **1969**.
- [5] Holl, J.G. (Editor). The shorter Bergey's manual of determinative Bacteriology. The Williams & Wilkins Company Baltimore. Eighth edition. pp. 308-312. **1984**.
- §1 Huxsoll, D.L., Hildebrandi, P.K., Nims, R.M., Ferguson, J.A. and Walker, J.S. Ehrlichia canis - The causative agent of a hemorrhagic disease of dogs. *Veterinary Record.* **85**: 587. **1969**.
- [7] Lewis, G.E., Huxsoll, D.L., Ristic, M. et al. Experimentally induced infection of dogs, cats and non human primates with Ehrlichia equi. etiologic agent of equine ehrlichiosis. *Am. J. Vet. Res.* **36**: 85-86. **1975**.
- [8] Lewis, G.E. Equine Ehrlichiosis: A comparison between E. equi and other pathogenic species of Ehrlichia. *Vet. Parasitology* **2**: 61-74. **1976**.
- 191 Madewell, B.R. and Gribble, D.H. Infection in two dogs with an agent resembling Ehrlichia equi. *J. Am. Vet. Assoc.* **180**: 512-514. **1982**.
- [10] Madigan, J.E., Gribble, D.H. Equine Ehrlichiosis. A report of **49 Clinical cases** in northern California. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **190**: 445-448. **1987**.
- [11] Madigan, J.E., Hietala, S., Chalmers, S. and DeRock, E. Seroepidemiologic survey of antibodies to Ehrlichia Equi. in horses of northern California. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **196**: 1962-1964. **1990**.
- 1121 Nyindo, B.A., Ristic, M., Lewis, G.E. et al. Immune response of ponies to experimental infection with Ehrlichia Equi. *Am. J. Vet. Res.* **39**: 15-18. **1978**.
- [13] Oviol, B.S. Valores hematológicos en caballos pura sangre de carrera, antes y después de un ejercicio violento. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias, Maracaibo, Venezuela. Trabajo de ascenso. **1988**.
- [14] Paimer, J.E., Whitlock, R.H. and Bensos, C.E. Equine ehrlichial colitis: Effect of oxytetracycline treatment during the incubation period of Ehrlichia risticii infection in ponies. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **192**: 343-345. **1988**.
- [15] Ristic, M., Huxsoll, D.L., Weisiger, R.M., Hildebrande, P.K. and Nyindo, M.B.A. Serological Diagnosis of Tropical Canine Pancytopenia by Indirect Immunofluorescence. *Infection and Immunity* **6**: 226-231. **1972**.
- [16] Ristic, M., Hoiand, C.L., Dawson, J.E., Session, J. and Palmer, J.E. Diagnosis of equine monocytic ehrlichiosis (Potomac horse fever) by indirect immunofluorescence. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **189**: 39-46. **1986**.
- [17] Schalm, O., Jain, N.C. and Carroii, B.S. Hematología Veterinaria. Editorial Hemisferio Sur, S.A. Argentina. Primera Edición en español. **pág. 18-75**. **1981**.
- [18] Ziemer, E.L., Keenan, D.P. and Madigan, J.E. Ehrlichia equi infection in a foal. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **190**: 199-200. **1987**.