



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS



LABORATORIO DE INVESTIGACIONES PARASITOLÓGICAS
“JESÚS MORENO RANGEL”

***Anaplasma marginale* EN CORRESPONDENCIA DE SU FRECUENCIA
VERSUS DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA ERITROCITARIA EN
BOVINOS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA ROSA DE LA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES**

Autor:

Br. Joel E. Cárdenas Ríos

Tutora:

Prof^a. Ana María Bolívar

Mérida, Octubre 2017



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS



LABORATORIO DE INVESTIGACIONES PARASITOLÓGICAS
"JESÚS MORENO RANGEL"

***Anaplasma marginale* EN CORRESPONDENCIA DE SU FRECUENCIA
VERSUS DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA ERITROCITARIA EN
BOVINOS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA ROSA DE LA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES**

Trabajo Especial de Grado presentado como requisito parcial para optar al
Título de Licenciado en Bioanálisis

Autor:
Br. Joel E. Cárdenas Ríos

Tutora:
Prof^a. Ana María Bolívar

Mérida, Octubre 2017

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar en cada paso que doy, y por haber puesto en mi camino aquellas personas que han sido un soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres Margarita Ríos y Edidson Cárdenas por su apoyo incondicional, sus palabras de aliento en cada momento difícil, por creer y confiar en mí, por los consejos y valores dados que me han hecho ser una persona de bien, por todo el amor día tras día, todo esto es gracias a ellos.

A mis abuelos y tíos, gracias por sus aportes, su inmensa bondad y apoyo a lo largo de este camino.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

A Dios Todopoderoso, por brindarme siempre salud, fortaleza para poder seguir adelante y poder alcanzar esta meta.

A la Ilustre Universidad de Los Andes, por ser mi casa de estudio durante estos años, es un honor ser estudiante y salir egresado como profesional de la mejor Universidad del país.

Al CDCHTA de la Universidad de Los Andes, quien bajo la figura del proyecto FA-582-15-03-B, financió parcialmente esta investigación.

A mi Tutora profesora Ana María Bolívar, por la paciencia y por todas esas horas de asesoría para lograr la elaboración de este Trabajo de Grado.

Al Médico Veterinario Carlos Luis Pérez, por toda la colaboración, ayuda y conocimiento que me brindo durante la realización del trabajo.

A la Estación Experimental Santa Rosa de la Universidad de Los Andes por permitir el acceso a sus instalaciones y hacer posible la realización del muestreo.

A mis jurados, profesores Ángela Lugo y Juan Carlos Yépez, que con sus conocimientos enriquecieron mi aprendizaje, y me inculcaron valores para la vida profesional.

Al profesor José Gregorio Hernández, por su atención, interés y ayuda prestada.

Y a todas aquellas personas que de una u otra manera colaboraron para que este trabajo fuese posible.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | Pág. |
|-------------------------------------------------|------|
| DEDICATORIA | ii |
| AGRADECIMIENTOS | iii |
| ÍNDICE DE CONTENIDO | iv |
| ÍNDICE DE TABLAS | vi |
| ÍNDICE DE FIGURAS | vii |
| RESUMEN | viii |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| CAPÍTULO I. EL PROBLEMA | 3 |
| Planteamiento del Problema | 3 |
| Justificación e Importancia de la Investigación | 6 |
| Objetivos de la Investigación | 7 |
| <i>Objetivo General</i> | 7 |
| <i>Objetivos Específicos</i> | 7 |
| Alcances y Limitaciones de la Investigación | 8 |
| Alcances de la Investigación | 8 |
| Limitaciones de la investigación | 8 |
| CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO | 9 |
| Trabajos Previos | 9 |
| Antecedentes Históricos o Epistemológicos | 11 |
| Bases Teóricas | 12 |
| Definición Operacional de Términos | 15 |
| Operacionalización de las Variables | 18 |
| CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO | 20 |
| Tipo de Investigación | 20 |
| Diseño de la Investigación | 20 |
| Población y Muestra | 21 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Unidad de Investigación | 21 |
| Selección del Tamaño de la Muestra | 21 |
| Sistema de Variables | 22 |
| Instrumento de Recolección de Datos | 22 |
| Procedimiento de la Investigación | 22 |
| Estudio Clínico de los Bovinos | 23 |
| Estudio Epizootológico de los Bovinos | 23 |
| Obtención de la Muestra de Sangre y Preparación del Frotis de Sangre Periférica | 23 |
| Análisis Microscópico de la Presencia de <i>A. marginale</i> en correspondencia con características morfológicas el Frotis de Sangre Periférica | 24 |
| Análisis Microscópico de las Alteraciones Hematológicas en Correspondencia con el Frotis de Sangre Periférica | 25 |
| Análisis de la Estimación de la Parasitemia para <i>A. marginale</i> en los Bovinos | 25 |
| Interpretación del diagnóstico de <i>A. marginale</i> y Estimación de la Parasitemia | 26 |
| Diseño de Análisis | 26 |
| CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 27 |
| Resultados | 27 |
| Discusión | 38 |
| CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 41 |
| Conclusiones | 41 |
| Recomendaciones | 42 |
| BIBLIOHEMEROGRAFÍA | 43 |
| ANEXO | 49 |

ÍNDICE DE TABLAS

| Nº | Tabla | Pág. |
|----|----------------------------------------------------------------------|------|
| 1 | Operacionalización de las Variables | 19 |
| 2 | Distribución de la población bovina según factores epizootiológicos | 28 |
| 3 | Alteraciones eritrocíticas en la población bovina | 29 |
| 4 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en becerros | 29 |
| 5 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en mautas | 30 |
| 6 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en novillas | 31 |
| 7 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en vacas escoterías | 32 |
| 8 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en vacas lactantes | 32 |
| 9 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en Jersey puro | 33 |
| 10 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en Jersey mestizo | 34 |
| 11 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en Simmental puro | 34 |
| 12 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en Holstein puro | 35 |
| 13 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en machos | 35 |
| 14 | <i>A. marginale</i> y alteraciones eritrocíticas en hembras | 36 |
| 15 | Alteraciones plaquetaria en la población bovina | 37 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Nº | Figura | Pág. |
|----|----------------------------------------------------|------|
| 1 | <i>A. marginale</i> en frotis de sangre periférica | 12 |

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS



***Anaplasma marginale* EN CORRESPONDENCIA DE SU FRECUENCIA
VERSUS DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA ERITROCITARIA EN BOVINOS DE
LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA ROSA DE LA UNIVERSIDAD DE LOS
ANDES**

Br. Joel E. Cárdenas Ríos
Tutora: Prof^a. Ana María Bolívar

RESUMEN

Anaplasma marginale es un microorganismo perteneciente a la familia Anaplasmataceae y orden Rickettsiales. Actúa como parásito obligado al requerir penetrar dentro de los eritrocitos de los bovinos y otros rumiantes. Es la causa de la condición patológica denominada anaplasmosis, enfermedad caracterizada principalmente por anemia y fiebre, que ocasiona millonarias pérdidas anuales en la industria ganadera. En Venezuela dicha industria cada año se ve muy afectada por esta enfermedad por lo cual el objetivo de esta investigación fue analizar la correspondencia entre la estimación parasitaria para *A. marginale* y las alteraciones hematológicas existentes en frotis de sangre periférica de bovinos de la Estación Experimental Santa Rosa de la Universidad de Los Andes. Se analizó la sangre de 50 bovinos de la estación tomando en cuenta la sintomatología, el sexo, la edad y la raza. La detección se realizó mediante la técnica de frotis de sangre periférica con la coloración de Giemsa, arrojando una frecuencia del microorganismo de 98% (49/50), parasitemias desde 0,05% a 0,45% y alteraciones eritrocitarias leves y moderadas. No se encontraron diferencias con relación a la presencia de *A. marginale* y el sexo, edad o raza, así como también que la sintomatología y las alteraciones hematológicas no están ligadas necesariamente a la presencia del microorganismo.

Palabras clave: *Anaplasma marginale*, bovinos, frotis de sangre periférica

INTRODUCCIÓN

Anaplasma marginale representa un reto en la medicina veterinaria, dado que la enfermedad que origina en el bovino puede llegar a producir graves pérdidas económicas en la industria ganadera en diversas partes del mundo como consecuencia de las altas tasas de morbilidad y mortalidad, así como por el brusco descenso en la producción lechera y cárnica, retrasos en el desarrollo corporal y abortos (O.I.E., 2004, Aubry y Geale, 2011).

A. marginale es una α -proteobacteria intracelular obligada y responsable de la patología denominada anaplasmosis, definida como una enfermedad infecciosa, cuya presentación clínica incluye entre otros, anemia progresiva, ictericia, fiebre, pérdida de peso y ocasionalmente la muerte (Castro y col., 2010). Afecta principalmente a vacunos, bufalinos, camélidos, bisontes, antílopes y venados (Aubry y Geale, 2011).

La anaplasmosis bovina se presenta principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo. En Venezuela ha sido señalada en distintas regiones, habiéndose identificado como una de las tres entidades hemotrópicas que mayormente obstaculiza el desarrollo ganadero (Reyna-Bello, 2014). Al presente se establece que no existe un tratamiento específico para la anaplasmosis, sin embargo, han dado buenos resultados la aplicación de ciertos antibióticos, brindando una cura clínica más no parasitológica. De allí la importancia de la vigilancia epizootiológica y la aplicación de planes sanitarios como medidas de prevención y control (Kocan y col., 2003).

El ganado bovino de todas las edades es susceptible a la infección con *A. marginale* y por ende a desarrollar cuadros de anaplasmosis, pero la gravedad de la enfermedad aumenta con la edad y algunas variantes epizootiológicas como la época del año así como el manejo sanitario de las fincas (Richey y Palmer, 1990).

La prevalencia del microorganismo en bovinos es más notable en animales mayores de 2 años; los becerros son menos susceptibles a la infección y cuando se infectan, son menos susceptibles a la enfermedad clínica. Se establece que

una vez infectado, el animal permanece como portador de por vida (Kocan y col., 2003).

La transmisión de este agente es principalmente de modo vectorial, siendo involucrados diferentes vectores entre ellos la garrapata común del ganado, tábanos y moscas. Existen además, reportes de transmisión iatrogénica y transplacentaria (Kocan y col., 2003, O.I.E., 2004, Añez-Rojas y col., 2010).

En laboratorio, el diagnóstico de *A. marginale* puede realizarse mediante la aplicación de métodos directos, serológicos o moleculares, resultando la demostración directa a partir de frotis de sangre el diagnóstico primario (Castro y col., 2010).

Al presente, en las explotaciones ganaderas del país el comportamiento de *A. marginale* no ha sido correctamente entendido. En tal sentido, un veterinario al observar un animal con anemia y debilidad lo relaciona con *A. marginale* y es tratado como tal, sin ningún diagnóstico real. Por otro lado, al estar un animal sin presencia de síntomas, el veterinario asume que está sano, libre del microorganismo, subestimando de esta manera su presencia, a sabiendas que aun en su condición crónica o persistente es capaz de disminuir la producción (Reyna-Bello, 2014).

Por lo antes mencionado el objetivo de este trabajo fue analizar la correspondencia entre la frecuencia para *A. marginale* versus la descripción morfológica eritrocitaria existente en frotis de sangre periférica de bovinos de la E.E Santa Rosa de la Universidad de Los Andes.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

A marginale es un microorganismo perteneciente a la familia Anaplasmataceae y orden Rickettsiales. Actúa como parásito obligado al requerir penetrar dentro de los eritrocitos de los bovinos y otros rumiantes para cumplir con su proceso de replicación y supervivencia (Bryton, 2012).

A. marginale es causante de la condición patológica denominada anaplasmosis, enfermedad hemotrópica caracterizada principalmente por anemia y fiebre (Eleizalde y Reyna-Bello, 2014). La anemia que puede ser leve o severa es consecuencia de la fagocitosis de los eritrocitos infectados por parte de las células retículo endoteliales. Entre otras manifestaciones se incluyen pérdida de peso, letargia, ictericia sin hemoglobinuria, deshidratación, decaimiento, aborto y muerte (Aubry y Geale, 2011, Bolívar, 2013, Muñoz-Guarnizo y col., 2017). Todas las razas de bovinos son susceptibles a la anaplasmosis; y referente a la edad, los bovinos jóvenes son considerados más resistentes a los efectos de una primoinfección por *A. marginale*, disminuyendo en estos casos los cuadros clínicos de la enfermedad y desarrollando una larga inmunidad. Sin embargo, se ha reportado que la anaplasmosis podría causar problemas graves en becerros de ciertas regiones en América del Sur (González y col., 2014).

Desde el punto de vista económico la anaplasmosis adquiere grandes repercusiones a nivel mundial, específicamente debido a la tasa de mortalidad que presentan los animales afectados, calculada entre 50.000 a 100.000 bovinos al año, así como a la pérdida de capital de la industria ganadera, con cifras que alcanzan solo en América Latina los 800 millones de dólares, comprometiéndose

en consecuencia, la optimización de la productividad ganadera (Bryton, 2012). Por estas razones se promueve alrededor del mundo el estudio de *A. marginale*.

Han sido identificadas un importante número de cepas de *A. marginale* cuya heterogeneidad podría ser explicada por el movimiento del ganado y el mantenimiento de los diferentes genotipos independiente a cada evento de transmisión. Estas cepas no solo difieren en la variabilidad genética, sino también en área geográfica, capacidad de infectar al bovino, toxicidad y poder de transmisibilidad (Corona y col., 2009).

La transmisión de *A. marginale* ocurre mediante tres vías: biológica, mecánica y transplacentaria en correspondencia a la susceptibilidad animal y contextos ideales para su proliferación (Aubry y Geale, 2011, Muñoz-Guarnizo y col., 2017). En la vía biológica está ampliamente descrito el rol de insectos hematófagos como las garrapatas; sin embargo, en Venezuela y otros países del continente, pareciera tener mayor relevancia la transmisión mecánica debido a dípteros hematófagos tales como los tábanos y moscas de establo, así como la infección iatrogénica debido a agujas contaminadas durante las jornadas de vacunación (Eleizalde y Reyna-Bello, 2014).

A. marginale tiene presencia en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, principalmente donde sobreviven sus vectores, incluyendo los Estados Unidos, América Central, América del Sur, África, Asia, Australia y el sur de Europa (Brown, 2012).

El diagnóstico de la anaplasmosis en su etapa aguda debe realizarse clínicamente y con la ayuda de una centrífuga de hematocrito y de un microscopio (Reyna-Bello, 2014). Considerando la existencia de animales portadores, muchas veces la identificación es compleja, debido a la ausencia de síntomas clínicos; *A. marginale* en estos casos puede ser detectado además de pruebas de laboratorio que incluyan exámenes directos a partir de frotis sanguíneo coloreados, con pruebas inmunológicas como la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y el Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) y entre los procedimientos moleculares, la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Yáñez, 2013). Técnicas inmunológicas y moleculares han sido empleadas en diferentes ensayos

de campo, mostrando su versatilidad y precisión para el diagnóstico, sin embargo no son las mejores para el diagnóstico de la enfermedad; son más útiles para determinar los perfiles seroepidemiológicos de una población, para realizar traslados de animales o para importar animales libres (Reyna-Bello, 2014).

En Venezuela la anaplasmosis se considera como una enfermedad enzootica de amplia distribución, existiendo las condiciones para el desarrollo y evolución de sus vectores naturales en casi todas las regiones geográficas principalmente en regiones de clima cálido. En este sentido, el «status» epizootiológico de los rebaños puede variar desde una condición de inestabilidad enzootica (bajo porcentaje de animales infectados con alta susceptibilidad a la infección clínica), hasta una condición de estabilidad enzootica (alto porcentaje de animales infectados y baja susceptibilidad del rebaño a enfermar clínicamente). En la mayoría de las fincas, los brotes se observan en situaciones de estrés debido a la falta de alimentos, pariciones o mal manejo sanitario (Rey y col., 2007, Bolívar, 2013).

La industria ganadera en la zona alta del estado Mérida pudiera verse comprometida producto de la infección por *A. marginale* y la enfermedad que ocasiona. De tal modo, que el realizar un estudio de frecuencia para este agente en un sistema de producción de gran importancia para la región representado en la Estación Experimental Santa Rosa (E. E. Santa Rosa), perteneciente al Programa de Ganadería de Altura de la Universidad de Los Andes (Progal-UULA) así como la evaluación hematológica a un grupo de animales, aporta datos sobre la casuística de *A. marginale* y del estado sanitario que en materia de hemotrópicos son ejecutados en el sistema de producción.

Tomando en cuenta el planteamiento anterior se formuló el siguiente enunciado holopráxico:

Cuál es la frecuencia de *A. marginale*, su correspondencia a la estimación de la parasitemia y a la descripción morfológica eritrocitaria presentes en el frotis de sangre periférica de bovinos que de diferente sexo, edad y raza fueron muestreados en la E.E Santa Rosa durante el mes de mayo del año 2017.

Justificación e Importancia de la Investigación

A. marginale es responsable de la condición clínica conocida como anaplasmosis cuyas implicaciones van más allá de comprometer la salud individual, ya que puede afectar a la totalidad del rebaño, perturbando la productividad y rentabilidad de los sistemas ganaderos. La anaplasmosis principalmente se caracteriza por un cuadro anémico de intensidad variable y fiebre recurrente, lo que trae como consecuencias grandes pérdidas a los productores pecuarios por la inminente baja en la producción, sean estos animales de leche, carne o doble propósito (Muñoz-Guarnizo y col., 2017). El foco principal de la prevención se centra en la instauración de medidas profilácticas, las cuales dependen en gran parte, del conocimiento epizootiológico y de laboratorio que se tenga sobre los factores de riesgo para un área ganadera en particular (Aubry y Geale, 2011).

A. marginale ha sido detectada en diferentes asentamientos ganaderos de Venezuela. En el occidente del país incluyendo la zona de ganadería baja del estado Mérida, es común observar una prevalencia superior al 50% en extendidos sanguíneos teñidos por los métodos convencionales (Bolívar, 2013).

Según los datos de la Asociación Venezolana de la Industria de Salud Animal (AVISA) se estimó que en el año 2013 se invirtieron más de 60 millones de bolívares en medicamentos para el control de este y otros hemotrópicos. Sin embargo, el impacto económico de *A. marginale* en el país no ha sido correctamente determinado, pudiendo en campo ser sobrestimado o subestimado. En tal sentido, un veterinario clínico al observar un animal tendido (posición decúbiteo), lo relaciona con *A. marginale* u otro hemotrópico y es tratado como tal, sin realizar ningún diagnóstico real (sobrestimación), de tal modo que resultan necesarios seguimientos oportunos (diagnósticos de laboratorio) y evitar así el exceso de drogas que desmejoran la calidad de la carne y leche e incrementen los costos de producción. Por otra parte, *A. marginale* al producir una enfermedad de alta prevalencia y al estar el animal de pie y produciendo, el veterinario clínico asume que está “sano”, y de igual manera sin ningún tipo de diagnóstico, se

subestima su presencia, que aun en su condición crónica o persistente es capaz de disminuir la producción (Reyna-Bello, 2014).

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

. Analizar la correspondencia entre la frecuencia para *A. marginale* versus la descripción morfológica eritrocitaria existente en frotis de sangre periférica de bovinos de la E.E Santa Rosa de la Universidad de Los Andes.

Objetivos Específicos

- . Examinar un frotis de sangre periférica de cada animal muestreado
- . Identificar *A. marginale* en frotis de sangre periférica y calcular la estimación de la parasitemia
- . Identificar las alteraciones eritrocitarias presentes en los frotis de sangre periférica
- . Analizar los hallazgos obtenidos

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

La investigación permitirá describir en un grupo de bovinos pertenecientes al Programa de Ganadería de Altura del estado Mérida, la correlación existente entre los hallazgos microscópicos de *A. marginale* y la evaluación hematológica. De tal modo que la frecuencia y estimación de la parasitemia obtenida para *A. marginale* y su correlación a las posibles alteraciones hematológicas encontradas, permitirá explicar el comportamiento de este hemotrópico durante el periodo de evaluación, y servirán de guía para que el médico veterinario coordinador de la E. E. Santa Rosa ejecute en campo las medidas de prevención y control más idóneas.

Así mismo, los resultados obtenidos favorecerán el conocimiento sobre la circulación de *A. marginale* para una zona de ganadería de altura.

Limitaciones de la Investigación

El periodo de tiempo de recolección de la información representó un importante obstáculo para el desarrollo de la investigación debido a que fue coincidente con una etapa de crisis político y social en el país, donde tensas y continuas manifestaciones populares de calle no solo llevaron a la interrupción de actividades docentes en la Universidad de Los Andes, sino que también limitaron el acceso a la E. E. Santa Rosa y por ende a la evaluación de un mayor número de animales y profundidad en los análisis hematológicos.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

En el ámbito internacional, Muñoz-Guarnizo y col (2017), en una provincia al sur de la Amazonía ecuatoriana con antecedente de diagnóstico clínico de anaplasmosis bovina pero sin un mayor estudio que evidencie su prevalencia y oriente al control de la misma, determinan mediante la visualización microscópica de frotis coloreados con Giemsa, la prevalencia de *A. marginale* en 600 muestras de sangre tomadas de igual número de bovinos asintomáticos. El 49,5% de las muestras (297/600) resultaron positivas, sin diferencia significativa entre los animales que de diferente sexo, edad y sectores de producción en altitudes comprendidas entre los 815 y 2800 msnm y temperaturas promedios entre 17 y 22°C fueron estudiados. Tomando en cuenta que los animales no presentaban signos clínicos relacionados con la enfermedad, los autores concluyen que estos pudieran constituir un reservorio para la diseminación del hemotrópico al resto de los animales susceptibles.

Monroy (2015), evalúa la seroprevalencia de *A. marginale* en bovinos de las islas Galápagos (Ecuador). Para tal fin estudia 184 bovinos seleccionados al azar, provenientes de 33 fincas, reportando una seroprevalencia general de 64,1%. Los resultados indican lo común de exposición de los bovinos al hemotrópico en los sistemas de producción de las islas Galápagos, así como una situación de inestabilidad enzootica probablemente debida al inadecuado control de los vectores.

Yáñez (2013), determina en la provincia de Chimborazo (Ecuador) la incidencia de la anaplasmosis y babesiosis con el apoyo de la microscopía directa (frotis sanguíneos coloreados con Giemsa), reportando en 98,0% y 2,0% respectivamente la incidencia de estas patologías hemáticas, no siendo detectadas diferencias significativas en estos valores con respecto a la edad y sexo de los animales, razón por la cual asume que estos factores no predisponen a la presencia o ausencia de la enfermedad en el ganado bovino de la provincia. En cuanto a la raza, fueron obtenidas diferencias significativas, demostrando que ambas enfermedades son dependientes de este parámetro. En lo referente a los vectores, se encontró mayor presencia de tábanos y garrapatas. Se concluye que la anaplasmosis bovina guarda relación con los bajos índices productivos del ganado bovino en el área evaluada.

En el ámbito nacional, Castellanos y col (2010) a fin de realizar un estudio hematológico así como una detección de hemotrópicos en caballos criollos en dos hatos del estado Apure (Venezuela), evalúan durante los meses de marzo y junio muestras sanguíneas de 137 caballos obtenidas por venopunción yugular. Las pruebas hematológicas realizadas consistieron en la determinación de hemoglobina, hematocrito, concentración de hemoglobina corpuscular media, recuento de glóbulos blancos y fórmula leucocitaria diferencial, mientras que la detección de hemotrópicos se realizó mediante las técnicas de Woo y frotis de capa blanca. Los resultados obtenidos evidenciaron valores disminuidos de hemoglobina y hematocrito, concentración de hemoglobina corpuscular media normal y leucocitosis marcada, con diferencias estadísticamente significativas entre las variables hemoglobina y hematocrito en función al sexo ($P < 0,05$). En el diagnóstico de hemotrópicos se observó estadios morfológicos de *Trypanosoma evansi*, *Babesia equi* y *Anaplasma phagocytophilum*.

Díaz y col (2003), seleccionan 12 fincas para un estudio de prevalencia de *A. marginale* en el sector La Piñata, municipio La Cañada de Urdaneta del estado Zulia (Venezuela). De una población total de 6.894 bovinos, evalúan por medio de IFI y la observación directa a través de frotis de capa blanca, una muestra de 174 bovinos, obteniendo una seroprevalencia de 95,4% (166/174) y una infección

activa de 56,9% (99/174). Los autores no reportan diferencias significativas con relación a la presencia de *A. marginale* y el sexo o edad de los animales. Todas las fincas incluidas en la investigación mostraron prevalencias para *A. marginale* iguales o superiores a 75,0% indicando que la zona estudiada presenta una condición de estabilidad enzootica para este hemotrópico.

Antecedentes Históricos o Epistemológicos

Smith y Kilborne en 1895, en el transcurso de sus investigaciones relacionadas con la fiebre de la garrapata, fiebre de Texas o babesiosis, describieron dentro de los glóbulos rojos de bovinos infectados, pequeños corpúsculos puntiformes o en forma de cocos y los consideraron como representantes del ciclo de vida de *Babesia bigemina*. Theiler en 1910 fue el primero en considerar estos corpúsculos como parte de un nuevo género y le dio el nombre de *Anaplasma marginale* debido a la carencia de citoplasma y localización marginal característica dentro del glóbulo rojo. La enfermedad que ocasiona fue denominada anaplasmosis (Richey y col., 1990).

En 1911 el mismo Theiler considero a *A. marginale* como un parásito protozooario endoglobular verdadero. Este punto de vista que generalmente fue aceptado en el pasado con algunas objeciones, se basaba principalmente en que la enfermedad presentaba signos clínicos similares a la babesiosis. Ese mismo año Sieber hizo notar características del comportamiento clínico y patológico del agente que lo asemejaba a los virus. En 1955 estudios histoquímicos objetaron la teoría vírica. En 1957 Philip observó que el microorganismo presentaba una estructura interna semejante a la de las rickettsias por lo que lo incluyó dentro del orden Rickettsiales y creó la familia Anaplasmataceae y el género *Anaplasma* (Richey y col., 1990).

Bases Teóricas

A. marginale es una bacteria, descrita como un cuerpo redondeado denso marginado hacia la membrana del eritrocito (figura 1), de color azurófilo con un halo visible y un tamaño entre 0,3 μm y 1,0 μm (Ávila y col., 2013). Es causante de la anaplasmosis, una enfermedad infecciosa no contagiosa que afecta a los bovinos y otros rumiantes como búfalos, bisontes, antílopes y algunas especies de ciervos (Aubry y Geale, 2011).

Taxonómicamente *A. marginale* pertenece a: Clase: Proteo bacteria, Subclase: Alfa, Orden: Rickettsiales, Familia: Anaplasmataceae (bacterias intracelulares obligadas que se replican en vacuolas derivadas de membrana, en el citoplasma de las células hospedadoras eucarióticas), Género: *Anaplasma*. A pesar de ser dentro del género la especie más representativa, existen otras especies que con cierta relevancia pueden afectar a otros hospedadores como ovinos, equinos e incluso al hombre (Dumler y col., 2001, Aubry y Geale, 2011).

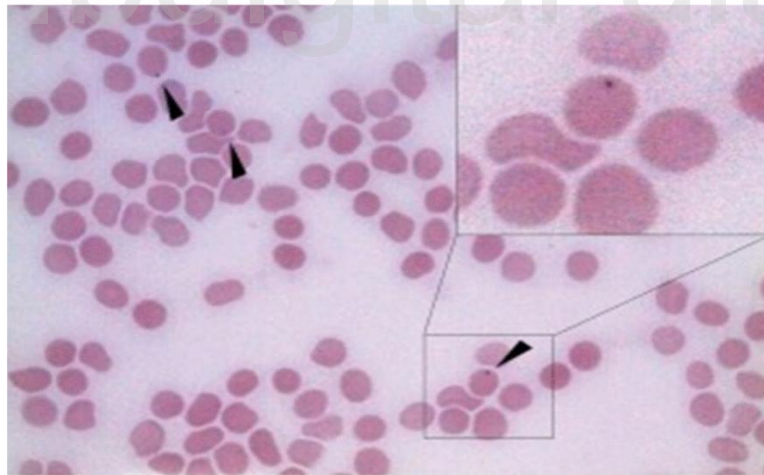


Figura 1. *A. marginale* en frotis de sangre periférica (◄)

Tomado de Santos y col., 2013

La distribución de *A. marginale* es considerablemente extensa específicamente en las regiones del trópico y subtropico (Cardona y col. 2012). Es frecuente en África del Sur, Australia, territorios de la antigua Unión Soviética,

Norte, Centro y Sur América (González y col., 2014). En algunos países tiene carácter enzootico y así se pueden observar áreas altamente infectadas y áreas de baja o ninguna infección. Todos los animales que se encuentran en su área de distribución están expuestos a la enfermedad que ocasiona (González y col., 2014).

La seroprevalencia de *A. marginale* varía dependiendo de la región geográfica estudiada. En África se han reportado valores entre 50% y 80%. En los Estados Unidos entre 6% y 68%. En Veracruz (México) se cuantificó en 1997 una seroprevalencia cercana al 70% y en El Salvador entre 73% y 78%. En el estado de Paraná (Brasil) en 1998 se reportó una seroprevalencia del 87,6%, mientras que en Suiza estos valores no superan el 8% (Hugh-Jones y col., 1988, Cossio y col., 1997, Masika y col., 1997, Vidotto y col., 1998, Kinhm, 2002, Rodríguez y col., 2003). En Venezuela hasta 1990 la prevalencia promedio nacional fue estimada cercana a 50%. Estudios posteriores han reportado seroprevalencias hasta del 90%, permitiendo inferir que la anaplasmosis es endémica en todo el territorio nacional. La dependencia de los distintos valores observados es directamente proporcional a ciertas variables epizootológicas como el movimiento de los animales y el mal control de rebaños infectados (Corona y col., 2004, Bolívar, 2013, Reyna-Bello, 2014).

En muchas áreas de su distribución, una de las principales vías de transmisión de *A. marginale* es la biológica mediada por garrapatas. Se reportan entre 14 a 20 especies de garrapatas implicadas en la transmisión del microorganismo (Aubry y Gealee, 2011). La transmisión mecánica además de incluir a moscas y tábanos, incluye la transmisión iatrogénica la cual se produce con frecuencia por medio de fómites contaminados con sangre como agujas, sierras descorné, mochetas, instrumentos de tatuaje, dispositivos oído-etiquetado y los instrumentos de castración (Kocan y col., 2003). La transmisión transplacentaria involucra el paso del hemotrópico de la vaca al becerro durante la gestación (Añez-Rojas y col., 2010).

Independientemente de la vía de transmisión, ocurrida la infección al bovino *A. marginale* invade y se replica por fisión binaria en los eritrocitos maduros

originando cambios estructurales y bioquímicos en la membrana del eritrocito, ocasionando un proceso autoinmune mediado por anticuerpos contra los eritrocitos parasitados. Al iniciar la colonización de los glóbulos rojos y dependiendo de la cepa de *A. marginale* así como de la susceptibilidad del hospedador, la parasitemia asciende rápidamente, pudiendo incluso encontrarse valores superiores al 60% de eritrocitos infectados lo que se traduce en anemia hemolítica severa y una tasa de fatalidad alta. Este proceso ocurre en un tiempo aproximado de 20 a 30 días, luego, la respuesta inmunológica logra controlar al agente y la parasitemia desciende. Curiosamente, *A. marginale* nunca desaparece del bovino porque su sistema inmunológico jamás logra eliminar por completo al hemotrópico, permaneciendo con ciertos niveles fluctuantes entre 10^2 - 10^7 microorganismos por mililitro de sangre. Se estima que entre un 10% a 30% de los animales infectados mueren y los otros se recuperan, constituyéndose en portadores persistentes (Brayton, 2012, Reyna-Bello, 2014, Medina-Naranjo y col., 2017).

Respecto a la clínica de la anaplasmosis esta se divide en tres fases. La fase aguda se identifica por la anemia, aumento de la temperatura, depresión, anorexia, debilidad muscular e ictericia. La siguiente fase es la hiper aguda, evidenciada por una pérdida considerable de peso, fallas en el sistema cardiovascular y respiratorio, pérdida del lívido, abortos e incluso la muerte. Finalmente la fase crónica, donde en caso de sobrevivir, los hospedadores recuperan su condición física y con el transcurso de las semanas los valores hematológicos regresan a su normalidad, sin olvidar que siguen siendo portadores (Richey y Palmer, 1990).

A. marginale logra evadir la respuesta inmune fácilmente. Esto se debe a un mecanismo genético denominado recombinación génica, el cual se traduce en la variabilidad antigénica que permite al microorganismo escapar al sistema inmune del hospedador. Esta variabilidad antigénica inducida por los cambios aminoacídicos de la proteína de superficie MSP2 explica como en Venezuela existen seroprevalencias que varían desde 10% hasta 90% en animales clínicamente sanos. Sin embargo, cuando estos animales entran en estrés

alimentario o por algunas enfermedades, el sistema inmune recae y se vuelve a presentar la sintomatología (Reyna-Bello, 2014).

Los mecanismos de control para la anaplasmosis bovina varían en función del área de distribución. Se han señalado de manera general los siguientes mecanismos de control: i) mantenimiento de rebaños libres de *A. marginale* a través del control de importación y movimiento, pruebas y eliminación de ganado portador; ii) control de vectores; iii) prevención de la transmisión iatrogénica; iv) administración de antibióticos (clorotetraciclina y oxitetraciclina); y v) preimmunización con vacunas vivas e inmunización con vacunas muertas. A pesar de sus beneficios, cada medida presenta inconvenientes que limitan su uso y en consecuencia aumentan las probabilidades de diseminación entre los rebaños. Así por ejemplo, la vacunación preventiva utilizando organismos vivos o muertos se ha practicado por más de 75 años, pero su eficacia se ve limitada por la gran variabilidad antigénica del microorganismo (Barbet y col., 1999, Aubry y Geale, 2011).

Definición Operacional de Términos

Bovino: Mamífero rumiante de gran tamaño, con un cuerpo robusto, con altura promedio entre 120 cm a 150 cm y con aproximadamente 600 a 800 kg como peso promedio. Utilizado para la producción de leche y carne y el aprovechamiento de sus derivados como cuernos, excremento y piel (<http://conceptodefinicion.de/ganado-vacuno-o-bovino/>).

Ganado bovino: El ganado vacuno o bovino es aquel tipo de ganado que está representado por un conjunto de vacas, toros y bueyes que son domesticados por el hombre para su aprovechamiento y producción, pudiendo generar grandes ganancias en la crianza de estos animales debido a los diversos elementos que se pueden de ellos obtener como su leche, carne o piel. Generalmente sus derivados son utilizados para la realización de otros productos de uso humano (<http://conceptodefinicion.de/ganado-vacuno-o-bovino/>).

Hemoparásito: Agente etiológico causante de enfermedades principalmente en la sangre (aunque puede comprometer otros tejidos), de gran trascendencia para la salud animal y salud pública a nivel mundial. Entre estos agentes se cita un gran número de especies de nematodos y protozoarios. Su presencia en los animales domésticos produce cuadros hemáticos que afectan la salud animal (Rodríguez-Vivas y col., 2000).

Hemotrópico bovino: Microorganismo que presenta tropismo (afinidad) por la sangre de este animal. En Venezuela son importantes por las implicaciones en materia de salud animal y económicas que ocasionan para este hospedador, las especies *A. marginale*, *Trypanosoma vivax*, *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*, razón por la cual en su conjunto son conocidos como agentes hemotrópicos (Medina-Naranjo y col., 2017).

Enfermedades hemotrópicas en bovinos: Bajo este nombre se agrupa a la anaplasmosis, tripanosomiasis y babesiosis, las cuales son definidas como un conjunto de enfermedades tropicales originadas por los agentes hemotrópicos de los bovinos. Presentan características en común, como el hecho de que sus agentes son transmitidos de un animal enfermo a uno sano principalmente a través de vectores. Clínicamente las tres enfermedades son similares, originando fiebre, anemia, decaimiento, postración, incremento de la frecuencia respiratoria y cardíaca, lo que trae como consecuencia la disminución de la producción, tanto de leche como de carne. La distribución de estas enfermedades ocurre en las zonas tropicales y subtropicales del mundo, siendo enzoótico en el continente americano, con prevalencias de elevadas a leves dependiendo de la región geográfica (Medina-Naranjo y col., 2017).

Alteraciones hematológicas: Trastornos que se pueden observar en las células sanguíneas, las cuales forman parte del cuadro hematológico y evalúa la

forma o función de las células de la circulación periférica como son los glóbulos rojos, plaquetas y glóbulos blancos (Ciesla, 2014).

Frotis de sangre periférica: Es un examen de sangre que da información acerca del número y forma de las células sanguíneas. Los frotis son preparados poniendo una gota de sangre sobre un portaobjetos de vidrio limpio y esparciendo la gota usando otro portaobjetos mantenido en un ángulo de 45°, el cual luego de colorear se observa al microscopio. Un frotis coloreado muestra en el fondo glóbulos rojos de un color rojo naranja. Los glóbulos blancos aparecen con un núcleo azul púrpura y gránulos púrpuras por todo el citoplasma. Un frotis bien preparado y correctamente distribuido permite ver áreas de recuento de alta calidad las cuales son necesarias para evaluar número y tipos de glóbulos blancos presentes así como morfología y número de plaquetas y eritrocitos (Ciesla, 2014).

Glóbulo rojo: También llamados eritrocitos o hematíes; es definido como un disco bicóncavo entre 5 μm y 7,5 μm de diámetro y 1 μm de grosor. Son las células más numerosas de la sangre. Uno de sus principales componentes es la hemoglobina cuya función es transportar el oxígeno hacia los diferentes tejidos del cuerpo. Los eritrocitos de mamíferos carecen de núcleo y de mitocondrias, por lo que deben obtener su energía metabólica a través de la fermentación láctica. El glóbulo rojo maduro es un instrumento magníficamente diseñado para el transporte de la hemoglobina. Presenta una vida media útil de 120 días, existiendo factores ambientales y celulares que contribuyen a la supervivencia (Ciesla, 2014).

Plaquetas: Las plaquetas o trombocitos, son células discoideas pequeñas (0,5 μm a 3 μm), sintetizadas en la médula ósea y estimulada por la hormona trombopoyetina. Se desarrollan a través de una célula pluripotencial. Las plaquetas están relacionadas con la hemostasia y la trombosis. Cada milímetro cúbico de sangre soluble contiene 250 millones de plaquetas lo que resulta en un aproximado de 1 trillón de plaquetas en la sangre de una persona promedio. Cada

plaqueta realiza 14.000 viajes en el torrente sanguíneo durante su vida útil de 7 a 10 días (Ciesla, 2014).

Operacionalización de las Variables

Arias (2006), conceptualiza una variable como el conjunto de características cambiantes que se relacionan según su dependencia o función en una investigación. Ésta se modifica a través de un proceso en términos precisos, notorios y conmensurables, lo que a su vez permite descomponerla e identificar las dimensiones relacionadas con el estudio y establecer los subindicadores correspondientes a cada dimensión, dicho proceso se denomina operacionalización de variables.

De acuerdo al anterior concepto, la investigación organiza su sistema de variables de la siguiente manera:

www.bdigital.ula.ve

Tabla 1. Operacionalización de las Variables

| Eventos de Estudio | Definición Conceptual | Definición Operacional | Dimensiones | Indicador |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>A. marginale</i> | Bacteria intraeritrocitaria que afecta a los bovinos | Diagnostico directo: frotis de sangre periférica | Presente Ausente | Cuerpo azurófilo redondeado denso, marginado en la membrana del eritrocito con halo visible y tamaño entre 0,3 - 1,0 μm |
| Sintomatología | Conjunto de síntomas que caracterizan una enfermedad | Manifestaciones objetivas que corresponden a la forma en que el organismo responde a un determinado estímulo | Presente Ausente | Palidez en mucosas (anemia), fiebre, Ictericia, debilidad, disminución en la producción, abortos |
| Sexo | Variable genética y biológica que define a los bovinos como macho y hembra | Características biológicas, físicas, fisiológicas y anatómicas | Macho Hembra | Fenotipos del sexo |
| Edad | Grado de madurez del bovino | Meses y años de después del nacimiento | Becerro (a) Maute (a) Novillo (a) Vaca Toro | Edad cronológica medida por cronometría dentaria |
| Raza | Grupos en que se subdividen algunas especies de bovinos caracterizadas por un mismo rasgo físico transmitido por herencia genética | Características fenotípicas o de comportamiento | Jersey Holstein Simmental | Fenotipo |

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Los tipos de investigación son afines a la relación existente entre el objeto y el sujeto de estudio, así como con el logro del proceso indagatorio (Hurtado, 2010). Al respecto, en esta investigación se consideró la correspondencia entre la presencia de *A. marginale* y factores de correlación tales como: i) sintomatología compatible con anaplasmosis, ii) sexo, edad y raza de los bovinos y iii) alteraciones hematológicas en el frotis de sangre periférica. En consecuencia, esta investigación fue de tipo analítica.

Diseño de Investigación

Las estrategias utilizadas para recolectar los datos forman parte del diseño de investigación. En tal sentido, estas estrategias están relacionadas con el dónde, cuando y la amplitud de la información recolectada (Hurtado, 2010). En cuanto al dónde, el diseño fue de campo y de laboratorio, ya que se recolectó la muestra de sangre de los bovinos de la E. E. Santa Rosa perteneciente a la Universidad de Los Andes, y fue analizada en el laboratorio de Investigaciones Parasitológicas “Jesús Moreno Rangel”, Cátedra de Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Respecto al cuándo, el diseño fue contemporáneo y transversal, ya que la muestra fue tomada durante el periodo de tiempo de la investigación, y una sola vez en cada bovino. En cuanto a la amplitud de la información recolectada, el diseño fue multieventual, pues se consideraron más de dos eventos: la presencia y estimación de *A. marginale* a factores clínicos (sintomatología compatible con anaplasmosis), epizootiológicos (sexo, edad y

raza) y las alteraciones hematológicas en el frotis de sangre periférica (eritrocitos, leucocitos y plaquetas).

Población y Muestra

Unidad de Investigación

La población de estudio quedó representada por bovinos de la E. E. Santa Rosa, asentamiento ganadero perteneciente al Programa de Ganadería de Altura de la Universidad de Los Andes (Progal-ULA), ubicado en el Sector Santa Rosa, municipio Libertador, parroquia Milla, estado Mérida. La estación cuenta con una población total de 129 animales. Previo consentimiento del Dr. Carlos Luis Pérez, médico veterinario coordinador de la estación, se incluyeron en el estudio los bovinos seleccionados. Los criterios de inclusión fueron:

- Bovinos pertenecientes a las razas: Jersey pura, Jersey mestiza, Simmental puro y Holstein puro.
- Selección de bovinos pertenecientes a las diferentes edades en correspondencia con las siguientes categorías: becerros (as), mautas, novillas, vacas escoterías y vacas lactantes.

Selección del Tamaño de la Muestra

El tamaño de la muestra fue seleccionado de manera no probabilística según la modalidad de muestreo occidental (Palella y Martins, 2010). En este caso, exceptuando los criterios de inclusión anteriormente señalados, no se prefirió ninguna otra selección. En tal sentido, se seleccionaron 50 bovinos que representó el 38,8% de la población animal total de la estación. La distribución fue la siguiente: 5 becerros, 10 mautas, 15 novillas, 9 vacas escoterías y 11 vacas lactantes.

Sistema de Variables

Incluyeron como variables de esta investigación: presencia de *A. marginale* en el frotis de sangre periférica de bovinos, sintomatología compatible con anaplasmosis, factores epizootiológicos de los bovinos (sexo, edad, raza) y alteraciones hematológicas en el frotis de sangre periférica de bovinos. Sin embargo, estas variables no fueron sistematizadas con las categorías dependientes, independiente e intervinientes, ya que esta investigación no fue confirmatoria sino analítica.

Instrumento de Recolección de Datos

Se elaboró un instrumento de recolección de datos para el registro de las observaciones relacionadas con los factores epizootiológicos. Los criterios considerados fueron: sexo, edad y raza de los bovinos, los cuales fueron sistematizados a través de enunciados de respuesta alterna presente-ausente (Anexo).

Procedimientos de la Investigación

Para recolectar los datos se realizaron varios procedimientos: i) estudio clínico de los bovinos, ii) estudio epizootiológico de los bovinos, iii) obtención de la muestra de sangre y preparación del frotis de sangre periférica, iv) análisis microscópico de la presencia de *A. marginale* en correspondencia con características morfológicas en el frotis de sangre periférica, v) análisis microscópico de las alteraciones hematológicas en correspondencia con el frotis de sangre periférica, vi) análisis de la estimación de la parasitemia para *A. marginale* en los bovinos.

Estudio Clínico de los Bovinos

Para establecer si un bovino presenta anaplasmosis, el médico veterinario debe contar con datos clínicos y de laboratorio. En tal sentido, clínicamente es indispensable que evalúe mucosas y temperatura en búsqueda de anemia y fiebre; y de laboratorio, obtener resultados sobre la estimación de la parasitemia y de hematocrito, este último debe arrojar valores por debajo de 20% (Reyna-Bello, 2014).

Estudio Epizootiológico de los Bovinos

Se recolectaron los datos relacionados con el sexo, edad y raza de los bovinos, los cuales fueron sistematizados en una matriz de análisis. Posteriormente, se realizó el análisis descriptivo de estas variables a través de frecuencias absolutas y relativas.

Obtención de la Muestra de Sangre y Preparación del Frotis de Sangre Periférica

- a) Se seleccionaron los bovinos en colaboración con los trabajadores de la E. E. Santa Rosa, se encorralaron y se procedió a pasarlos por la manga de forma en que los animales no se movieran y sufrieran el menor trauma posible.
- b) Para la toma de muestra se procedió a levantar la cola del animal y se realizó la limpieza previa de la región de la vena coccígea, lavando con agua y frotado con alcohol para disminuir el riesgo de contaminación de la muestra con material fecal.
- c) Se ejerció presión en el área de la vena coccígea, insertando una aguja de 5 cm, calibre 18 mm.
- d) Obtenidos 3 mL de sangre, se retiró la aguja de la jeringa, y se procedió a dispensar la muestra en un tubo con EDTA, trasvasando

la sangre por las paredes de dicho tubo con el fin de evitar la hemólisis.

- e) Las muestras se trasladaron a un área en la E. E. Santa Rosa para realizar el extendido, la fijación y la coloración. Cada tubo en el cual la muestra fue dispensada se mezcló por inversión; posteriormente, se realizó el extendido sanguíneo sobre el portaobjeto limpio y desengrasado, y se dejó secar a temperatura ambiente. Seguidamente se fijó con metanol (100%) y se dejó secar a temperatura ambiente. Luego se aplicó a la muestra fijada el colorante de Giemsa (dilución 1:10) durante 30 minutos, descartando el exceso de colorante. Una vez preparado el frotis, se trasladó al laboratorio de Investigaciones Parasitológicas “Jesús Moreno Rangel” con el fin de realizar los análisis microscópicos respectivos.

Análisis Microscópico de la Presencia de *A. marginale* en correspondencia con características morfológicas en el Frotis de Sangre Periférica

El frotis coloreado se observó con objetivo de inmersión (100X) con el fin de detectar y detallar las características del hemotrópico. Se utilizó como criterio de positividad para *A. marginale*, la observación de un cuerpo redondeado denso marginado hacia la membrana del eritrocito, de color azurófilo con un halo visible y un tamaño entre 0,3 μm y 1,0 μm . Este hallazgo fue interpretado como positivo para la presencia de *A. marginale* (Ávila y col., 2013).

En zonas de ganadería de altura *A. marginale* puede presentarse en asociación a *Babesia* spp., de tal modo que la observación con objetivo de inmersión también pudo detectar a este hemoparásito, estableciendo como criterio de positividad la observación de parásitos redondeados, piriformes, ovales, irregulares o bigeminados individuales o en pareja formando un ángulo obtuso dentro del eritrocito con dimensiones entre 1 μm x 2,5 μm (Ávila y col., 2013).

Análisis Microscópico de las Alteraciones Hematológicas en Correspondencia con el Frotis de Sangre Periférica

El frotis coloreado se observó con objetivo de inmersión (100X) con el fin de detectar cualitativamente (niveles: leve, moderado o acentuado), las alteraciones de la serie eritrocítica en correspondencia con el tamaño, la forma, el color y la cantidad. En tal sentido, para la serie roja se analizó la presencia de anisocitosis (alteraciones del tamaño con glóbulos rojos microcíticos o macrocíticos), poiquilocitosis (alteraciones en la forma del eritrocito) e hipocromía (alteración en el color del eritrocito). Para la serie blanca se analizó la morfología y para las plaquetas la cantidad (adecuada o disminuida).

Análisis de la Estimación de la Parasitemia para *A. marginale* en los Bovinos

Para el cálculo de la parasitemia se utilizó el dato obtenido durante la observación de 200 campos en el frotis de sangre periférica con el criterio de análisis representado por la presencia del microorganismo. Específicamente, se consideró el número mayor de *A. marginale* por campos observados en cada muestra. Para el cálculo de la estimación de la parasitemia (EP %) se utilizó la siguiente fórmula:

$$EP (\%) = \frac{\text{Número de } A. \textit{marginale} \text{ por campo}}{200} \times 10$$

Interpretación del diagnóstico de A. marginale y Estimación de la Parasitemia

En animales vivos *A. marginale* puede ser detectado con frecuencia, de manera que es necesario distinguir entre animales con infección activa y por lo tanto en peligro, y aquellos que son portadores. Se considera que animales enfermos con 1,0% de eritrocitos infectados o más, deben ser tratados adecuadamente.

Diseño de Análisis

Los datos recolectados fueron analizados a través de un enfoque cuantitativo. Tal como lo propusieron Palella y Martins (2010), cuando el dato se expresa numéricamente se debe analizar a través de modelos matemáticos con el fin de interpretar objetivamente los resultados. En tal sentido, se realizó un análisis multivalente, dicotómico y multicategorico. Este análisis se cumplió a través de un modelo descriptivo, expresando las frecuencias absolutas y relativas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

1.- Distribución de la población bovina y positividad a *A. marginale*

La tabla 2 presenta la distribución de la población bovina estudiada según parámetros epizootiológicos, determinando por sexo la mayor frecuencia para hembras (96,0%), por edad la mayor frecuencia para novillas (30,0%) y por raza la mayor frecuencia para Jersey mestizo (72,0%). En cuanto a la sintomatología compatible con anaplasmosis, 2 bovinos presentaron a la evaluación clínica veterinaria debilidad, palidez en las mucosas y pelo quebradizo. Estos animales sintomáticos correspondían a una mauta (Jersey pura) y una vaca escotera (Jersey mestiza).

Respecto a la detección de *A. marginale*, 49 de las muestras sanguíneas resultaron positivas, lo cual representó 98,0% de positividad al hemotrópico. La única negatividad se presentó en una vaca escotera. En los casos positivos, la estimación de la parasitemia se ubicó entre un mínimo de 0,05% y un máximo de 0,45% que se corresponde por campo microscópico (1000X), a un estimado entre 0-1 y 7-9 *A. marginale* observados.

2.- Descripción de frotis sanguíneo en la población bovina

De las células sanguíneas se presentaron con alteraciones los eritrocitos y las plaquetas. Las alteraciones eritrocíticas halladas se muestran en la tabla 3, y correspondieron a anisocitosis (con glóbulos rojos macrocíticos o glóbulos rojos microcíticos); poiquilocitosis (con presencia de equinocitos, eliptocitos, esferocitos

y acantocitos) e hipocromía. Anisocitosis, poiquilocitosis e hipocromía estuvieron sujetas a los grados leve y moderado. En las plaquetas la alteración observada resultó en cantidad, y esta fue disminuida. Además de estos reportes, se encontró el fenómeno de agregación y la inclusión tipo corpúsculo de Howell-Jolly. La inclusión Howell-Jolly se evidenció en hembras (13/14), machos (1/14) y en todos los grupos etarios, resultando más numerosas en las novillas (42,9%, 6/14) seguidas de las mautas (21,4%, 3/14). Junto a estos hallazgos, 7 muestras presentaron al hemoparásito *Babesia* spp., con estimaciones de parasitemia de 0,05%, 0,10% y 0,50% que se corresponde por campo microscópico (1000X), a un estimado entre 0-1 y 8-10 babesias observadas.

Tabla 2. Distribución de la población bovina según factores epizootiológicos

| Parámetro | | F | % |
|-----------|------------------|----|-----|
| Sexo | Hembra | 48 | 96 |
| | Macho | 2 | 4 |
| | Totales | 50 | 100 |
| Edad | Becerras | 2 | 4 |
| | Becerras | 3 | 6 |
| | Mautas | 10 | 20 |
| | Novillas | 15 | 30 |
| | Vacas escoterías | 9 | 18 |
| | Vacas lactantes | 11 | 22 |
| | Totales | 50 | 100 |
| Raza | Jersey puro | 11 | 22 |
| | Jersey mestizo | 36 | 72 |
| | Simmental puro | 2 | 4 |
| | Holstein puro | 1 | 2 |
| | Totales | 50 | 100 |

F = frecuencia, % = porcentaje

Tabla 3. Alteraciones eritrocíticas en la población bovina

| Alteración | F | % |
|-------------------------|----------|----------|
| Anisocitosis | 24 | 48 |
| Poiquilocitosis | 30 | 60 |
| Hipocromía | 15 | 30 |
| Corpúsculo Howell-Jolly | 14 | 28 |
| Agregación | 1 | 2 |

F = frecuencia, % = porcentaje

3.- A. marginale y alteraciones eritrocíticas según la edad

Becerras

En este grupo, la estimación de la parasitemia resultó con valores de 0,10%, 0,15% y 0,20% (tabla 4). Los 2 machos presentaron una parasitemia de 0,15%. Las alteraciones en la serie roja fueron más numerosas en becerros con parasitemias de 0,15%, aunque uno de los animales de este subgrupo resultó sin anisocitosis.

Tabla 4. A. marginale y alteraciones eritrocíticas en becerros

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|---------------|----------|--------------------------------|-------------------------------|
| 0,10 | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| 0,15 | 3 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,20 | 1 | Anisocitosis con macrocitos | Leve |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

Mautas

Grupo resultante con la mayor estimación de parasitemia (0,45%), además de los valores de 0,10%, 0,15% y 0,25% (tabla 5). Las alteraciones de la serie roja fueron más numerosas en los subgrupos con mayores parasitemias (0,25% y 0,45%), señalando que un animal del subgrupo 0,10% y un animal del subgrupo 0,15% no presentaron alteraciones.

Tabla 5. *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas en mautas

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|--------|---|-----------------------------|------------------------|
| 0,10 | 6 | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,15 | 2 | Poiquilocitosis | Leve |
| 0,25 | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |
| 0,45 | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

Novillas

En estos animales se obtuvieron parasitemias de 0,05%, 0,15%, 0,20% y 0,25%. Las alteraciones de la serie roja fueron más numerosas en el subgrupo con parasitemias de 0,15% (tabla 6), mientras que las alteraciones fueron menos numerosas en los subgrupo con parasitemias de 0,05% y 0,25%.

Tabla 6. *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas en novillas

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|--------|---|-----------------------------|------------------------|
| 0,05 | 3 | Poiquilocitosis | Leve |
| 0,15 | 6 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Moderada |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,20 | 5 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,25 | 1 | Poiquilocitosis | Moderada |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

Vacas escoteras

Único grupo resultante con un animal sin presencia de *A. marginale* así como con los menores porcentajes de estimación de la parasitemia (0,05% y 0,10%). Sin embargo, en cuanto a las alteraciones de la serie roja, todos los subgrupos resultaron con alteraciones eritrocíticas (tabla 7).

Vacas lactantes

Al igual que el grupo anterior, este grupo también resultó con los menores porcentajes de estimación de la parasitemia (0,05% y 0,10%). En cuanto a las alteraciones de la serie roja, fueron más numerosas en el subgrupo con parasitemias de 0,05% (tabla 8).

Tabla 7. *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas en vacas escoteras

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|--------|---|-----------------------------|------------------------|
| - | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,05 | 6 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Moderada |
| 0,10 | 2 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

Tabla 8. *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas en vacas lactantes

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|--------|---|-----------------------------|------------------------|
| 0,05 | 7 | Poiquilocitosis | Moderada |
| | | Hipocromía | Moderada |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Moderada |
| 0,10 | 4 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

4.- *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas según la raza

Jersey puro

En los once (11) animales de esta raza se obtuvieron cálculos de parasitemia de 0,05%, 0,10%, 0,15%, 0,25% y 0,45% (tabla 9). En cuanto a las alteraciones de

la serie roja, fueron menos numerosas en el subgrupo de 0,15%. En la totalidad de este grupo, 3 animales presentaron la inclusión tipo Howell-Jolly.

Jersey mestizo

De treinta y seis (36) animales incluidos en este grupo, treinta y cinco (35) fueron positivos para *A. marginale*, con numerosas alteraciones eritrocíticas en todos los subgrupos de parasitemia (0,05%, 0,10%, 0,15%, 0,25% y 0,45%) inclusive el subgrupo negativo para *A. marginale* (tabla 10). Se observó la presencia de corpúsculos Howell-Jolly en 10 de bovinos de esta raza.

Simmental puro

Dos (02) bovinos se incluyeron dentro de esta raza con estimaciones de la parasitemia resultantes de 0,15% y 0,25% (tabla 11). En cuanto a las alteraciones hematológicas de la serie roja fueron más numerosas en el subgrupo con parasitemia 0,15%. En un solo animal fue observada la presencia de corpúsculos Howell-Jolly.

Tabla 9. *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas en Jersey puro

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|--------|---|-----------------------------|------------------------|
| 0,05 | 3 | Hipocromía | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Moderada |
| 0,10 | 5 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,15 | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| 0,25 | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |
| 0,45 | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

Tabla 10. *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas en Jersey mestizo

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|--------|----|-----------------------------|------------------------|
| - | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,05 | 13 | Poiquilocitosis | Moderada |
| | | Hipocromía | Moderada |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Moderada |
| 0,10 | 8 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,15 | 8 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Moderada |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,20 | 6 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

www.bdigital.ula.ve

Tabla 11. *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas en Simmental puro

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|--------|---|-------------------------|------------------------|
| 0,15 | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |
| 0,25 | 1 | Poiquilocitosis | Moderada |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

Holstein puro

Un (01) solo bovino se ubicó dentro de esta raza, con una parasitemia de 0,15 y alteraciones de la serie roja tipo poiquilocitosis con ausencia de corpúsculos Howell-Jolly (tabla 12).

Tabla 12. *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas en Holstein puro

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|--------|---|-------------------------|------------------------|
| 0,15 | 1 | Poiquilocitosis | Leve |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

5.- *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas según el sexo

Machos

Los dos (2) animales machos estudiados resultaron positivos para *A. marginale*, con igualdad en la estimación de parasitemia (0,15%) así como de las alteraciones eritrocíticas (tabla 13).

Tabla 13. *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas en machos

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|--------|---|-----------------------------|------------------------|
| 0,15 | 2 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

Hembras

De cuarenta y ocho (48) hembras estudiadas, cuarenta y siete (47) resultaron positivas a *A. marginale*, con parasitemias de todos los subgrupos reportados desde 0,05% hasta 0,45% (tabla 14). Todas las hembras (incluyendo el caso negativo) presentaron alteraciones de la serie roja.

Tabla 14. *A. marginale* y alteraciones eritrocíticas en hembras

| EP (%) | F | Alteración eritrocítica | Nivel de la alteración |
|--------|----|-----------------------------|------------------------|
| - | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,05 | 16 | Poiquilocitosis | Moderada |
| | | Hipocromía | Moderada |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Moderada |
| 0,10 | 13 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,15 | 9 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Moderada |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0,20 | 6 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Anisocitosis con macrocitos | Leve |
| 0.25 | 2 | Poiquilocitosis | Moderada |
| | | Hipocromía | Leve |
| 0.45 | 1 | Poiquilocitosis | Leve |
| | | Hipocromía | Leve |

EP (%) = estimación de la parasitemia, F = frecuencia

6.- *A. marginale* y alteración plaquetaria

En 15 animales (30,0%) fue observada disminución de plaquetas (tabla 15). La distribución por parámetros epizootiológicos reflejó los mayores porcentajes en hembras (30,0%), novillas (12,0%) y Jersey mestizo (20,0%).

Tabla 15. Alteraciones plaquetaria en la población bovina

| | Parámetro | Nº | FAP | % |
|------|------------------|-----------|------------|----------|
| Sexo | Hembra | 48 | 15 | 30 |
| | Macho | 2 | - | - |
| | totales | 50 | 15 | 30 |
| Edad | Becerros | 2 | - | - |
| | Becerras | 3 | - | - |
| | Mautes | 10 | 4 | 8 |
| | Novillas | 15 | 6 | 12 |
| | Vacas escoterías | 9 | 2 | 4 |
| | Vacas lactantes | 11 | 3 | 6 |
| | totales | 50 | 15 | 30 |
| Raza | Jersey puro | 11 | 4 | 8 |
| | Jersey mestizo | 36 | 10 | 20 |
| | Simmental puro | 2 | - | - |
| | Holstein puro | 1 | 1 | 2 |
| | totales | 50 | 15 | 30 |

Nº = número de bovinos por grupo, FAP = frecuencia de la alteración plaquetaria

Discusión

La frecuencia de *A. marginale* detectada en bovinos de alta producción pertenecientes al programa de ganadería de altura del estado Mérida (E.E. Santa Rosa), permitió clasificar en estado de portador a los animales que de diferente sexo, edad y raza fueron evaluados. Esta aseveración es fundamentada si se toma en consideración el alto porcentaje de animales asintomáticos (95,9%) y su correlación a la parasitemia, cuyos valores de estimación no superaron en ningún caso el límite de referencia establecido para considerar presencia de enfermedad ($\geq 1,0\%$).

El estado de portador observado difiere con intervenciones previas realizadas en la estación. En este sentido, en junio del 2013, se evaluaron por microscopia directa y PCR la sangre de 15 bovinos para el descarte de *A. marginale*, detectando en 11 animales sintomáticos (73,3%) de diferente sexo, edad y raza, parasitemias entre 0,5% y 6,8% y ADN perteneciente al genoma del microorganismo en todos los casos, razones por las cuales el episodio fue clasificado como un brote de anaplasmosis con la inclusión de un caso fatal (datos no publicados). Dados los escenarios que se han presentado en diferentes evaluaciones a bovinos de la E.E. Santa Rosa, es invaluable preservar el seguimiento clínico y de laboratorio en materia de hemotrópicos en general y de *A. marginale* en particular, en virtud de la inversión económica destinada a mantener animales con los mayores estándares de productividad.

Según refleja Añez-Rojas y col (2010), la existencia de reses en estado de portador para *A. marginale* tiene una gran importancia epizootiológica, si se considera la posibilidad de que un animal que albergue infección subclínica pudiera, debido a compromisos inmunológicos, aflorar la condición clínica patente con síntomas y signos propios de la anaplasmosis, constituyéndose en fuente de infección para el resto de animales en el mismo rebaño, pudiendo los mismos servir como reservorios en la transmisión de la infección. Estos autores sugieren que para comprender el rol de los portadores en la prevalencia y transmisión de *A.*

marginale, es esencial que los niveles de infección sean detectados y cuantificados con precisión.

La microscopia directa ha sido empleada como técnica diagnóstica en importantes zonas ganaderas del país a fin de demostrar *A. marginale* en la población bovina, con lo cual se ha confirmado la circulación del hemotrópico en diferentes pisos altitudinales, sistemas de producción y grupos raciales, además de permitir conocer el estado de inestabilidad o estabilidad enzoótica para *A. marginale* en virtud de la frecuencia obtenida y su cotejo con otras pruebas de detección. En este sentido, Díaz y col (2003) evaluaron por frotis de capa blanca, 174 muestras sanguíneas de bovinos de producción lechera y doble propósito Holstein, Pardo Suizo y Cebú del municipio la Cañada de Urdaneta del estado Zulia y obtuvieron 56,9% de positividad, sin diferencias estadísticamente significativas entre el sexo y la edad; además, confirmaron mediante IFI la condición de estabilidad enzoótica. Por su parte, Bolívar y col (2015), evalúan 86 bovinos Holstein de la unidad de producción lechera de una finca ubicada en el municipio Campo Elías del estado Mérida, obteniendo una positividad del 9,3% para *A. marginale* además de una infección mixta con *Babesia* spp., sugiriendo continuar con las investigaciones en la zona a fin de corroborar una aparente situación de inestabilidad enzoótica, situación que también sería válida ejecutar en la E.E. Santa Rosa, dado que la prevalencia de este hemotrópico se ve influenciada por diversos factores asociados no solo a condiciones ecológicas y factores ambientales que afectan la vía de transmisión, sino también a las condiciones fisiológicas de los animales. En cuanto a razas, y según lo obtenido en comunicación verbal con el Med. Vet. Carlos Luis Pérez, todos los animales tienen el mismo alto porcentaje de contraer el microorganismo y de susceptibilidad a la anaplasmosis. En esta investigación se demostró la igualdad de susceptibilidad de infección, ya que todas las razas evaluadas (Jersey puro, Jersey mestizo, Simmental puro y Holstein puro) presentaron positividad a *A. marginale*.

Ávila y col (2013) señalan que la anaplasmosis se caracteriza por la alta destrucción de las células infectadas, mientras que Castellanos y col (2010)

refieren que en la medicina veterinaria los estudios hematológicos tienen como finalidad confirmar la presencia o ausencia de anormalidades sanguíneas, delimitar la extensión general o local de un proceso, establecer las causas de una alteración sanguínea, servir de guía en el pronóstico de casos clínicos y hacer el seguimiento durante el tratamiento de animales enfermos. Estas situaciones motivaron la inclusión en la investigación de la valoración hematológica a través de la descripción del frotis, y a pesar de encontrar alteraciones eritrocíticas y plaquetarias, el nivel de alteración en general y su cotejo con los hallazgos de *A. marginale* no se consideran patológicos o producto de este agente. Sin embargo, es importante referir los hallazgos de inclusión tipo corpúsculo de Howell-Jolly, dado que puede ocasionar confusión diagnóstica con *A. marginale* en un observador inexperto. Se recomienda en futuras investigaciones, incluir la medición de hematocrito y hemoglobina ya que su disminución ha sido señalada producto de este hemotrópico (Madrid y col., 2012, Conradie y col., 2014), teniendo en consideración que dichas alteraciones no son concluyentes de anaplasmosis por cuanto la disminución de hematocrito, hemoglobina o algún otro parámetro hematológico puede ser dependiente de otros procesos infecciosos así como de la nutrición y estados fisiológicos e inmunes de los animales (Florio y col., 2012). En la investigación, se pudo visualizar que las alteraciones eritrocitarias probablemente no están sujetas a la presencia del microorganismo ya que el único animal que resultó negativo para *A. marginale* (vaca escotera Jersey mestiza) presentó las tres alteraciones eritrocitarias evaluadas (anisocitosis, poiquilocitosis e hipocromía).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En concordancia con los resultados obtenidos se concluye para esta investigación lo siguiente:

1.- Se confirma la presencia de *A. marginale* en los bovinos de la Estación Experimental Santa Rosa perteneciente a la Universidad de Los Andes.

2.- No se encontró diferencia en la presencia de *A. marginale* con respecto al sexo, edad y raza ya que todos los animales resultaron susceptibles a la infección.

3.- La presencia de alteraciones eritrocitarias probablemente no están sujetas a la presencia de *A. marginale*.

4.- La sintomatología encontrada no es indicativa de la presencia de anaplasmosis.

5.- Se sospecha de una condición de inestabilidad enzootica para *A. marginale*.

Recomendaciones

1.- Se recomienda realizar en trabajos posteriores medición de hematocrito ya que constituye parámetro primordial para que en campo se confirme la presencia de la enfermedad.

2.- Correlacionar la presencia de *A. marginale* con otros hemotrópicos tales como *Babesia* spp. y *Trypanosoma vivax*, responsables en los bovinos de sintomatologías similares.

3.- Realizar muestreos secuenciales en otras épocas del año, para comparar los resultados obtenidos y determinar la época del año en que es mayor la parasitemia.

4.- Realizar trabajos posteriores en zonas altas de otras regiones del país por ejemplo la zona montañosa del estado Táchira, y de esta manera comparar los resultados de zonas que comparten características geográficas similares.

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

Añez-Rojas. N., Romero. O., Valbuena. H., Crisante. G., Rojas. A., Bolívar. A y Añez. N. (2010). Detección de transmisión transplacentaria de *Anaplasma marginale* en bovinos asintomáticos. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XX(4):377-382.

Arias. F. (2006). **El proyecto de Investigación** (5ªed). Caracas: Episteme.

Aubry. P., y Geale. D. (2011). A review of bovine Anaplasmosis. **Transboundary and emerging diseases.** 58:1-30.

Ávila. L., Acevedo. A., Jurado. A., Polanco. D., Velásquez. R y Zapata. R. (2013). Infección por hemoparásitos en caprinos y ovinos de apriscos de cinco municipios del norte y nororiente de Antioquia. **Rev CES Med Zootec.** 8. (1):14-24.

Barbet. A., Blentlinger. R., Yi. J., Lundgren. A., Blouin. F y Kocan. K. (1999). Comparison of surface proteins of *Anaplasma marginale* grown in tick cell culture, ticktalivary glands, and cattle. **Infection and immunity.** 67(1):102-107.

Bolívar. AM. (2013). Metodología diagnóstica para hemoparásitos dentro de la ganadería bovina con énfasis en la reacción en cadena de la polimerasa y su variante múltiple. **Rev. Salud Anim.** 35(1):1-9.

Bolívar. AM., Pérez. C y González. L. (2015). Prevalencia de hemotrópicos en la Estación Experimental El Joque. Mérida-Venezuela. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XXV(1):31-35.

Brayton. K. (2012). Transmisión de *Anaplasma marginale* por garrapatas. Revista. **Mexicana de Ciencias Pecuarias.** 3(1):41-50.

Brown. W. (2012). Adaptative immunity to *Anaplasma* pathogens and immunedysregulation: Implications for bacterial persistence. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 35(3):241-252.

Cardona. J., Ensuncho C. y Vergara-Garay, O. (2012). Frecuencia de hematótricos en tres explotaciones de búfalos (*Bubalus bubalis*) del departamento de Córdoba, Colombia. *Revista Científica, FCV-LUZ*. XXII. (6):530-536.

Castellanos R., Canelón. J., Calzolaio. V., Aguinaco. F., López. A y Montesinos. R. (2008). Estudio hematológico y detección de hemoparásitos en caballos criollos venezolanos de dos hatos del estado Apure, Venezuela. *Revista Científica LUZ*. XX.(2):153-160.

Castro. S., Rodríguez. S., Ramírez. P., Preciado. F., Ramírez. E., Mosqueda J., García. M y Vega. C. (2010). Cultivo *in vitro* de *Anaplasma marginale* en líneas celulares endoteliales. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 1(4).

Ciesla. B. (2014). *Hematología en la Práctica* .Venezuela. AMOLCA.

Corona. B y Martinez. S. (2009). Differences and Similarities between *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophylum*. *Revista Salud Animal*. 31(1):1-7.

Conradie. I., Goddard. A., Bronsvort. M., Coetzer. J., Handel. I., Hanotte. O., Jennings. A., Lesosky. M., Kiara. H., Thumbi. S., Toye. P., Woolhouse. M y Penzhorn. B. (2014). The impact of co-infections on the haematological profile of East African Short-horn zebu calves. *Parasitology*. 41(3):374-88.

Cossio. B., Rodríguez. D., García. O., Garica. T y Aboytes-Torres. R. (1997). Bovine anaplasmosis prevalence in northern Veracruz state, México. **Pre. Vet. Med.** 32:165-170.

Díaz. D., Valera. Z., Andrade. E., Parra. O., Escalona. F., Ramírez. R. (2003). Prevalencia de *Anaplasma marginale* en bovinos del sector la Piñata, Municipio la Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela. **Revista Científica FCV-LUZ.** XIII(3):193-198.

Dumler. J., Barbet. A., Bekker. C., Dasch. G., Palmer. G., Ray. S., Rikihisa. Y y Rurangirwa. F. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia*, and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of five new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 51:2145-2165.

Eleizalde. M y Reyna-Bello. A. (2014). Mecanismos de variación antigénica en *Anaplasma marginale*. **Rev. Fac. Cs. Vets.** 55 (2):112-12.

Florio. L., Tamasaukas. R y Rivera. S. (2012). Diagnostico participativo de hemotrópicos en bovinos a nivel de pequeños productores y productoras de ganadería doble propósito en el sur del estado Aragua en la República Bolivariana de Venezuela. **AICA.** 2012. 2.163-70.

González. B., Obregón. D., Alemán. Y., Alfonso. P., Vega. E., Díaz. A. y Martínez. S. (2014). Tendencias en el diagnóstico de la anaplasmosis bovina. **Revista Salud Animal.** 36 (2).

Hugh-Jones. M., Scotland. K., Appewhaiti. L., y Alexander. F. (1988). Seroprevalence of anaplasmosis and babesiosis in livestock on St. Lucia, 1993. **Trop. Anim. HealthProd.** 20:137-139.

Hurtado. J. (2010). Diseño de investigación. En: **El proyecto de investigación, comprensión holística de la metodología y la investigación**. pp. 147-151. Bogotá-Caracas. Ediciones Quirón.

Kinhm. U. (2002). Anaplasmosis bovina en Suiza. **Informaciones Sanitarias.** 15(37):177.

Kocan. K., De la Fuente. J., Guglielmone. A y Meléndez. R. (2003). Antigens and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. **Clinical microbiology reviews**, 16(4):698-712.

Madrid. C., Fuentes. H., Romero. W., Álvarez. A y Espinoza. E. (2012). Reactivación de un cepario de *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* y *Anaplasma marginale*, para estudios experimentales. **Zootecnia Trop.** 30(1):9-15.

Masika. P., Sonandi. A. y Van Averbek. W. (1997). Perceived causes, diagnosis and treatment of babesiosis and anaplasmosis in cattle by livestock farmers in communal areas of the Central Eastern Cape Province, South Africa. **J. S. Afr. Vet. Assoc.** 68:40-44.

Medina-Naranjo. V., Reyna-Bello. A., Tavares-Marques. L., Campos. A., Ron-Román. J., Moyano. J., Jarrín. E., Sandoval. E y Chávez. M. (2017). Diagnóstico de los hemotrópicos *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma* spp. y *Babesia* spp., mediante las técnicas de ELISAi y PCR en tres fincas ganaderas de la provincia de Pastaza, Ecuador. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XXVII.(3):162 -171.

Monroy. M. (2015). Determinación de la seroprevalencia de *Anaplasma marginale*, a través del ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) en la población bovina de la provincia de Galápagos-Ecuador. Tesis de Grado publicada, Universidad San Francisco de Quito.

Muñoz. T., Ayora-Fernández. P., Luzuriaga. A., Corona. B y Martínez. S. (2017). Prevalencia de *Anaplasma marginale* en bovinos de la provincia Zamora Chinchipe, Ecuador. **Rev. Salud Anim.** 39.1):68-74.

Organización mundial de sanidad animal. (2004). Anaplasmosis bovina. **Manual de la OIE sobre animales terrestre, capítulo 2.3.7.** Extraído en octubre del 2017 desde http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.3.07_Anaplasmosis_bovina.pdf

Parella. S y Martins. F (2010). **Metodología de la investigación cuantitativa.** Caracas - Venezuela. 2da edición, FEDUPEL.

¿Qué es el ganado vacuno o bovino? Su definición, concepto y significado. Consultado: 5.10.2017. En: (<http://conceptodefinicion.de/ganado-vacuno-o-bovino/>).

Rey. V., Toledo. R., Reyna. B. (2007). Seroprevalencia de anaplasmosis en bovinos doble propósito de la costa oriental del estado Falcón. **Venezuela. XVIII congreso latinoamericano de parasitología.** XVI(1):299.

Reyna-Bello. A. (2014). Anaplasmosis bovina. Logros y retos inmediatos. En: Logros y Desafíos de la Ganadería Doble Propósito. 2014. C González-Stagnaro, N Madrid-Bury, E Soto Belloso (eds). **Fundación GIRARZ. Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo, Venezuela. Cap.** XL388-395.

Richey. E y Palmer. G. (1990). Bovine Anaplasmosis. **The Compendium Food Animal**. 12. 1661-1669.

Rodríguez. R., Cob. L y Domínguez. J. (2000). Hemoparásitos en bovinos, caninos y equinos diagnosticados en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatan (1984-1999). **Rev Biomed**. 11:277-282.

Rodríguez. C., García. M., Torres. A., Cantón. R. (2003). Inmunología e inmunopprofilaxis de la anaplasmosis bovina **Ciencia Veterinaria** 9(4):123-164.

Santos. P., Sena. A., Nascimento. R., Araujo. T., Mendes. M., Martins. J., Mineo. T., Mineo. J y Goulart. J. (2013). Epitope-Based vaccines with the *Anaplasma marginale* MSP1a functional motif induce a balanced humoral and cellular immune response in mice. **PLoS ONE** 8(4):1-9.

Vidotto. M., Andrade. G., Palmer. G., McElwain. T. y Knowles. D. (1998). Seroprevalence of *Anaplasma marginale* on cattle in Parana State, Brazil, by major surface protein 5 competitive enzyme linked immunosorbent assay. **Ann. NY Acad. Sci.** 849:424-426

Yané. C. (2013). Determinación de la incidencia de Anaplasmosis y Babesiosis en el ganado bovino sometido a explotación en la parroquia Huigra, cantón Alausí, provincia de Chimborazo. Tesis de Grado publicada, Universidad Técnica de Ambato.

ANEXO

Instrumento de Recolección de Datos

A. *marginale* EN CORRESPONDENCIA A EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y HEMATOLÓGICA EN BOVINOS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA ROSA DE LA UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

| |
|---------------------------------------------------------------------------------|
| Ubicación : Sector Santa Rosa Municipio Libertador Mérida |
| Número del bovino : |
| Sexo: Macho <input type="radio"/> Hembra <input type="radio"/> |
| Raza : |
| Edad: |
| Becerro <input type="radio"/> |
| Mautes <input type="radio"/> |
| Novillo <input type="radio"/> |
| Toro <input type="radio"/> |
| Vacas : Lactantes <input type="radio"/> Escoterías <input type="radio"/> |
| Sintomatología: |
| Ictericia <input type="radio"/> |
| Fiebre <input type="radio"/> |
| Diarrea <input type="radio"/> |
| Debilidad <input type="radio"/> |
| Disminución en la producción <input type="radio"/> |
| Palidez en la mucosas <input type="radio"/> |
| Abortos <input type="radio"/> |
| Otros |
| Observaciones: |