



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



**PREVALENCIA DE INFECCIONES ASOCIADAS A BACTERIAS DEL
GÉNERO *Anaplasma* EN LOS BOVINOS MESTIZOS TIPO CARORA.**

(Proyecto de Investigación)

www.bdigital.ula.ve

Autora:

Yessire C. Cañas G.

Tutor: Prof^a Carmen Lozano

Mérida, Marzo de 2021



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



**PREVALENCIA DE INFECCIONES ASOCIADAS A BACTERIAS DEL
GÉNERO *Anaplasma* EN LOS BOVINOS MESTIZOS TIPO CARORA.**
(Proyecto de Investigación)

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de
Licenciados en Bioanálisis**

Autora:

Yessire C. Cañas G.

Tutor: Prof^a Carmen Lozano

Mérida, Marzo 2021

DEDICATORIA

Dios omnipotente la gloria sea para ti.

A mis hijos Valeria y Lucas, jamás dejen de luchar y esforzarse por las pruebas serán duras pero el logro será la recompensa.

Esposo lo logramos.

A mis padres y hermanas, la confianza otorgada hoy da frutos sé que se sienten orgullosos.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTO

A Dios por estar delante de mí en todo tiempo, por ser mi refugio durante todo este proceso y permitir obtener una meta más de tantas que anhela mi corazón.

A mi familia, el regalo no merecido (Rafael, Valeria y Lucas), son mis personas favoritas. Gracias Esposo por tu ánimo, la espera y el aporte económico. Los amo hasta el cielo como las estrellas.

A mis padres Homero y Yanet ejemplo de amor, lucha, esfuerzo, perseverancia y dedicación. Quienes me enseñaron que el mejor conocimiento que se puede tener es el que se aprende por sí mismo, solo le pido a Dios que les de salud para que sigan compartiendo junto a mi todos mis sueños. Gracias por sus esfuerzos y sacrificios los amo.

A mis hermanas Yano y Yenni, sus palabras me hacen sentir orgullosa de los que soy y lo que les puede enseñar, son mis amigas, modelos a seguir, ahora comprendo aquella frase la ULA es otra cosa, gracias hermanas por su apoyo y su ayuda incondicional. Las quiero.

A la familia que me regalo Dios, (Sr. Argenis, Sra. Elida, Roberth y familia, Rosy), gracias por recibirme con los brazos abiertos en todo momento.

A mis amigas Yanni cuidadora de Lucas y Dani cuidadora de Valeria, Dios las coloco en mi camino para poder apoyarme en momentos de dificultad no olvidare jamás las aventuras maravillosas que pasamos juntas.

A mis profesores por compartir con tanta dedicación y entrega sus conocimientos.

A la Lcda. Roselyn Chacón y Marianni Villafañe, por iniciarme en la práctica de esta hermosa labor, gracias por confiar.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág
VEREDICTO.....	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDO	vi
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I EL PROBLEMA.....	4
Planteamiento del Problema.....	4
Justificación de la Investigación	6
Objetivos de la Investigación	7
Objetivo General.....	7
Objetivos Específicos.....	7
Alcances de la Investigación.....	8
Limitaciones de la Investigación.....	8
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	9
Trabajos Previos.....	9
Antecedentes Históricos.....	11
Bases Teóricas.....	12
<i>Bos Taurus</i>	12
Raza Carora.....	12
<i>Hemoparásitos</i>	14
<i>Anaplasmosis Bovina</i>	15
Taxonomía de la especie.....	16
Ciclo Biológico.....	17
Preparación de frotis sanguíneo fino.....	19

Preparación de frotis sanguíneo de gota gruesa.....	20
Hemograma Bovino.....	20
Formula roja.....	20
Formula blanca.....	21
Valores sanguíneos normales de bovinos.....	22
Instrumentos Autorizados para el estudio Hematológico.....	22
Componentes básicos de un contador hematológico.....	23
Principios generales de detección utilizados por los contadores o analizadores hematológicos.....	24
Principio de Coulter.....	24
Principio de Crosland-Taylor.....	24
BC-2300 Analizador de hematología.....	25
Definición de Términos.....	26
Operacionalización de Eventos.....	31
Hipótesis.....	32
CAPÍTULO III MARCO METODOLÓGICO.....	33
Tipo de la Investigación.....	33
Diseño de la Investigación.....	33
Población y Muestra.....	34
Unidad de investigación.....	34
Selección del Tamaño de la Muestra.....	34
Instrumentos de Recolección de Datos.....	34
Recursos.....	35
Procedimientos de la investigación.....	36
Población a estudiar.....	36
Características del municipio francisco Javier pulgar, Estado Zulia.....	36
Recolección de muestras.....	37
Medición de los parámetros hematológicos.....	38
Método de frotis de capas blancas.....	38
Técnica microhematocrito.....	39

Análisis Estadístico	40
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES	42
Análisis de resultados	42
Discusiones	48
CAPITULO V CONCLUSIONES	52
RECOMENDACIONES	53
BIOHEMEROGRAFIA	55

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla

1	Atributos de las Razas	13
2	Criterios de interpretación diagnóstica para confirmar la etiología de casos agudos de enfermedad hemoparasitaria de bovinos adultos en regiones enzoóticas	15
3	Taxonomía de la especie	16
4	Valores normales del conteo hemático	22
5	Operacionalización del evento prevalencia de infecciones asociadas a bacterias del genero <i>Anaplasma</i> (Anaplasmataceae)	31
6	Movimiento del rebaño bovino	36
7	Sexo de los animales estudiados discriminados según su infección por <i>Anaplasma marginale</i>	42
8	Valores hematológicos y frotis diferenciales en los animales estudiados discriminados por sexo	43
9	Valores hematológicos y frotis diferenciales en los animales evaluados, discriminados según su infección por <i>Anaplasma marginale</i>	44
10	Alteraciones en los valores hematológicos de los animales estudiados discriminados según su infección por <i>Anaplasma marginale</i>	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pp.
1 Infección por Anaplasmosis (ciclo biológico).....	18
2 Ubicación geográfica de los bovinos a estudiar.....	37
3 Valores de hemoglobina en los animales estudiados, discriminados según su infección por <i>Anaplasma marginale</i>	45
4 Valores de hematocrito en los animales estudiados, discriminados según su infección por <i>Anaplasma marginale</i>	46
5 Valores de leucocitos en los animales estudiados, discriminados según su infección por <i>Anaplasma marginale</i>	47
6 Hacienda Rancho Chico.....	60
7 Vaquera de la Hacienda Rancho Chico.....	60
8 Bovinos a estudiar.....	61
9 Bovinos a estudiar.....	61
10 Raza Carora.....	62
11 Aguja.....	63
12 Toma de muestra.....	63
13 Preparación para la medición de los parámetros hematológicos.....	64
14 Analizador hematológico BC-2300.....	64
15 Frotis de capa blanca.....	65
16 Glóbulos rojos parasitados.....	65
17 Presencia de <i>Anaplasma marginale</i>	66
18 Segmentado basófilo.....	66
19 Segmentados neutrófilos.....	67
20 Glóbulos rojos.....	67

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN
HEMATOLOGÍA

**PREVALENCIA DE INFECCIONES ASOCIADAS A BACTERIAS DEL
GÉNERO *Anaplasma* EN LOS BOVINOS MESTIZOS TIPO CARORA.**

Autora:

Yessire C. Cañas G.

Tutor: Prof^a Carmen Lozano

RESUMEN

En Venezuela, la Anaplasmosis se presenta como una enfermedad hemolítica progresiva causada por bacterias gram-negativas e intracelulares. Ocasionando grandes pérdidas económicas para los productores agropecuarios razón por la cual se hizo necesario evaluar infecciones causadas por bacterias del género *Anaplasma* que afectan a los bovinos tipo Carora, dicho estudio se llevó a cabo por medio de muestras de sangre estando representada por 47 semovientes (bovinos), los cuales presentaban algunos síntomas clínicos como fiebre, debilidad y coloración pálida en mucosas, se estudiaron los parámetros hematológicos básicos, entre ellos el hematocrito (Hto), la cantidad de hemoglobina (Hb), y la fórmula leucocitaria diferencial, analizadas de manera semiautomatizada, arrojando diferencias significativas en cuanto a la hemoglobina, hematocrito y leucocitos de igual manera se empleó el método directo frotis fresco de capa blanca con tinción de Giemsa, obteniendo información valiosa sobre la morfología celular y la presencia de hemoparásitos (*Anaplasma marginale*) en los bovinos.

El desarrollo experimental y la recopilación bibliográfica, permitieron conocer la utilidad del método frotis de capa blanca por ser económico, rápido y eficaz para la determinación de la prevalencia de anaplasmosis.

Palabras clave: Hemograma, Frotis de capa blanca, Anaplasmosis, Analizador Hematológico.

INTRODUCCIÓN

En Venezuela el crecimiento poblacional determina una demanda de productos alimenticios, siendo la leche y carne unos de los principales renglones de la dieta básica y cuya producción per cápita de la población humana ha estado estancada estos últimos años, de aquí se refleja la importancia de aumentar tanto la producción de leche como de carne, lo que permite la formación de rebaños en la cual se han utilizados vacas criollas y cebú en cruces alternos con toros de razas europeas (holstein y pardo suizo), este sistemas de apareamiento de razas europeas "Bos Taurus", le aportan vigor híbrido a las nuevas generaciones.

El ganado Carora de Venezuela pertenece a las razas de la Especie Bos Taurus adaptadas al trópico, que se desarrolló en una zona ecológica clasificada como Bosque seco tropical. Históricamente los cruzamientos fueron iniciados en el primer cuarto del siglo XX pasado (1915 - 1930), por un pequeño grupo de ganaderos de la zona de Carora, edo. Lara. El basamento principal de la composición genética de este ganado demuestra que fue formado con dos grupos de bovinos de la Especie Bos Taurus, mediante el cruce empírico para aquel entonces del ganado nativo de origen ibérico con adaptación al medio y selección natural, conocido como el Ganado Criollo Amarillo de Quebrada Arriba, primo hermano de todas las razas de origen ibérico de las nativas españolas que poblaron nuestro continente y la segunda fue la raza Suiza Parda, con clara predominancia del biotipo Americano de la década 1940-1950, EE.UU., de mayor refinamiento y habilidad lechera.

En el transcurso de varias generaciones estos rebaños se fueron adaptando al rigor de su nuevo ecosistema y fueron adquiriendo características fenotípicas heredables propias, como el pelaje de tonalidades claras (blanco, blanco/bayo al castaño/bayo), muy corto, liso, brillante y medulado (hueco), con un folículo piloso muy desarrollado y piel gruesa,

suelta, bien pigmentada (Melanina), con muy buena irrigación sanguínea (vascularizada) y con facilidad para su lubricación o producción sebácea, características éstas, que lo hicieron más resistentes a los efectos de la radiación solar y a los parásitos del medio tropical. A mediados del siglo pasado se le conoció como el ganado Mestizo Pardo Suizo Tipo Carora y luego como, Tipo Carora.

Pese a las múltiples bondades que la raza Carora suele ofrecer a la industria lechera en Venezuela, dicha producción se ha visto limitada en regiones tropicales por la presencia de hematozoarios, cuyas características climáticas brindan nichos ecológicos, propicios para el desarrollo de artrópodos, que son vectores de especie del género *Anaplasma*.

La Anaplasmosis bovina es producida por *Anaplasma marginale* (Añez et al. 2010), género de la familia *Anaplasmataceae* del orden Rickettsiales; se transmite por vectores artrópodos, como moscas y garrapatas o por vía iatrogénica en bovinos, con infección persistente, actúan como reservorios para la transmisión por garrapatas. Esta enfermedad se caracteriza por anemia progresiva e ictericia, pérdida de peso, debilidad, inapetencia, fiebre, cesa de la rumia, no hay hemoglobinemia ni hemoglobinuria; el ganado infectado puede permanecer como portador.

En la actualidad los métodos de diagnóstico precoz disponibles en la clínica bovina suelen ser pocos, y debido al conocimiento, por parte de los productores, de la sintomatología de las diferentes enfermedades causadas por hemoparásitos en los animales, se aplican frecuentemente tratamientos que tienen como finalidad controlarlas a tiempo, evitándose de esta forma mayores pérdidas económicas; pero estos tratamientos traen como consecuencia que no se diagnostique de manera precisa el agente causal, perdiéndose información de interés epidemiológico. se hizo necesario evaluar infecciones causadas por bacterias del genero *Anaplasma* que afectan a los bovinos, dicho estudio se llevara a cabo por medio de muestras

de sangre analizadas por métodos directos como frotis fresco de capa blanca mediante la determinación de valores de hematocrito por la técnica de microhematocrito.

Este trabajo de investigación ha sido constituido en III capítulos. El capítulo I, denominado El Problema, contiene los siguientes elementos: Planteamiento del Problema, Justificación, Objetivos, Alcances y Limitaciones de la Investigación. El Capítulo II, llamado Marco Teórico abarca: Trabajos previos, Bases Teóricas y Operacionalización de Eventos e Hipótesis. El Capítulo III, titulado Marco Metodológico comprende los siguientes puntos: Tipo de Investigación, Diseño de Investigación, Población y Muestra, Instrumento de Recolección de Datos, Procedimientos de la Investigación y Diseño de Análisis.

El objetivo de este trabajo de investigación es Evaluar la Prevalencia de Infecciones Asociadas a Bacterias del Género *Anaplasma* en los Bovinos Mestizos tipo Carora en la Hacienda Rancho Chico en el Sector la Burra Mocha del Municipio Francisco Javier Pulgar, Estado Zulia.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Las hemoparasitosis son enfermedades endémicas, en climas muy cálidos y tierras bajas, afectando a equinos, caprinos, ovinos y bovinos. Los hemoparásitos de mayor importancia que afectan a los bovinos son: *Anaplasma sp*, *Babesia sp* y *Trypanosoma sp*, siendo los dos primeros las causas de la enfermedad llamada “fiebre de garrapatas” (Herrera, *et al.*, 2008).

Se conocen cuatro especies del género *Anaplasma*, como agentes causantes de la anaplasmosis: *Anaplasma marginale*, que es la más patógena para los bovinos; *Anaplasma centrale*, causante de una relativa forma benigna de anaplasmosis en bovinos; *Anaplasma caudatum* también en ganado bovino y *Anaplasma ovis*, causante de un padecimiento limitado a ovinos y caprinos (Ristic y Kreir, 1984).

En Venezuela, la Anaplasmosis se presenta como una enfermedad hemolítica progresiva causada por bacterias gram-negativas e intracelulares. La Anaplasmosis en los bovinos es causada por *Anaplasma marginale*. Es un microorganismo sin forma definida. Se establecieron tres categorías de acuerdo a su talla: El clásico cuerpo *marginale*, una forma intermedia cuerpo inicial y la de tamaño pequeño conocido como cuerpo polihédrico. Penetra por invaginación al eritrocito sin que ocurra destrucción de las células, se encierra en una vacuola y se multiplica por fisión binaria en forma de cuerpo

de inclusión, observándose de dos a tres cuerpos. La enfermedad se caracteriza por marcada anemia hemolítica, altos niveles de rickettsemia, disminución del peso, aborto y en muchos casos la muerte en animales de más de tres años de edad (Corona, *et al.*, 2004)

El *Anaplasma marginale* es transmitido principalmente por garrapatas y otros insectos hematófagos, como moscas tabánidas (*Tábanus* sp.), moscas de establo (*Stomoxys calcitrans*) entre otras, se ha señalado que unas 20 especies de garrapatas podrían estar involucradas en la transmisión de este organismo rickettsial. Sin embargo es conveniente indicar que *Boophilus microplus*, es garrapata de un solo hospedador por lo que el papel de la misma en la transmisión de la Anaplasmosis bovina, tiene fuertes evidencias. (Díaz *et al.* 2003).

Las garrapatas tienen dos estadios, uno parasítico y otro no parasítico. El estadio parasítico lo realizan sobre su hospedero que es el bovino. Este estadio se realiza en un periodo de 21 días durante el cual la garrapata pasa por los estadios de larva (tres pares de patas), ninfa y adulto (cuatro pares de patas). La hembra adulta se alimenta alrededor de una semana, llenándose con sangre en las últimas 24 horas. Las garrapatas entonces se desprenden del hospedero y caen al suelo y empiezan a ovopositar aproximadamente 3000 huevos y al final las garrapatas mueren. El estadio no parasítico puede variar dependiendo de la temperatura y humedad presente en el ambiente, duran aproximadamente de 2 a 6 ó 7 días, son afectados adversamente por las temperaturas extremas y los niveles de humedad. Los machos se alimentan ocasionalmente pero no se llenan de sangre (ingurgitamiento). Los machos se desplazan a través de todo el cuerpo de los animales por varios meses y se aparean con las hembras. (Corona, *et al.*, 2004).

Son varios los factores que influyen en la transmisión y desarrollo de este patógeno como; la temperatura y humedad, en regiones con condiciones

climáticas adecuadas de (28 C y 80% de humedad relativa) el número de garrapatas incrementa por lo tanto la rickettsia se multiplica aún más.

Los bovinos jóvenes son considerados más resistentes a los efectos de una primoinfección por *Anaplasma marginal*. Sin embargo todas las razas de bovinos son susceptibles; este es otro factor importante en la infección por hemoparásitos; los bovinos dedicados a la explotación de leche y sus cruces son más susceptibles que las razas tipo carne, debido a una mayor susceptibilidad de animales con genes lecheros a las garrapatas y a los hemoparásitos, (Herrera, et al., 2008, 1492).

El control de la Anaplasmosis, requiere de métodos de diagnóstico que permitan conocer la prevalencia del microorganismo e identificar de forma segura a los animales portadores para el movimiento de animales a zonas libres del hemoparásito, por medio de la aplicación de estos métodos se pueden detectar focos del microorganismo y de esta manera implementar medidas de control que contribuyan a la producción de animales sanos y de buen peso que conlleven a incrementar los niveles de leche y carne para mejorar la alimentación y salud pública en los seres humanos.

Una vez descrito la situación actual del problema en estudio, se da lugar al siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuál es la prevalencia de infecciones de bacterias asociadas al género *Anaplasma* en los Bovinos Mestizos Tipo Carora en la Hacienda Rancho Chico del Sector la Burra Mocha del Municipio Francisco Javier pulgar. Estado Zulia desde septiembre de 2017 a diciembre de 2019?

Justificación de la Investigación

La razón por la cual es importante realizar esta investigación a través de métodos directos como frotis fresco de capa blanca mediante la determinación de valores de hematocrito por la técnica del microhematocrito.

Es por que esta técnica de gran utilidad ya que suministra importante información como lo es la determinación del volumen globular eritrocitario, evaluación de plasma sanguíneo y evaluación de la capa blanca.

De igual manera la investigación se enfoca en profundizar los conocimientos teóricos sobre Anaplasmosis bovina por el agente causal *Anaplasma marginale*, recopilando información acerca de todos los aspectos clínicos y patológicos de la enfermedad debido a que su incidencia, prevalencia, morbilidad y mortalidad, son altas en el ganado bovino a nivel mundial generando problemas sanitarios y de manejo, debido a que hay muy poco control y prevención por parte de los ganaderos hacia sus explotaciones, con falta de información de las implicaciones negativas que traen estas enfermedades. Y así concientizar al ganadero en atender las recomendaciones indicadas por especialistas del sector agropecuario.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Evaluar la Prevalencia de Infecciones Asociadas a Bacterias del Género *Anaplasma* en los Bovinos Mestizos tipo Carora en la Hacienda Rancho Chico en el sector la burra mocha del municipio Francisco Javier Pulgar, Estado Zulia.

Objetivos específicos

- Aplicar la técnica de microscopía de frotis de capa blanca para el diagnóstico de *Anaplasma marginale*.
- Determinar las variaciones fisiológicas del hemograma, en relación al diagnóstico.
- Valorar la importancia del uso de ectoparasiticidas para controlar los parásitos que afectan a los rebaños bovinos.

- Recopilar información mediante estudios realizados de la prevalencia de la enfermedad para fomentar medias y estrategias para el manejo y prevención.
- Analizar los factores epidemiológicos relacionados con la enfermedad en estudio.

Alcances de la Investigación

El alcance de una investigación se relaciona con la profundidad del conocimiento sobre el fenómeno de estudio. Establece la visión que posee el investigador para lograr los objetivos. Del alcance depende la estrategia de investigación, así, el diseño, los procedimientos y otros componentes del proceso serán distintos en estudios con alcances exploratorio, descriptivo, correlacional, o explicativo (Baptista, Fernández y Hernández, 2003).

La profundidad que se quiere alcanzar es evaluar la Prevalencia de agentes hemotrópicos eritrocitarios asociados a *Anaplasma* que se presentan en los bovinos. El criterio de estudio será representado por métodos directos como frotis fresco de capa blanca por la técnica de microhematocrito.

Limitaciones de la Investigación

Para el desarrollo de esta investigación se presentan algunas limitaciones debido a la situación actual del país en cuanto a la escases de reactivos, materiales, herramientas fundamentales para el desarrollo de la parte experimental de la investigación trayendo como consecuencia la escasa información en cuanto a los resultados obtenidos.

Por otro lado la distancia geográfica y las malas vías de penetración agrícola.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Antecedentes Previos

Torres, en el año 2015, realizó una investigación titulada: Diagnóstico de Anaplasmosis Bovina por los Métodos de Giemsa y Elisa Indirecto y su relación con los valores sanguíneos, en la Provincia de Zamora Chinchipe. El objetivo de esta investigación fue Determinar el índice de prevalencia de una de las enfermedades más comunes en la región así como realizar un análisis epidemiológico de la misma, que oriente de manera más efectiva su control y ayude a reducir las pérdidas económicas. Este estudio corresponde a una investigación de tipo evaluativa cuyo diseño es mixto, transeccional contemporáneo. Los autores utilizaron como métodos la técnica de microscopía de frotis sanguíneo con tinción Giemsa y la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos del agente causal. Según los resultados obtenidos Porcentaje de prevalencia general de *Anaplasma marginale* en bovinos de la provincia de Zamora Chinchipe, con la coloración de giemsa aparece dentro de los eritrocitos como cuerpos densos y redondeados de 0.3–1.0 μm de diámetro, la mayor parte de ellos situados en la zona marginal del eritrocito o en su proximidad. Y por ELISA indirecto se detecta el antígeno, utilizando anticuerpos monoclonales para epitopes conservados de la proteína de superficie msp1. De los 61 animales muestreados 34 que representan el 56 %, fueron positivos a Giemsa; mientras que mediante el ensayo inmunoenzimático (ELISA), 60 animales que representan el 98 %, resultaron positivos. Existe relación entre este tema de investigación y la

línea de estudio, debido a que los autores determinaron la prevalencia y presencia de *Anaplasma marginale*, a través del método Tinción con Giemsa a los frotis de sangre.

Argüelles, Betancourt, Cortés y Pulido, en el año 2010, publicaron un artículo en la revista científica de américa latina denominado: Distribución de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos y fincas del Altiplano cundiboyacense (Colombia), cuyo objetivo primordial fue identificar la presencia y distribución de la garrapata *R. microplus*, en el Altiplano cundiboyacense (Colombia). Dicho estudio corresponde a una investigación de tipo descriptiva con un diseño mixto, transeccional contemporáneo. El método de muestreo aplicado en el estudio fue aleatorio simple. Registrar por primera vez en Colombia la presencia de esta especie de garrapata, en bovinos, a una altitud superior a los 2,600 msnm. Por lo que a esta altitud sugiere para la garrapata la migración hacia otras zonas y en consecuencia un riesgo potencial para los bovinos. La relación existente entre este tema de investigación y la línea en estudio, es el hecho de que *R. microplus*. Fue la única especie identificada en los predios con presencia de garrapatas, por lo que sugiere que es la especie más común en el ganado bovino.

De Andrade, Díaz, Escalona, Parra, Ramírez y Valera, en el año 2003, publicaron un artículo en la revista científica, FCV-LUZ titulada: Prevalencia de *Anaplasma marginale* en Bovinos del sector la Piñata, Municipio la Cañada de Urdaneta, Estado Zulia, Venezuela. El objetivo del presente estudio es determinar la prevalencia de *Anaplasma marginale* en bovinos del sector La Piñata, municipio La Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela. Esta investigación es de tipo evaluativa con un diseño mixto, transeccional contemporáneo. Los métodos utilizados fueron Frotis de capa blanca coloreados con Diff QuickStain, y la Técnica de IFI. Los resultados demostraron que de las 174 muestras sometidas a observación en frotis de capa blanca, 99 (56,9%) resultaron positivas y 75 (43,1%) negativas a la presencia de *Anaplasma marginale*, Mientras que a través de la prueba de

IFI, 166 (95,4%) fueron positivas y 8 (4,6%) negativas. Este trabajo de investigación guarda relación con este tema, puesto que determina la presencia del agente patógeno, empleando el método frotis de capa blanca y además aporta datos de interés en relación a la zona donde presenta *Anaplasma marginale* una condición de estabilidad enzoótica.

Antecedentes Históricos

Smith y Kilborne en el año de 1893, en el transcurso de sus investigaciones relacionadas con la “Fiebre de la garrapata” causada por un hemoparásito conocido como *Babesia*, realizaron la primera descripción de *Anaplasma marginale* como pequeños corpúsculos puntiformes o en forma de cocos, dentro de los glóbulos rojos de los animales infectados y los consideraron como representantes de un estadio del ciclo de *Babesiabigemina*. Sir Arnold Theiler en el año de 1910 usó el término “*Anaplasma*” para describir un pequeño microorganismo (corpúsculos) que se encontraba presente en los eritrocitos de bovinos africanos que sufrían de una anemia infecciosa aguda, fue el primero en considerar estos corpúsculos como representantes de un nuevo género de parásito y propuso el nombre de *Anaplasma marginale*, debido a la carencia de citoplasma y a su localización marginal dentro del glóbulo rojo, a la enfermedad la denominó como Anaplasmosis.

Durante este periodo al microorganismo recién descubierto se le consideraba como un nuevo género de protozooario e incluso Seiber en el año de 1911 notó características en el comportamiento clínico y patológico del agente que lo asemejaba más a un virus (Figuerola, 1994).

Gracias a la implementación de la microscopía electrónica, De Robertis y Epstein en el año de 1951 evidenciaron que no se trataba de un protozooario ya que al observar la morfología del *Anaplasma* concluyeron que el cuerpo marginal no era una estructura homogénea sino que el cuerpo de inclusión

estaba formado por varias subunidades. Posteriormente los estudios histoquímicos en el año de 1955, demostraron la presencia de dos ácidos nucleicos que contradecía la teoría vírica. En el año de 1961, Pilcher determinó que el *Anaplasma* pertenecía al género *Rickettsia* y concluyó además que los glóbulos rojos parasitados con *Anaplasma* consumen el doble del oxígeno que los glóbulos rojos normales condición que no ocurre en glóbulos rojos parasitados con virus (Figueroa, 1994).

Kreir y Ristic en el año de 1973, basándose en las características que poseía el *Anaplasma* como la ausencia de núcleo y organelos, le clasificaron dentro de la familia *Anaplasmataceae* del orden *Rickettsiales*. (Figueroa, 1994).

Bases Teóricas

Bos Taurus

Son razas originarias de Europa reconocidas en todo el mundo por sus altos rendimientos cárnicos y la precocidad de sus crías. Entre las razas representativas de la especie *Bos Taurus* están: Aberdeen Angus, Limousin, Hereford, Shorthorn, Charolaise, Romagnola, Chianina, Jersey, Pardo Suizo y entre otros. (Márquez, 2012).

Raza Carora

Originaria de Carora, Estado Lara, Venezuela, producto del cruce de los *Bostaurus*; Criollo Amarillo de Quebrada Arriba (capacidad de adaptación al trópico y con buena producción de leche) y Pardo Suizo. La selección natural privilegió los genes de: rusticidad, mansedumbre, fortaleza, vigor, buena reproducción, capacidad de soportar el clima y aprovechar los forrajes tropicales. (Márquez, 2012).

Tabla 1. Atributos de las Razas

Atributos	CARORA	BOS TAURUS
Apariencia	Gran desarrollo corporal y por ende eficiente aprovechamiento del pastoreo de forrajes para una economía en la producción láctea.	Voluminosos y con abundante carne y grasa. Esqueleto de huesos cortos y gruesos, signos de gran precocidad.
Temperamento	Rusticidad, mansedumbre, fortaleza, vigor.	Tranquilo o apático.
Conformación Corporal		
Cabeza	La cabeza es poco refinada, mediana, recta, de frente amplia, bien descarnada, con una suave depresión entre las órbitas, de mandíbula fuerte, con hueso limpio y ollares bien desarrollados.	Proporcionalmente pequeña, corta y ancha.
Orejas	medianas, más bien redondeadas en la punta de la elipse y orientadas hacia adelante	Cortas no pendulosas.
Cuello	medianamente largo proporcional	Corto a mediano.
Línea Dorsal	El ideal será una línea dorsal recta.	Es una sola línea horizontal.
Pecho	Deberá ser ancho y ligeramente arqueado	Ancho y profundo.
Grupa	Larga, ancha y unida suavemente al lomo; con cuadriles (puntas de la cadera).	Amplia y horizontal.
Cola	delgada y más bien corta	Inserción a nivel, corta y gruesa.

Extremidades		
Miembros	Huesos planos, fuertes y sin tosquedad.	Cortos y de huesos gruesos.
Piel		
Cuero	Piel negra, se acepta el color amarillo gruesa, algo grasosa, Las arrugas largas y finas en la cara, tabla del cuello.	Textura espesa, por lo general sin pigmentar (Razas negras Aberdeen, Angus, etc.) Piel y pelos claros.

(Márquez, 2012).

Hemoparásitos

Las enfermedades hemoparasitarias, son de gran impacto económico, en explotaciones bovinas de países tropicales y subtropicales trayendo grandes pérdidas por la disminución en producción láctea, menos ganancia de peso y gastos en tratamientos médicos además de las secuelas que esta provoca en la parte productiva y reproductiva (Benavidez, 2012).

La ganadería es uno de los sectores económicos más importantes, y uno de los principales problemas que la afecta es la infección por hemoparásitos dando como resultado problemas sanitarios y de manejo puesto que son éstas enfermedades endémicas, que se encuentran en climas cálidos y tierras bajas por debajo de 1.000 m.s.n.m, ocasionando pérdidas económicas por bajas en la producción, mortalidad de animales enfermos y altas inversiones en tratamientos. (Herrera, 2008).

Los hemoparásitos en los bovinos producen alteraciones en el cuadro hemático, afectando la salud animal. Estos hemoparásitos pueden ser transmitidos por vectores mecánicos y biológicos. (Rodríguez, 2000).

Tabla 2. Criterios de interpretación diagnóstica para confirmar la etiología de casos agudos de enfermedad hemoparasitaria de bovinos adultos en regiones enzoóticas.

Fuente de la muestra	Hemoparásito	Criterio diagnóstico	Observaciones
Animales vivos	<i>Anaplasma marginale</i>	Parasitemia > 1% Hematocrito < 20%	Bien puede tratarse de frotis capilar o venoso, recolectado de animales con cuadro febril
	<i>Babesia bigemina</i>	Parasitemia > 0,5% Hematocrito < 20%	
	<i>Babesia bovis</i>	Presencia del organismo en cualquier frotis sanguíneo	
Animales muertos	<i>Anaplasma marginale</i>	Parasitemia > 1%	Muestra obtenida de sangre capilar en el examen post-mortem Correlacionar hallazgos de laboratorio con signos clínicos
	<i>Babesia bigemina</i>	Parasitemia > 1%	
	<i>Babesia bovis</i>	Presencia del organismo en cualquier frotis sanguíneo	

(Lawrence y De Vos, 1992; Richey y Palmer, 1990).

Anaplasmosis Bovina

Es transmitida principalmente por garrapatas, aunque su mecanismo de transmisión no es muy claro aún. Es ocasionada por un *Anaplasmosis marginale* que corresponde a una *rickettsia*, es un parásito intracelular obligatorio. El principal emisor de la enfermedad es la garrapata *B. microplus*, se transmite en forma mecánica, mediante la transferencia de sangre de un animal portador a otro susceptible. También ocurre transmisión mecánica cuando se hace uso de instrumentos infectados en vacunaciones o cirugías (Urquart, 2001).

El periodo de incubación oscila entre los 14 a 15 días. Son generalmente moderados en ganado menor de un año. En ellos se presentan depresión temporal, pérdida de apetito, pérdida de brillo del pelo, disminución del peso, constipación y en ocasiones fuertes descargas mucopurulentas por ojos y nariz. Por otro lado en animales que se encuentran entre los 2 – 3 años desarrollan una infección típica que puede ser mortal, y en animales de más de tres años de edad la enfermedad suele ser sobreaguda y comúnmente mortal. Los signos más frecuentes son pirexia, anemia, ocasionalmente

ictericia, anorexia, dificultad para respirar, bajas en la producción láctea y abortos.

Taxonomía de la especie

Tabla 3: Taxonomía de la especie

<u>Taxonomía</u>	
<u>Reino:</u>	Procarionte
<u>Grupo</u>	Eubacteriales
<u>Orden:</u>	Rickettsiales
<u>Familia:</u>	Anaplasmataceae
<u>Género:</u>	<i>Anaplasma</i>
<u>Especie:</u>	<i>Anaplasma marginale</i>

La anaplasmosis es un patógeno intraeritrocitario obligado, se reproducen por medio de divisiones binarias. Cuando se encuentran dentro del torrente sanguíneo, por procesos de endocitosis ingresan al glóbulo rojo, en el cual ocurre una invaginación de la membrana del eritrocito y la posterior formación de una vacuola alrededor del *Anaplasma*, este tipo de microorganismo es capaz de realizar todo este proceso sin ocasionar daño en la célula hospedadora. Esta se multiplica y al cabo de tres a cinco semanas es posible evidenciarla por medio del frotis sanguíneo. Los *Anaplasmas* abandonan los eritrocitos sin destruirlos por medio del proceso de exocitosis e infectan otros glóbulos rojos hasta que el animal desarrolla suficientes anticuerpos circulantes (Olguin, 2013).

En respuesta a la infección, el sistema inmunológico del huésped identifica como extraños a los eritrocitos que han sido afectados y comienza un proceso para ser removidos, al ser un gran número los eritrocitos afectados y los removidos, se produce entonces una hemolisis extravascular, trayendo como consecuencia una reducción en el transporte de oxígeno a todo el organismo y una liberación de pigmentos de bilirrubina, provocando una ictericia y debilidad. (Gasque, 2008).

Teniendo en cuenta que los eritrocitos son destruidos por procesos de fagocitosis y destruidos extravascularmente por procesos inmunológicos en esta patología no se presenta hemoglobinemia ni hemoglobinuria a pesar de la cantidad de glóbulos rojos perdidos. (Medellín, 2003).

Ciclo biológico

El ciclo comienza cuando las garrapatas hembras, fertilizadas y llenas de sangre se caen del animal y se localizan en partes protegidos colocando alrededor de 4,400 huevos en el suelo, con un período de pre-ovoposición entre 2 - 39 días un período de ovoposición 4 - 44 días, las larvas salen en un tiempo comprendido entre los 14 a 16 días y parasitan al hospedador de los 17 a 52 días siguientes. En las garrapatas se conoce que el *Anaplasma* se multiplica en el intestino y en las glándulas salivales. La garrapata se contamina en cualquier estado y la transferencia por estos puede ser transestadial, en la cual las larvas o ninfas contaminadas transmiten la infección al siguiente estadio ninfa o adulto. Es posible también que exista una infección vía transovárica. (Marquéz, 2003).

En la forma adulta este tipo de infección ocurre tiempo después en el epitelio intestinal de la garrapata para transmitirla a la próxima generación. Posterior a la inoculación los corpúsculos iniciales se adhieren a la superficie de los eritrocitos y ocurre la entrada por invaginación de la membrana citoplasmática con formación de vacuolas. Los corpúsculos iniciales se dividen por fisión binaria que más adelante invadirán otros eritrocitos hasta

que sea controlado por el sistema inmune o que por el contrario el animal muera. (Marquéz, 2003).

Es fundamental tener en cuenta a la hora de diagnosticar la presencia o no de hemoparásitos, las manifestaciones clínicas, presencia de vectores y el monitoreo constante de los animales. Entre los métodos diagnósticos de hemoparásitos se tienen: métodos de diagnóstico directos con animales vivos que son los estudios en sangre, y con animales muertos que corresponde al estudio por medio de la necropsia en el cual se realiza impronta del bazo, riñón, miocardio e hígado, frotis por aposición de cerebro que se tiñe con verde metil-pironina, en la cual encontramos principalmente hepatomegalia, vesícula distendida, esplenomegalia, equimosis cardiaca y hemoglobinuria en el caso de la infección por Babesiosis. Estas muestras deben ser enviadas refrigeradas. (Taylor, 2007).

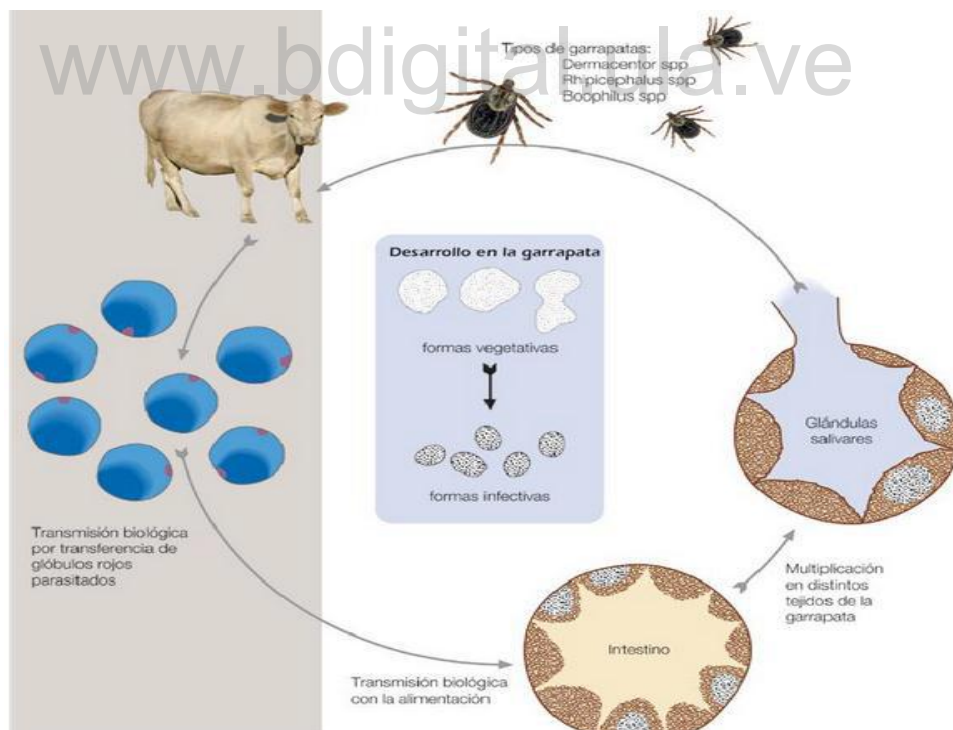


Figura 1: Infección por Anaplasmosis (ciclo biológico).

Ibarra y Col. (2015).

Es fundamental tener en cuenta a la hora de diagnosticar la presencia o no de hemoparásitos, las manifestaciones clínicas, presencia de vectores y el monitoreo constante de los animales. Entre los métodos diagnósticos de hemoparásitos se tienen: métodos de diagnóstico directos con animales vivos que son los estudios en sangre, y con animales muertos que corresponde al estudio por medio de la necropsia en el cual se realiza impronta del bazo, riñón, miocardio e hígado, frotis por aposición de cerebro que se tiñe con verde metil-pironina, en la cual encontramos principalmente hepatomegalia, vesícula distendida, esplenomegalia, equimosis cardíaca y hemoglobinuria en el caso de la infección por Babesiosis. Estas muestras deben ser enviadas refrigeradas. (Taylor, 2007)

Entre los métodos indirectos de diagnóstico se tienen técnicas serológicas en pruebas directas para detectar el agente causal, dentro de estas técnicas tenemos el frotis de sangre teñido con Diffquick, Giemsa y Acridina Naranja, observándose un cuerpo denso en el glóbulo rojo. Este método es usado en animales que se encuentren en fase aguda, cuando la carga parasitaria es elevada, cuando es baja es decir que son portadores requiere de otro tipo de métodos diagnósticos como son: fijación del complemento, reacción en cadena de la Polimerasa (PCR); con esta prueba se puede saber si en la muestra de un hospedador, ya sea el bovino o la garrapata vive algún parásito o fracción de él. (Bowman, 2011).

Preparación de frotis sanguíneo fino

Se utiliza para el diagnóstico de *Babesia*, *Anaplasma* Y *Tripanosoma*. Se coloca una gota de sangre en una lámina portaobjetos, se hace un extendido en la lámina para luego colorearlos con el Diffquick y realizar su posterior evaluación, con el fin de determinar o no la presencia de hemoparásitos en los casos de sospecha de infección de los animales presentes en un área determinada. La forma de preparar los frotis sanguíneos puede lograrse utilizando dos láminas portaobjetos o un portaobjeto y laminilla.

Esta prueba tiene una alta sensibilidad y especificidad para la babesiosis y anaplasmosis y altamente específica pero poco sensible para la tripanosomiasis (Paternina, 2011).

Preparación de frotis sanguíneo de gota gruesa

Al igual que el frotis fino con este se puede diagnosticar Babesiosis y tripanosomiasis, pero no es apropiada para la Anaplasmosis debido que es difícil de identificar una vez que se separa de los eritrocitos. La técnica se describe a continuación. (Paternina, 2011).

Hemograma Bovino

El hemograma es un examen relativamente simple y en algunas situaciones nos ayuda en la evaluación diagnóstica. Este examen entrega datos sobre hematocrito (Hto), concentración de la hemoglobina (Hb), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), volumen corpuscular medio (VCM), recuento de eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Además, nos entrega información sobre la dispersión del tamaño de los eritrocitos. (Torres, L., 2014).

Fórmula roja

Los valores Hto y Hb se relacionan al número y cantidad de Hb de los eritrocitos. Cuando estos valores están disminuidos en más de 2 DE respecto al promedio, según la edad se habla de anemia. Si el Hto y la Hb están aumentados se habla de la policitemia, que puede ser primaria (policitemia vera) o secundaria (enfermedad cardíaca, cianótica, tumores cerebrales, renales, etc.). (Torres, L., 2014).

La determinación de la fórmula roja se compone de los siguientes parámetros:

A. Hematocrito (Ht): Es el porcentaje de la sangre que está compuesta por eritrocitos.

B. Hemoglobina (Hb): Es determinada la cantidad de esta proteína expresada en g/dl.

C. Conteo eritrocítico (Eri): Es la cantidad total de eritrocitos circulantes por micro litro de sangre.

Fórmula blanca

Los glóbulos blancos o leucocitos son células de defensa que circulan por el torrente sanguíneo. (Barba, 2005).

Segmentados neutrófilos: Se encargan de atacar a las sustancias extrañas (básicamente bacterias, agentes externos.), que entran en el organismo. En situaciones de infección o inflamación su número aumenta en la sangre.

Linfocitos: Aumentan sobre todo en infecciones por virus o parásitos. También en algunos tumores o leucemias.

Monocitos: presentes en infecciones originadas por virus o parásitos. También en algunos tumores o leucemias.

Segmentados eosinófilos: Infecciones originadas por virus o parásitos. También en algunos tumores o leucemias.

Plaquetas: Son las células de la sangre encargadas de la hemostasia, es decir, de cerrar los vasos sanguíneos cuando se produce una herida formando parte del coágulo.

Valores sanguíneos normales de bovinos

Tabla 4. Valores normales del conteo hemático

Componente	Unidad (S.I.)	Bovino
Hematocrito	%	24 - 46
Hemoglobina	g/dl	8 - 15
Eritrocitos	millones/mm ³	5.000.000-10.000.000
Recuento plaquetas	miles/mm ³	100.000 – 750.000
Leucocitos	miles/mm ³	4.000 -12.000
Linfocitos	%	45 - 75
Segmentado neutrófilo	%	15 - 45
Segmentado eosinófilo	%	2 - 20
Segmentado basófilos	%	0 - 2

Fuente: (Torres, 2015).

Instrumentos Automatizados para el estudio Hematológico

Gran parte de la práctica de la Hematología se relaciona con observaciones que incluyen la identificación de tipos de células y la interpretación de la composición de las poblaciones celulares sanguíneas. En relación con el recuento de células sanguíneas, los métodos manuales son la base de algunos métodos de referencia en el laboratorio hematológico, a los que aún es necesario recurrir cuando hay discrepancia con los métodos automatizados. El desarrollo automatizado del recuento y la medición del tamaño de las células sanguíneas parte de técnicas de recuento simple, que fueron descriptas en la segunda mitad del siglo XIX y que fueron usadas, durante mucho tiempo. Estas eran muy inexactas y, hasta la década de 1950, se habían hecho pocos avances tecnológicos. (Fink, 2005).

La evolución ha sido grande y vertiginosa hacia los últimos años, desde el método manual hasta los equipos modulares más sofisticados, con tecnologías combinadas, ingeniería y software innovadores que permiten una mayor eficiencia y seguridad en el informe de los resultados. No fue hasta 1956 que se diseñó el primer contador automático de células utilizando los modelos creados en años anteriores. Esto representó el nacimiento del primer contador Coulter modelo A. (Alegre 2015).

La influencia del desarrollo tecnológico sobre los contadores celulares ha posibilitado el surgimiento de una gran diversidad de modelos. No obstante, todos estos equipos exhiben un diseño mecánico y electrónico similar. (Hernández, 2013)

Componentes básicos de un contador hematológico

Circuito hidráulico

Diluidor: sistema que diluye la concentración de las células sanguíneas y las suspende en soluciones conductoras isotónicas para adecuarla a las capacidades de medida del dispositivo.

- Aspirador: sistema que toma la muestra diluida y la conduce hacia el dispositivo de medida.
- Sistema de fluidos: transporta las suspensiones celulares hacia el dispositivo de medida o la cámara de recuento.
- Cámara de recuento o dispositivo de medida: constituye la parte central o zona sensible del equipo, donde ocurren los fenómenos ópticos, eléctricos o ambos, medidos posteriormente. Algunos equipos poseen solo una cámara de recuento por lo que les lleva el doble de tiempo la lectura.

Circuito Electrónico

- Transductor o detector: son los dispositivos que generan linealmente pulsos eléctricos cuando las células pasan la zona sensible, óptica o eléctrica, del equipo.

- Discriminador: discrimina los pulsos eléctricos generados por los transductores en correspondencia con el tipo celular medido.
- Amplificador: amplifica la señal eléctrica que sale del discriminador para su posterior procesamiento.
- Convertidor analógico-digital: convierte las señales eléctricas en digitales.
- PC: procesa las señales digitales y las convierte en datos que serán mostrados en pantalla y que pueden ser impresos. (Alegre, 2015).

Principios generales de detección utilizados por los contadores o analizadores hematológicos

Principio de Coulter

En el instrumento descrito por Coulter, las células son conducidas a través de un estrecho orificio, detectándose los cambios de impedancia. Ésta es efectivamente medida en la zona sensora situada entre los electrodos colocados a ambos lados del orificio. Así, las células funcionan como aislantes frente a los diluyentes salinos, de modo que la impedancia aumenta transitoriamente a medida que las células pasan a través de la zona sensora. Los cambios de impedancia transitorios producen impulsos eléctricos que pueden ser contados. Estos instrumentos han sido llamados contadores de apertura-impedancia (Maydana, 2017).

Principio de Crosland-Taylor

Se basa en hacer que las células pasen a través de un delgado haz de luz. La zona sensora está restringida parcialmente por la estrechez del haz de luz y por el pasaje de células en una corriente de líquido muy delgada. A medida que las células pasan a través de la zona sensora, interceptan el haz de luz que se dispersa, pudiendo ser colectada por un sistema óptico adecuado y medida por un fotómetro. Los aumentos transitorios en la luz dispersada crean impulsos desde el fotómetro, que luego pueden ser

contados electrónicamente. Por ello estos sistemas son llamados contadores de dispersión de luz (Maydana, 2017).

Con la utilización de equipos automatizados, el recuento de eritrocitos, HCT y VCM puede obtenerse en la misma cámara de medida. El pasaje de una célula en los equipos basados en apertura-impedancia, o en dispersión de luz, genera un pulso eléctrico de una intensidad proporcional al volumen celular. El número de pulsos generados permite el recuento de eritrocitos. La intensidad del impulso da una idea del tamaño celular (VCM). Entonces, el valor del HCT puede obtenerse multiplicando el valor del recuento de eritrocitos por el valor del VCM. De igual manera, integrando la suma de todos los pulsos generados, se obtendría el HCT. Y luego, multiplicando el valor del HCT por el recuento de eritrocitos, se obtendría el VCM (Maydana, 2017).

BC-2300 Analizador de hematología automático

El analizador de hematología BC-2300 es un analizador cuantitativo de hematología y leucocitos para uso diagnóstico in vitro en laboratorios clínicos. El analizador se utiliza para la determinación cuantitativa de los 19 parámetros y de 3 histogramas de muestras sanguíneas.

Este analizador puede procesar dos tipos de muestras de sangre: muestras de sangre completa y muestras de sangre prediluidas. Utiliza un volumen de 20µL de aspirado por muestra.

Los dos métodos de medición independientes utilizados en este analizador son: El método de impedancia para determinar los datos de glóbulos blancos, Los glóbulos rojos y las plaquetas, los cuales se cuentan y miden por el método de la impedancia basándose en la medición de los cambios de resistencia eléctrica producidos por una partícula, que en este caso una célula sanguínea suspendida en un diluyente conductor, al pasar a través de una abertura de dimensiones conocidas, se sumerge un electrodo en el líquido a ambos lados de la abertura para crear una vía eléctrica. A medida

que cada partícula pasa a través de la abertura, se produce un cambio transitorio en la resistencia entre los electrodos. Este cambio produce un pulso eléctrico medible.

El método colorimétrico que determina la hemoglobina, en donde la dilución de glóbulos blancos y hemoglobina se entrega al baño donde se mezcla con una cierta cantidad de lisina, que convierte la hemoglobina en un complejo de hemoglobina que se puede medir a 525 nm. Un LED está montado en un lado del baño y emite un haz de luz monocromática, cuya longitud de onda central es de 525 nm, y luego es medido por un fotosensor que está montado en el lado opuesto. La señal es entonces amplificada y la tensión se mide y se compara con la lectura de referencia en blanco (lecturas tomadas cuando sólo hay diluyente en el baño). La hemoglobina se expresa en g/L.

Durante cada ciclo de análisis, la muestra se aspira, se diluye y se mezcla antes de la determinación de cada parámetro. Puede manejar hasta 10.000 muestras con el sistema de gestión de datos, utiliza solo 4 reactivos que consisten en: diluyente: diluir las muestras de sangre, lisador: romper rápidamente las paredes de los glóbulos rojos, liberar la hemoglobina de la célula y reducir el tamaño de los residuos celulares a un nivel que no interfiera con los glóbulos blancos, limpiador de sondas : es una solución de limpieza alcalina formulada para limpiar las aberturas y el baño y limpiador E-Z(enzimático) es una solución limpiadora isotónica a base de enzimas y un agente humectante formulado para limpiar las líneas fluidicas y el baño.

Definición de Términos

Anaplasmosis: Es una enfermedad general de los rumiantes de regiones tropicales y subtropicales, que está producida por la rickettsia *Anaplasma marginale*., tiene importancia económica sobre todo en la explotación extensiva de los bóvidos. (Murray *et al*, 2009).

Anemia Hemolítica: Es un grupo de patologías que engloba una serie de signos y síntomas que tienen como manifestación común la hemólisis del glóbulo rojo, la cual consiste en la destrucción y/o remoción de los glóbulos rojos de la circulación antes de que se cumpla su vida media, es decir 120 días.(Clinton, 2008).

Anorexia: Es un trastorno caracterizado por un comportamiento que tiene como objetivo perder peso o a mantenerlo en los valores mínimos normales (Piera, 2008).

Anticuerpo: Es una proteína que reacciona contra un antígeno en un organismo de tipo animal. Los anticuerpos, que pueden hallarse en la sangre o en otros fluidos del cuerpo, son utilizados por el sistema inmunitario para reconocer y bloquear virus, bacterias, parásitos u hongos. (Pérez, 2011).

Artrópodos: Son los animales invertebrados que forman el filo más diverso del reino animal. Estos animales tienen el cuerpo cubierto por un exoesqueleto conocido como cutícula y formado una serie lineal de segmentos ostensibles, con apéndices de piezas articuladas. Los arácnidos, los insectos y los crustáceos son artrópodos. (Pérez, 2009)

Automatización: Método de controlar automáticamente la operación de un aparato, artefacto, proceso o sistema integrado por diversos componentes a través de medios mecatrónicos, electrónicos y computacionales que sustituyen los órganos sensitivos y la capacidad de decisión del ser humano. (Córdoba, 2006).

Bacterias gram negativas: A diferencia de las bacterias gram positivas éstas no poseen acidoteicoicos ni lipoteicoicos y su contenido de peptidoglicano está representado en un 5 a 10% del peso de la pared celular.

Se destacan por poseer una membrana externa la cual mantiene la estructura bacteriana, y constituye una barrera impermeable a moléculas de gran tamaño, está formada fundamentalmente por lipopolisacarido (LPS) y es conocido como endotoxina, que actúa como un potente estimulador de las respuestas inmunitarias. (Murray et al, 2009).

Bacterias gram positivas: Poseen una pared celular gruesa que consta de varias capas formada principalmente por péptidoglicano que rodea la membrana citoplasmática. Éste es lo suficientemente poroso como para permitir la difusión de los metabolitos a la membrana plasmática. También presentan otros componentes, como los ácidos teicoicos y lipoteicoicos, y polisacáridos complejos (polisacáridos c). (Murray et al, 2009).

Diff Quick: La tinción más utilizada en medicina veterinaria, se llama Diff-Quick, es una tinción muy rápida. En un minuto puedes tener teñida la preparación, es de gran utilidad en la clínica diaria. (Carracedo, 2012).

Ecosistema: Cualquier unidad que incluya todos los organismos en un área dada interactuando con el ambiente físico, de forma que el flujo de energía lleva a definir estructuras tróficas, diversidad biótica y ciclos de materiales. (Odum, 1971).

Elisa (Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay): Entre los ensayos in vitro no funcionales para la detección de anticuerpos, el ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay) resulta la técnica de elección; su sensibilidad y detectabilidad son semejantes al radioinmunoanálisis, se caracteriza por su precisión y exactitud, y con ella puede procesarse lo mismo un número pequeño que grande de muestras, sin los riesgos que implica el empleo de material radioactivo. (Ochoa, 2012).

Especie: Es un conjunto de animales que se asemejan entre sí, con número constante de cromosomas y cuya descendencia es ilimitadamente fecunda.

Fenotipo: El fenotipo se refiere principalmente a elementos físicos y morfológicos tales como el color de cabello, el tipo de piel, el color de ojos, etc. (Bembibre, 2010).

Giemsa: Es un tipo de coloración de muestras clínicas, su creación estuvo inspirada por el trabajo realizado por Romanowsky, donde Gustavo Giemsa, químico y bacteriólogo originario de Alemania, la perfeccionó agregando glicerol para estabilizar los compuestos. Los colorantes tipo Romanowsky tienen como fundamento utilizar un contraste entre colorantes ácidos y básicos, para lograr teñir las estructuras básicas y ácidas respectivamente. El colorante básico utilizado es el azul de metileno y sus derivados oxidados (Azure A y Azure B), mientras que el colorante ácido es la eosina. Debido a que el azul de metileno y el azure se caracterizan por ser colorantes metacromáticos, brindar una tonalidad variable a las distintas estructuras, Es así como la combinación estratégica de colorantes básicos y ácidos logran desarrollar un amplio espectro de colores, de acuerdo con las características bioquímicas de cada estructura, paseándose por tonalidades azules pálidas, azules oscuras, lila y púrpura en el caso de las estructuras ácidas. Mientras que la coloración que brinda la eosina es más estable, generando colores entre rojizo- naranja y salmón. (Gil, 2019).

Hemoparasitos: Son parásitos protozoos o helmintos, que viven en el torrente sanguíneo o dentro de los eritrocitos. (Herrera, *et al.*, 2008).

Híbrido zootécnico: Es el producto resultante del apareamiento entre animales de distintas especies. En la hibridación zootécnica ocurre el fenómeno de esterilidad, y es sumamente importante tanto desde el aspecto

genético, como zootécnico, puesto que el proceso finaliza en el híbrido, no trasciende a las generaciones futuras (Pourrain, 2002).

Ictericia: Ccoloración amarillenta de la piel, las mucosas o los ojos debido a una alta concentración de bilirrubina en la sangre. (Cuesta, 2014).

Pirexia: Es el término que se utiliza en medicina para designar la fiebre o un estado febril (CCM Salud salud.ccm.net, 2018).

Raza: Es el conjunto de animales de una misma especie, que por sus características morfológicas, fisiológicas y géneros de vida, demuestran un origen común; cuyos rasgos externos, calidad, cantidad, y límites externos de la producción, en condiciones normales de vida, los distingue de los demás grupos de la especie, y que son capaces de transmitir esos caracteres, sus propiedades biológicas y zootécnicas especiales a las generaciones sucesivas. (Márquez, 2012).

Vector: Es un término que deriva de un vocablo latino y que significa “que conduce”. Un vector es un agente que transporte algo de un lugar a otro. Su significado, de todas formas, varía de acuerdo al contexto. (Pérez, 2009).

Operacionalización de Eventos

Tabla 5: Operacionalización del evento prevalencia de infecciones asociadas a bacterias del genero *Anaplasma* (*Anaplasmataceae*).

1. Evento de estudio	2. Definición conceptual	3. Definición operacional
Prevalencia de infecciones asociadas a bacterias del genero anaplasma (<i>Anaplasmataceae</i>)	Es una enfermedad hemolítica progresiva causada por bacterias gram-negativas e intracelulares, en los bovinos es causada por <i>Anaplasma marginale</i> . Es un microorganismo sin forma definida, el cual penetra por invaginación al eritrocito, se encierra en una vacuola y se multiplica por fisión binaria en forma de cuerpo de inclusión.	Los resultados prevalencia de infecciones asociadas a bacterias del genero <i>Anaplasma</i> se derivan de la lectura de la técnica microhematocrito a través de frotis de capa blanca.
4. Dimensiones	5. Indicadores	
- Hematocrito % Bovino 24 - 46 - Eritrocitos: millones/mm³ Bovino 5.000.000 - 10.000.000 - Recuento plaquetas miles/mm³ Bovinos 100.000 – 750.000 - Leucocitos miles/mm³ Bovinos 4.000 – 12.000	Hematocrito (Ht): Es el porcentaje de la sangre que está compuesta por eritrocitos. Conteo eritrocítico (Eri): Es la cantidad total de eritrocitos circulantes por micro litro de sangre. morfología leucocitaria recuentos diferenciales de leucocitos Observar agentes hemotrópicos leucocitarios. Observar agentes hemotrópicos extracelulares.	

(Cañas y Lozano, 2018)

Hipótesis

Si se cuenta con el conocimiento básico y las tecnologías necesarias se podría determinar el aporte que daría el método frotis de capa blanca por la técnica de microhematocrito, para la detección del agente causal que parasita los eritrocitos maduros del ganado bovino y causa severas pérdidas económicas así mismo conocer la sensibilidad y especificidad de la prueba ante este microorganismo

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de investigación

La profundidad del conocimiento que se quiere adquirir tiene relación directa con el tipo de investigación. En tal sentido, se hace referencia que el tipo de investigación guarda relación con los niveles de complejidad del proceso de investigación. (Hurtado, 2010). Atendiendo a la naturaleza del problema y el propósito, esta investigación es de tipo evaluativa, ya que el grado de elaboración es evaluar la prevalencia de infecciones asociadas a bacterias del género *Anaplasma* en los bovinos mestizos tipo Carora.

Diseño de investigación

Es la estrategia que asume el investigador para responder al problema, es decir, la serie de actividades sucesivas y organizadas, que deben adaptarse a la particularidad de cada investigación y que indican el tipo de técnica e instrumentos para recolectar información. (Arteaga, 2011). Por lo tanto esta investigación adoptará un diseño mixto, es decir, un diseño de campo por lo que los datos se recolectarán directamente donde ocurre el fenómeno, y un diseño de laboratorio debido a que estos datos serán llevados al Laboratorio del departamento de Bioanálisis Clínico Cátedra de Hematología, facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Así mismo, también corresponde a un diseño transeccional ya que los datos que se recolectarán se realizarán en uno solo momento, en un tiempo único.

Población y muestra

La población es un conjunto finito e infinito de elementos con características comunes para los cuales serán extensivas las conclusiones de la investigación. Ésta que da delimitada por el problema y por los objetivos del estudio. Asimismo define la población finita como la agrupación en la que se conoce la cantidad de unidades que la integran y a su vez se tiene un registro documental de dichas unidades. (Arias, 2006)

Por otra parte, la muestra es un subgrupo de la población (Hernández y col., 2010). Por lo tanto, la población a estudiar es finita, integrada por la especie *Anaplasma marginale*, que se recolectará en el Estado Zulia, hacienda Rancho Chico en el sector la Burra Mocha del Municipio Francisco Javier Pulgar, dicha especie se estudiará en el del departamento de Bioanálisis Clínico Cátedra de Hematología, facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, desde septiembre del 2017 a diciembre de 2019.

www.bdigital.ula.ve

Unidad de Investigación

Está representada por los Bovinos Mestizos tipo Carora de la Hacienda Rancho Chico en el sector la burra mocha del Municipio Francisco Javier Pulgar. Estado Zulia.

Selección del Tamaño de la Muestra

La “n” muestral está representada por 50 vacas mestizas tipo Carora pertenecientes a la Hacienda Rancho Chico en el sector la burra mocha del Municipio Francisco Javier Pulgar. Estado Zulia.

Instrumentos de Recolección de Datos

El procedimiento para la recolección de información que se adapta al diseño del estudio, es la observación directa de los datos en el laboratorio, descrita como aquella que nos pone en contacto con los hechos, fenómenos

y situaciones en el momento que acontecen y permite la búsqueda deliberada de datos necesarios para desarrollar el proceso investigativo. (Cordero y col., 2005). Se emplearan instrumentos tales como diarios de campo, libreta o cuaderno de notas, cámaras fotográficas o cámaras de video. (Arteaga, 2011).

Recursos

Materiales

- Tubos estériles vacutainer (Becton Dickinson and Company, USA).
- Jeringas de plástico desechables.
- Guantes de examen Nitrilo, estériles, desechables. Marca: NOVAPLUS.
- Cava.
- Laminas portaobjeto y laminillas.
- Lápiz punta de diamante.
- Gradillas.
- Gasas

Equipos

- Rotador automático.
- Analizador de Hematología BC-2300.
- Microscopio.

Reactivos

- Etilendiaminotetraacetico (EDTA).
- Diluyente.
- Lisado.
- Giemsa
- El limpiador E-Z (enzimático)
- El limpiador de sondas
- Metanol

Procedimientos de la Investigación

Población a estudiar

A través, de un muestreo aleatorio, se seleccionaron 50 ejemplares, algunos presentando sintomatología clínica como: Debilidad, deshidratación, temblores musculares, membranas de las mucosas de color pálido con secreción, entre otras. En la hacienda Rancho Chico en el sector la burra mocha del municipio francisco Javier pulgar, Estado Zulia con una población de 179 semovientes los cuales se encuentran estructurados de la siguiente manera:

Tabla 6. Movimiento del rebaño bovino

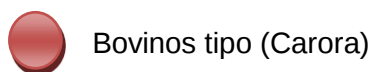
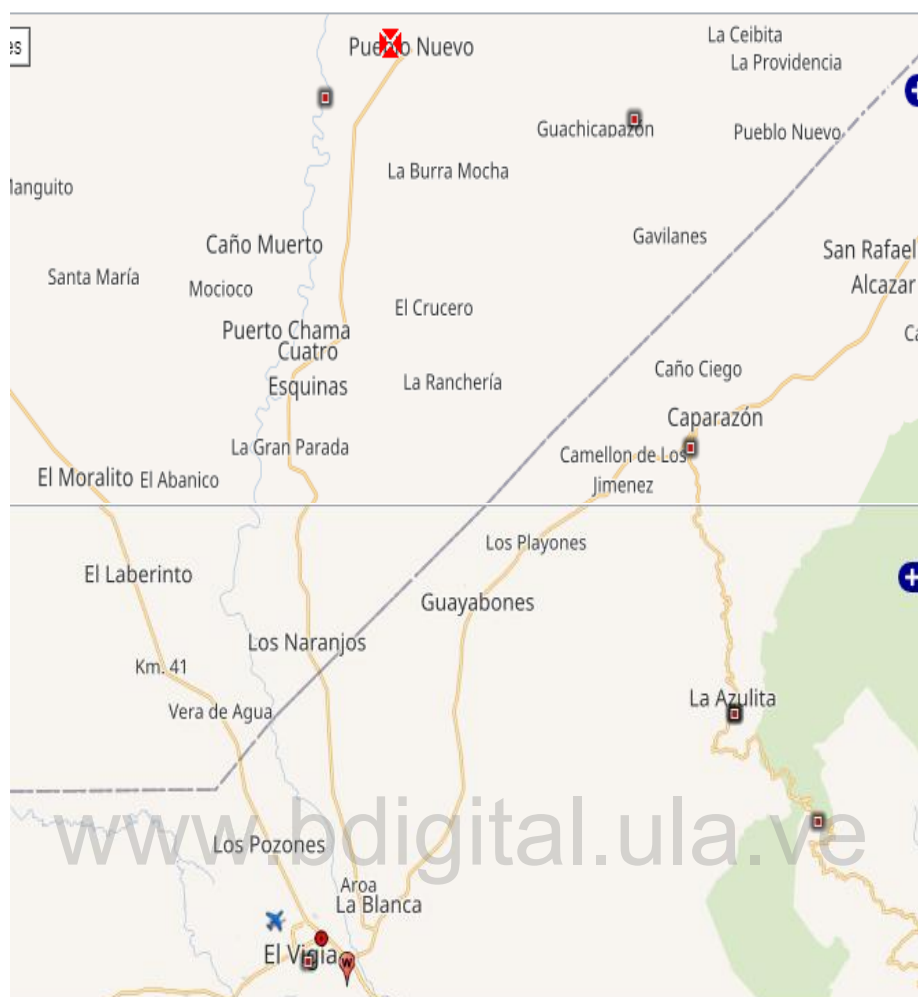
Escotero	92
Ordeño	43
Becerras	43
Toros	1
Total	179

Siendo estos alimentados bajo pastoreo, alimento concentrado, melaza y sal, con edades comprendidas entre los 5 y 7 años con pesos entre 200 – 300 kg para los machos y de 250 – 350 kg para las hembras.

Características del municipio francisco Javier pulgar, Estado Zulia

Es un municipio del estado Zulia, Venezuela, ubicado al sur del lago de Maracaibo. Posee una altitud de 120 m. sobre el nivel del mar, superficie de 800 km².

Posee una zona de bosque seco y una zona de bosque muy húmedo.



Bovinos tipo (Carora)

Figura 2: Ubicación geográfica de los bovinos a estudiar.

Recolección de las Muestra

Las muestras de sangre se extrajeron de la vena coccígea (en la cola), y fueron recolectadas en tubo vacutainer (Becton Dickinson and Company, USA), con una gota de EDTA para la determinación de la hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), cuenta de leucocitos y frotis de capa blanca. Las muestras rotuladas fueron trasladadas inmediatamente en una cava refrigerada (2-8 °C), hasta el laboratorio Bioclinico Chacón.

Medición de los parámetros hematológicos

El estudio hematológico se realizó electrónicamente, en un equipo BC-2300 MINDRAY, analizador de muestras sanguíneas en el Vigía estado Mérida.

- Se revisaron los reactivos y el equipo, a través de la calibración del equipo.
- Se calibró el equipo, para estandarizar el instrumento, a través del ingreso de factores calibración utilizando el teclado del mismo.
- Una vez realizado el control de calidad se procedió a tomar el tubo con la muestra, el cual fue previamente rotado suavemente, para evitar la coagulación de la sangre y el daño de las células que en ella se encuentran.
- Pulsar la palabra [MODE] del teclado incorporado para seleccionar el modo "Sangre completa";
- Limpiar la superficie del dispensador de diluyente con un pañuelo de papel sin pelusa.
- Se introduce el tubo que contiene la muestra en el dispensador de diluyente y luego se presionó la tecla de diluyente.
- El volumen necesario de sangre entera anti coagulada será aspirado. Y luego se diluye con el diluyente especial se mezcla y se procede a realizar el conteo.
- Al sonar el pitido retiramos el tubo
- La palabra READY apareció en la pantalla una vez completado el ciclo, los resultados se mostraron en la pantalla.
- El procedimiento se realizó igualmente para cada muestra en el menor tiempo posible.

Método Frotis de capa blanca

Fundamento: Se denomina frotis de capa blanca al extendido realizado con un concentrado de plaquetas, leucocitos, la capa superior de los

eritrocitos y una porción de plasma; esto se obtiene al centrifugar una pequeña cantidad de sangre. Para ello se recomienda el uso de tubos de microhematocrito.

Técnica Microhematocrito

Preparación de los Hematocritos

Una vez mezclada la sangre, llenar al menos $\frac{3}{4}$ partes de 2 tubos capilares de hematocrito con la sangre obtenida, tape uno de los extremos con 0,5 a 1cm de plastilina y centrifugue en microcentrífuga a 11.000 rpm durante 3- 5 minutos.

Preparación del Frotis y Coloración

Una vez centrifugados los tubos de microhematocrito, se realizan los frotis de capa blanca. Para ello se utiliza un lápiz punta de diamante (corta vidrio) o una sierrita metálica para debilitar el tubo de microhematocrito en la porción superior de la capa blanca, dejando una pequeña porción de plasma. Se parte el vidrio haciendo presión a ambos lados de la marca con los dedos.

Luego, usando un portaobjeto limpio, se hace caer el contenido de la porción del tubo donde quedó el plasma, la capa blanca y la capa roja. Para ello con un clip o un alambre semejante se empuja la plastilina por un lado y cae por el otro el plasma, las plaquetas, leucocitos y la primera porción de eritrocitos (sólo un punto rojo).

Si el material es muy denso, puede agregarse una gota del plasma que quedó en la otra parte del tubo y el frotis se extenderá con mayor facilidad.

Para la tinción se lleva a cabo con la coloración de Giemsa, de acuerdo a los siguientes pasos:

1) Previo a la coloración se debe tener listo el extendido de la muestra, la cual será una gota de tamaño intermedio en el centro de la laminilla.

2) Coloque otra laminilla en forma de estrella sobre la gota que está en la otra laminilla. Con un movimiento horizontal y simultáneo deslice ambas laminillas.

3) obtendrá dos frotis, que no deben estar intercalados, con espacios vacíos, ni ser muy finos o gruesos y deben ocupar aproximadamente las 2/3 de las laminillas.

4) Sobre un puente de coloración se colocan todas las láminas que se tengan para colorear. Se trabaja siempre en un mismo orden y se identifica bien cada lámina. Se recomienda que los extendidos sean finos y tengan 1 o 2 horas de secado antes de colorearlos.

5) Colocar unas gotas de alcohol metílico al 100% (metanol) sobre el frotis y dejar actuar por 3 a 5 minutos, con el fin de fijar y deshidratar la muestra.

6) Descartar el metanol presente en la laminilla. Añada una cantidad igual de la solución final de tinción, hasta cubrir la totalidad de la lámina. Mezcle inmediatamente, soplando suavemente y dejar actuar por 15 minutos. Algunos autores recomiendan hasta 25 min. Depende de la casa comercial.

7) Escurrir el colorante y lavar el frotis con agua destilada o con solución buffer a 7,2.

8) Sobre un papel secante dejar secar las láminas al aire libre, dispuestas en forma vertical con ayuda de un soporte.

9) Limpiar el dorso del portaobjetos con una gasa o algodón humedecido en alcohol para eliminar cualquier resto de colorante.

10) observar al microscopio con el objetivo de 100x

Observación del Frotis

En un frotis de capa blanca obtenemos concentración de plaquetas y leucocitos, así como la porción superior de la capa roja donde siempre, por su menor peso específico, se ubican los eritrocitos parasitados por protozoarios o rickettsias. Se observa con objetivo 100X

Análisis Estadístico

Los datos cuantitativos se representaron a través de gráficos de puntos; los datos cualitativos se mostraron en tablas de frecuencias absolutas y relativas. La asociación estadística de datos cualitativos (análisis bivariados)

se evaluó aplicando la prueba Chi cuadrado, las diferencias estadísticas de datos cuantitativos se evaluó a través de la prueba t de Student. La significancia estadística se consideró para valores de $p < 0,05$. Los análisis estadísticos y los gráficos se realizaron con los programas SPSS versión 21 (IBM Corporation, New York, US), Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, US) y GraphPad Prism versión 5 (GraphPad Software Inc, La Jolla, USA).

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Análisis de Resultados

El objetivo de esta investigación fue evaluar las variaciones en los parámetros hematológicos y frotis en bovinos infectados de *Anaplasma marginale*, en la Hacienda Rancho Chico en el sector la burra mocha del municipio Francisco Javier Pulgar, Estado Zulia.

Tabla 7. Sexo de los animales estudiados discriminados según su infección por *Anaplasma marginale*.

	Infectados		Total	Valor de p
	No	Si		
Sexo				0,491
Hembras	15 (57,7)	10 (47,6)	25 (53,2)	
Machos	11 (42,3)	11 (52,4)	22 (46,8)	
Total	26 (100)	21 (100)	47 (100)	

Se muestran las frecuencias absolutas y los valores relativos (porcentajes). La significancia estadística se evaluó con la prueba Chi cuadrado. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

En la tabla 6 Sobre la base estadística, En cuanto al sexo las diferencias observadas no tuvieron una significancia estadística ($p < 0,05$), lo que demuestra que el sexo no influyó en la presencia o ausencia de infección por *Anaplasma marginale* en los semovientes (bovinos). Para ello se evaluó un total de 47 bovinos siendo estos el 100%, de los cuales 25 fueron hembras y

22 machos. Obteniendo así 10(47,6%) hembras infectadas y 11(52,4%) machos infectados.

Tabla 8. Valores hematológicos y frotis diferenciales en los animales estudiados discriminados por sexo.

	Sexo			Valor de p
	Hembras	Machos	Total	
Hemoglobina (g/dL)	8,3 ± 1,5	8,5 ± 2,1	8,4 ± 1,8	0,749
Hematocrito (%)	25 ± 4,6	25,5 ± 6,2	25,3 ± 5,4	0,752
Leucocitos (Miles/mm ³)	13704 ± 3585	12915,9 ± 2183	13335,1 ± 3006	0,376
Plaquetas (Miles/mm ³)	366700 ± 246767	570272 ± 238860	473333 ± 258424	0,07
Neutrófilos (%)	50,8 ± 12,4	37,4 ± 20,8	43,8 ± 18,3	0,093
Linfocitos (%)	44,2 ± 13	59,5 ± 21,6	52,2 ± 19,3	0,068
Eosinófilos (%)	5 ± 3,7	3,2 ± 2,8	4 ± 3,3	0,215

Se muestran los valores promedios ± desviación estándar. La significancia estadística se evaluó con la prueba T de Student. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

En la tabla la 7 se muestran las características hematológicas de los bovinos, apreciándose los valores de los siguientes parámetros para ambos sexos. Valor promedio de la Hemoglobina fue 8,4 g/dl, Hematocrito 25,3%, Leucocitos 13.335,1 Miles/mm³, Plaquetas 473.333 Miles/mm³, Segmentados neutrófilos 43,8%, Segmentados eosinófilos 4%, Linfocitos 52,2 % Sin observarse significancia estadísticas entre los grupos de hembras y machos.

Tabla 9. Valores hematológicos y frotis diferenciales en los animales evaluados, discriminados según su infección por *Anaplasma marginale*.

	Infectados			Valor de p
	No	Si	Total	
Hemoglobina (g/dL)	9,4 ± 1,8	7,1 ± 0,5	8,4 ± 1,8	<u>0,0001</u>
Hematocrito (%)	28,4 ± 5,3	21,4 ± 1,6	25,3 ± 5,4	<u>0,0001</u>
Leucocitos (Miles/mm ³)	12561 ± 3527	14292 ± 1870	13335 ± 3006	<u>0,049</u>
Plaquetas (Miles/mm ³)		473333 ± 258424		
Neutrófilos (%)		43,8 ± 18,3		
Linfocitos (%)		52,2 ± 19,3		
Eosinófilos (%)		4 ± 3,3		

Se muestran los valores promedios ± desviación estándar. La significancia estadística se evaluó con la prueba T de Student. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

En la tabla 8 se observa los resultados obtenidos de los bovinos infectados y no infectados por *Anaplasma*, con respecto al promedio de la hemoglobina y el hematocrito estos disminuyen en los bovinos infectados y los leucocitos aumentan en los infectados, por lo que se pudo constatar que hay una significancia estadística entre los parámetros de los bovinos discriminados según su infección. Por otro lado se visualiza el valor promedio en cuanto a las Plaquetas de 473.333 Miles/mm³, Segmentados neutrófilos 43,8%, Linfocitos 52,2%, Segmentados eosinófilos 4%. Presentes en los bovinos infectados.

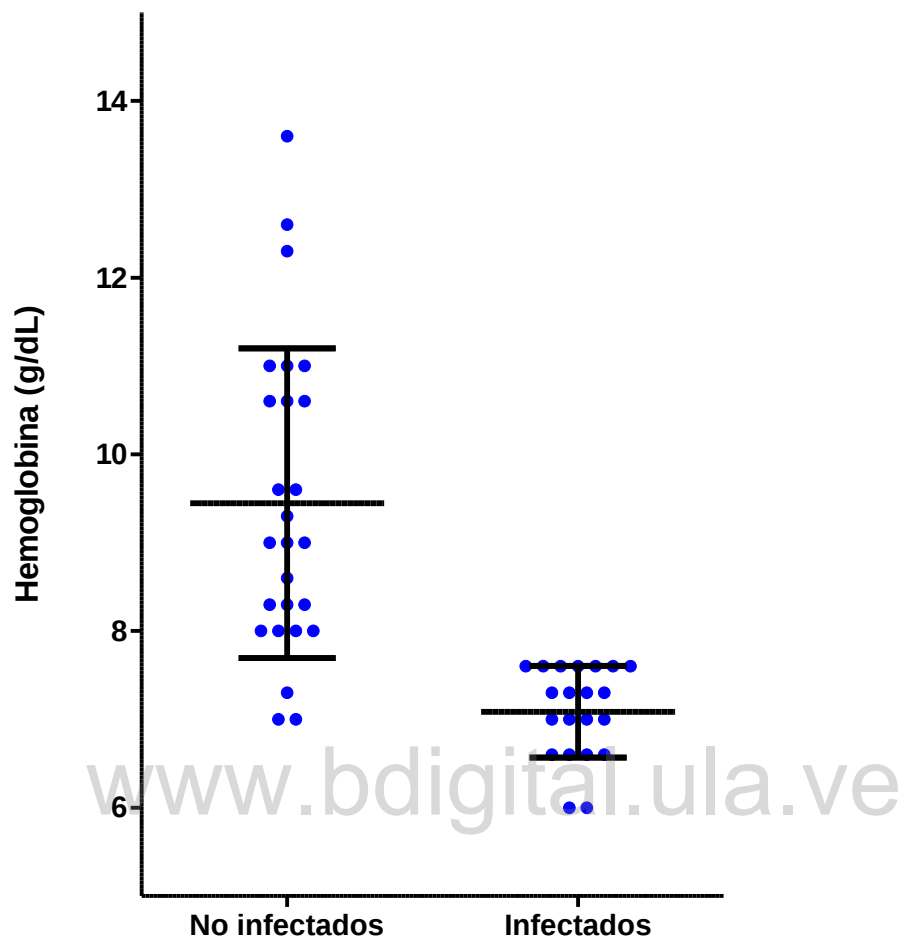


Figura 3. Valores de hemoglobina en los animales estudiados, discriminados según su infección por *Anaplasma marginale*.

Los puntos representan los valores individuales, las líneas el promedio $\pm$ desviación estándar. La significancia estadística de la diferencia entre grupos se evaluó con la prueba T de Student. Se obtuvo un valor de $p = 0,0001$. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

En la figura 3 Se muestra gráficamente la distribución de los niveles de la hemoglobina de los bovinos infectados donde la mayoría se inclinan hacia la media, es decir hemoglobinas alrededor de (7 g/dL). Mientras que el

grupo de los bovinos no infectados tienen una distribución normal entre el intervalo (8 g/dL – 11 g/dL).

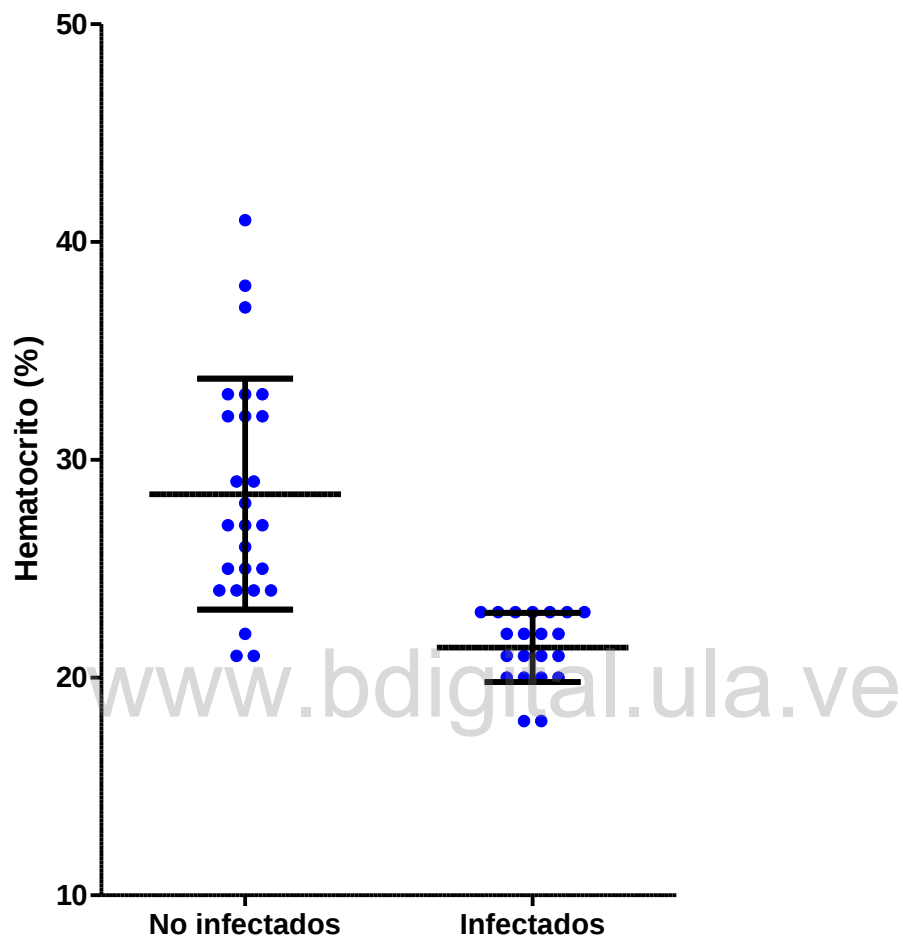


Figura 4. Valores de hematocrito en los animales estudiados, discriminados según su infección por *Anaplasma marginale*.

Los puntos representan los valores individuales, las líneas el promedio $\pm$ desviación estándar. La significancia estadística de la diferencia entre grupos se evaluó con la prueba T de Student. Se obtuvo un valor de $p = 0,0001$. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

En la figura 4 se observa el comportamiento de los niveles del hematocrito de igual manera para los bovinos no infectados entre los 28 – 34% y para los infectados entre 21 – 27 %.

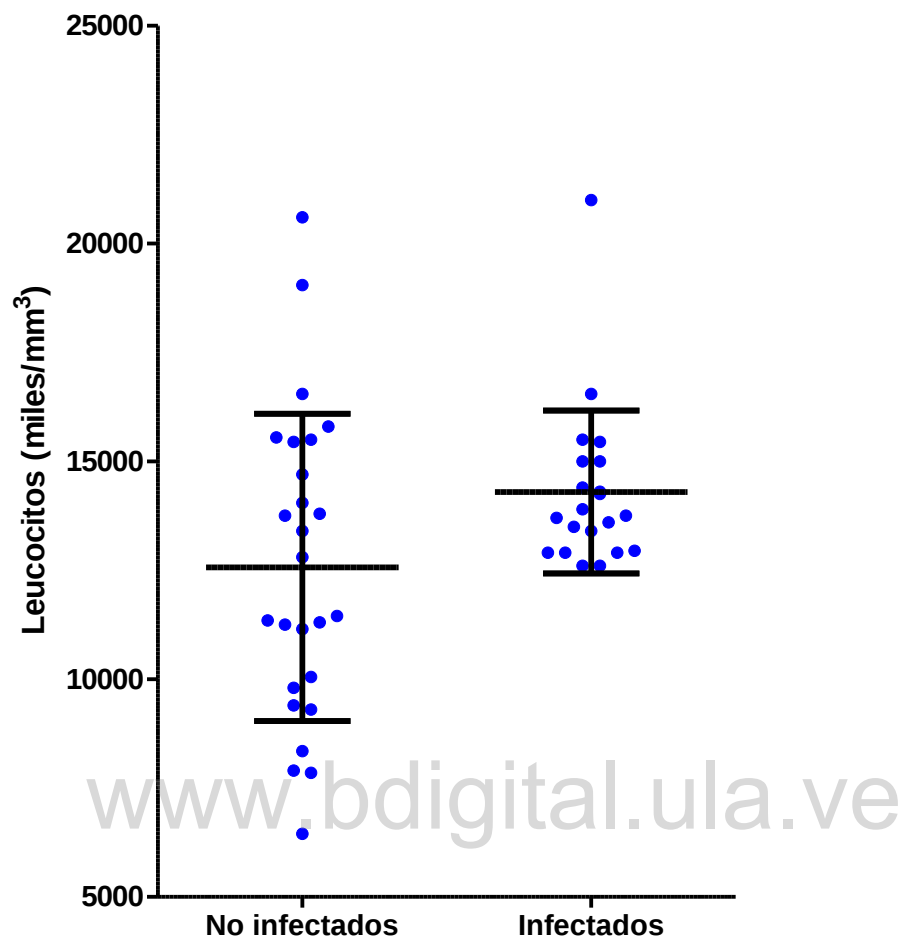


Figura 5. Valores de leucocitos en los animales estudiados, discriminados según su infección por *Anaplasma marginale*.

Los puntos representan los valores individuales, las líneas el promedio $\pm$ desviación estándar. La significancia estadística de la diferencia entre grupos se evaluó con la prueba T de Student. Se obtuvo un valor de $p = 0,049$. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Así mismo para la figura 5 expresando, los valores de leucocitos discriminados según su infección por *Anaplasma marginale* en los bovinos estudiados, se hace presente una variación en donde se observan los resultados de dicho parámetro por encima de los valores de referencia.

Tabla 10. Alteraciones en los valores hematológicos de los animales estudiados discriminados según su infección por *Anaplasma marginale*.

	Infectados		Total	Valor de p
	No	Si		
Hemoglobina (g/dL)				<u>0,0001</u>
<i>Normal</i>	23 (88,5)	-	23 (48,9)	
<i>Bajo</i>	3 (11,5)	21 (100)	24 (51,1)	
<i>Total</i>	26 (100)	21 (100)	47 (100)	
Hematocrito (%)				<u>0,0001</u>
<i>Normal</i>	23 (88,5)	-	23 (48,9)	
<i>Bajo</i>	3 (11,5)	21 (100)	24 (51,1)	
<i>Total</i>	26 (100)	21 (100)	47 (100)	
Leucocitos(Miles/mm ³)				<u>0,0001</u>
<i>Normal</i>	13 (50)	-	13 (27,7)	
<i>Alto</i>	13 (50)	21 (100)	34 (72,3)	
<i>Total</i>	26 (100)	21 (100)	47 (100)	

Se muestran las frecuencias absolutas y los valores relativos (porcentajes). La significancia estadística se evaluó con la prueba Chi cuadrado. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

En base a la tabla 9 se muestra que hay una significancia estadísticas de los bovinos estudiados discriminados según su infección por *Anaplasma* de acuerdo a los parámetros hematológicos considerados como valores de referencia al compararlos con los obtenidos se observa que para la hemoglobina y el hematocrito hay una disminución leve por lo tanto de los 24 animales infectados 21 presentan hemoglobina y hematocrito por debajo del rango de referencia y de los 47 bovinos 21 de estos presentan leucocitosis.

Discusiones

El diagnóstico de hemoparásitos en bovinos implica unos retos y procesos que incluyen la adecuada recolección de muestras en el campo, su posterior envío al laboratorio (donde se realizan diversos procesos) y la correcta

interpretación diagnóstica para así lograr una apropiada intervención en el campo. El juicioso diagnóstico de hemoparasitismo en rumiantes requiere establecer la condición clínica de los animales comparándolos con los resultados de laboratorio.

La presente investigación evalúa la prevalencia de infecciones asociadas a bacterias del género *Anaplasma* en los bovinos mestizos tipo Carora, asimismo expresa las características clínicas del ganado bovino, la variación en cuanto a los valores hematológicos y la existencia de *Anaplasma marginale* utilizando el método de frotis de capa por la técnica de microhematocrito en donde La coloración de Giemsa es la recomendada para facilitar el diagnóstico.

Se determinó la prevalencia aparente con la técnica de microhematocrito y con el sexo de los semovientes (bovinos), evidenciándose alteraciones de los valores hematológicos de los bovinos discriminados según su infección, en donde se seleccionaron atreves de un muestreo aleatorio 47(100%), ejemplares algunos con sintomatología clínica (debilidad, febrícula, mucosas oculares y de vulvas pálidas). De los cuales 22(46,8%) fueron machos y 25(53,2%) hembras.

Mediante el estudio sobre el sexo de los bovinos, en referencia a la prevalencia de la bacteria *Anaplasma marginale*, se determinó que esta característica no influye debido a que ambos sexos presentan similitud en la frecuencia de la infección por la mencionada bacteria. En este sentido Atify y col. (2013), en su trabajo realizado utilizó el método cELISA, mostrando prevalencias, sin encontrar diferencias significativas con relación al sexo. Por lo que se dice que hay concordancia con lo encontrado en los bovinos estudiados, ya que no presentan significancia estadísticas entre los grupos de hembras y machos. De igual manera los parámetros de los valores hematológicos obtenidos por ambos sexos no varían.

En el estudio realizado, los animales fueron divididos en bovinos infectados y no infectados y fueron analizados los parámetros hematológicos

arrojando disminución leve en la hemoglobina y en el hematocrito con aumento en leucocitos para los animales infectados. En el estudio experimental realizado por Benavidez, (2012), en la que busco validar las bondades del uso de un fármaco para el control de episodios clínicos asociados con los hemoparásitos del ganado, concluyo que al evaluar los cuadros hemáticos completos los parámetros hematológicos presentaron disminuciones leves que al momento de la aplicación de este fármaco a pocas semanas estos parámetros se fueron restableciendo. Lo que permite comprender lo aportado por Sotelo y col. (2008), la enfermedad se caracteriza por marcada anemia hemolítica que ocurre de uno a seis días después de la parasitemia y persiste por cuatro o quince días, donde hasta el 75 % de los eritrocitos se pierden de la circulación pero en el período de convalecencia Los parámetros hemáticos retornan a los normales persistiendo la anemia y contribuyendo lentamente al deterioro del estado fisiológico como abortos, depresión, pérdida de peso, ya que el organismo no puede compensar estas pérdidas de glóbulos rojos y permite que la anemia se instaure de modo no regenerativas, por destrucción de células rojas.

En relación con el conteo de las plaquetas, segmentados neutrofilos, linfocitos y segmentados eosinofilos, se demuestra que en los bovinos estudiados estos no sufrieron variación ya que al compararlos con los valores de referencia propuestos por (Torres, (2015), estos parámetros están dentro del rango establecido.

Por consiguiente, dentro de la selección de los animales dispuestos para el diagnóstico de *Anaplasma marginale*, por medio del método empleado Frotis de Capa Blanca solo algunos de estos se les pudo observar de acuerdo a los escritos plasmados por Corona, *et al.*, (2004) donde es posible visualizar características como un cuerpo denso en la periferia de los glóbulos rojos, observándose eritrocitos parasitados por campo microscópico lo que demuestra prevalencia del hemoparasito, lo que asegura la eficacia de

este método más práctico, económico, accesible para diagnosticar la presencia de Anaplasmosis.

Es importante resaltar que este método es útil para el diagnóstico en la fase aguda de la enfermedad como lo expuesto por, Aubry, y col. (2010), estudio donde se pueden detectar infecciones en animales presintomáticos o portadores, la infección generalmente se diagnostica mediante demostración serológica de anticuerpos con confirmación por métodos de detección molecular, pero es fiable en animales clínicamente infectados durante la fase aguda de la enfermedad.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

El estudio científico y clínico realizado a través de la evaluación de la prevalencia de infecciones asociadas a bacterias del genero *Anaplasma* en los bovinos mestizos tipo Carora, donde se llevó a cabo una investigación de tipo experimental y de campo a una muestra empleada en animales Bovinos dentro de la Hacienda Rancho Chico en el sector la Burra Mocha del municipio Francisco Javier Pulgar, en el estado Zulia. El cual permitió plasmar a continuación las siguientes conclusiones:

1. La técnica de microscopia de frotis de capa blanca aplicado en la muestra de animales bovino represento estudios de plaquetas, leucocitos la capa superior de los eritrocitos y una porción de plasma, que permitió considerablemente observar la presencia de *anaplasma marginal*, donde se observó un eritrocito parasitado, donde se manifestó un cuerpo denso en la periferia.
2. El empleo del analizador de muestras clínicas B2300, automatizado en el estudios de las muestras en animales bovinos, tuvo un significado aporte en la rapidez y eficiencia de los resultados de los parámetros hematológicos, donde se ratificó que hay variación de hemoglobina y hematocrito encontrándose por debajo de los valores de referencia, así como también la aparición de una leucocitosis
3. la aplicación de ectoparasiticidas para controlar la existencia de parásitos nocivos en los rebaños bovinos, mejorado los niveles la

producción de leche, preservando la vida integra del bovino, logrando resultados óptimos en el desempeño agropecuario.

4. La revisión exhaustiva y científica de los antecedentes bibliográficos de los estudios en prevalencia de la enfermedad Anaplasmosis, en animales bovinos facilita la comprensión de los análisis clínicos que fomenten las medidas de alto alcance y el diseño de estrategias adecuadas para el manejo y prevención de las enfermedades y parásitos que representen amenazas en el consumo del animal bovino.
5. En la determinación epidemiológica que está asociado a la enfermedad Anaplasmosis resulta de vital importancia el estudio del espacio geográfico y la variación climatológica, en vista de que de acuerdo a la características de los suelos, se derivan las patologías y existencia de enfermedades parasitarias en animales bovinos, como se hizo presente en este estudio de caso, el cual se llevó acabo en un espacio geográfico Subtropical donde la incidencia es mayor arrojando prevalencia de hemoparasitos como la *Anaplasma marginale*.

RECOMENDACIONES

Por consiguiente, de este trabajo de investigación se pueden resaltar las siguientes recomendaciones:

1. La técnica de microscopia de frotis de capa blanca es altamente efectiva, rápida y económica para detectar la presencia de *Anaplasma marginal* en animales bovinos solo en la fase aguda de la enfermedad, por lo que se considera oportuno la aplicación de otras técnicas serológicas en el caso de que se presenten manifestaciones de portadores sanos en vista de que estas técnicas como PCR, ELIZA, puesto que están técnicas son altamente sensibles.

2. La aplicación de baños constantes y permanentes al rebaño bovino, con sustancias químicas como ectoparasiticidas, permitirán mantener controlado la aparición de hemoparasitos, por consiguiente la buena salud del animal, y el mejoramiento en la producción agropecuaria.
3. Promover los estudios científicos en el área de prevalencia de la enfermedad Anaplasmosis, que permitan la actualización de conocimiento y exploración de nuevas patologías parasitarias en el animal bovino, que prevengan las infecciones y reinfecciones que representa un altísimo riesgo del consumo animal, en la vida humana.
4. El análisis de estudio de los suelos, la ubicación geográfica y la variación climatológica, representa un punto de partida y una columna vertebral para el reconocimiento de la epidemiología de Anaplasmosis, de esta manera aplicar la técnica adecuada y eficaz de tratamiento Médico-veterinario.

www.bdigital.ula.ve

REFERENCIAS BIOHEMEROGRÁFICAS

- Agudo, L., Florio, J., Polanco, N., Rivera, S., Silva, A., Tamasaukas, R., Tamasaukas, M. (2010), Hemoparasitosis en Ganadería doble Propósito Venezolana, Diagnóstico y Control: una revisión. Recuperado 20 de enero de 2018.
- Alegre, M., (2015), Automatización en Hematología. Recuperado 20 de octubre de 2019.
- Argüelles, J., Betancourt, J., Cortés, J., Pulido, L. (2010), Distribución de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos y fincas del Altiplano cundiboyacense (Colombia). Recuperado 02 de octubre de 2017.
- Arraga, C, (2008). Ehrlichiosis Y Rickettsiosis Plaquetaria Humana en Venezuela. Colegio de Bionalistas del Estado Mérida. Ciclo de Conferencias.
- Arraga, C. (2008). Diagnóstico de Hemoparásitos que afectan a perros y gatos. Colegio de Bionalistas del Estado Mérida. Ciclo de Conferencias.
- Arraga, C. (2008). Frotis de capa blanca. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad del Zulia.
- Arteaga, P., (2011). Metodología de la investigación I y II. 11va. Edición. Mérida, Venezuela: FUNDESAPUB.
- Atif, F., Khan, M., Muhammad, F. y Ahmad, B. (2013). Estudio seroepidemiológico de *Anaplasma marginale* entre el ganado. Recuperado: 20 de noviembre de 2020
- Aubry P, Geale DW. (2010), Una revisión de la anaplasmosis bovina. Recuperado: 20 de mayo de 2019

- Balestrini, C, Guillén, A, León, E, Morales, G, Pino, L, Rondón, Z, Silva, M (2002). Relación entre los parámetros hematológicos y el nivel de Infestación Parasitaria en Ovinos de Reemplazo. Recuperado 22 de enero de 2018.
- Baptista, P., Fernández, C., Hernández, R., (2003). *Metodología de la investigación*. México: McGraw-Hill Interamericana S.A.
- Barba R. (2005). Interpretar un análisis de sangre, mundinteractivos, S.A. recuperado: 20 de noviembre de 2020.
- Bembibre C. (2010), definición ABC. Recuperado: 12 de mayo de 2020.
- Benavidez, E., Betancourt, O., Polanco, N., y Vizcaíno, O. (2013), Criterios y Protocolos para el Diagnóstico de hemoparásitos en Bovinos. Recuperado 10 de enero de 2018.
- Benavides, E., 2014, Diagnóstico de hemoparásitos de importancia veterinaria, facultad de ciencias agropecuarias. Universidad de la Salle, Bucaramanga. Recuperado 15 de enero de 2018
- Benavides, E., Vizcaíno, Otoniel., Polanco, N., Mestra, A., Betancur, O., (2013). Efecto terapéutico de un fármaco frente a los hemoparásitos del bovino *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*. Recuperado: 06 de agosto de 2019.
- Córdoba, E., (2006). Manufactura y automatización, Ingeniería e Investigación, vol. 26, núm. 3, pp. 120-128. Recuperado: 20 de septiembre de 2018.
- Córdoba, M., (2016). Anaplasmosis bovina: abordaje clínico y patológico de la enfermedad. Recuperado 06 de septiembre 2017.
- Corona, B, Martínez, S, Rodríguez, M. (2004). Anaplasmosis bovina (bovine anaplasmosis). Recuperado 03 de febrero de 2018.

- De Andrade, E., Díaz, D., Escalona, F., Parra, O., Ramírez, R., Valera, Z. (2003). Prevalencia de *Anaplasma marginale* en Bovinos del Sector La Piñata, Municipio la Cañada de Urdaneta, Estado Zulia, Venezuela. Recuperado 02 de octubre de 2017.
- Hernández, S y col. (2010). Metodología de la investigación. (5ta edición). México: Editorial McGraw-Hill.
- Herrera, M., Ríos, L., Soto, A., Urrego, V., y Zapata, M, (2008). Frecuencia de Hemoparásitos en Bovinos del bajo Cauca y Alto San Jorge, 2000-2005. Revista MVZ Córdoba, vol. 13, núm. 3, septiembre-diciembre, 2008, pp. 1486-1494. Recuperado 01 de septiembre de 2017.
- Forlano, M, Meléndez, R, Rodríguez, J, (2016). Dinámica de Anticuerpos e Incidencia de *Babesia bigemina* en Becerras en una Unidad en Producción en el Municipio Crespo del Estado Lara, Venezuela. Recuperado 20 de enero de 2018.
- García, E., (2010). *Manual práctico de bacteriología general*. (Primera Edición). Mérida, Venezuela: Publicaciones Vicerrectorado Académico.
- García, Z, (2010). Garrapatas que afectan al ganado bovino y enfermedades que transmiten en México. Recuperado 20 de octubre de 2017.
- Gélvez, L., 2016, Mundo Pecuário; Universidad Nacional Experimental del Táchira., Recuperado el 03 de noviembre de 2017
- Gil, Marielsa. (15 de agosto de 2019). Tinción de Giemsa: fundamento, materiales, técnica y usos. Lifeder. Recuperado: 08 de septiembre de 2020.
- Hernández, S y col. (2010). *Metodología de la investigación*. (5ta edición). México: Editorial McGraw-Hill.

- Hurtado, J. (2010). *El proyecto de investigación. Comprensión holística de la Metodología de la investigación*. (6^{ta} Edición). Caracas, Bogotá: Ediciones Quirón.
- Marqués, Juan, Diferencias entre Bos taurus y Bos indicus. (Documento en línea). Generalidades de la raza. Recuperado 01 de noviembre de 2017.
- Maydana, L. (2017). Utilidad de los parámetros del contador hematológico en el diagnóstico de anemias: marcadores bioquímicos clásicos. *Hematología*; 21(Extraordinario): 120-125 Recuperado: 06 de mayo de 2020.
- Muñoz, Alfonso, 2008, Anaplasmosis, monografía, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, División Regional de Ciencia Animal.
- Murray, P y col., (2009). *Microbiología Médica*. Sexta Edición. Barcelona (España). Editorial Elsevier.
- Paternina, K., 2011, *Bacteriología*, Recuperado el 03 de noviembre de 2017.
- Peña, V, Sandoval, K. (2014). Determinación de Poblaciones de Parásitos Gastrointestinales y Hemoparásitos en Bovinos Bos Indicus Ubicados en la Finca Matepantano Municipio de El Yopal, Casanare. Recuperado 03 de febrero de 2018.
- Pérez, A. (2009). *Guía Metodológica para Anteproyectos de Investigación*. (3ra. Ed). Caracas, Venezuela: FEDUPEL
- Ramírez, A., (2010). *Manual práctico de bacteriología general*. (Primera Edición). Mérida, Venezuela: Publicaciones Vicerrectorado Académico.
- Sánchez, K., (2010). *Manual práctico de bacteriología general*. (Primera Edición). Mérida, Venezuela: Publicaciones Vicerrectorado Académico.

Sherwood, L., Willey J, Woolverton C. Microbiología de Prescott. 7ma edición, Madrid: editorial Mc Graw Hill; 2009.

Siomara, B., (2011). Detección de *Anaplasma marginale* en Bovinos, Mediante la Amplificación por Pcr del Gen Msp5. Recuperado 10 de octubre de 2017.

Torres, L., (2015). Diagnóstico de Anaplasmosis Bovina por los Métodos de Giemsa y Elisa Indirecto y su Relación con los Valores Sanguíneos, en la Provincia de Zamora Chinchipe. Recuperado 22 de Septiembre de 2017.

Zwart, D., (1985). Hemoparasitosis Bovinas. Recuperado 22 de Septiembre de 2017.

www.bdigital.ula.ve



www.bdigital.ula.ve **Figura 6.** Hacienda Rancho Chico



Figura 7. Vaquera de la Hacienda Rancho Chico



Figura 8. Bovinos a estudiar



Figura 9. Bovinos a estudiar



Figura 10. Raza Carora

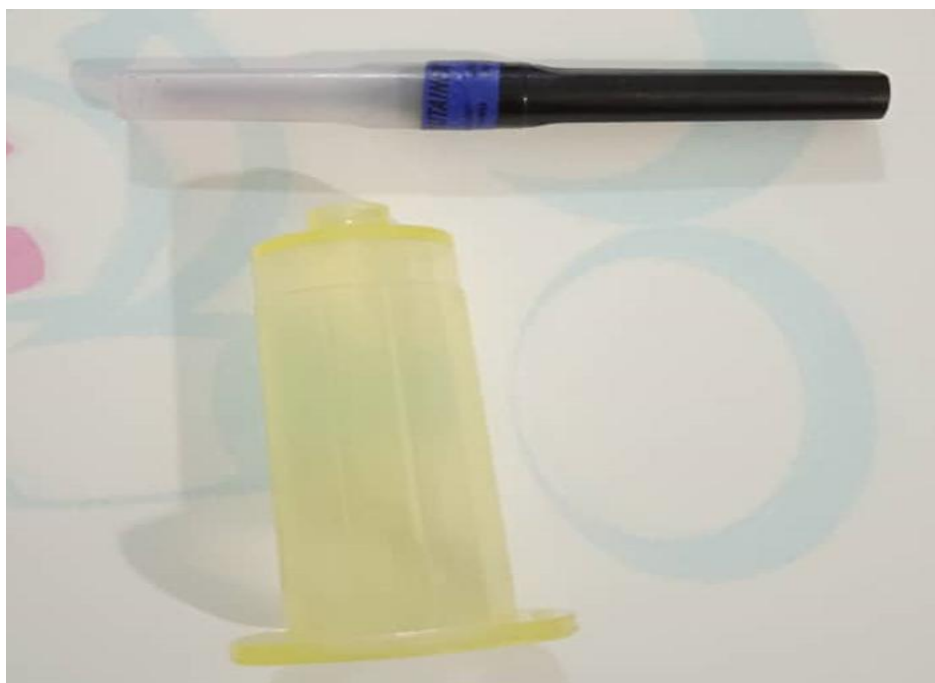


Figura 11. Aguja



Figura 12. Toma de muestra



Figura 13. Preparación para la medición de los parámetros hematológicos



Figura 14. Analizador hematológico BC-2300

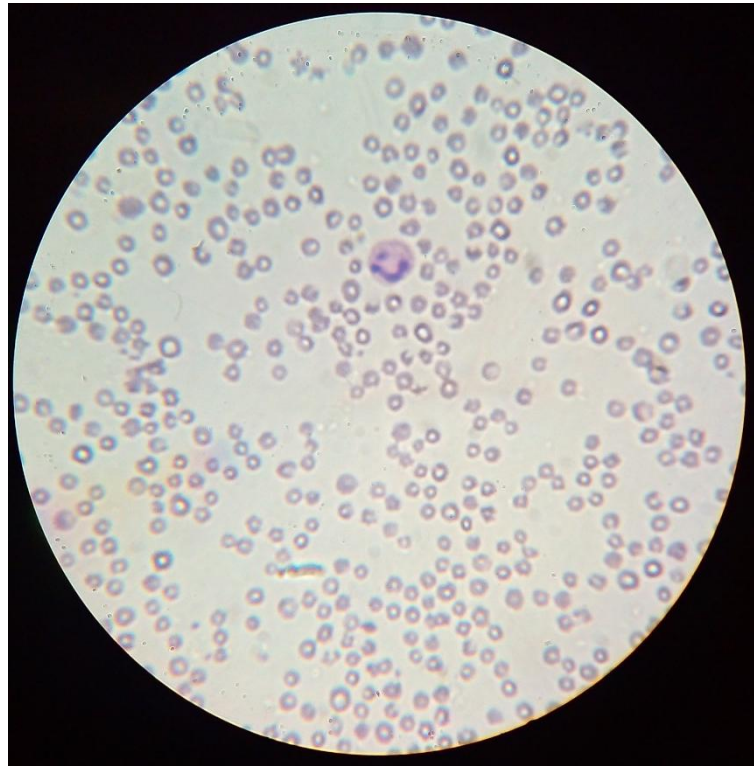


Figura 15. Frotis de capa blanca

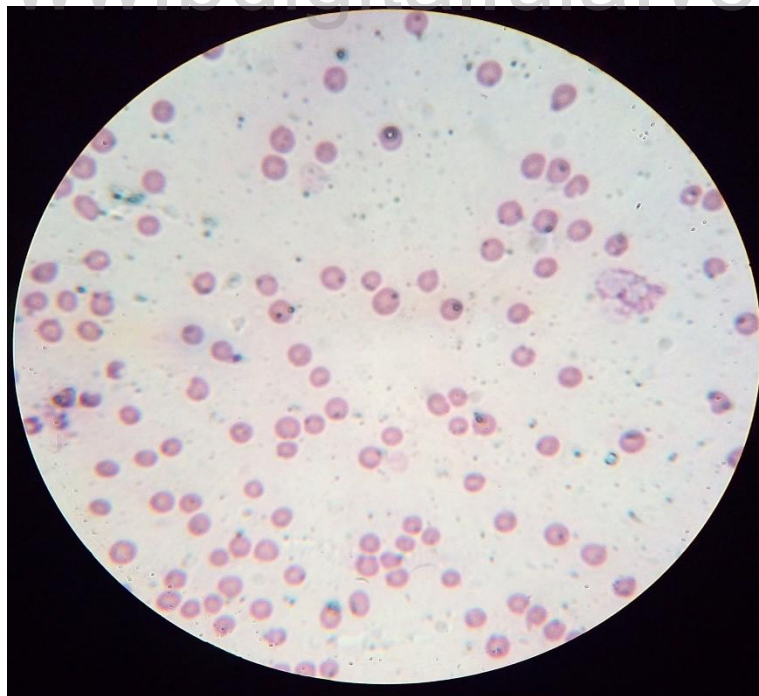


Figura 16. Glóbulos rojos parasitados

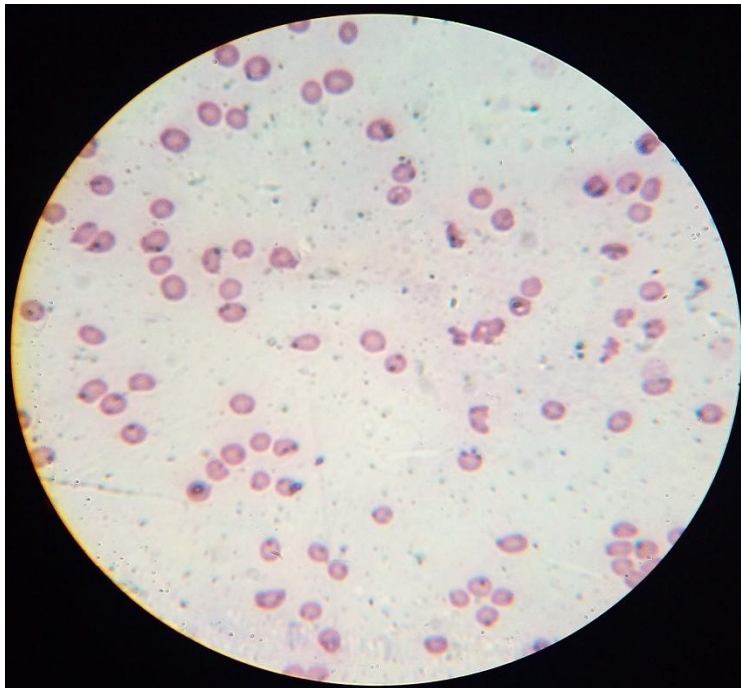


Figura 17. Presencia de *Anaplasma marginale*

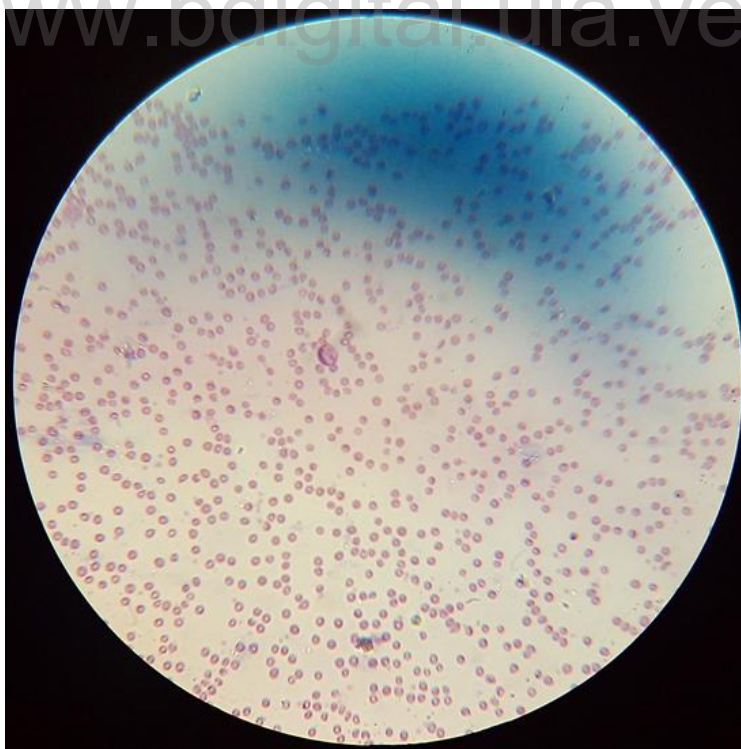


Figura 18. Segmentado basófilo

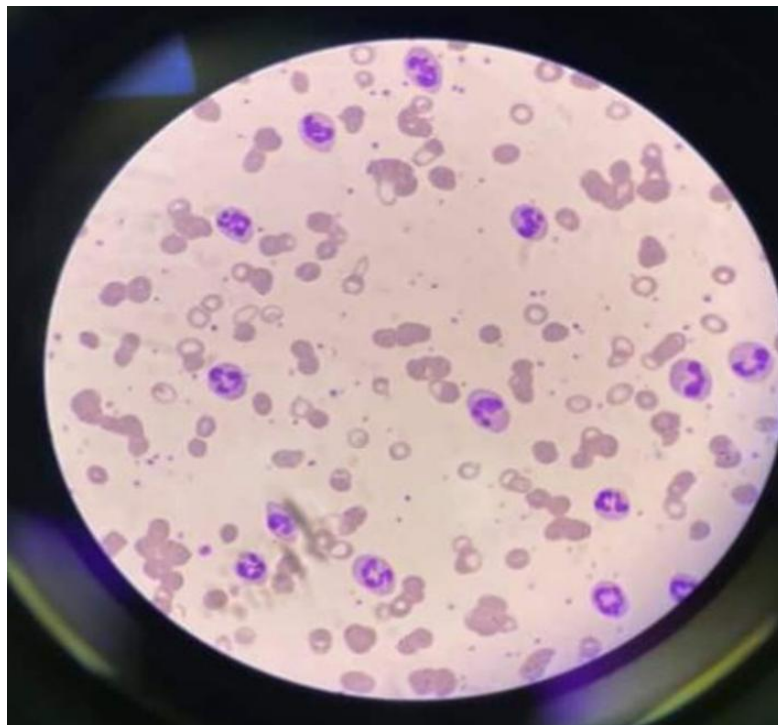


Figura 19. Segmentados neutrófilos

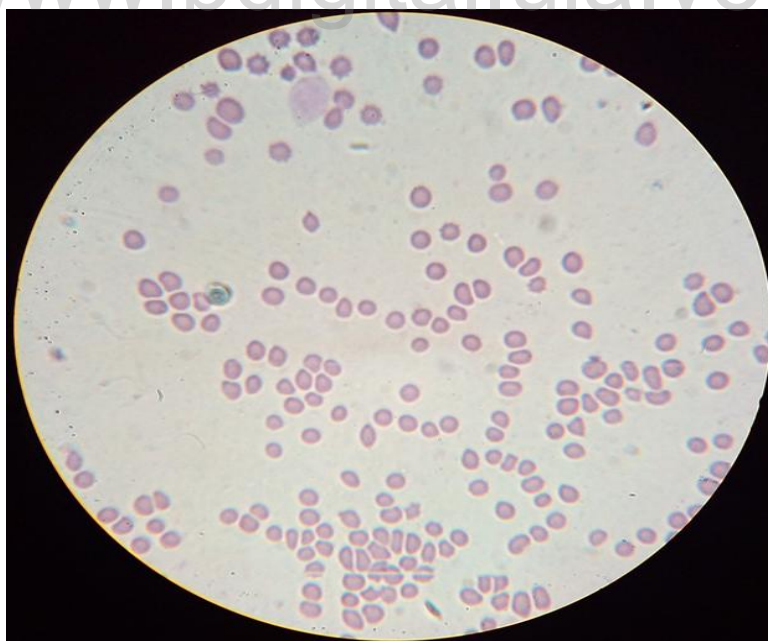


Figura 20. Glóbulos rojos