

DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE HEMOPARÁSITOS *Anaplasma spp* Y *Babesia spp* MEDIANTE FROTIS SANGUÍNEO EN BOVINOS MESTIZOS DEL MUNICIPIO DE SAN BERNARDO NARIÑO

**DORIBE CAROLINA BETANCOURTH PICO
BYRON DEOMAR GÓMEZ ZAMBRANO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2010**

DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE HEMOPARÁSITOS *Anaplasma spp* Y *Babesia spp* MEDIANTE FROTIS SANGUÍNEO EN BOVINOS MESTIZOS DEL MUNICIPIO DE SAN BERNARDO NARIÑO

**DORIBE CAROLINA BETANCOURTH PICO
BYRON DEOMAR GÓMEZ ZAMBRANO**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Médico Veterinario**

**Presidente:
CARMENZA JANNETH BENAVIDES MELO
Médico Veterinario**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2010**

Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son de responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1ro. Del acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación

EUDORO GERARDO BRAVO RUEDA
Jurado Delegado

EDWARD JOHNNY ZAMBRANO MORA
Jurado

CARMENZA JANNETH BENAVIDES MELO
Presidente

San Juan de Pasto, Mayo 2010.

Dedicatoria a:

FELIPE Y BYRON.
Doribe Carolina Betancourth

Dedicatoria a:

MI MADRE Y MI ABUELA, Por su apoyo incondicional.
Byron Deomar Gómez Zambrano.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

CARMENZA JANNETH BENAVIDES MELO M.V. Esp.

KATIA BENAVIDES M.V. Esp.

ARSENIO HIDALGO TROYA Asesor Estadístico

CONTENIDO

CONTENIDO	8
RESUMEN	16
ABSTRACT	18
INTRODUCCIÓN	19
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	21
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	22
3. OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GENERAL	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4. MARCO TEÓRICO	24
4.1 ANAPLASMOSIS	24
4.1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	24
4.1.2 CARACTERES MORFOFUNCIONALES Y CULTURALES.....	25
4.1.3 TRANSMISIÓN.....	26
4.1.4 CICLO BIOLÓGICO	28
4.1.5 PATOGENIA	29
4.1.6 SIGNOS CLÍNICOS.....	31
4.1.7 INMUNOLOGÍA	33
4.1.8 DIAGNÓSTICO	36
4.1.8.1 Tinción con Giemsa	36
4.1.8.2 Técnicas moleculares	37
4.1.8.3 Pruebas serológicas	38
4.1.8.4 Fijación de complemento	39
4.1.8.5 Prueba de aglutinación en tubo capilar.....	39
4.1.8.6 Prueba de aglutinación en placa (CAT)	40
4.1.8.7 Inmunofluorescencia indirecta de anticuerpos (IFI)	40
4.1.8.8 Ensayo inmunoenzimático	41
4.1.8.9 DOT- ELISA.....	41
4.1.9 TRATAMIENTO	42

4.1.9.1 Tetraciclinas.....	43
4.1.9.2 Imidocarb	44
4.1.10 EPIDEMIOLOGÍA	45
4.1.11 ESTABILIDAD EPIDEMIOLÓGICA.....	47
4.1.12 CONTROL.....	48
4.1.12.1 Manejo.....	48
4.1.12.2 Quimioprofilaxis	55
4.1.12.3 Control de vectores.....	55
4.2 BABESIOSIS.....	60
4.2.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	60
4.2.2 MORFOLOGÍA Y CARACTERÍSTICAS	61
4.2.3 TRANSMISIÓN.....	63
4.2.4 CICLO BIOLÓGICO EN LA GARRAPATA	64
4.2.5 PENETRACIÓN DEL PARASITO A LA CÉLULA HOSPEDADORA DEL BOVINO	65
4.2.6 CICLO BIOLÓGICO DE <i>BOOPHILUS MICROPLUS</i>	66
4.2.7 PATOGENIA. BOWMAN AFIRMA QUE	67
4.2.8 SIGNOS CLÍNICOS.....	70
4.2.9 INMUNOLOGÍA	70
4.2.10 DIAGNÓSTICO	73
4.2.10.1 Frotis sanguíneos	73
4.2.10.2 Técnicas moleculares	74
4.2.10.3 Pruebas serológicas	74
4.2.11 TRATAMIENTO	78
4.2.11.1 Aceturato de diminazene	79
4.2.11.2 Imidocarbo	79
4.2.12 EPIDEMIOLOGÍA	79
4.2.11 CONTROL Y PREVENCIÓN	80
5. DISEÑO METODOLÓGICO	82
5.1 LOCALIZACIÓN	82
5.2 POBLACIÓN OBJETO DE MUESTRA	82
5.2.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA	82
5.2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN MUESTREADA.....	83
5.2.2.1 Sexo.....	83
5.2.2.2 Estado reproductivo	84
5.2.2.3 Control de vectores	84
5.2.2.4 Desparasitación	86
5.3 TÉCNICAS PARA RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	87
5.3.2 TÉCNICA PARA TOMA DE MUESTRA	87
5.3.3 TRASLADO DE LAS MUESTRAS	89
5.3.4 MATERIALES Y EQUIPOS	89
5.3.5 TÉCNICAS DE LABORATORIO	89

5.4 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN, PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	91
6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	92
6.1 ANIMALES POSITIVOS PARA <i>ANAPLASMA SPP</i> Y <i>BABESIA SPP</i>	92
6.1.1 DESCRIPCIÓN.....	93
6.2 DETERMINACIÓN DE VALORES DE HEMATOCRITO EN ANIMALES MENORES DE 1 AÑO DE EDAD.....	97
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	99
7.1 CONCLUSIONES	99
7.2 RECOMENDACIONES.....	100
ANEXOS	101

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Animales positivos a Hemoparásitos	92
Tabla 2. Hematocrito por grupos de edad en animales menores de 1 año	97

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Muestreo de animales muertos por <i>Anaplama spp</i>	42
Cuadro 2. Muestreo de animales muertos por <i>Babesia spp</i>	78
Cuadro 3. Descripción animales positivos a hemoparásitos	93

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. <i>Anaplasma marginale</i>	26
Figura 2. Ciclo biológico de <i>Anaplasma</i>	29
Figura 3. <i>Babesia</i> spp	63
Figura 4. Ciclo evolutivo de garrapatas de un huésped	67
Figura 5. Frecuencia de sexo	83
Figura 6. Frecuencia de estado reproductivo	84
Figura 7 Baños	84
Figura 8 Producto	85
Figura 9 Dilución	86
Figura 10 Frecuencia de baño	86
Figura 11 Producto de desparasitación	87
Figura 12 Frecuencia de desparasitación	87
Figura 13 Depilación del borde inferior de la oreja	88
Figura 14. Corte del borde inferior de la oreja	88
Figura 15. Colecta de sangre	89
Figura 16. Visualización al microscopio	90
Figura 17. Animales positivos a Hemoparásitos	92

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Frecuencia de sexo	101
Anexo B. Frecuencia de estado reproductivo	101
Anexo C. Frecuencia del estado de mucosas	101
Anexo D. Análisis unidimensional frecuencia cardiaca	102
Anexo E. Análisis unidimensional frecuencia respiratoria	102
Anexo F. Análisis unidimensional tiempo de llenado capilar	102
Anexo G. Análisis unidimensional temperatura	102
Anexo H. Análisis unidimensional condición corporal	103
Anexo I. Análisis unidimensional hematocrito	103
Anexo J. Historia Clínica	104

GLOSARIO

Anemia: disminución del contenido de hemoglobina de la sangre, acompañado o no de un descenso en el número de glóbulos rojos.

Anticuerpo: sustancia producida por los linfocitos B, como reacción a un antígeno. Formada por cuatro cadenas de polipéptidos unidas por puentes disulfuro.

Antígeno: proteína o marcador capaz de producir una respuesta inmunitaria, es decir la producción de anticuerpos.

Eritrocito: glóbulo rojo maduro de la sangre.

Esplenectomizado: animal que ha sufrido la extirpación quirúrgica del bazo.

Enzoótico: enfermedad que acomete a una o más especies animales en determinado territorio.

Fagocitosis: proceso por el cual los fagocitos (neutrófilos, monocitos y macrófagos), ingieren y destruyen microorganismos, antígenos extraños y residuos celulares.

Frotis sanguíneo: gota de sangre anticoagulada colocada en una fina línea en el porta de cristal de un microscopio para poder examinar, contar y caracterizar los glóbulos sanguíneos.

Granulocito: leucocito granular, polimorfonuclear (neutrófilos, eosinófilo o basófilo).

Hemoglobinemia: presencia de hemoglobina en el plasma sanguíneo.

Hemoglobinuria: presencia de hemoglobina libre en la orina.

Hemoparásito: parásito de la sangre.

Ictericia: síndrome caracterizado por un exceso de pigmentos biliares (bilirrubina y derivados) en la sangre que impregnan la piel y las mucosas dándoles una coloración amarilla.

Inoculación: inyección o introducción de un antígeno o microorganismo en una persona, animal, órgano, solución, medio de cultivo u otro aparato de laboratorio.

Ixodes: género de garrapata de la familia ixodidos.

Neutrófilo: glóbulo blanco granular de la sangre el tipo más común de leucocito.

Parasitemia: presencia de parásitos en la sangre.

Protozario: microorganismo unicelular perteneciente al filum Protozoa del reino protista.

Reticulocito: ultimo estado de inmadurez de un glóbulo rojo.

Virulencia: patogenicidad relativa de un microorganismo.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el municipio de San Bernardo, ubicado al nororiente del departamento de Nariño, donde se muestrearon 241 bovinos mestizos, durante el periodo comprendido entre Junio-Agosto del año 2009 con el fin de determinar la prevalencia de hemoparásitos (*Anaplasma spp* y *Babesia spp*).

Las muestras fueron tomadas del borde inferior de la oreja y posteriormente se transportaron hasta el laboratorio de la Clínica Veterinaria Carlos Martínez Hoyos de la Universidad de Nariño, para su procesamiento, evaluándose hematocrito y un frotis teñido con la coloración de Giemsa.

La prevalencia determinada en este trabajo para *Anaplasma spp* y *Babesia spp* mediante frotis sanguíneo en el municipio de San Bernardo fue de 0,41%, para cada tipo de parásito.

Además se relacionó los valores de hematocrito de los animales que resultaron positivos a hemoparásitos con el promedio de hematocrito de los animales sanos con respecto a la edad.

ABSTRACT

This work was carried out in the municipality of San Bernardo, located northeast of the department of Nariño located 1 °30'00 "latitud e and 72 degrees west longitude 72°02'00". It is distanced 77 km from the capital of Nariño Pasto.

241 half-breed cattle were sampled during the period from June to August of 2009.

Samples were taken from the lower edge of the ear; hair removal in the region previously, blood was collected into tubes with anticoagulant. The samples were transported to the laboratory of Carlos Martinez Hoyos Veterinary Clinic of the University of Nariño, for processing. For each sample, hematocrit was obtained and a smear stained with Giemsa staining.

For each animal sampled were filled out a medical history, where data was entered animal physiological constants, anamnestic and driving conditions of the site of origin.

This study determines the prevalence of hemoparasites (*Babesia spp* and *Anaplasma spp*)

It linked the hematocrit of animals that were positive to Hemoparasites with average hematocrit of healthy animals with respect to age.

INTRODUCCIÓN

El término hemoparásitos incluye todos aquellos organismos que viven en la sangre de su huésped, ya sea dentro de las células sanguíneas (glóbulos rojos y blancos) o libremente en el plasma. En este trabajo se incluyeron dos géneros de hemoparásitos que son de importancia en nuestro país *Anaplasma spp* y *Babesia spp*.

La epidemiología de estos hemoparásitos está ligada a la presencia de sus vectores: artrópodos, moscas y tábanos.

Corona expresa que: “los hemoparásitos representan una de las principales causas de pérdidas económicas en países tropicales y subtropicales”¹.

Según la Corporación Colombiana de Investigación: “Constituyen una considerable fuente de pérdidas para las ganaderías bovinas, en las regiones ubicadas entre las latitudes 32 Norte y 32 Sur; las cuales están representadas, entre otras por: retraso en el desarrollo de las crías, disminución en la producción láctea, disminución en la natalidad, pérdida de peso, tratamientos, abortos, muertes”².

De acuerdo con la Corporación Colombiana de Investigación: “*Anaplasma marginale* es el hemoparásito más común en nuestro país. La enfermedad presenta síntomas diversos no típicos como decaimiento, fiebre, anemia, ictericia, inapetencia, suspensión de la producción de leche y muerte. En Colombia, las enfermedades por hemoparásitos causan pérdidas superiores a las producidas por la fiebre aftosa”³.

¹CORONA, Belkis; RODRIGUEZ, Majela y MARTINEZ, Siomara. Anaplasmosis bovina (en línea).En: Revista electrónica de veterinaria REDVET en Cuba (la habana): Abril 2004 (consultada: 25 enero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040405.html>.

²CORPORACIÓN DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Epidemiología, Diagnostico y Control de Enfermedades Parasitarias en Bovinos. Medellín: Piloto S.A.1996. p.26

³ Ibid., p. 7

García et al.⁴, Argumenta que La babesiosis bovina es un complejo infeccioso formado por dos enfermedades producidas por microorganismos del género *Babesia*. Una es la enfermedad causada por *Babesia bovis* que se caracteriza por producir una patología hematológica y neurológica con signos nerviosos, esta es la forma más grave de la babesiosis bovina; la otra forma es la producida por *Babesia bigemina* que causa una severa patología hemolítica, en condiciones naturales ambas enfermedades se presentan como co-infección con alta frecuencia causando una condición patológica con severo daño e incluso la muerte de los animales, particularmente en ganado susceptible.

⁴ GARCIA et al., Babesiosis Bovina, características relevantes de la respuesta inmune. (En línea). En: Revista ciencia veterinaria vol. 9 (México): Septiembre 2003 (consultada: 3 febrero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol9/CVv9c4.pdf>

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Debido a su ubicación geográfica y clima apto para la presencia de los vectores de hemoparásitos, el municipio de San Bernardo es un lugar propicio para la presentación de infecciones por hemoparásitos en bovinos.

Este trabajo pretende brindar bases para establecer la importancia de esta patología en el municipio, teniendo en cuenta su importancia a nivel mundial y de manera especial en los países tropicales y subtropicales como en el caso de Colombia, así también servir de base para la realización de estudios posteriores en esta zona que aporten al desarrollo del sector ganadero.

En Nariño se han realizado estudios que han permitido establecer la prevalencia de hemoparásitos en algunos municipios del departamento así:

Según Guerrero e Iguá⁵, la prevalencia de hemoparásitos en los municipios de Imues y Guaitarilla es del 12.5%, correspondiente a 8.34% la prevalencia de Anaplasma y 4.16% la prevalencia de Babesia.

Enríquez y Muñoz reportan⁶, que la presencia de enfermedad hemoparasitaria en el municipio de la Florida es de 5.6%.

Muñoz y Ortega afirman⁷, que en el municipio de Taminango existe una prevalencia del 4.83% para Anaplasma y del 13.79% para Babesia.

⁵ GUERRERO ORTIZ, Víctor Mauricio. IGUA BARCENAS, Edgar Andrés. Determinación y asociación hematológica de las enfermedades hemoparasitarias presentes en los municipios de Imues y Guaitarilla Departamento de Nariño. Tesis de Grado (Médico Veterinario). Universidad de Nariño, facultad de ciencias pecuarias. 2006. p.69

⁶ ENRIQUEZ CAMPO, Alexander. MUÑOZ RECALDE, Claudio Alexander. Determinación del estado y manejo de enfermedades hemoparasitarias presentes en los bovinos localizados en el sector rural del municipio de la Florida departamento de Nariño. Tesis de Grado (medico veterinario). Universidad de Nariño, facultad de ciencias pecuarias. 2004. p.52

⁷ MUÑOZ CASTILLO Danilo. ORTEGA MUÑOZ, José Luis. Prevalencia de Hemoparásitos en Bovinos del municipio de Taminango (Nariño). Tesis de Grado (zootecnistas). Universidad de Nariño, facultad de Zootecnia. 1985.p.66

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es la prevalencia de hemoparásitos *Anaplasma spp* y *Babesia spp* en bovinos mestizos del municipio de San Bernardo Nariño mediante frotis sanguíneo?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de hemoparásitos *Anaplasma spp* y *Babesia spp* en bovinos mestizos del municipio de San Bernardo Nariño mediante frotis sanguíneo durante el periodo de junio- agosto 2009.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la prevalencia de hemoparásitos *Anaplasma spp* y *Babesia spp* en bovinos mestizos de todas las edades en el municipio de San Bernardo Nariño durante el periodo Junio-Agosto de 2009.
- Determinar la prevalencia de hemoparásitos *Anaplasma spp* y *Babesia spp* en bovinos mestizos en el municipio de San Bernardo teniendo en cuenta el sexo durante el periodo Junio-Agosto de 2009.
- Relacionar los valores de Hematocrito, con la presencia de hemoparásitos *Anaplasma spp* y *Babesia spp*.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 ANAPLASMOSIS

Sinonimias: Según Rivera⁸, Enfermedad de la bilis (Gall sickness), Ranilla blanca.

Para Blood y Radostits: “La anaplasmosis de bovinos, caprinos, y ovinos está causada por la infección por especies de *Anaplasma*. En bovinos los signos clínicos principales son debilidad intensa, emaciación, anemia e ictericia”⁹.

4.1.1 Clasificación taxonómica. Según la OIE: “*Anaplasma marginale* es una rickettsia del genogrupo II de las Ehrlichias, que parasita los eritrocitos maduros del ganado bovino. Se clasifica dentro del orden Rickettsiales, familia Anaplasmataceae, género *Anaplasma*”¹⁰.

Kokan et al. afirma que:

Dentro del género *Anaplasma* se incluyen tres especies que infectan a los rumiantes: *Anaplasma marginale*, *Anaplasma marginale subespecie centrale* y *Anaplasma ovis*.

La anaplasmosis bovina es causada primariamente por *Anaplasma marginale*, el cual es responsable de casi todos los brotes de la enfermedad clínica. *Anaplasma centrale* es menos patógena y se ha usado en vacunas vivas en Israel, Australia, y Suramérica. La infección con este organismo, en ocasiones causa enfermedad clínica. *Anaplasma ovis*, es patógeno de ovinos y no establece infecciones persistentes en bovinos¹¹.

⁸ RIVERA A. Manuel. Hemoparasitosis Bovinas. Caracas: UCV, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 1996. p.169

⁹ BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Medicina Veterinaria. 7 Ed. Vol. 2. México: Mc Graw Hill – Interamericana. 1992. p. 1038

¹⁰ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES. Babesiosis Bovina. 2004. (En línea) (Consultada: 9 enero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.oie.int/es: index.htm>

¹¹ KOKAN et al., Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. (En línea). En : clinical Microbiology reviews.(Consultada 20 enero 2009) Disponible en la dirección electrónica : <http://cmr.asm.org/>

4.1.2 Caracteres morfofuncionales y culturales Rivera expresa:

Anaplasma marginale se comporta como un parasito obligatorio intraeritrocitico, está ampliamente distribuido en áreas tropicales y subtropicales, así como en algunas zonas templadas del mundo. Al microscopio óptico, se presenta como corpúsculos esféricos de 0,3-1,0 um de diámetro, los cuales se tiñen de color azul purpura con el colorante de Giemsa. Se ubican de preferencia en la porción marginal de los eritrocitos¹².

Según Medway, Prier y Wilkinson: “Una pequeña proporción generalmente menos de 15% se encuentran en una situación casi central”¹³.

Rivera dice que:

A. marginale está constituido por elementos denominados cuerpos iniciales, en número que oscila entre 1 y 8. Cada cuerpo tiene un diámetro de 0,3-0,4 um.

Los cuerpos iniciales están formados por material fibrilar y varios gránulos electrodensos que contienen hierro, ADN y ARN.

Estos cuerpos o subunidades están rodeados por la membrana plasmática y la pared celular y las mismas están contenidas en una membrana común denominada membrana limitante, todo esto aparece dentro de una vacuola parasitófora en el interior de los eritrocitos.

Se presentan dos formas de *A. marginale*. Una corresponde al clásico cuerpo marginal que se puede observar fácilmente con tinciones de Giemsa o Wright y la otra, que consiste en el cuerpo marginal y además un apéndice que muchas veces aparece como una cola. Este apéndice no forma parte de *A. marginale*, pudiendo presentarse como apéndices múltiples, o como un apéndice uniendo dos cuerpos marginales. Este apéndice es el resultado de una reorganización de proteínas del eritrocito, tiende a presentarse entre las cepas de campo¹⁴.

¹² RIVERA A. Manuel. Op. Cit., p.169

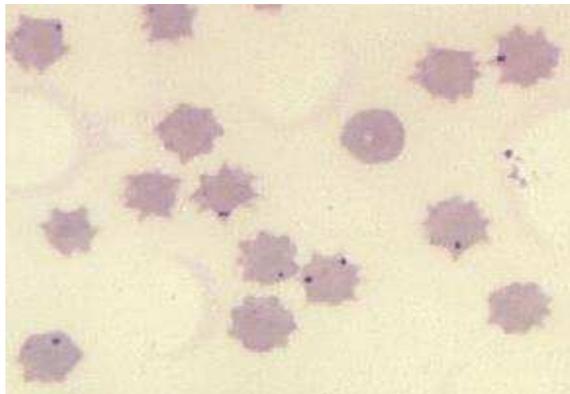
¹³ MEDWAY. PRIER. WILKINSON. Patología Clínica Veterinaria. UTEHA. 1 Ed. México.1990. p.364

¹⁴ RIVERA A. Manuel. Op. Cit., p.170

Corona expresa que:

A. marginale se caracteriza por producir catalasas, no producir pigmentos y no formar esporas u otros estados de resistencia. Es sensible a la tetraciclina e insensible a las penicilinas, sulfonamidas, estreptomycin y arsenicales. Su infectividad puede ser destruida al exponerlo a 60°C, al menos por 50 minutos y a rayos X o a sonicación a 35°C por 90 minutos ¹⁵.

Figura 1. *Anaplasma marginale*



Fuente: <http://www.vet-uy.com/articulos/bovinos/100/0052/images/image005.jpg>

4.1.3 Transmisión. Para Corona:

El estudio de la transmisión de *A. marginale* es de importancia para establecer un control efectivo de la enfermedad.

Las vías más importantes de transmisión de la enfermedad son : la mecánica en la que se introducen directamente los eritrocitos infectados, ya sea por inoculación natural a través de picaduras de artrópodos hematófagos parasitados o artificialmente con objetos punzantes contaminados y la transmisión vertical de tipo placenta-feto, cuando la madre sufre anaplasmosis aguda¹⁶.

¹⁵ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit. p.2

¹⁶ Ibid., 8

Kokan et al. dice:

Anaplasma marginale puede ser transmitido mecánicamente por insectos voladores o fómites contaminados con sangre infectada como agujas, equipos de descórne, tenazas nasales, instrumentos de tatuajes, perforadores de orejas e instrumentos de castración.

Se ha establecido la transmisión mecánica por insectos chupadores de sangre Díptera del género tabanidae, stomoxys y mosquitos.

Esta forma de transmisión mecánica es considerada como la mayor ruta de diseminación de *A. marginale*, en áreas de América del Sur, América Central y África donde la transmisión por garrapatas vectoras no ocurre.

La transmisión biológica de *A. marginale* es efectuada por garrapatas y aproximadamente 20 especies de garrapatas se describen como vectores alrededor del mundo¹⁷.

Según la OIE: “Entre estas se mencionan: *Argas persicus*, *Ornithodoros lahorensis*, *Boophilus annulatus*, *B. decoloratus*, *B. microplus*, *Dermacentor albipictus*, *D. andersoni*, *D. occidentalis*, *D. variabilis*, *Hyalomma excavatum*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus bursa*, *R. sanguineus* and *R. simus*”¹⁸.

Según la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria: “ Los géneros de garrapatas encontrados en Colombia son: *Bophilus*, *Ixodes*, *Amblyomma*, *Ripicephalus*, *Argas*, *Ornithodoros* y *Antricola*”¹⁹.

La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria²⁰, expresa que Estudios realizados en Córdoba establecen como vectores a *Boophilus microplus* moscas y tábanos, además se considera una forma de infección las prácticas de manejo inadecuadamente realizadas durante castraciones, descornes y vacunaciones masivas.

Kokan et al., comenta que: “Adicionalmente a la trasmisión mecánica y biológica, *A. marginale* puede ser transmitido de la vaca al ternero durante la gestación vía transplacentaria”²¹.

Como expresa Rivera²², esta forma de transmisión se presenta principalmente en

¹⁷ KOKAN, et al., Op. Cit.

¹⁸ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES Op. Cit

¹⁹ CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op. Cit., p15

²⁰ Ibid., p. 26

²¹ KOKAN et al., Op. Cit.

²² RIVERA A. Manuel. Op. Cit., p.174

el tercer trimestre de la gestación, y debe ser tomada en cuenta como factor de riesgo en zonas donde la anaplasmosis es endémica.

4.1.4 **Ciclo biológico.** Kokan et al. manifiesta :

El desarrollo del ciclo de *A. marginale* en la garrapata es complejo y coordinado con el ciclo de alimentación de la garrapata.

Los eritrocitos infectados, provenientes de la sangre ingerida por las garrapatas, son la fuente de infección para las células intestinales.

Muchos otros tejidos se infectan, incluyendo las glándulas salivares, desde donde son transmitidas las rickettsias a los vertebrados cuando las garrapatas se alimentan.

En cada sitio de infección *A. marginale* se desarrolla dentro de unas vacuolas o colonias, la primera forma en aparecer dentro de las vacuolas es la forma vegetativa (reticulada), la cual se divide por fisión binaria, formando grandes colonias que pueden contener cientos de microorganismos, la forma vegetativa cambia a forma densa, la cual es la forma infectiva y puede sobrevivir fuera de la célula huésped. Los bovinos se infectan cuando la forma densa es transmitida vía glándula salivar durante la alimentación de las garrapatas²³.

Rivera manifiesta que:

En el bovino, la interacción del parásito con su célula hospedadora se inicia con el contacto físico entre la subunidad infectiva de *Anaplasma* y el eritrocito. El eritrocito se deforma e inicia un proceso de invaginación que va a englobar a la subunidad a través de estructuras semejantes a pseudópodos.

El proceso de invasión celular se completa al fusionarse estas estructuras, formándose una vacuola parasitófora que contiene la unidad. Dentro de la vacuola, la subunidad comienza a experimentar cambios morfológicos, inicialmente toma forma poliédrica.

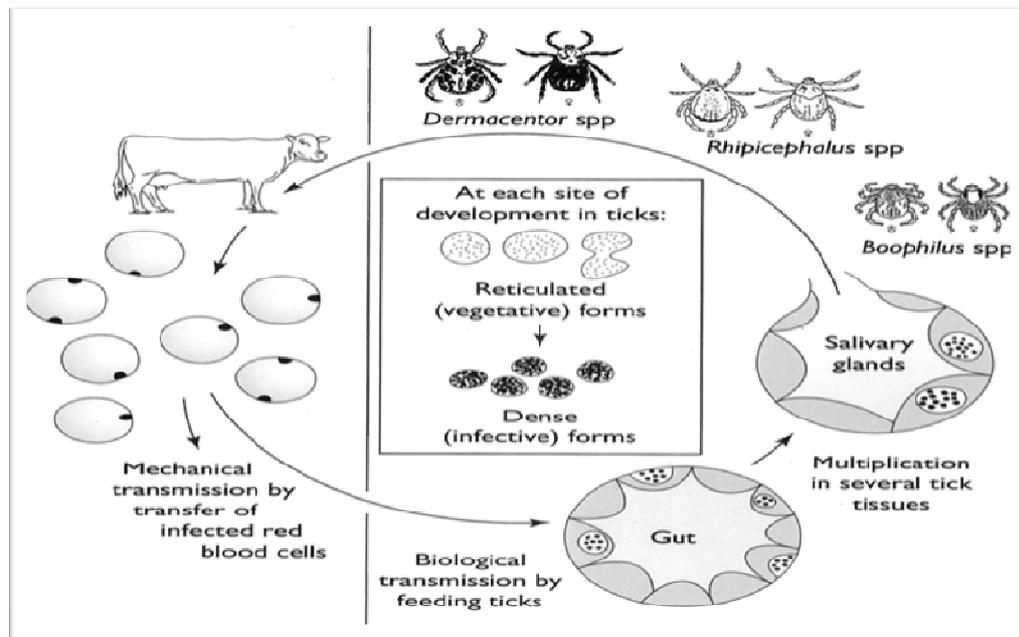
El proceso de división se inicia por invaginación de la membrana plasmática del parásito, comenzando por un extremo y siguiendo la línea media. Este proceso se repite para formar un número variable de subunidades.

El proceso culmina con la salida de las subunidades iniciales y el resto del

²³ KOKAN et al., Op. Cit

material que se encuentra dentro de la vacuola²⁴.

Figura 2. Ciclo biológico de *Anaplasma marginale*



Fuente: KOKAN, Katherine. DE LA FUENTE, José. GUGLIELMONE, Alberto. MELENDEZ Roy. Antigenes and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. (En línea). En: clinical Microbiology reviews. (Consultada 20 enero 2009) Disponible en la dirección electrónica : <http://cmr.asm.org/>

4.1.5 Patogenia. Kokan et al. dice:

El periodo de incubación de la infección depende del número de organismos presentes en la dosis infectante, el rango varía desde 7 - 60 días con un promedio de 28 días, después de la infección eritrocítica el número de parásitos incrementa geoméricamente. Los eritrocitos infectados son fagocitados por células reticuloendoteliales, resultando en el desarrollo de anemia e ictericia, sin hemoglobinemia, ni hemoglobinuria²⁵.

Rivera expresa: "*A. marginale* se multiplica en el interior de los eritrocitos por fisión

²⁴ RIVERA A. Manuel. Op. Cit., p.174

²⁵ KOKAN et al., Op. Cit

binaria para producir entre 2 y 8 cuerpos iniciales o subunidades. Estas subunidades abandonan los eritrocitos, sin lisarlos, para infectar nuevas células rojas. Este proceso de invasión, multiplicación y salida tiene un periodo de duración que oscila entre 24 y 48 horas²⁶

Kokan et al. afirma: "La rickettsemia se duplica aproximadamente cada 24 horas en la fase de crecimiento exponencial. Generalmente el 10-30% de los eritrocitos se infectan en el pico de rickettsemia, aunque puede elevarse hasta el 65%"²⁷.

Como Corona Expresa:

Un animal infectado no presenta síntomas clínicos hasta que más de un 15 % de los eritrocitos no hayan sido parasitados. En ese momento, la Parasitemia comienza a incrementarse geométricamente y posteriormente los eritrocitos infectados se eliminan del torrente circulatorio mediante fagocitosis por las células del sistema reticuloendotelial del bazo, hígado y nódulos linfáticos; produciéndose el desarrollo de una fase de inflamación aguda²⁸.

Para Rivera: "*A. marginale* produce anemia progresiva, con un máximo asociado a la parasitemia, esto ocurre 1-3 días antes del pico y generalmente de 2-3 semanas post-infección. Inicialmente la anemia es de tipo normocítica y posteriormente macrocítica, con hiperplasia compensatoria de la médula ósea, observándose granulocitosis, reticulocitosis, indicativos de una eritropoyesis aumentada"²⁹.

Corona afirma que:

La primera aparición del parásito en la sangre, coincide con una caída del hematocrito y en el nivel de eritrocitos, con aparición de eritrocitos inmaduros en frotis de sangre y fiebre. Los animales con afectación aguda pueden morir poco después de llegar a esta fase.

La infección puede diagnosticarse por microscopía entre 20 y 40 días después de la transmisión, dependiendo del número de microorganismos transmitidos y

²⁶ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p.178

²⁷ KOKAN et al., Op. Cit

²⁸ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.10

²⁹ RIVERA A. Manuel Op. cit., p.178

de la virulencia de la cepa³⁰.

Rivera afirma que: "En animales preñados, se presenta anoxia fetal que acompaña a la anemia materna y resulta en muerte fetal y aborto. La muerte fetal y aborto generalmente se presentan en periodos de tiempo que oscilan entre 24 y 36 horas, luego del pico de parasitemia"³¹.

Para Blood, y Radostits: "Si el animal se recupera del ataque agudo inicial, ocurren crisis periódicas por la invasión de los eritrocitos maduros por parásitos, aunque de intensidad decreciente. El grado de anemia varía ampliamente en bovinos jóvenes de más de 3 años, pero siempre es grave en animales adultos y esplenectomizados"³².

4.1.6 **Signos clínicos.** Como dice Rivera:

En animales menores de 1 año de edad la anaplasmosis normalmente es subclínica, en animales de 2 años de edad es moderadamente grave, y en animales de más edad es grave y con frecuencia mortal.

Las razas de ganado vacuno *Bos indicus* poseen mayor resistencia que las razas *Bos taurus* a la infección por *A. marginale*, pero hay variaciones en la resistencia de los individuos de ambas especies.

El curso de la anaplasmosis puede dividirse en cuatro estados: incubación, desarrollo, convalecencia y estado de portador.

El periodo de incubación comprende desde la inoculación del agente causal hasta que aproximadamente 1,0% de los eritrocitos son parasitados; la duración está en relación con la cantidad de organismos inoculados y en condiciones naturales, toma de 3-8 semanas. Durante este periodo no se observan signos clínicos, el final coincide con el primer aumento de la temperatura. El estado de desarrollo se refiere al periodo de tiempo cuando la anemia se manifiesta, iniciándose cuando aparece 1,0% de parasitemia y finaliza al presentarse los reticulocitos en sangre periférica. La duración varía entre 4-9 días y aparecen otros signos de la enfermedad hasta que los valores hematológicos se tornan normales; la duración es amplia desde pocas semanas hasta meses³³.

³⁰ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.10

³¹ RIVERA A. Manuel Op. cit., p 181

³² BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M.Op, Cit., p. 1039

³³ RIVERA A. Manuel Op. Cit ., p. 186

Según Ferreira: “La diferente virulencia entre cepas de *A. marginale* también desempeña un papel en la gravedad de las manifestaciones clínicas.

El síndrome clínico de la anaplasmosis se puede dividir en: subagudo, agudo, hiperagudo, crónico”³⁴.

Según Blood, y Radostits³⁵, En la presentación subaguda, la temperatura se eleva lentamente y rara vez sobrepasa los 40.5 °C. Puede permanecer elevada o fluctuar con periodos irregulares de fiebre y temperatura normal desde varios días hasta 2 semanas. Las mucosas están ictéricas y se presenta anorexia.

El animal puede morir en esta etapa, pero muchos sobreviven en una condición emaciada y con su fertilidad disminuida. Presentan palidez de las mucosas, e ictericia sin hemoglobinuria. Esta forma generalmente se presenta en animales jóvenes.

Como dice Corona: “Los animales que sobreviven a esta fase disminuyen drásticamente la parasitemia y desarrollan una marcada respuesta regenerativa a la anemia, los parámetros hematológicos retornan gradualmente a valores normales después de varias semanas”³⁶.

Rivera afirma que:

En los casos agudos, los signos más evidentes son: fiebre, palidez de mucosas, constipación (heces duras de color negro), o diarrea, inapetencia enflaquecimiento, disminución en la producción de leche y ocasionalmente ictericia, al extraer sangre esta presenta un aspecto diluido, atonía gastrointestinal, y en casos avanzados, temblores musculares, deshidratación, postración y muerte. En toros se presenta infertilidad temporal caracterizada por degeneración testicular y disminución de la libido³⁷.

Blood y Radostits afirman que: “La forma hiperaguda se presenta con una elevación repentina de la fiebre, ictericia, disnea intensa y muerte en 24 horas, las vacas preñadas frecuentemente abortan, en toros convalecientes puede haber una depresión de la función testicular durante varios meses, esta forma se presenta en animales adultos y no es rara en vacas lecheras”³⁸.

³⁴ FERREIRA DE LA CUESTA, Op. cit., p.440

³⁵ BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Op. Cit., p.1039

³⁶ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.11

³⁷ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p.186

³⁸ BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Op. Cit., p.1040

Rivera comenta que:

Los animales recuperados pueden permanecer infectados persistentemente con bajos niveles de parasitemia, que fluctúa por periodos largos de tiempo. Estos animales son portadores asintomáticos de la enfermedad, en los cuales la enfermedad es difícil de diagnosticar por métodos tradicionales.

El estado de portador corresponde al tiempo desde que no se observan cuerpos de *A. marginale* en frotis delgados³⁹.

Para Rivera: “Estos portadores, aunque están protegidos contra la enfermedad clínica, sirven de reservorios para la transmisión a través de vectores, en estos animales los niveles de rickettsemia varían marcadamente, como reflejo de la multiplicación cíclica del parásito”⁴⁰.

Según Corona: “Estos animales afectados pueden desarrollar la forma crónica de la enfermedad sin manifestaciones clínicas. Esta forma además de presentarse como secuela de la convalecencia de las infecciones agudas, también puede ser el resultado de una infección inducida con cepas atenuadas (premunización)”⁴¹.

4.1.7 Inmunología. Para Corona:

El ganado puede contraer la enfermedad a cualquier edad, sin embargo la mortalidad y severidad aumentan con la misma. Los terneros menores de 6 meses exhiben una resistencia natural, pues aun cuando se infectan, raramente exhiben los signos clínicos. El ganado entre 6 meses y 3 años comienza a incrementar el padecimiento y ocurren más muertes con el avance de la edad. En general la parasitemia y la anemia son menos graves en los animales jóvenes, posiblemente debido a que la respuesta inmune celular es mayor por la competencia del timo, y debido a que el sistema hematopoyético es más activo⁴².

³⁹ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p. 187

⁴⁰ Ibid. p.189

⁴¹ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.11

⁴² Ibid. p.11

Rivera comenta que:

Sobre la naturaleza antigénica de *A. marginale*, con base en criterios sobre origen y localización, los antígenos se pueden clasificar en: 1) Antígenos internos o somáticos, asociados con el cuerpo inicial o marginal del Anaplasma y los antígenos solubles intraeritrocíticos se incluyen en este grupo; 2) Antígenos de secreción-excreción o metabólicos, los cuales se liberan hacia sobrenadantes en cultivos o hacia el suero; 3) Antígenos de superficie, incluyendo los de la superficie de los eritrocitos parasitados.

La inmunidad protectora en anaplasmosis está asociada a la presencia del agente infeccioso en el organismo animal, condición que se conoce como premunición, inmunidad coinfecciosa o inmunidad concomitante, sin embargo el estado de inmunidad persiste después de la eliminación del agente etiológico utilizando quimioterápicos, condición que se denomina inmunidad estéril⁴³.

Corona dice que: "*A. marginale* induce en el organismo respuesta humoral y mediada por células, sin embargo, los anticuerpos al parecer juegan un papel menos importante"⁴⁴.

Rivera comenta que: "El desarrollo de la respuesta inmune, protectora es seguido por la inducción de una respuesta autoinmune, la cual está asociada a la patogénesis de la anemia en esta enfermedad"⁴⁵.

Corona dice que: "Los animales infectados desarrollan anticuerpos, fundamentalmente del tipo IgG y exhiben durante las últimas etapas de la infección aguda una respuesta mediada por células, en la que aparecen los macrófagos activados segregando IFN- γ , que estimula fuertemente la proliferación de linfocitos de sangre periférica"⁴⁶.

Según Rivera:

La respuesta en la producción de inmunoglobulinas durante la fase aguda de la enfermedad, ha sido estudiada, en animales intactos como

⁴³ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p. 182

⁴⁴ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.12

⁴⁵ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p. 183

⁴⁶ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.11

esplenectomizados. En animales intactos, los niveles de IgG aumentan a los 7 días postinfección y persisten por largos periodos de tiempo.

En los animales esplenectomizados, solamente los niveles de IgM aumentan en algunos animales antes de la muerte. La severidad de la anaplasmosis en los esplenectomizados resulta en una disminución en la sensibilidad a los antígenos del parásito, conduciendo a una síntesis retardada de anticuerpos y a una fagocitosis defectuosa debido a la ausencia del Sistema Retículo Endotelial del bazo⁴⁷.

Según Corona: “El ganado que se recupera de una infección aguda y que por tanto a tenido una infección preinmune por un aislamiento medianamente virulento de *A. marginale* o *A. centrale* desarrolla resistencia a una reinfección con la misma cepa. En algunos casos el ganado recuperado queda desprotegido o parcialmente protegido contra aislamientos heterólogos”⁴⁸.

Rivera afirma que: “Los animales que superan la etapa crítica de la enfermedad, se convierten en portadores y los parásitos no pueden ser detectados en frotis de sangre o escasamente llegan a valores de 1% de eritrocitos infectados. Así mismo, la existencia del parásito asegura un estímulo inmunogénico constante que mantiene la inmunidad protectora”⁴⁹.

Rivera reporta que:

Vía calostro se produce la transferencia de anticuerpos anti *A. marginale* a partir de madres en estado portador a su descendencia. Los títulos de estos anticuerpos en el calostro son máximos a la hora 0 y decrecen a valores mínimos a las 48 horas postparto. Los títulos de anticuerpos anti Anaplasma del suero de terneros alimentados con el calostro aumentan y se mantienen elevados hasta 12 horas, notándose un pequeño descenso a las 24-48 horas⁵⁰.

⁴⁷ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p.183

⁴⁸ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.12

⁴⁹ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p.182

⁵⁰ Ibid. p., p.184

4.1.8 Diagnóstico. Según Corona:

El control de la anaplasmosis, además de requerir de una vacuna efectiva, necesita de métodos de diagnóstico que permitan conocer la prevalencia del microorganismo en las diferentes zonas de los países tropicales y subtropicales, además que permitan identificar de forma segura a los animales portadores para el movimiento de animales a zonas libres del hemoparásito.

El diagnóstico diferencial de fiebre, anemia hemolítica aguda e ictericia en el ganado adulto incluye babesiosis, eperytozoonosis, theileriosis, leptospirosis, hemoglobinuria bacilar, hemoglobinuria postparto, toxicidad por plantas y ántrax. La ausencia de hemoglobinuria en caso de anemia aguda, apoyada por la identificación positiva del eritrocito parasitado, diferencia estas otras enfermedades hemolíticas de la anaplasmosis clínica.

El diagnóstico de la anaplasmosis se dificulta debido fundamentalmente a lo difícil de detectar los portadores, ya que no hay síntomas clínicos que lo diferencien de los bovinos no infectados y los cuerpos de inclusión dentro de los glóbulos rojos no son lo suficientemente numerosos como para ser detectados⁵¹.

Corona⁵², dice que entre los métodos de diagnóstico se encuentran los que permiten la identificación del agente: frotis teñidos con Giemsa, técnicas moleculares (hibridación de ácidos nucleicos y PCR), e inoculación del agente en animales esplenectomizados.

Entre las pruebas serológicas se encuentran: fijación del complemento, aglutinación en tubos capilares, aglutinación rápida en tarjeta, inmunofluorescencia indirecta, DOT- ELISA y ELISA.

4.1.8.1 Tinción con Giemsa. Según corona:

Entre otras técnicas utilizadas para detectar el organismo se incluye la tinción con Giemsa a los frotis de sangre. Sin embargo, cuando el animal está en la fase crónica o en el estadio de portador no expresa un elevado nivel de parasitemia como para ser detectado por la tinción.

⁵¹CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.11

⁵² Ibid., p. 14

La tinción con Giemsa es un método confiable, económico y capaz de detectar niveles de parasitemia de 0.1 a 0.2%, o sea sólo puede detectar niveles mayores a 10^6 eritrocitos infectados por mililitro de sangre, además, resulta tedioso, no apropiado para un gran número de muestras e incapaz de discernir con facilidad cuando el eritrocito está invadido por *A. marginale* o por *A. centrale*⁵³.

4.1.8.2 **Técnicas moleculares.** Corona afirma:

Las sondas de ácidos nucleicos, las cuales hibridan solamente con su secuencia complementaria, constituyen una prueba sensible y específica para el diagnóstico.

Además la intensidad de la señal de hibridación obtenida se correlaciona con el número de parásitos, dando información del nivel de parasitemia.

En el diagnóstico de *A. marginale* se han utilizado sondas de ADN genómico y recombinantes, basadas en ADN o ARN, pero en ocasiones la limitada sensibilidad de la sonda prohíbe la detección de portadores sanos con muy bajo nivel de parasitemia.

Con una sonda de ARNm derivada del gen *msp1 α* , se logró mejorar la sensibilidad detectándose niveles de parasitemia entre 0.0025 y 0.000025 % en los portadores sanos.

Esto hace que la prueba sea 4000 veces más sensible que la microscopia óptica, además de que es capaz de detectar la infección en estadios tempranos, lo que resulta de gran importancia para evitar las pérdidas que ocasiona esta enfermedad.

La sensibilidad de este ensayo es útil para la detección de niveles de infección en garrapatas y para la identificación de ganado persistentemente infectado, además de determinar la prevalencia e incidencia de garrapatas infectadas en áreas enzoóticas.

PCR "nested" acoplado con análisis de secuencia e hibridación para identificar el gen *msp5* de *A. marginale*, es capaz de detectar hasta 30 eritrocitos infectados por ml de sangre, lo cual lo hace de 10-100 veces más sensible que los PCR previamente descritos, sondas de ARN y ensayos de hibridación⁵⁴.

⁵³ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p 16

⁵⁴ Ibid., p 16

4.1.8.3 Pruebas serológicas. Rivera afirma que:

El diagnóstico de los casos agudos se realiza mediante el reconocimiento de los signos clínicos, lesiones postmortem y la confirmación, evidenciando el agente causal en extendidos de sangre. Sin embargo en los animales que se recuperan, la parasitemia es considerablemente baja o imperceptible por las técnicas directas y es necesario utilizar métodos serológicos, los cuales permiten poner en evidencia anticuerpos anti *A. marginale* en el suero de estos bovinos y son útiles para estudiar el comportamiento epidemiológico de las enfermedades⁵⁵.

Según la OIE:

Las pruebas serológicas son de gran importancia para estudios epidemiológicos con el objetivo de caracterizar áreas de estabilidad e inestabilidad enzoótica. La aplicación de estas pruebas resulta relevante en lugares donde se practique el control intensivo de garrapatas, en los centros de inseminación y transferencia de embriones, así como en los lugares donde se produzcan animales de elite o reproductores puros, relacionados también con la industria lechera.

Las pruebas serológicas más utilizadas han sido la fijación del complemento (FC) y las pruebas de aglutinación en placa. Sin embargo, datos recientes confirman que la prueba FC presenta una sensibilidad baja (20%) que resulta inaceptable para la identificación de ganado con infección persistente. Por consiguiente la prueba FC debe considerarse como una prueba poco fiable para certificar el estado de animales individuales. Para la detección de animales portadores se ha demostrado que un ensayo de inmunoenzima competitivo (C-ELISA), disponible comercialmente, presenta una sensibilidad mejorada (96%).

También pueden utilizarse pruebas ELISA indirectas, ELISA puntuales y de inmunofluorescencia indirecta⁵⁶.

⁵⁵ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p.197

⁵⁶ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES Op. Cit, p.534

4.1.8.4 **Fijación de complemento.** Corona expresa que:

Esta prueba utiliza el proceso estándar de fijación del complemento. El antígeno consiste de cuerpos de *Anaplasma* que han sido separados del eritrocito por lisis.

La fijación del complemento ha sido uno de los métodos más utilizados para detectar animales infectados con *A. marginale*, en el campo. A pesar de que esta técnica ha sido utilizada por muchos años, existen evidencias de que le falta sensibilidad y tiene errores por su limitada habilidad para detectar bajos niveles de anticuerpos. Puede ser utilizada como una prueba de monitoreo, pero no para los programas de erradicación, ya que muchos animales infectados pueden ser diagnosticados como negativos, pues no es capaz de detectar anticuerpos contra *A. marginale* en animales portadores. Existen otras desventajas entre las que se encuentran la complejidad y laboriosidad que requiere y la baja especificidad y sensibilidad, sobre todo en países donde hay presentes enfermedades hemoprotozoarias⁵⁷.

4.1.8.5 **Prueba de aglutinación en tubo capilar.** Rivera afirma:

Ristic (1962) desarrolla el test de aglutinación capilar para el diagnóstico serológico de la anaplasmosis bovina. El test consiste en la utilización de tubos capilares de 10 cm de longitud y 0,5 mm de diámetro. Por acción capilar, 1/3 del tubo es llenado con el antígeno el cual es una preparación purificada de cuerpos iniciales y marginales de *A. marginale* y el resto es completado con el suero bovino a examinar, inactivado a 56°C por 30 min. Se colocan en posición vertical sobre un soporte de plastilina y se sellan en la parte superior. Se mantienen a temperatura ambiente y la lectura final se realiza después de 24 horas de montada la prueba.

La aglutinación en tubo capilar (AC) sirve primeramente para la determinación de la infección activa de un animal, pudiendo detectar anticuerpos aproximadamente entre 5-8 días, después de la aparición de los fijadores de complemento, ya que los aglutinantes aparecen entre los 3-4 días después de los fijadores de complemento.

La AC es un método simple y rápido, requiere de un equipo limitado, además de pequeñas cantidades de suero y antígeno⁵⁸.

⁵⁷ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.17

⁵⁸ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p 199

4.1.8.6 Prueba de aglutinación en placa (CAT). Para la OIE:

La ventaja de la CAT es que es una técnica sensible, que puede realizarse en el laboratorio o en el campo, y que proporciona el resultado en unos pocos minutos. Las reacciones inespecíficas pueden ser un problema. El antígeno para CAT es una suspensión de partículas de *A. marginale*. Se infectan terneros esplenectomizados por inoculación intravenosa con sangre que contenga eritrocitos infectados por Anaplasma. Cuando la parasitemia excede 50%, el animal se sangra, los eritrocitos infectados se lavan, se lisan, y las membranas de los eritrocitos y las partículas de Anaplasma se centrifugan. Los sedimentos se sonicán, se lavan, y luego se resuspenden en una solución de colorante para producir la solución de antígeno⁵⁹.

Según Corona⁶⁰, Esta prueba puede rendir un 2% de falsos positivos y un 16% de falsos negativos en un estudio controlado, puede ser desarrollada en el laboratorio o en campo, obteniendo el resultado de pocos minutos.

4.1.8.7 Inmunofluorescencia indirecta de anticuerpos (IFI). Rivera comenta:

La técnica IFI, se basa en la utilización de una molécula fluorescente, conjugada con un anticuerpo que se adhiere a un antígeno específico fijado a un portaobjetos. Para poder visualizar la reacción antígeno anticuerpo, se requiere de un microscopio de luz ultravioleta que excite el componente fluorescente del conjugado. Las moléculas fluorescentes se conocen como fluorocromos y se ha utilizado más ampliamente el isotiocianato de fluoresceína, el cual genera fluorescencia verde brillante y los derivados de la rodamina que producen fluorescencia rojo – naranja⁶¹.

Corona⁶², manifiesta que esta prueba ha sido utilizada para el diagnóstico de anaplasmosis y Frecuentemente se ha considerado una prueba sensible, sin embargo, por sus características en ocasiones se considera no útil, pues pueden ocurrir reacciones falsas positivas, que se atribuyen al largo período de incubación de esta enfermedad.

⁵⁹OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES Op. Cit, p.538

⁶⁰CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.17

⁶¹RIVERA A. Manuel Op. Cit., p.48

⁶²CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., p.17

4.1.8.8 **Ensayo inmunoenzimático.** Según Rivera:

Esta prueba consiste en la utilización de anticuerpos o antígenos que se fijan en forma insoluble a una superficie de transporte. Después son usados para capturar a un antígeno o a un anticuerpo relevante presente en la muestra problema siendo este complejo detectado por un anticuerpo o antígeno marcado por una enzima. La degradación del sustrato de la enzima medida fotométricamente, es proporcional a la concentración del anticuerpo o antígeno desconocido presente en la solución problema.

Este método ofrece una serie de ventajas sobre otras técnicas serológicas, entre ellas se señalan que la reacción puede leerse visualmente, sin la necesidad de equipos costosos, los reactivos utilizados son estables y pueden durar largos periodos sin perder efectividad. La utilización de placas con varios pozos, son fáciles de manejar, lavar y permiten chequear gran cantidad de muestras⁶³.

4.1.8.9 **DOT- ELISA.** Rivera comenta que:

Para el desarrollo de este test se utilizan cuerpos iniciales de *A. marginale* (25 mg de antígeno) fijados a discos de nitrocelulosa. Los complejos antígeno – anticuerpo, se detectan usando un conjugado de proteínas A en fosfato alcalino y la reacción se lee visualmente luego de agregar un sustrato cromogénico. El test permite el análisis de varias muestras en un tiempo menor a las tres horas⁶⁴.

4.1.8.10 **Estudios Postmortem.** Según Ferreira:

La disponibilidad de un animal muerto recientemente permite confirmar el diagnóstico de anaplasmosis.

En el examen postmortem hay hemorragias equimóticas en el epicardio y el corazón está dilatado. El hígado se encuentra anémico e icterico y la vesícula biliar distendida con bilis grumosa oscura. El bazo está aumentado,

⁶³ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p.204

⁶⁴ Ibid., p 206

congestionado y los folículos esplénicos crecidos. En los casos crónicos el parénquima del bazo es firme, rojo oscuro y carnoso⁶⁵.

Para Blood y Radostits: “la identificación postmortem de *A. marginale* puede ser establecida tiñendo frotis de sangre con Giemsa y con fluorescencia directa. La sangre periférica es mejor que la de órganos, y las tinciones cerebrales no sirven. La técnica es aplicable a fetos en los que se sospeche que puedan haber sido abortados como consecuencia de una infección por especies de anaplasma”⁶⁶.

Cuadro 1. Muestreo de animales muertos por *anaplasma spp.*

MUESTRAS	
Recién muerto 0-8 horas	Frotis delgado de sangre de un vaso subcutáneo de una extremidad
En descomposición 8-48 horas	Frotis delgado de sangre de un vaso subcutáneo de una extremidad Frotis de órganos: Bazo, riñón, e hígado

Fuente: RIVERA A. Manuel. Hemoparásitos Bovinas. Caracas: UCV, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 1996. p.192

4.1.9 Tratamiento. Rivera comenta que: “en el manejo terapéutico de la anaplasmosis clínica, es necesario considerar tanto al agente etiológico, como el cuadro de anemia resultante de la acción rickettsial.

El manejo de un brote de anaplasmosis aguda debe incluir, tanto el tratamiento de los animales clínicamente enfermos, como la implementación de medidas para prevenir el resto del rebaño”⁶⁷.

Según la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria: “animales con niveles de hematocrito muy bajos (menos de 15%) pueden no responder a los hemoparasitidas, si la terapia no se acompaña de transfusión sanguínea. Como terapia de soporte se deben emplear soluciones que restauren el volumen circulante y corrijan el desequilibrio acido-básico y la atonía ruminal”⁶⁸.

⁶⁵ FERREIRA DE LA CUESTA, Gloria. Patología veterinaria.1 Ed. Medellín – Colombia. Editorial Universidad de Antioquia.2003.p.437

⁶⁶ BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Op. Cit., p.1040

⁶⁷ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p.206

⁶⁸ CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op, cit., p. 8

4.1.9.1 **Tetraciclinas.** Sumano afirma:

La oxitetraciclina y la clortetraciclina son las tetraciclinas de elección para el tratamiento de la anaplasmosis.

Se recomienda la administración de 6.6 – 11 mg/Kg por vía intramuscular o endovenosa de oxitetraciclina, clorhidrato de tetraciclina o clortetraciclina, para el tratamiento de una infección aguda.

Para eliminar el estado de portador se recomiendan dosis intravenosas de oxitetraciclina durante 5 días a razón de 22 mg/Kg por día o administrar el preparado de larga duración de oxitetraciclina 20 mg/Kg por día vía intravenosa durante tres días.

La doxiciclina se utiliza a razón de 10 mg/Kg por vía intramuscular para el control de la anaplasmosis.

El mecanismo de acción en protozoarios no se conoce con certeza pero se sugiere:

- a) Inhibición de la síntesis proteica, uniéndose en forma específica primero a la subunidad 30s
- b) Supresión de sistemas enzimáticos activos
- c) Quelación activa de cationes
- d) Bloqueo de la unión ARN-aminoácido-transportador, interfiriendo la síntesis proteica, con esto hay alteración de las membranas que rodean al parásito

Los iones de Calcio, Aluminio, Hierro y Magnesio así como la leche y sus subproductos disminuyen la absorción.

Por vía intravenosa las tetraciclinas alcanzan buenos niveles plasmáticos durante las 24 horas posteriores a su administración.

La oxitetraciclina aplicada por vía intramuscular alcanza niveles máximos en el plasma en una hora. Los niveles terapéuticos se mantienen de 6-12 horas.

Las tetraciclinas se distribuyen en todo el cuerpo principalmente en el hígado, el bazo y el pulmón e incluso llegan a la circulación fetal. En la bilis se pueden concentrar hasta cinco veces más que en la sangre. En el líquido cefalorraquídeo se difunden del 20-25%. Llegan al cerebro, semen, saliva, líquido pleural, líquido prostático, líquido ascítico y al líquido sinovial. También se pueden depositar en la diáfisis y la epífisis así como en los dientes.

El metabolismo de las tetraciclinas se lleva a cabo en el hígado. se excreta principalmente en la orina, la eliminación es lenta y por esta razón los niveles plasmáticos persisten por mucho tiempo, además debido al círculo entero-

sanguíneo-biliar, en donde se están absorbiendo en el intestino constantemente.

La concentración máxima en la orina aparece de las dos a la ocho horas después de la administración oral. También, son excretadas en las heces (20% de la dosis total) y se llegan a encontrar tetraciclinas excretadas en leche.

Por vía intramuscular, las tetraciclinas causan severa irritación incluso la oxitetraciclina en su presentación normal o de larga duración. Se recomienda que si esta vía se elige se haga de manera profunda en varios sitios de aplicación. La clortetraciclina es más irritante llegando a producir abscesos estériles e incluso necrosis en los tejidos.

Las tetraciclinas pueden inducir infecciones secundarias causadas por bacterias e incluso por hongos debido a su amplio espectro. Las administraciones endovenosas y repetidas pueden causar trastornos digestivos, falta de apetito y diarrea causada a una elevada excreción por la bilis, y depresión fermentativa bacteriana⁶⁹.

4.1.9.2 **Imidocarb.** Según Botana: “en dosis de 1.5 mg/Kg vía subcutánea o intramuscular, ha demostrado utilidad clínica en casos de anaplasmosis bovina, y en dosis de 3 mg/Kg elimina los estados de portador”⁷⁰.

Rivera comenta: “el Imidocarbo controla rápidamente la parasitemia y la anemia; pero puede ocurrir recidivas por lo que se considera una segunda dosis a los 14 días post dosis inicial”⁷¹.

Según Botana:

El Imidocarbo es una diamidina del grupo de las carbanilidas, El mecanismo de acción antiparasitario de este grupo de fármacos esta mediado por la inhibición del metabolismo energético y de la síntesis de ADN. La primera se basa en el bloqueo del metabolismo aerobio de la glucosa, mientras que la inhibición de la síntesis y duplicación del ADN pueden observarse tanto a

⁶⁹SUMANO López, Héctor. Farmacología clínica en Bovinos. 1 Ed. México: Editorial Trillas..2003. p.154

⁷⁰BOTANA L.M. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Madrid: Mc Graw Hill interamericana. 2002. p.541

⁷¹ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p.208

nivel del núcleo como del quinetoplasto.

Las diamidinas son compuestos hidrosolubles y de escasa solubilidad gastrointestinal, por lo cual se administran por vía parenteral en especial por vía subcutánea e intramuscular. Su estrecho margen terapéutico hace de la vía intravenosa una práctica de elevado riesgo.

Se elimina principalmente por el riñón.

No se biotransforma de manera considerable y como se fija a los tejidos se debe evitar el sacrificio de animales tratados durante un mes⁷².

Sumano afirma:

Se tienen múltiples informes de toxicidad a dosis que varían desde los 5 mg/Kg hasta los 20 mg/Kg. Los efectos que se han reportado son ptialismo, descargas nasales serosas, diarrea, disnea, tos, temblores musculares y poliuria.

Se observa irritación en el sitio de aplicación caracterizadas por severas áreas de necrosis encapsuladas por tejido de granulación.

El tratamiento de sostén debe incluir transfusiones de sangre masivas, administradas lentamente para evitar la sobrecarga cardiaca. El manejo brusco debe evitarse a toda costa⁷³.

4.1.10 Epidemiología. Según Blood y Radostits: “la anaplasmosis en bovinos es común en Suráfrica, Australia, Rusia, Suramérica y Estados Unidos. Su propagación esta en gran parte determinada por la presencia de insectos vectores adecuados y la introducción de animales susceptibles”⁷⁴.

Para Rivera⁷⁵, La prevalencia e incidencia de la anaplamosis en un área depende principalmente de la presencia de vectores apropiados, hospedadores susceptibles y reservorios de la infección. Así mismo las condiciones geográficas y ambientales tienen gran influencia y es así como está ausente en alturas superiores a los 2600 m.s.n.m. Se presenta con características enzoóticas por

⁷² BOTANA L.M. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Madrid: Mc Graw Hill interamericana. 2002. p.541

⁷³ SUMANO López, Héctor. Farmacología clínica en Bovinos. 1 Ed. México: Editorial Trillas..2003. p.587

⁷⁴ BLOOD, D. C. Y RADOSTITS, O.M. Op cit., p.1038

⁷⁵ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p.175

debajo de los 1200 m.s.n.m. También se señala una correlación directa entre la temperatura y la presencia de anaplasmosis. La incidencia es casi nula a temperaturas de 13°C y menores; se reporta un 90% o más en zonas donde la temperatura promedio es de 28 °C, estando, la temperatura asociada con la altura.

La epidemiología de la anaplasmosis es más compleja que la de la Babesiosis y para tener un estudio integral de la misma es necesario obtener mayores conocimientos acerca de los factores diversos, especialmente aquellos involucrados en la transmisión de *Anaplasma marginale* en condiciones naturales; estudiar los diferentes vectores, distribución y tasas de infección.

La dinámica epidemiológica de esta enfermedad es más compleja que la de la babesiosis, debido a que *A. marginale* no solamente es transmitido por garrapatas, en forma interestadial o transestadial, sino también por insectos hematófagos y por aquellos medios en los cuales interviene la mano del hombre (transmisión iatrogénica).

Rivera⁷⁶, dice que a pesar de esta complejidad, muchos investigadores están de acuerdo en que el comportamiento epidemiológico de la anaplasmosis de alguna manera marcha paralelo al de la babesiosis en áreas donde ocurren estas enfermedades; su distribución estacional es similar y la máxima de anaplasmosis se produce unas pocas semanas después de la babesiosis, presumiblemente debido al periodo de incubación más largo de esta enfermedad.

La existencia de inmunidad previa, la velocidad de transmisión y la edad a la que ocurre el primer contacto con el parásito determinan el efecto clínico que causara el contacto entre el huésped y el parásito.

Según Blood y Radostits:

Los animales jóvenes son relativamente resistentes a la enfermedad. Los animales mayores de 3 años se afectan habitualmente por una forma hiperaguda mortal de la enfermedad.

El promedio de edad a la que el ternero se infecta en áreas enzoóticas es de 11 (4-24) semanas, y los cambios clínicos y patológicos en ellos son leves y breves.

La exposición de animales infectados, clínicamente normales, a influencias ambientales desvitalizantes, especialmente escasez de alimento y la

⁷⁶ RIVERA A. Manuel Op. Cit., p. 76

presencia de otras enfermedades, puede desembocar en el desarrollo de anaplasmosis aguda⁷⁷.

Corona comenta:

El cuadro clínico típico de la infección aguda por *anaplasma marginale* ocurre únicamente en animales adultos susceptibles cuando se transportan a zonas endémicas.

En los sitios donde las garrapatas son abundantes la epidemiología de esta enfermedad se caracteriza por la estabilidad enzoótica, que implica la presencia de un alto porcentaje de ganado infectado, con la rara ocurrencia de la enfermedad clínica, esta relación se mantiene debido a dos factores: la inmunidad pasiva (anticuerpos), provista por el calostro y la temprana infección de los terneros, los que se demostró que poseen resistencia innata hasta cerca de los nueve meses de edad. Durante esta edad los animales adquieren la infección sin presentar los signos aparentes de la enfermedad y la inmunidad resultante, una vez establecida, es mantenida en el ganado adulto mediante reinfecciones, sin síntomas clínicos.

En regiones donde la población de garrapatas se reduce artificialmente con un intenso control, se rompe el equilibrio, pues no todos los terneros se infectan antes de los nueve meses de edad, creando así un segmento de ganado susceptible, que muy posiblemente desarrollarán la enfermedad clínica aguda cuando tengan contacto con el hemoparásito tiempo después. Esta situación es conocida como inestabilidad enzoótica, en la cual la enfermedad se vuelve periódicamente aparente, coincidiendo con períodos favorables para la reproducción de las garrapatas.⁷⁸

4.1.11 **Estabilidad epidemiológica.** Según la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria:

Se habla de estabilidad, epidemiológicamente, cuando la población de animales es inmune a determinada enfermedad. Esto hace que, aunque el agente productor este muy diseminado en una población, no se presenten casos de enfermedad clínica atribuible al mismo. Esta situación es deseable y

⁷⁷ BLOOD, D. C. Y RADOSTITS, O.M. Op cit., p.1039

⁷⁸ CORONA, RODRIGUEZ Y MARTINEZ, Op. Cit., P.13

se obtiene cuando la mayoría de los terneros han adquirido la infección antes de los nueve meses de edad.

La estabilidad se alcanza mediante exposición temprana a garrapatas, por esta razón en zonas cálidas donde los vectores son abundantes, tiende a existir estabilidad enzoótica para hemoparásitos.

La inestabilidad se presenta, cuando una proporción de la población no ha sido expuesta al agente patógeno, observándose casos clínicos a medida que los animales adquieren más edad.

En zonas medias y frías moderadas (marginales) donde los vectores son menos frecuentes, tiende a presentarse inestabilidad enzoótica⁷⁹.

4.1.12 **CONTROL.** Según Irvin: El control de la Anaplasmosis bovina comprende cuatro aspectos:

1. Manejo
2. Inmunización
3. Quimioprofilaxis
4. Control de vectores⁸⁰

4.1.12.1 Manejo

Rivera afirma:

Las medidas de manejo implementadas en los rebaños bovinos pueden ayudar considerablemente en el control de las enfermedades transmitidas por garrapatas. Estas medidas incluyen el manejo del ambiente y los rebaños.

Con relación al manejo del ambiente, es necesario la construcción de cercas, división de potreros, la utilización de barreras naturales, rotación de potreros, control de malezas y pastoreo rotacional.

En cuanto al manejo del rebaño, el aspecto nutricional juega un papel muy importante; es necesario suministrar a los animales una alimentación adecuada, en calidad y cantidad, incluyendo elementos minerales, agua de buena calidad en cantidad suficiente.

⁷⁹ CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op, cit., p. 9

⁸⁰ IRVIN, A. CONTROL OF TICK BORNE PROTOZOA. Int.J.Parasitol. 17(2) ,649-657 .Citado por RIVERA A. Manuel. Hemoparasitosis Bovinas. Caracas: UCV, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 1996. p.

Otro aspecto del manejo es el referente a la selección de un animal apropiado en términos de adaptabilidad al ambiente donde va a ser explotado y resistencia a las enfermedades. Las razas Bos taurus son más susceptibles que las Bos Indicus al ataque de garrapatas y de los agentes transmitidos por ellas.

También es recomendable el establecimiento de medidas como la cuarentena cuando se realizan movilizaciones de animales con el objeto de reducir las pérdidas por la introducción de la infección o de cepas diferentes de los hemoparásitos⁸¹.

Según Blood y Radostits:

Debe prestarse atención a la prevención de la transmisión artificial por instrumentos usados para inyecciones e intervenciones quirúrgicas, mediante la desinfección después de su uso en cada animal, esto es especialmente importante en lugares donde los animales son sometidos a múltiples vacunaciones e implantaciones en una etapa en que su resistencia está disminuida por el transporte y cambio de alimentación. En áreas enzoóticas, donde se introducen animales, se debe limitar la introducción a animales menores de 2 años y haciéndolo cuando la población de insectos sea menor⁸².

Inmunización. Kokan et al.⁸³, afirma que Las medidas de control para anaplasmosis no han cambiado marcadamente en los últimos 60 años. Estas varían con la localización geográfica; incluyendo el control de artrópodos, aplicación de acaricidas, administración de antibióticos y vacunación. El control de artrópodos no se practica en muchas áreas y solo previene parcialmente la transmisión de *A. marginale*. La quimioprofilaxis a pesar de ser la forma de prevención más difundida en Estados Unidos y en otras áreas del mundo, es costosa y no puede ser usada en todos los bovinos, además el uso intensivo de antibióticos aumenta el riesgo de causar la selección de cepas resistentes.

Según la OIE⁸⁴, Se han utilizado varios procedimientos de inmunización para proteger al ganado bovino contra la anaplasmosis en países donde la enfermedad es endémica, pero ninguno es ideal. El uso de la especie menos patógena *A.*

⁸¹ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.213

⁸² BLOOD, D.C. Y RADOSTTITS,O.M. Op., cit p.1041

⁸³ KOKAN et al., Op. Cit, p.706

⁸⁴ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES Op. Cit, p.541

centrale, que proporciona una protección parcial cruzada frente a *A. marginale*, es el método aceptado más ampliamente, aunque no se utiliza en América del Norte. Otro método implica el uso de una cepa de *A. marginale* atenuada por pases en hospedadores no bovinos, como el ciervo o la oveja.

Kokan et al. manifiesta:

La vacunación ha sido una forma económica y efectiva para el control de anaplasmosis bovina en todo el mundo. Las vacunas para anaplasmosis se dividen en dos tipos: vacunas vivas y vacunas muertas, los dos tipos inducen protección inmunitaria que reduce o previene la enfermedad clínica.

Las vacunas vivas inducen infección en los bovinos vía inoculación con eritrocitos infectados con aislados menos patógenos de *A. marginale* o *A. centrale*.

Para la producción de vacuna terneros esplenectomizados son mantenidos bajo condiciones de cuarentena. Son experimentalmente inoculados con cepas definidas, así sirven como fuente de sangre infectada.

Un ternero vacunado desarrolla una infección persistente, la cual induce protección inmunitaria de por vida, siendo usualmente no requerida la revacunación.

Las estrategias de vacunación usando organismos vivos incluyen: ⁸⁵

➤ **Infección y tratamiento.** Kokan et al. dice:

La infección de bovinos con *A. marginale* seguido por tratamiento con antibióticos ha sido usada en el pasado para la prevención de Anaplasmosis clínica. Este procedimiento consiste en inocular bovinos con eritrocitos infectados por *A. marginale*, posteriormente se inicia un tratamiento con bajas dosis de tetraciclina.

De esta manera el bovino llega a estar persistentemente infectado sin padecer la enfermedad clínica. Y será inmune a un reto de exposición a *A. marginale*. Sin embargo muchas veces el tratamiento temprano con tetraciclina y el control de las reacciones post-inoculación no es exitoso en la prevención de la enfermedad aguda.

Este tipo de inmunización requiere de la continua supervisión de un médico

⁸⁵ KOKAN et al., Op. Cit, p.706

veterinario, lo cual incrementa los costos, además es impráctico en rebaños de gran tamaño⁸⁶.

➤ **Vacunas vivas conteniendo cepas atenuadas de *A. marginale***

Kokan et al. afirma:

La atenuación de *A. marginale*, se consigue por medio de pasajes en ovejas y ciervos. También mediante la irradiación de cepas.

Este tipo de vacuna requiere congelación en nitrógeno y se recomienda para la protección de animales jóvenes (menores de 12 meses).

No se recomienda el uso en animales de gestación avanzada debido al riesgo de aborto y muerte. La inmunidad conferida incluye protección contra cepas homologas.

Presenta como ventajas, la no transmisión por garrapatas; en consecuencia no se disemina entre animales susceptibles.

Además no sensibiliza contra antígenos de eritrocitos bovinos, porque es producida en eritrocitos ovinos, evitando así la isoeritrolisis en terneros al ingerir anticuerpos calostrales⁸⁷.

➤ **Vacunas vivas conteniendo *A. centrale***. Según la OIE⁸⁸, *Anaplasma centrale* se aisló por primera vez en 1911 en Sudáfrica y se ha utilizado como vacuna en Sudamérica, Australia, África, Oriente Medio, y Sudeste Asiático. Solo suministra protección parcial, pero adecuada, en regiones donde las cepas que provocan la enfermedad son de una virulencia moderada (como Australia). En los trópicos húmedos, donde *A. marginale* parece ser un parásito muy virulento, la protección suministrada por *A. centrale* puede ser inadecuada para evitar la enfermedad en algunos animales.

Normalmente, *Anaplasma centrale* causa infecciones benignas, especialmente en terneros menores de 9 meses de edad. Se han descrito reacciones graves después de la vacunación cuando se inoculara ganado adulto. El pase rápido de *A. centrale* por terneros esplenectomizados parece reducir su virulencia.

⁸⁶KOKAN et al., Op. Cit, p.706., p.707

⁸⁷ CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op, cit., p. 18

⁸⁸ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES Op. Cit, p.542

Según Rivera:

En Australia se han usado por varios años, la vacuna bivalente de *B. bovis* y *A. centrale*. Se utilizan parásitos vivos, atenuados por pasajes seriados en becerros esplenectomizados. Luego de 10-20 pasajes, se disminuye la virulencia de estos parásitos. En algunos países no se ha permitido el uso de *A. centrales* porque se teme que se establezca en la naturaleza, aumente su virulencia y cause enfermedad. Sin embargo en las regiones donde se han utilizado libremente durante 45 años, no ha sido incriminado en ningún brote de anaplasmosis⁸⁹.

Según la OIE⁹⁰, La vacuna para *Anaplasma centrale* puede suministrarse en forma congelada o refrigerada dependiendo de la demanda, redes de transporte y la disponibilidad de servicios de nitrógeno líquido o de hielo seco. En la mayor parte de los casos se recomienda la vacuna congelada, ya que permite un control de calidad de cada lote después de la producción. Sin embargo, es más costosa de producir y más difícil de transportar que la vacuna refrigerada. El riesgo de contaminación hace que el control después de la producción sea esencial, pero puede ser prohibitivamente costoso.

Para Rivera:

Esta vacuna se ha recomendado para las situaciones siguientes:

- a) Para ser aplicada a animales a introducir a zonas endémicas, siendo necesaria la vacunación por lo menos 3 semanas antes de la movilización
- b) Para el control donde se presenta la condición de inestabilidad enzoótica, recomendándose vacunar todo el rebaño antes de los 9 meses de edad. En algunos casos se requiere de una segunda dosis 6 meses más tarde.
- c) Como efectos nocivos se señalan:
Anemia hemolítica en recién nacidos (isoeritrolisis neonatal)

Diseminación de otros agentes infecciosos sin no se chequean previamente los animales a partir de los cuales se prepara la vacuna⁹¹.

Kokan et al. afirma: "Se ha reportado la diseminación del virus de leucocis bovina

⁸⁹ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.214

⁹⁰ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES Op. Cit, p.541

⁹¹ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.214

por el uso de vacunas vivas, además se incrementa el riesgo de diseminar agentes infecciosos emergentes; Por lo cual se ha propuesto que el uso de vacunas vivas debe ser restringido al área donde estas fueron producidas⁹².

➤ **Vacunas muertas.** Kokan et al. comenta:

Las vacunas muertas tienen varias ventajas sobre las vacunas vivas. El riesgo de contaminación con agentes infecciosos es bajo, su almacenamiento no es costoso y las reacciones post-inoculación son de mínima relevancia clínica.

Las desventajas de las vacunas muertas incluyen: la necesidad de un refuerzo anual, Los altos costos de purificación de *A. marginale* a partir de eritrocitos y la ausencia de protección cruzada contra aislamientos de áreas distantes geográficamente.

Adicionalmente la protección conferida por las vacunas muertas es usualmente baja en comparación con las vacunas vivas⁹³.

➤ **Vacunación en Colombia.** Según Vizcaíno y Benavides:

El Convenio CORPOICA-LIMOR, firmado en 1995 consolidó con la formulación de la vacuna ANABASAN contra la Anaplasmosis y las Babesiosis bovina.

Experiencias previas sobre el uso de vacunas contra hemoparásitos en Colombia permitieron obtener cepas de babesias moderadamente atenuadas, aisladas en las principales regiones ganaderas del país: *Babesia bovis*, aislada en la Granja de Turipaná en Montería y atenuada a partir del 11° pasaje en terneros esplenectomizados; *Babesia bigemina*, aislada en la Granja de La Libertad en Villavicencio en 1982 y atenuada por 5 pasajes lentos en terneros intactos y *Anaplasma marginale*, aislada en la Granja de La Libertad en Villavicencio en 1995 por el Convenio CORPOICA-LIMOR-

La vacuna se formuló teniendo en cuenta los procedimientos que para este objetivo sugiere la FAO, de modo que cada antígeno está contenido en viales individuales identificados con una tapa de color distintivo: *Anaplasma marginale*, tapa amarilla; *Babesia bigemina*, tapa azul y *Babesia bovis*, tapa roja, los cuales post-descongelación se mezclan con el contenido del frasco

⁹² KOKAN et al., Cit, p.707

⁹³ Ibid., p. 707

diluyente estéril para obtener la dosis vacunal trivalente (*Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*). La dosis vacunal se estableció en 1×10^7 organismos, para cada uno de los tres parásitos incluidos en la vacuna⁹⁴.

Para Vizcaíno y Benavides:

DOSIS Y VIA DE APLICACIÓN: 2 ml vía subcutánea o intramuscular

PLAN DE VACUNACIÓN: Vacunar a todos los bovinos susceptibles (vacas preñadas hasta 4 meses de gestación); Los toros, si se mantienen en potrero, deben ser vacunados bajo muy estrictas condiciones, porque son altamente susceptibles y pueden requerir, después de la vacunación un tratamiento profiláctico oportuno contra los organismos vacunales.

CONSERVACIÓN: La solución diluyente se puede almacenar a medio ambiente o en condiciones de refrigeración, no debe congelarse. Las tres vacunas concentradas monovalentes, deben conservarse, en termos de nitrógeno líquido.

PREPARACIÓN DE LA VACUNA: Al momento de su aplicación, se retira los tres frascos de la vacuna del termo y se depositan en un recipiente con agua a temperatura ambiente para su descongelación. Con jeringa y aguja estériles se succiona el contenido de cada frasco y se mezcla con el diluyente para obtener un volumen total de vacuna de 21 ml. Se mezcla muy suavemente y se aplica la vacuna en las 8 horas siguientes a su descongelación⁹⁵.

Vizcaíno y Benavides expresa:

ANABASAN® se recomienda para vacunar animales susceptibles de cualquier edad, localizados en áreas endémicas. Para vacunar animales susceptibles procedentes de áreas libres de hemoparásitos, antes de movilizarlos a áreas endémicas (zonas infectadas con garrapatas).

Los terneros hijos de madres vacunadas reciben una protección temporal hasta 2 meses, debido a los anticuerpos maternos en el calostro; luego esta inmunidad comienza a desaparecer y los terneros se vuelven muy

⁹⁴VIZCAINO GERTZ, Otoniel .BENAVIDES ORTIZ, Efraín. Inmunoprofilaxis para Anaplasmosis y Babesiosis. Bogotá. Convenio Corpoica – Limor. 2004. p.2

⁹⁵ Ibid., p. 3

susceptibles a los hemoparásitos. La vacunación es la única manera de proporcionar una completa inmunidad al ganado.

Para un programa de control continuado, después de haber inmunizado todos los bovinos susceptibles, la mejor edad para vacunar a los terneros es entre los 3-9 meses de edad.

Se puede instaurar un plan de vacunación semestral para los nuevos nacimientos.

El ganado importado, que es muy susceptible a los hemoparásitos, deberá ser vacunado por lo menos 60 días antes de movilizarlo a zonas endémicas⁹⁶.

- **Reacciones post-vacunales.** Vizcaíno y Benavides comenta⁹⁷, El promedio de animales adultos, demasiado susceptibles, que pueden presentar reacciones febriles agudas (de 1-2 °C. superior a 38.5 °C), puede ser del 2 % y en animales jóvenes de menos del 1%. Si estas reacciones febriles se presentan durante las dos primeras semanas post vacunación, se debe aplicar el tratamiento profiláctico oportuno, indicado por el Médico Veterinario.

Si la reacción febril se presenta después de la cuarta semana post vacunación se debe aplicar tratamiento específico contra anaplasmosis.

4.1.12.2 **Quimioprofilaxis.** Según Rivera: “Se ha utilizado drogas que confieren protección a la infección por *A. marginale*, permitiendo que el organismo animal logre controlar la infección y desarrollar inmunidad protectora. Fundamentalmente con este propósito se usan las tetraciclinas (oxitetraciclina y clortetraciclina)”⁹⁸.

4.1.12.3 **Control de vectores.** Para la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria⁹⁹, Los programas de control de vectores deben ser adaptados a cada país de acuerdo con sus circunstancias particulares y objetivos nacionales, debiendo tener en cuenta algunos principios básicos, que por lo general se pueden aplicar a cualquier esfuerzo bien definido y coordinado.

El énfasis dado a un programa de control, puede variar de un país a otro y aun entre zonas de un mismo país, dependiendo del grado de infestación, raza de ganado, edad de los bovinos, estado fisiológico, especie del vector.

⁹⁶ VIZCAINO GERTZ, Otoniel .BENAVIDES ORTIZ, Efraín. Inmunoprofilaxis para Anaplasmosis y Babesiosis. Bogotá. Convenio Corpoica – Limor. 2004. p.2

⁹⁷ Ibid., p. 3

⁹⁸ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p. 218

⁹⁹ CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op, Cit., p. 34

➤ **Control de Tabanidae.** Según Rivera:

El combate de estos insectos resulta difícil de lograr debido a la variabilidad de sus sitios de cría, los cuales además no están normalmente asociados a las moradas humanas o animales.

Los adultos se caracterizan por ser insectos de vuelo veloz, presentado una actividad de ataque que varía con la especie y con las condiciones ambientales del área.

Se pueden implementar medidas para el combate de los estados larvarios y de adultos. Para las larvas, se indican cambios que pueden realizarse en los sitios de cría, como puede ser la inundación por medio de la construcción de obstáculos que permita el represamiento del agua, esto sería efectivo para aquellas larvas que no se desarrollan en pantanos o ciénagas, pero no para las que prefieren el medio acuático.

Para el combate de adultos se ha utilizado el sistema de colocación de trampas y atrayentes en sitios estratégicos en áreas cercanas a potreros y corrales.

Como parte del programa de control integral de insectos, se ha realizado experimentos utilizando enemigos naturales de estos dípteros (control biológico)¹⁰⁰.

Según Jones: “Son reseñados como enemigos naturales de Tabanidae a himenópteros parásitos de huevos, dípteros parásitos de estados larvales, himenópteros parásitos de pupas y depredadores incluyendo insectos, arañas, lagartos, aves y peces”¹⁰¹.

➤ **Control de Stomoxys calcitrans.** Según Rivera¹⁰², Para estadios larvarios, el manejo ambiental se centra en el ataque a nivel de los criaderos de estos insectos. Siendo los sitios de cría, principalmente el ensilaje acumulado y húmedo con orina y estiércol, es necesario la recolección periódica y la dispersión a campo abierto y soleado para favorecer la desecación, lo que impide el desarrollo larvario. También se puede establecer estercoleros tratados con cal o sustancias químicas insecticidas.

El control químico también se puede realizar mediante la aplicación parenteral u oral de sustancias que al eliminarse por las heces ejercen un efecto larvicida en el estiércol la ivermectina, controla el crecimiento y desarrollo de larvas de moscas

¹⁰⁰RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.62

¹⁰¹JONES, E. (1986). Bovine Anaplasmosis. Its diagnosis treatment and control. JAVMA. 149 (2). 1624-1632 Citado por RIVERA A. Manuel. Hemoparasitosis Bovinas. Caracas: UCV, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 1996. p.63

¹⁰² RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.63

en el estiércol hasta por 4 semanas.

La monensina, al ser incorporada al alimento o en bloques de sales minerales en bajas dosis, ejerce un buen efecto larvicida en el estiércol. Para el combate de adultos se usa trampas o insecticidas.

➤ **Control de garrapatas.** Según la Corporación Colombiana de Investigación agropecuaria:

- **Estados Parasíticos**

Control Químico: El control químico ha sido el más utilizado en Colombia obedeciendo su forma de aplicación a la evolución de los compuestos;

El método convencional para el control de garrapatas, ha sido por largo tiempo, la aplicación de productos químicos, utilizando sistemas de baños de aspersión e inmersión con resultados muy variables. Estos métodos han sido empleados por largo tiempo en el país y se conocen desventajas como el incremento de costos, desarrollo de resistencia de las garrapatas a los ixodicidas, contaminación ambiental, especialmente fuentes de agua por el mal manejo de los productos y contaminación residual en carne y leche¹⁰³.

Según Rivera:

Las formas más comunes de la aplicación de garrapaticida son por aspersión e inmersión.

- **Baño de Aspersión**

Para el baño de aspersión, se han diseñado diferentes sistemas, como la bomba de espalda, la motobomba y el sistema mecánico fijo de manga de aspersión.

Estos métodos están ampliamente difundidos siendo necesaria la aplicación adecuada de la mezcla del garrapaticida sobre el animal para lograr un mojado uniforme.

Permite calcular exactamente la concentración del baño, evita riesgos de

¹⁰³CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op, cit., p.35

intoxicación y se utiliza una mezcla preparada recientemente.

El sistema de aspersión posibilita la economía del producto, ya que solo se requiere utilizar la cantidad que se empleara en cada tratamiento, dependiendo del número de animales; permite además aplicar diferentes tipos de ixodicidas, dependiendo de la época del año o siguiendo una estrategia de alternar productos; es un sistema práctico, no requiere excesiva cantidad de agua, puede ser transportable y en general hay menos predisposición a traumatismos de los animales, especialmente en los de leche.

A pesar de las ventajas existentes el sistema de aspersión presenta notorias desventajas, porque no siempre el mojado resulta completo, siendo también menor el tiempo de exposición¹⁰⁴.

- **Baño de Inmersión.** La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria¹⁰⁵, el baño de inmersión fue el primero de los métodos conocidos y es el más eficiente, ya que con él se logra el completo mojado de toda la superficie corporal, posibilitando el íntimo contacto del compuesto con todos los estadios presentes en el huésped, además de la rapidez en su ejecución, especialmente en ganaderías con alto número de animales.

Este método presenta algunas desventajas como la exigencia de grandes volúmenes de agua para la preparación del baño y sobre todo las mayores dificultades para mantener una correcta concentración del ixodicida, debido a la evaporación el agua en periodos de intenso calor o por la contaminación provocada por el paso de animales.

La mayor dificultad se presenta en el vaciado del tanque sin contaminar las aguas o la fauna, lo que en el pasado se tradujo en un grave deterioro de los recursos naturales.

- **Estados no parasíticos.** Según rivera¹⁰⁶, La base de un control eficaz es la prevención del desarrollo de las garrapatas hembras repletas (teloginas) que corresponde a la fase final del ciclo parasítico, previniendo su caída, la ovoposición y la eclosión de larvas que producirán nuevas infecciones. Teniendo en cuenta el ciclo biológico de *B. microplus* el ciclo parasítico se completa en 21-23 días por tanto la forma más adecuada de interrumpirlo consiste en la utilización de un buen ixodicida mediante baños a intervalos de 21 días o mejor aún, en periodos de tiempo más cortos (14 días).

¹⁰⁴RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.142

¹⁰⁵ CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op, cit., p. 35

¹⁰⁶RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.141

- **Rotación de potreros.** Según Rivera¹⁰⁷, el sistema de rotación de potreros, se basa en la mortalidad larvaria por la falta de alimento.

En potreros mantenidos sin ganado por periodos de tiempo que oscilan entre 3 y 5 meses la mayoría de las larvas de *B. microplus* mueren; por tanto la rotación con estos intervalos puede ser un método efectivo para el control de garrapatas. Si el ganado es bañado con un garrapaticida efectivo y se introduce a potreros sometidos a rotación, se reduce considerablemente la población de garrapatas y la necesidad de utilizar los acaricidas en periodos tan cortos como es usual. Es importante señalar que algunas larvas de garrapatas pueden sobrevivir hasta por siete meses, por tanto se debe esperar que ocurra un aumento gradual en el número de garrapatas aun en pastizales mantenidos libres de ganado por 5 meses.

La rotación de potreros combinada con el baño garrapaticida antes de transferir los animales al potrero en descanso proporciona un método eficaz de control.

- **Cría de bovinos resistentes.** Según Rivera:

En todas las razas de bovinos se presentan diferentes grados de resistencia a la infestación por garrapata, pero es más pronunciada en las razas *Bos indicus*.

La resistencia se considera una característica hereditaria y es posible desarrollar rebaños resistentes de *B. taurus* a partir de individuos excepcionalmente resistentes; pero necesita muchos años para lograrse. La resistencia puede conseguirse más rápidamente por entrecruzamientos con bovinos *B. indicus*.

Se considera que por lo menos requiere de un 50% de sangre *B. indicus* para lograr una resistencia adecuada¹⁰⁸.

- **Vacunación.** Quiroz manifiesta que¹⁰⁹, Se ha desarrollado una vacuna contra *B. microplus*. El agente inmunizante es un antígeno de garrapata, que normalmente no se encuentra en el hospedador el mecanismo inmunológico que este antígeno estimula es distinto del estimulado por exposición a las garrapatas (por la alimentación de la garrapata). El antígeno se deriva de un extracto crudo de garrapatas hembra adultas parcialmente engordadas. Estimula la producción de

¹⁰⁷ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p. 140

¹⁰⁸ Ibid., p. 142

¹⁰⁹ QUIROZ ROMERO, Héctor. Op, Cit. p.198

un anticuerpo que daña las células intestinales de la garrapata, a las que destruye y reduce drásticamente su potencial reproductor¹¹⁰.

4.2 BABESIOSIS

Sinonimias: Según Rivera¹¹¹, Piroplasmosis, Ranilla, Fiebre de Texas, Red Water en EUA, Tristeza bovina, Malaria bovina, piroplasmosis

Para Blood y Radosttits: “La babesiosis incluye un grupo de enfermedades producidas por especies de *Babesia* en bovinos, ovinos, porcinos y equinos. Se caracteriza por fiebre y hemolisis intravascular, produciendo un síndrome de anemia, hemoglobinemia y hemoglobinuria. Se transmite por garrapatas chupadoras de sangre”¹¹²

4.2.1 Clasificación taxonómica. Según Rivera:

Reino	Animalia
Subreino	Protozoa
Filum	Apicomplexa
Clase	Sporozoa
Subclase	Piroplasmia
Orden	Piroplasmida
Familia	Babesiidae
Genero	<i>Babesia</i> ¹¹³

Según otte:

Se han identificado más de 70 especies de ocurrencia en varios tipos de hospederos, pero solamente seis son parásitos de bovinos:

Babesia bovis sinónimos *Babesia argentina*, *Babesia berbera*
Babesia bigemina
Babesia divergens

¹¹⁰ QUIROZ ROMERO, Héctor. Op. Cit., p. 198

¹¹¹ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.169

¹¹² BLOOD, D.C. Y RADOSTTITS, O.M. Op. Cit., p.1059

¹¹³ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.87

Babesia major
Babesia ovata
Babesia beliceri sinónimo *Babesia occultans*¹¹⁴

4.2.2 Morfología y características. Basso comenta que:

La ubicación de *Babesia* es intracelular, más comúnmente en los eritrocitos, aunque se puede encontrar en otras células.

Su tamaño es de 2 a 5 micras y su formas son diversas dependiendo del estado evolutivo (redondeadas, ovoides, ameboides, piriformes, bacilares, irregulares). Poseen un complejo apical incompleto formado por anillo polar, roptrias, y microtúbulos¹¹⁵.

Borchert argumenta que: "Inicialmente los parásitos se hallan sobre los hematíes en forma de cuerpos redondeados y ameboides, mas tarde en el espesor de los eritrocitos. En estos, una vez realizada la división, aparecen en forma de doble pera, formando generalmente un ángulo obtuso, cuyos elementos pueden alargarse rectilíneamente"¹¹⁶.

Rivera dice que:

Los protozoos del genero *Babesia spp*, son parásitos heteroxenos, con una fase de reproducción en el hospedador vertebrado y otro en los invertebrados vectores.

Las babesias que afectan el ganado bovino se multiplican por fisión binaria longitudinal en el interior de los eritrocitos y la forma tamaño, y disposición de los estados intraeritrocíticos son características para las diferentes especies y de gran utilidad diagnóstica¹¹⁷.

Según Quiroz:

Para fines prácticos las especies de este género pueden dividirse en formas

¹¹⁴OTTE, Edwald. Anaplasmosis y Babesiosis bovina en Colombia. ICA-GTZ. Santa Fe de Bogota.1992. p.7.

¹¹⁵ BASSO NILDA. Bases de parasitología veterinaria. 1 Ed. Buenos Aires: Hemisferio sur. 1992. p.149

¹¹⁶ BORCHERT Alfred. Parasitología veterinaria. 3 Ed. Zaragoza: Acribia.1981 p.652

¹¹⁷RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.89

grandes, mayores de 3 μm ; y en formas pequeñas menores de 3 μm .

Babesia bigemina: Se encuentra en los eritrocitos y plasma de bovinos y venados. Los trofozoitos en los eritrocitos tienen forma de pera, redondeada, oval, o ameboide. Las formas de peras se encuentran en pares, dando el nombre de bigemina, mide de 4-5 μm de largo por 2 de ancho, es de las denominadas formas grandes.

Babesia bovis: Los trofozoitos en los eritrocitos son piriformes, redondos o ameboides, algunos aparecen como una vacuola dando el aspecto de anillos. Es de las formas pequeñas mide 2.4 por 1.5 μm .

Babesia divergens: Es de las formas pequeñas los trofozoitos se encuentran en pares en forma de pera, unidas en el ángulo el cual es menor de 90°, hay formas circulares de 1.5- 2 μm .

Babesia major: Los trofozoitos se parecen a los de *Babesia bovis* pero son un poco más grandes, tienen aspecto de pera formando pares, miden 2.6 por 1.5 μm , las formas redondeadas miden 1.8 μm , por lo general se encuentran en el centro del eritrocito.

Entre las seis especies que afectan a los bovinos se confiere particular importancia a *babesia bovis*, debido a la enfermedad relativamente severa que ocasiona¹¹⁸.

Según la OIE: "De las especies que afectan al ganado bovino dos *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* se encuentran ampliamente distribuidas y son de importancia en África, Asia, Australia, América central y del Sur. *Babesia divergens* es importante económicamente en algunas partes de Europa"¹¹⁹.

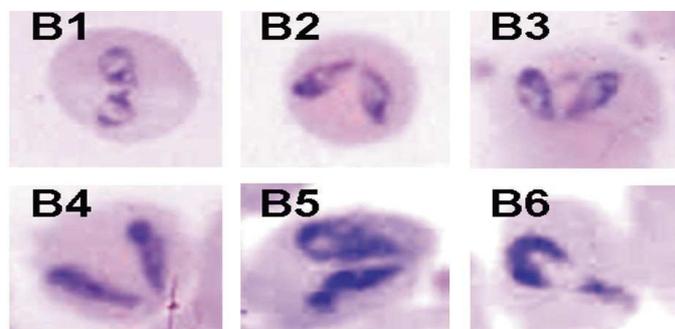
Para la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria¹²⁰, en Colombia la babesiosis del ganado bovino es causada por *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, las cuales se encuentran difundidas en las mismas áreas donde se presenta la anaplasmosis.

¹¹⁸QUIROZ ROMERO, Héctor. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. UTEHA. 7 Ed. México. 1994. 876 p.187

¹¹⁹ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES. Babesiosis Bovina. 2004. (En línea) (Consultada: 9 enero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.oie.int/es/index.htm>

¹²⁰ CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op, cit., p.15

Figura 3. *Babesia* spp.



Fuente: JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Aug. 2004, p. 3775–3780

4.2.3 Transmisión. Blood, y Radostits¹²¹, Las garrapatas son los vectores naturales de la babesiosis y los parásitos causales pasan parte de su ciclo vital en el huésped invertebrado.

Quiroz afirma:

Babesia bigemina es transmitida por *Boophilus annulatus*, *B. microplus*, *Boophilus australis*, *Boophilus calcaratus*, *Boophilus decoloratus*, *Haemaphysalis punctata*, *Ripicephalus appendiculatus*, *R. bursa*.

Babesia bovis es transmitida por *Ixodes ricinus*, *Ixodes pesulcatus*, *Boophilus australis*, *Ripicephalus bursa*.

Babesia divergens es transmitida por: *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*.

Babesia major es transmitida por *Boophilus calcaratus*¹²²

Urquhart menciona que: “Las garrapatas del genero *Boophilus*, son los vectores más importantes de *Babesia* spp. en bovinos de países tropicales y subtropicales”¹²³.

La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria expresa que: “En Colombia *B. bovis* y *B. bigemina*, son transmitidas biológicamente por *Boophilus microplus*; de manera secundaria se presenta la transmisión por insectos

¹²¹ BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Op. Cit., p. 1060

¹²² QUIROZ ROMERO, Héctor. Op, Cit. 187

¹²³ G.M.URQUHART, Op. cit., p. 212

picadores, vacunaciones y procedimientos quirúrgicos”¹²⁴.

4.2.4 Ciclo biológico en la garrapata. Meléndez afirma: “Babesia es un protozoo del phylum apicomplexa, por lo tanto, su reproducción consiste en una fase sexual (gametogonia) alternada con dos fases asexuales (esporogonias), las cuales ocurren en los tejidos de *B. microplus*, y una fase asexual (merogonia) que se lleva a cabo en los eritrocitos del bovino”¹²⁵.

Según Quiroz:

La garrapata se alimenta de sangre e ingiere eritrocitos parasitados. Los trofozoitos de Babesia se liberan del glóbulo rojo mediante un proceso de digestión.

La mayoría son destruidos en el intestino de la garrapata. Los que sobreviven son de tres tipos: unos miden de 3-5 μm de diámetro, con una vacuola central y una pequeña capa de citoplasma; la cromatina está distribuida en la periferia o como un punto en cada polo simple o doble. El segundo tipo tiene 3 o 4 gránulos de cromatina en la periferia; cuando se dividen dan lugar a elementos en forma de huso, con un núcleo central, mide de 4-7 μm . El tercer tipo es esferoide con 2 núcleos, uno alargado en la periferia y otro redondo central. El ciclo en detalle no se conoce claramente.

Luego aparecen elementos con forma cilindroide con núcleo central, miden de 8-10 μm de largo, penetran en las células intestinales y producen formas redondeadas que miden de 9-16 μm . Mediante un proceso de división múltiple forman vermiculos los que al romperse la célula pasan a la hemolinfa de la garrapata.

Llegan a las células de los túbulos de Malpigio, se redondean, y mediante un proceso de división similar al anterior dan lugar a vermiculos hijos que pasan a los ovarios, e invaden los huevos permaneciendo en el vitelo; luego que la larva se desarrolla pasan a las células del epitelio intestinal en donde se repite el proceso de fisión múltiple y producen más vermiculos o merozoitos.

Al romperse las células epiteliales pasan a las glándulas salivales hasta la fase de ninfa en donde se redondean, crecen y hay otra división binaria múltiple, dando lugar a una gran cantidad de elementos piriformes que miden de 2-3 μm . Al momento de alimentarse del huésped vertebrado penetran junto

¹²⁴ CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op, cit., p. 9

¹²⁵ MELENDEZ, Roy. Revisión Integral de los Factores Epidemiológicos que Inciden en la Relación Boophilus microplus-Bovino-Babesia spp. Revista Científica FCV-Luz.Vol III.Venezuela.1998.p. 30

con la saliva y pasan a la sangre, apareciendo en los eritrocitos entre los 8-12 días.

El ciclo puede resumirse en 4 etapas:

- a. Fisión binaria en los eritrocitos
- b. Fisión múltiple en epitelio intestinal y túbulos de malpigio
- c. Fisión múltiple en ovarios e invasión de huevos
- d. Fisión múltiple en intestino y glándulas salivales de larva o ninfa¹²⁶.

4.2.5 Penetración del parásito a la célula hospedadora del bovino. Como dice Rivera:

El mecanismo de penetración del parásito a la célula hospedadora ocurre de forma activa, siguiendo los siguientes pasos:

- a. Contacto inicial del eritrocito con el merozoito
- b. Orientación del polo apical del parásito hacia el eritrocito, de tal manera que las organelas del complejo apical, como los roptries entran en contacto con la superficie del eritrocito.
- c. Fusión de las membranas entre el merozoito y el eritrocito
- d. Liberación del contenido de los roptries
- e. Invasión de las membranas del eritrocito y penetración del parásito

Posteriormente la membrana limitante del eritrocito no es rota y al inicio el parásito permanece estrechamente rodeado de la misma. Durante el crecimiento del parásito, esta membrana desaparece y el merozoito es liberado en el interior del eritrocito, continuando con el proceso de fisión binaria¹²⁷.

Según Quiroz: "El desarrollo de Babesia en el huésped bovino es similar en las diferentes especies. Este proceso puede ser indefinido y el estado de inmunidad influye en la velocidad"¹²⁸.

Bowman¹²⁹, La transmisión transovárica es el único mecanismo que permite que

¹²⁶ QUIROZ ROMERO, Héctor. Op, Cit.p.189

¹²⁷ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.90

¹²⁸ QUIROZ ROMERO, Héctor. Op, Cit.p.188

¹²⁹ BOWMAN, DWIGHT D. Georgis Parasitología para veterinarios, 8 Ed. Madrid: Elsevier. 2004 p. 112

las garrapatas de un solo hospedador, como *Boophilus* sirvan de vectores.

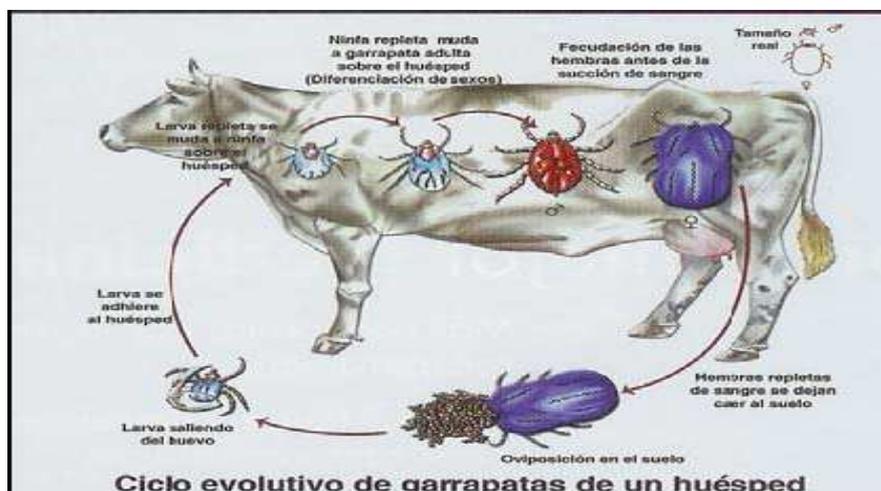
4.2.6 Ciclo biológico de *Boophilus microplus*. Según Rivera:

La garrapata presenta un ciclo de vida en el medio ambiente y una fase o ciclo parasítico sobre el hospedador. El ciclo se inicia con la postura de los huevos sobre el suelo, entre los pastos, lo cual es realizado por la hembra adulta (telogina) una vez terminada la ingestión de sangre sobre el animal.

Las hembras al desprenderse, buscan lugares protegidos, sombríos y húmedos para desovar en unos dos a tres días, ovoponiendo entre 2000-5000 huevos y luego mueren. Los huevos incuban en un periodo de 27-30 días a temperatura de 28-29°C y humedad de 80%, originándose larvas hexápodas, las cuales pueden permanecer sin alimentarse por unas 6-7 semanas. Estos estadios son muy activos: suben a las hojas del pasto y se incorporan al animal fijándose en sitios de piel delgada; se alimentan durante 4 días, luego entran en reposo y mudan por dos días para transformarse en ninfas octópodas; estas formas se alimentan durante 6 días y luego entran en reposo y mudan por 2 días para transformarse en adultos hembras y machos. Posteriormente se inicia el proceso de alimentación de los adultos, se realiza la cópula y las hembras se alimentan más intensamente durante 8 días para luego desprenderse, caer al suelo e iniciar la postura de los huevos. El ciclo parasítico tiene una duración de 21-23 días¹³⁰.

¹³⁰ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.90

Figura 4. Ciclo evolutivo de garrapatas de un huésped



Fuente: <http://www.veterinaria.uady.mx/cuerpos/SALUD-ANIMAL/doctos/Resistencia.pdf>

4.2.7 **Patogenia.** Bowman afirma que: “Después de una incubación de 7-18 días comienza la enfermedad en los casos agudos con fiebre de 40-42 °C, que puede persistir durante varios días con abatimiento decaimiento y pulso acelerado”¹³¹.

Según Quiroz¹³², La Babesia ejerce acción traumática; al liberarse del eritrocito, acción expoliatriz al alimentarse principalmente de hemoglobina sin producir hemozoina, acción mecánica al formar cúmulos de parásitos a nivel capilar y acción tóxica con sus productos metabólicos.

Según Rivera:

Se discuten dos mecanismos mediante los cuales la Babesia puede causar daño celular y tisular en sus hospedadores. Los mecanismos primarios relacionados con el desarrollo de una hemólisis intravascular, la cual es directamente proporcional a la parasitemia, causando anoxia y lesiones inflamatorias en varios órganos, principalmente hígado y riñones. Estos efectos son variables y dependen de la especie de Babesia, la virulencia del aislado, la raza y la edad del animal.

¹³¹BOWMAN, DWIGHT D. p. 653

¹³²QUIROZ ROMERO, Héctor. Op, Cit..p.189

Los mecanismos secundarios se relacionan con cambios electrolíticos, activación del complemento, alteraciones de la coagulación y liberación de sustancias farmacológicamente activas, las cuales resultan en alteración vascular y shock hipotensivo¹³³.

Quiroz afirma:

Babesia bovis causa alteración en la coagulación, obedece a una activación de la trombina, debido parcialmente a la liberación de sustancias semejantes a la tromboplastina de eritrocitos destruidos con activación previa de calicreina y proteasas; estas producen hiperfibrinogenia, particularmente en animales con bazo.

El fibrinógeno de peso molecular bajo se degrada en productos no fácilmente detectables, condición que ha sugerido que un estado intermedio de hipercoagulación cause coagulación intravascular.

En babesiosis por *B. bigemina* existe un incremento de Aspartato amino transferasa a la que se atribuye la necrosis hepática y lisis de eritrocitos¹³⁴.

Según Rivera:

Babesia bigemina posee preferencia en parasitar los eritrocitos jóvenes, de mayor tamaño o macrocito. En infecciones por *Babesia bovis* los eritrocitos parasitados son más resistentes a la hemolisis que aquellos no parasitados en un mismo animal y aun al compararlos con animales no infectados. Sin embargo, se produce hemolisis con baja parasitemia (1% o menor) en las etapas terminales de la infección pudiéndose destruir el 30% o más de los eritrocitos en un periodo de 48 horas.

B. bovis tiene preferencia por parasitar eritrocitos de menor tamaño microcitos, siendo evidente también el cambio de color de los eritrocitos parasitados, los cuales se tornan más oscuros con las tinciones usuales de rutina, como la coloración de Giemsa.

La destrucción masiva de eritrocitos produce hemoglobinemia y hemoglobinuria, alteraciones que se presentan con más frecuencia en las infecciones por *B. bigemina* que es más hemolizante que *Babesia bovis*¹³⁵.

¹³³RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.97

¹³⁴QUIROZ ROMERO, Héctor. Op, Cit., p.189

¹³⁵ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.97

Para Quiroz:

Babesia bovis y *Babesia bigemina* poseen dos enzimas con actividad proteolítica en los eritrocitos, una con actividad esterolítica y otra con fuerte actividad de hidrólisis de hemoglobina. Los antígenos fijadores del complemento tienen amplio rango para ambas enzimas estas hidrolizan tanto la hemoglobina natural como la desnaturalizada.

La infección por *B. bovis* y *B. bigemina* sugieren que las alteraciones hemáticas de anemia y hemoglobinuria no son responsables directas de la muerte de los animales, sino que muy probablemente se deben a desordenes de otros mecanismos como disfunción hepática, desequilibrio electrolítico, presencia de coagulación intravascular diseminada e incluso la presencia de toxinas, alteración de plaquetas debidas a la trombocitopenia, nitrógeno ureico y bilirrubina aumentados. Por otra parte se ha observado infección prenatal y daño hepático, por lo cual los niveles de urea y nitrógeno en la sangre están aumentados¹³⁶.

Según Rivera¹³⁷, en aislados virulentos de *B. bovis*, los capilares del cerebro aparecen llenos de eritrocitos infectados unidos entre sí por bandas intercelulares, que los fijan al endotelio vascular. Este secuestro también se presenta en capilares de riñón, músculo cardíaco y esquelético, produciéndose daños severos como resultado de anoxia tisular.

También se produce secuestro masivo de eritrocitos y neutrófilos en capilares del pulmón, lo cual causa permeabilidad capilar y edema, resultando en alteraciones de la función respiratoria. La acumulación de neutrófilos se debe a la anoxia y a la presencia de proteasas liberadas por los parásitos las cuales tienen función quimiotáctica para los leucocitos.

Blood y Radostits¹³⁸, expresan que la susceptibilidad del bovino a la infección por *Babesia* disminuye con la edad, pero la susceptibilidad a los efectos patógenos del parasito aumenta.

Bowman¹³⁹, dice la mayor susceptibilidad de los hospedadores de más edad frente a todas las especies de *Babesia* aumenta mucho tras una esplenectomía.

¹³⁶ QUIROZ ROMERO, Héctor. Op. Cit., p.191

¹³⁷ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.99

¹³⁸ BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Op. Cit., p. 1061

¹³⁹ BOWMAN, DWIGHT D. Op. Cit., p. 54

4.2.8 Signos clínicos. Quiroz¹⁴⁰, argumenta que las variaciones en la severidad y duración de la babesiosis dependen de la edad del animal, su estado nutritivo, reproductivo, de la estación del año y del grado de exposición.

Blood y Radostits afirma: “*B. bovis* y *B. bigemina* producen síndromes casi idénticos clínicamente, que se caracterizan por comienzo agudo de fiebre (41°C), anorexia, depresión, debilidad, cese de la rumiación. Las frecuencias respiratoria y cardiaca se encuentran aumentadas, se presenta palidez extrema de mucosas y conjuntiva, propia de la anemia grave, en etapas terminales hay ictericia intensa”¹⁴¹.

Según Borchert¹⁴², las hembras gestantes abortan, la secreción láctea disminuye intensamente y la leche tiene color amarillo y sabor amargo. La sangre tiene color rojo claro y aspecto acuoso, la emisión de orina se produce con dificultad; ésta contiene albumina y generalmente a partir del segundo día toma color rojizo o rojo negruzco, por la presencia de metahemoglobina y pigmentos biliares, al agitarla forma espuma. En el sedimento urinario se encuentran abundantes células epiteliales y cilindros.

Según Blood y Radostits¹⁴³, animales gravemente afectados mueren con rapidez en menos de 24 horas, los animales que sobreviven presentan una etapa febril que suele durar 1 semana, y el curso total de la enfermedad dura 3 semanas. Los animales que sobreviven se recuperan gradualmente de las secuelas: adelgazamiento extremo y anemia.

En animales jóvenes en ocasiones se observa un síndrome subagudo caracterizado por poca fiebre, sin hemoglobinuria. Puede presentarse babesiosis cerebral que se manifiesta por incoordinación, parálisis posterior, convulsiones, excitación y coma, con alta mortalidad a pesar del tratamiento.

4.2.9 Inmunología. Según Rivera¹⁴⁴:

La resistencia a la infección por *Babesia* spp depende de diferentes mecanismos, señalándose:

1. Resistencia innata: mediante la cual, factores de tipo fisiológico o

¹⁴⁰ QUIROZ ROMERO, Héctor. Op. Cit., p.193

¹⁴¹ BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Op. Cit., p 1062

¹⁴² BORCHERT ALFRED, Op. Cit., p. 653

¹⁴³ BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Op. Cit., p. 1062

¹⁴⁴ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.102

bioquímico propios del hospedador, juegan un papel importante como mecanismos de protección, impidiendo el crecimiento y multiplicación intraeritrocítica de los parásitos.

En cultivos in vitro de *B. bovis* en eritrocitos se ha demostrado que en la sangre de bovinos jóvenes existe un factor responsable de resistencia a estos parásitos. Este factor es independiente de los anticuerpos, está presente en el suero y es dializable. La presencia de este factor resulta en inhibición de la multiplicación del parásito y la eventual muerte del mismo dentro del eritrocito.

2. Resistencia natural: dependiente de mecanismos de defensa del animal que actúan para efectuar la remoción de los parásitos. El sistema reticuloendotelial y sus componentes son elementos no específicos de resistencia a las infecciones por *Babesia spp.*, actúan mediante mecanismos como la fagocitosis produciendo la eliminación de los parásitos.

3. Inmunidad adquirida: mediante la cual la protección obtenida está en función de una respuesta inmune específica y se obtiene por el contacto previo con el agente etiológico.

García argumenta que:

La inmunidad adquirida resultante de la inmunización o de la infección constante es dependiente de células T cooperadoras (Th) y de anticuerpos. Las células Th realizan un doble papel produciendo citocinas para que ayuden a la producción de diferentes isotipos o subclases de anticuerpos de alta afinidad, para promover la activación de macrófagos. La óptima inmunidad protectora contra infecciones por *Babesia spp.*, requiere tanto anticuerpos fijadores de complemento como anticuerpos opsonizantes, así como de la activación de macrófagos.

Además del papel de los anticuerpos en la respuesta inmune contra las infecciones por *Babesia*, es esencial la actividad de las células en esta respuesta. Se ha destacado la función de los macrófagos, como células fagocíticas, eliminando tanto a parásitos como a eritrocitos parasitados. Además de ser células presentadoras de antígeno, colaboran en la blastogénesis de linfocitos específicos contra antígenos de *Babesia*, y actúan como células productoras y secretoras de citocinas y reactivos intermediarios del oxígeno y nitrógeno¹⁴⁵.

¹⁴⁵GARCÍA TAPIA, David. ALVAREZ MARTINEZ, Jesús Antonio. FIGUEROA MILLAN, Julio Vicente. VEGA, Carlos Agustín. Babesiosis Bovina, características relevantes de la respuesta inmune. En: Revista ciencia veterinaria (México): Septiembre 2003 (consultada: 3 febrero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol9/CVv9c4.pdf>

Rivera afirma:

Se han detectado tres tipos diferentes de antígenos. El primero es un autoantígeno asociado a complejos de haptoglobina el cual estimula la formación de anticuerpos precipitantes no específicos para infecciones con *Babesia* y no asociados con inmunidad adquirida.

El segundo tipo corresponde a antígenos relacionados con los grupos sanguíneos del bovino, los cuales causan la producción de lisinas para eritrocitos homólogos, pero no para los autólogos y no estimulan la inmunidad adquirida.

El tercer tipo probablemente de origen parasitario y con la propiedad de inducir protección parcial contra diferentes aislados de *B. bovis*, manifestada principalmente por un retardo en el periodo de incubación¹⁴⁶.

Para Rivera¹⁴⁷, los determinantes antigénicos más importantes asociados con la inducción de inmunidad protectora hacia *Babesia spp.* están localizados en la membrana superficial de los merozoitos y los anticuerpos producidos previenen principalmente la penetración eritrocítica de estos parásitos.

El calostro de las vacas infectadas por *B. bovis*, contiene títulos de anticuerpos más altos que el suero; pero 3-4 días postparto caen y presentan valores menores a los presentes en el suero. Los anticuerpos en becerros persisten por periodos de tiempo que oscilan entre 7 y 148 días.

La fagocitosis de eritrocitos infectados y de parásitos es un mecanismo de protección que se presenta en babesiosis.

El bazo posee una importante función en el desarrollo de la inmunidad adquirida, la esplenectomía aumenta la susceptibilidad a la infección y además favorece el establecimiento de infecciones cruzadas.

Entre las funciones del bazo se señala:

- Remoción de los parásitos de los eritrocitos en la microcirculación esplénica
- Fagocitosis
- Producción de anticuerpos

¹⁴⁶ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.103

¹⁴⁷ Ibid., p.103

4.2.10 **Diagnóstico.** Según Blood y Radosttits¹⁴⁸, la diferenciación de babesiosis y otras enfermedades que cursan con anemia hemolítica puede ser difícil.

La anaplasmosis suele ser menos aguda, y en ella las recaídas son más frecuentes y la hemoglobinuria es rara. La eperytozoonosis, es menos grave y los hallazgos clínicos pueden quedar reducidos a la anemia. La theileriasis producida por *Theileria annulata* se manifiesta frecuentemente con hemoglobinuria. La leptospirosis tiene un curso mucho más corto y es más grave en bovinos jóvenes que en adultos.

4.2.10.1 **Frotis sanguíneos.** Para la OIE:

El método tradicional de identificación del agente en animales infectados es mediante el examen microscópico de frotis finos y gruesos de sangre teñidos. La sensibilidad de esta técnica es tal que puede detectar parasitemias tan bajas como un parásito por 10^7 glóbulos rojos. La diferenciación de especies es buena en frotis finos pero pobre en los frotis gruesos, más sensibles. Esta técnica es adecuada, para la detección de infecciones agudas, pero no para la detección de portadores donde las parasitemias son en su mayoría muy bajas. La identificación y diferenciación del parásito puede mejorarse empleando un colorante fluorescente, como el naranja de acridina, en lugar del Giemsa.

Las muestras de animales vivos deberían recogerse preferiblemente de capilares, como los de la punta de la oreja o el extremo de la cola, ya que *B. bovis* es más común en la sangre capilar. Los parásitos *Babesia bigemina* y *B. divergens* se encuentran distribuidos uniformemente a lo largo del tejido vascular.

Si no es posible preparar frotis frescos a partir de sangre capilar, se debe recoger sangre estéril de la yugular en presencia de un anticoagulante con ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA 1 mg/ml). La heparina puede afectar a las características de color de la tinción y no está recomendada. La muestra debe mantenerse fría, preferiblemente a 5°C, hasta que se transporte al laboratorio, preferiblemente en pocas horas desde su recogida. Los frotis de sangre se secan al aire, se fijan en metanol absoluto durante 1 minuto, y se tiñen con el colorante Giemsa al 10% durante 20-30 minutos. Es preferible teñir los frotis de sangre tan pronto como sea posible después de su preparación para asegurar una definición adecuada del colorante. Los frotis gruesos se preparan depositando una gota pequeña de sangre sobre un porta limpio, entonces esta gota se seca al aire, se fija por calor a 80° durante

¹⁴⁸ BLOOD, D.C. Y RADOSTTITS, O.M. Op. Cit., p. 1063

5 minutos, y se tiñe con Giemsa al 10% durante 15-20 minutos¹⁴⁹.

4.2.10.2 **Técnicas moleculares.** Según la OIE:

Se han utilizado sondas para detectar ADN de algunas especies de *Babesia*, pero generalmente no son más sensibles que la microscopía directa y la aplicación en diagnósticos de rutina es limitada. Los ensayos de reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) han demostrado ser muy sensibles, particularmente en la detección de *B. bovis* y *B. bigemina* en ganado portador. Se han descrito niveles de detección tan bajos como tres eritrocitos parasitados en 20µl de células concentradas. Se han descrito varias técnicas de PCR que pueden detectar y diferenciar especies de *Babesia* en infecciones de portador. Sin embargo, los ensayos de PCR no se prestan bien para pruebas a gran escala y son poco prometedores para sustituir a las pruebas serológicas como método de elección para estudios epidemiológicos. Los ensayos de PCR son útiles como pruebas confirmativas y en algunos casos como pruebas reguladoras. Se han utilizado métodos de cultivo *in-vitro* para demostrar la presencia de infecciones portadoras de *Babesia* spp., y *B. bovis* también ha sido multiplicada en cultivo. La parasitemia mínima detectable mediante este método dependerá, en gran medida, de las infraestructuras disponibles y las habilidades del usuario, pero puede ser tan baja como 10^{-10} , haciendo de éste un método muy sensible para la demostración de la infección. Un beneficio añadido es que es 100% específico¹⁵⁰.

4.2.10.3 **Pruebas serológicas.** La OIE expresa: “Los métodos serológicos son potencialmente útiles para estudios epidemiológicos y para la evaluación del estado enzoótico de los rebaños”¹⁵¹.

➤ **Prueba inmunofluorescencia indirecta.** Según la OIE:

La prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) es utilizada ampliamente para detectar anticuerpos frente a *Babesia* spp., aunque el ensayo tiene una especificidad baja en *B. bigemina*. En la prueba IFI para *B. bigemina* las reacciones cruzadas con anticuerpos frente a *B. bovis* son un problema

¹⁴⁹OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES. Op. Cit.,549

¹⁵⁰Ibid., p. 550

¹⁵¹Ibid., p. 550

particular en áreas donde coexisten los dos parásitos. La prueba IFI tienen las desventajas del manejo de pocas muestras y la subjetividad¹⁵².

➤ **Enzimo Inmunoensayo para babesia bovis.** Según la OIE:

A partir de un ternero esplenectomizado se recoge la sangre infectada (normalmente 5-10% de parasitemia) en presencia de EDTA. La sangre se lava tres veces en cinco volúmenes de tampón fosfato salino (PBS), y las células infectadas se concentran mediante lisis diferencial de las células no infectadas en solución salina hipotónica. Las células infectadas son más resistentes a la lisis en soluciones salinas hipotónicas que las células no infectadas. Se preparan series de soluciones salinas hipotónicas, oscilando entre el 0,35% hasta 0,50% de NaCl, con incrementos del 0,025%. Para encontrar la mejor concentración, se añaden cinco volúmenes de cada solución salina a un volumen de RBC concentrados, que se mezclan suavemente y se dejan reposar durante 5 minutos.

Las mezclas se centrifugan y los sobrenadantes se aspiran. Se añade un volumen igual de plasma (conservado a partir de la sangre original) a cada tubo con los eritrocitos concentrados, y los contenidos de los tubos se mezclan. Se preparan frotis finos de sangre a partir de las mezclas de células sanguíneas resuspendidas, se fijan en metanol, y se tiñen con Giemsa. Estos frotis se examinan al microscopio para determinar qué solución salina lisa la mayoría de los eritrocitos no infectados pero deja intactos a los eritrocitos infectados.

Debería ser posible conseguir una infección >95% en los eritrocitos intactos restantes. La mayor parte de los eritrocitos concentrados se lisa diferencialmente con la solución salina óptima y se centrifugan. El sedimento (>95% de RBC infectados) se lisa en agua destilada a 4°C, y los parásitos se precipitan a 12,000 g durante 30 minutos. El precipitado se lava tres veces en PBS mediante resuspensión y centrifugación a 4°C. Se resuspende entonces en uno a dos volúmenes de PBS a 4°C, y se sónica en volúmenes adecuados utilizando una potencia media durante 60-90 segundos. El material sonificado se ultracentrifuga, (105.000 g durante 60 minutos a 4°C) y se conserva el sobrenadante. El sobrenadante se mezcla con un volumen igual de glicerol y se conserva en alícuotas de 2-5 ml a -70°C. Es aceptable la conservación a corto plazo a -20°C para la alícuota de trabajo.

Con esta prueba, es posible detectar anticuerpos hasta cuatro años después de una infección simple. Deberían producirse de un 95-100% de reacciones

¹⁵²OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES. Op. Cit., p.550

positivas con animales inmunes a *B. bovis*, 1.2% de reacciones falsos positivos con suero negativo y <2% de reacciones falsos positivos con animales inmunes a *B. bigemina*¹⁵³.

➤ **Enzimoimmunoensayo para *Babesia bigemina*.** La OIE afirma que:

Este ELISA está basado en un antígeno de 58 kDa identificado por varios grupos en aislamientos de *B. bigemina* en Australia, América Central y Texas, Estados Unidos de América, Egipto y Kenia. Se ha utilizado un anticuerpo monoclonal (Mab) (D6) dirigido contra este antígeno para desarrollar un ELISA de inhibición competitiva. El antígeno utilizado en el ELISA es un péptido de 26 kDa, codificado por un fragmento de 360 bp del gen p58, expresado en *E. coli* y purificado mediante columnas de afinidad. Este antígeno también puede ser empleado en un formato de ELISA indirecto, aunque se debe esperar alguna reacción cruzada de anticuerpos frente a *B. bovis*.

En años recientes se han descrito otras pruebas serológicas, que incluyen un ELISA de punto, un ELISA en porta, y pruebas de aglutinación de látex y en tarjeta. Estas pruebas presentan niveles aceptables de sensibilidad y especificidad en *B. bovis* y, en el caso del ELISA de punto, también para *B. bigemina*. Sin embargo, ninguna de estas pruebas parece haber sido adoptada para uso diagnóstico en otros laboratorios más que en aquellos en los que tuvieron lugar su desarrollo original y validación. Por tanto se desconoce la adaptabilidad de estas pruebas para laboratorios de diagnóstico rutinario¹⁵⁴.

4.2.10.4 Estudios Postmortem. Según Quiroz:

Los cambios están asociados primariamente con la destrucción de eritrocitos. La piel y mucosas visibles están pálidas y en ocasiones ictéricas. Con frecuencia hay edema subcutáneo del encuentro, particularmente en los casos prolongados. Los órganos internos están pálidos y en ocasiones ictéricos, la sangre es de menor densidad y el bazo en los casos agudos esta congestionado; en los crónicos esta aumentado de dos a cuatro veces su tamaño normal y el parénquima varia de consistencia, el color varia de café rojizo a café amarillento. El hígado en los casos agudos aparece congestionado, con los bordes redondeados, friable, con la grasa y el

¹⁵³ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES. Op. Cit.,p.550

¹⁵⁴ Ibid., p .551

parénquima ictericos, en casos crónicos hay hepatomegalia. La vesícula biliar aumenta de tamaño y la bilis esta espesa y grumosa, dando una coloración moteada al hígado. La pared de la vesícula esta distendida con coágulos color oscuro y petequias. En casos agudos la vejiga urinaria contiene orina de color vino, pero puede ser normal en casos crónicos.

Hay tubulonefrosis y degeneración de los túbulos colectores en infecciones severas. Con frecuencia hay congestión vascular y la estasis solo ocurre en casos graves por *B. bovis* con reducción glomerular.

El tejido subcutáneo puede estar edematoso e icterico. La mucosa del abomaso puede tener inflamación catarral con pequeñas hemorragias y erosiones en la región del píloro. Cambios similares ocurren en el intestino y particularmente en el recto; El contenido rectal esta en ocasiones hemorrágico o icterico. La mucosa de la vagina aparece con puntos hemorrágicos. Los riñones están congestionados, de color oscuro y la grasa perirrenal puede estar edematosa o icterica.

Con frecuencia hay hemorragias en el corazón y la mucosa de la vejiga urinaria. Los pulmones pueden presentar congestión hipostática y la medula ósea algunas veces es rojiza.

Las lesiones microscópicas en el cerebro son moderadas o hay marcada distensión de los capilares por los eritrocitos parasitados; esto es más marcado en la materia gris del cerebro y del cerebelo. Sin embargo también se detecta en la materia blanca de estas áreas, así como en la parte media del cerebro y médula. Hay también edema intersticial con cambios degenerativos de las neuronas o hemorragia perivascular¹⁵⁵.

¹⁵⁵QUIROZ ROMERO, Héctor. Op, Cit..p.191

Cuadro 2. Muestreo de animales muertos

ORIGEN DEL MATERIAL	MUESTRAS REQUERIDAS
Animal recién muerto (0-8 horas postmortem)	Frotis delgado de sangre de un miembro, cola u oreja. Frotis de órganos: riñón, corazón, bazo, hígado y cerebro
Animales en descomposición (8-48 horas postmortem)	Frotis delgado de sangre de un miembro, cola u oreja. Frotis de órganos: Bazo, cerebro, corazón, riñón e hígado

RIVERA A. Manuel. Hemoparasitosis Bovinas. Caracas: UCV, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 1996. p.111

4.2.11 Tratamiento. Según Rivera:

Los resultados del tratamiento de bovinos afectados por babesiosis depende de cuatro factores importantes:

- Diagnostico diferencial entre las especies de Babesia
- Conocimiento del tipo de ganado que está siendo afectado (raza, tipo, edad, condición fisiológica).
- Conocimiento y manejo adecuado de las drogas existentes en el mercado contra *Babesia spp.*
- Posibilidad de utilizar el conocimiento epidemiológico zonal con el objeto de orientar la anamnesis de los casos clínicos y fundamentar el uso de medicamentos útiles para otras medidas complementarias (aplicación de acaricidas, vacunaciones y medidas de manejo)¹⁵⁶.

Rivera¹⁵⁷, afirma que el tratamiento generalmente está dirigido a moderar el cuadro clínico de la infección, fundamentalmente la fiebre, hemoglobinuria, y mejorar el

¹⁵⁶ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.127

¹⁵⁷ Ibid., p.128

volumen de eritrocitos.

La eliminación total del parásito no es lo deseable para aquellos animales mantenidos en áreas enzoóticas en las cuales continuamente se están exponiendo a la infección.

4.2.11.1 Aceturato de diminazene. Botana reporta: “este medicamento se administra en dosis de 3.5 mg/kg vía subcutánea o intramuscular. Existe una susceptibilidad diferencial de las diferentes especies de babesias. Elimina rápidamente *B. bigemina*, pero no elimina completamente *B. bovis*, ni *Babesia divergens*. La presencia de cierta actividad parasitaria permite el desarrollo de inmunidad por parte del animal”¹⁵⁸.

4.2.11.2 Imidocarbo. Botana expresa:

El Imidocarbo reduce el número de babesias de la sangre sin alcanzar la erradicación completa, por lo que permite el desarrollo de inmunidad por el hospedador. Además el Imidocarbo permite un efecto profiláctico hasta un mes después del tratamiento. Este efecto protector tiene relación directa con la distribución del fármaco por los tejidos orgánicos que actúan como reservorio y permiten su detección plasmática durante periodos prolongados. La presencia de residuos de este fármaco por encima de la concentración establecida por el nivel de tolerancia, o límite máximo de residuos durante un tiempo prolongado (170 días en hígado y riñón bovinos), hace que los periodos de retiro del fármaco sean muy extensos.

En dosis de 1mg/Kg vía subcutánea o intramuscular, controla la parasitemia y los principales signos clínicos en animales infectados, siendo eficaz contra todas las especies de babesias. Con dosis de 2 mg/Kg se obtiene un efecto profiláctico que confiere protección contra la infección especialmente contra la presentación clínica de la enfermedad durante un mes¹⁵⁹.

4.2.12 Epidemiología. Según La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria¹⁶⁰, la epidemiología de la babesiosis bovina está ligada a la

¹⁵⁸ BOTANA L.M, Op. Cit., p. 540

¹⁵⁹ Ibid., p. 540

¹⁶⁰CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op.cit., p.15

interacción de los factores vector, huésped, parásito y a la intervención del hombre sobre los mismos. *B. bovis* y *B. bigemina* son infecciones de los trópicos y subtropicos, estas dos especies residen en Suramérica, así como en Colombia, donde la babesiosis en bovinos es causada por estas dos especies y se encuentran difundidas en las mismas áreas en donde se presenta la anaplasmosis.

Para Quiroz¹⁶¹, se ha indicado que la frecuencia, incidencia, prevalencia, de la morbilidad y mortalidad varían de acuerdo con la edad en general los becerros muestran mayor grado de resistencia que los adultos, algunas veces se presentan brotes en animales jóvenes, pero es la excepción.

El sexo está ligado a un estado fisiológico productivo, las vacas en producción láctea tienen mayor número de garrapatas que las secas, y el estrés del parto reduce las defensas del organismo, facilitando la infección o la recaída.

Según Blood, y Radostits¹⁶², en zonas enzoóticas los animales afectados con más frecuencia son los bovinos susceptibles incorporados a la región con fines reproductivos, para sacrificio, o en tránsito. El ganado nativo de estas regiones rara vez se afecta, los casos clínicos graves que ocurren en estos bovinos suelen depender de la exposición a algún tipo de estrés como inanición, o enfermedad intercurrente.

La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria expresa que: “en las razas de origen europeo e introducidas de áreas libres, la susceptibilidad a los hemoparásitos es alta y las pérdidas pueden ser cuantiosas”¹⁶³.

4.2.11 Control y prevención. Según Rivera¹⁶⁴, el control se refiere a las medidas implementadas para reducir la población de garrapatas sobre el animal y en el medio ambiente, de tal manera que la carga parasitaria no produzca daños considerables y pérdidas económicas pero que a su vez permita conservar el status de estabilidad enzoótica.

Según Blood y Radostits¹⁶⁵, en el control en que no se pretenda la erradicación destacan dos principios. Uno de ellos es que los bovinos nativos deben mantener una población suficiente de garrapatas vectoras para garantizar que todos los animales sean infectados y reinfectado suficientemente temprano y a menudo, con

¹⁶¹QUIROZ ROMERO, Héctor. Op. Cit., p.196

¹⁶²BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Op. Cit., p. 1063

¹⁶³CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Op. Cit., p.26

¹⁶⁴RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.139

¹⁶⁵BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Op. Cit., p. 1063

objeto de conservar un estado constante de inmunidad – infección.

Para la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria¹⁶⁶, La mejor forma de prevenir la presentación de anaplasmosis como de babesiosis, es permitir que los terneros se expongan a garrapatas en sus primeros meses de vida y racionalizando el uso de acaricidas e insecticidas.

La OIE expresa que¹⁶⁷, en varios países se preparan vacunas con cepas vivas o atenuadas de *B. bovis*, *B. bigemina* o *B. divergens* se producen en varios países a partir de la sangre de animales donantes infectados. Las vacunas se presentan en forma congelada o refrigerada. Se recomienda generalmente la producción de la vacuna congelada ya que permite un exhaustivo control de post-producción de cada lote. El riesgo de contaminación de esta vacuna derivada de sangre hace que sea esencial un minucioso control de calidad, aunque puede ser prohibitivamente caro.

Las vacunas vivas de Babesia no son completamente seguras. Una recomendación práctica es limitar su uso a terneros, donde la inmunidad inespecífica minimizará el riesgo de reacciones frente a la vacuna. Cuando van a vacunarse animales viejos, el riesgo de reacción justifica el seguimiento riguroso y el tratamiento con un babesicida, si surgen reacciones. La inmunidad protectora se desarrolla en 3-4 semanas y dura varios años después de una sola vacunación.

La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria¹⁶⁸, expresa que en Colombia existe una vacuna trivalente congelada constituida por cepas atenuadas de *anaplasma marginale*, *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, la cual induce con una sola dosis una sólida inmunidad.

¹⁶⁶ CORPORACION COLOMBIANA DE INVESTIGACION AGROPECUARIA, Op. Cit., p.10

¹⁶⁷ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES. Op. Cit.,548

¹⁶⁸ CORPORACION COLOMBIANA DE INVESTIGACION AGROPECUARIA, Op. Cit., p.20

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 LOCALIZACIÓN. Según el Plan Agropecuario Municipal de San Bernardo:

El municipio de San Bernardo se encuentra ubicado al nororiente del departamento de Nariño, se localiza a 1° 30'00" de latitud y a 72°02'00" de longitud occidental. Se encuentra distanciado a 77 Km de la capital de Nariño San Juan de Pasto.

El municipio de San Bernardo pertenece a la subregión del río Mayo la cual se encuentra influenciada por las cuencas hidrográficas del río Mayo al norte y río Juanambú al sur, tiene una altura de 2100 m.s.n.m., de clima medio seco correspondiente a la formación vegetal de bosque seco, montañoso y bajo, con una temperatura promedio de 17 C°, una precipitación promedio anual de 1600 mm., brillo solar de 15.39 horas y una humedad relativa promedio de 83%. El municipio cuenta con una área total de 7735.012 Ha.

La región presenta diferentes elevaciones que van desde los 1000 hasta los 4250 m.s.n.m. representando la máxima elevación el volcán Doña Juana.¹⁶⁹

5.2 POBLACIÓN OBJETO DE MUESTRA. ICA- Fedegan reporta: "que el municipio de San Bernardo cuenta con una población de 2944 Bovinos, distribuidos en 329 predios"¹⁷⁰.

5.2.1 Tamaño de la muestra

Para obtener el tamaño de la muestra se aplicó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N Z^2 p (1-p)}{(N-1) e^2 + Z^2 p (1-p)}$$

Donde:

N= Tamaño de la población =2944

¹⁶⁹ SAN BERNARDO. PLAN AGROPECUARIO MUNICIPAL. 2008.p.7

¹⁷⁰ ICA- FEDEGAN. Epidemiología Pecuaria Regional Nariño. Febrero 2009

Z= Factor de confiabilidad = 95%
 E= Margen de error = 6%
 P= Prevalencia =0.56

Se toma como prevalencia 5.6% ya que es la prevalencia de hemoparásitos reportada en el municipio de La Florida Nariño¹⁷¹.

$$n = \frac{(2944)(1.96)^2 (0.56) (1 - 0.56)}{(2943)(0.06)^2 + (1.96)^2 (0.56) (1-0.56)}$$

n= 241

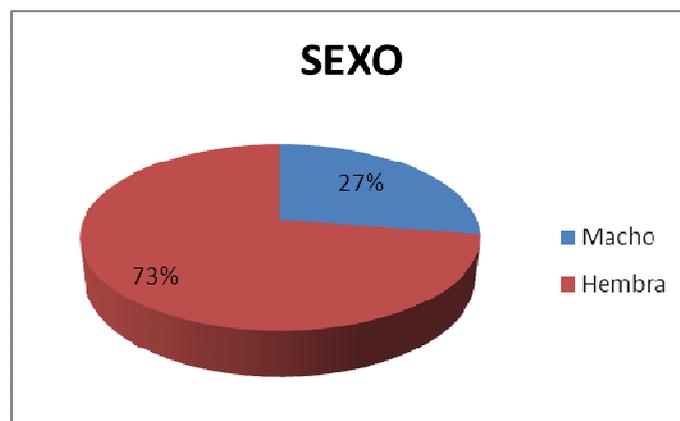
El tamaño de la muestra fue de 241 Bovinos

5.2.2 Características de la población muestreada

5.2.2.1 Sexo

De los 241 animales muestreados 66 fueron machos, y 175 hembras, lo que corresponde en porcentaje al 27% para machos y 73% para hembras. El mayor porcentaje de hembras obedece a que de acuerdo al censo de bovinos, en el municipio de San Bernardo existe un mayor número de bovinos hembra, que de bovinos macho.

Figura 5. Frecuencia de sexo

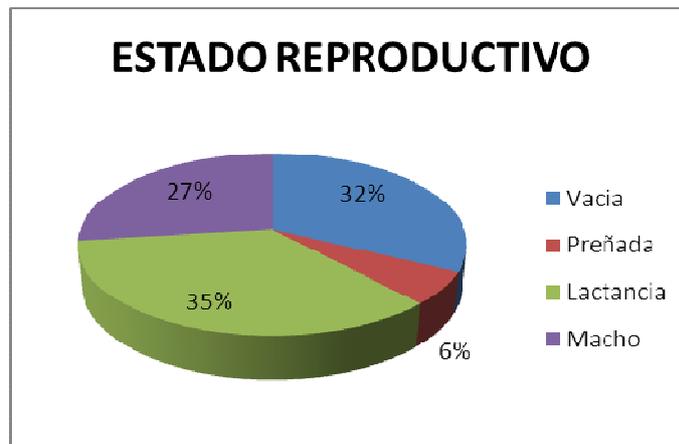


¹⁷¹ENRIQUEZ CAMPO, Alexander. MUÑOZ RECALDE, Claudio Alexander. Op, Cit.,p.52

5.2.2.2 Estado reproductivo

De las 175 hembras muestreadas se encontró que: El 32 %, estaban vacías, el 6% preñadas, el 35% en producción.

Figura 6. Frecuencia de estado reproductivo

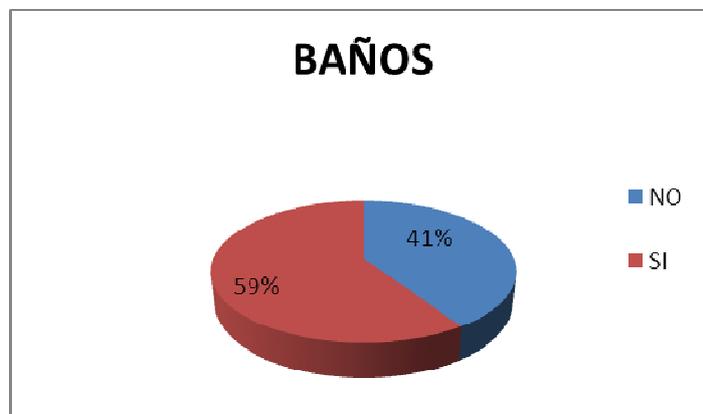


5.2.2.3 Control de vectores

En la historia clínica, se recogió datos acerca de cómo se lleva a cabo el control de vectores en los 27 predios muestreados.

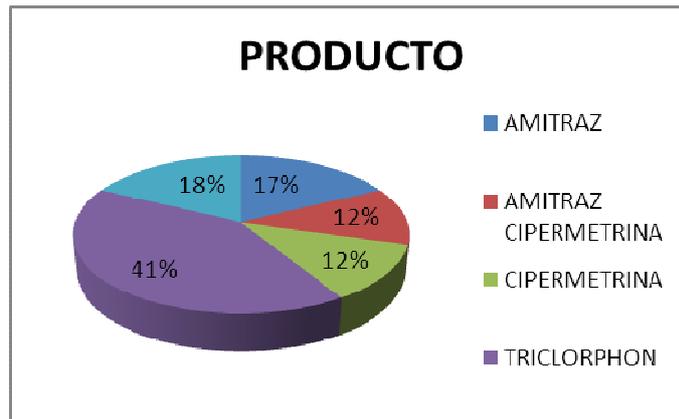
En el 59% de los predios (16 predios), se realizan baños de aspersion con bomba manual, y en el 41% (11 predios), de los predios no se realizan baños de aspersion. No se lleva a cabo otro tipo de control de vectores.

Figura 7 Baños



Entre los productos usados para el control de vectores, se reporto que en el 41% de los predios que realizan baños de aspersión usan como producto triclorphon, el 17% usa Amitraz, el 12% , usa Cipermetrina. Un 18% usa la combinación Cipermetrina – Triclorphon y un 12% usa la combinación Cipermetrina-Amitraz.

Figura 8 Producto



Para obtener información sobre el uso del producto en la dilución adecuada se tomo como criterio el uso o no uso de la dosis recomendada por el laboratorio farmacéutico para realizar la dilución.

El 23% reporto que usa la dosis recomendada por el fabricante para realizar la dilución, el 24% reporto que uso una dosis menor a la recomendada por el fabricante y el 53%, reporto usar una dosis mayor a la recomendada por el fabricante.

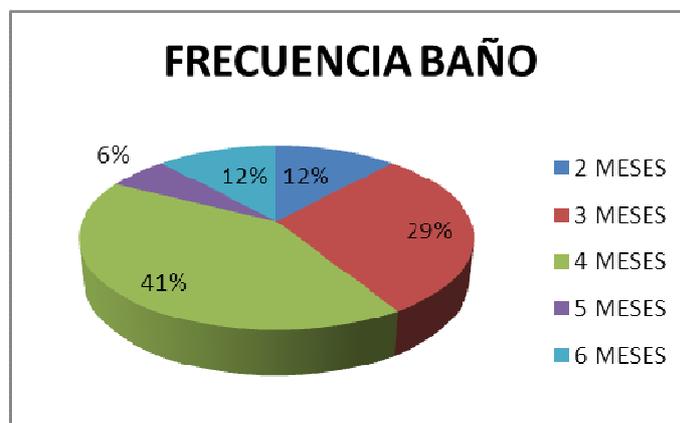
Quienes reportaron usar una dosis menor, argumentaron hacerlo por disminuir costos o por que usan combinaciones de productos, es decir usan dos productos pero disminuyen la dosis de cada producto.

Figura 9 Dilución



Entre los predios que realizan baños de aspersión el 41%, reportó que realiza baños con una frecuencia de 4 meses, el 29% reportó una frecuencia de 3 meses, el 12% realiza baños de aspersión cada 6 meses, otro 12 % reportó una frecuencia de 2 meses, y un 6% una frecuencia de 5 meses.

Figura 10 Frecuencia de baño



5.2.2.4 Desparasitación

Todos los predios reportaron realizar desparasitación, el 41% reportó usar como producto ivermectina, un 26% usa Albendazol, el 18% usa fenbendazol, un 11% usa levamisol y el 4% usa Triclorphon.

Figura 11 Producto de desparasitación



El 41% desparasita con un frecuencia de 9% meses, el 30% desparasita cada 6 meses, el 18% cada 10 meses y el 11% cada 4 meses.

Figura 12 Frecuencia de desparasitación



5.3 TÉCNICAS PARA RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

5.3.2 Técnica para toma de muestra

La muestra se obtuvo del borde inferior de la oreja. Según Vélez ¹⁷² para obtener sangre capilar del borde inferior de la oreja se depila

¹⁷² VELEZ, A.R. Guías en parasitología veterinaria. Medellín: Exitodinamica Editores.1983. p.305

la región previamente luego abarcándola con la mano izquierda desde su base, se golpea con la mano derecha varias veces con el propósito de producir hiperemia. Posteriormente, con una tijera, se corta el borde.

La sangre se recogió en tubos con EDTA, los cuales fueron rotulados con el número de la historia clínica de cada bovino.

Figura 13. Depilación del borde inferior de la oreja



Figura 14 Corte del borde inferior de la oreja



Figura 15. Colecta de sangre



5.3.3 Traslado de las muestras

Las muestras se colocaron en cajas de icopor con gel refrigerante y fueron trasladadas hasta el Laboratorio de la Clínica Veterinaria Carlos Martínez Hoyos, para su debido procesamiento.

5.3.4 Materiales y equipos

- Blusas blancas
- Guantes de látex
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Tinción de Giemsa
- Aceite de inmersión
- Metanol
- Agua destilada
- Tubos con EDTA

5.3.5 Técnicas de laboratorio

5.3.5.1 Frotis sanguíneo. De acuerdo con Benjamin¹⁷³, se colocó una pequeña gota de sangre en uno de los extremos del portaobjetos, el cual estaba en una

¹⁷³ BENJAMIN, B. Manual de Patología Clínica en Veterinaria. 3 Ed. México. Ed. LIMUSA. 1991.p.34

superficie sólida y plana. Posteriormente se colocó el extremo de un segundo portaobjetos contra la superficie del primero sosteniéndolo a un ángulo de aproximadamente 30° el portaobjetos se deslizó suavemente para extender la gota de sangre, cuando esta se hubo extendido sobre aproximadamente dos tercios del ancho del portaobjetos por acción capilar, se movió hacia delante con un movimiento firme y uniforme.

La película de sangre se secó ondeando el portaobjetos en el aire y se fijó con metanol durante 3 minutos, posteriormente se tiñó usando la coloración de Giemsa.

Corona¹⁷⁴, afirma que la tinción de Giemsa es un método económico y confiable, capaz de detectar niveles de parasitemia de 0.1 -0.2 % o sea puede detectar niveles mayores a 10^6 eritrocitos infectados por anaplasma en ml de sangre¹⁷⁵. La OIE expresa que¹⁷⁶, para Babesiosis la sensibilidad de esta técnica es tal que detecta parasitemias tan bajas como un parásito por 10^7 glóbulos rojos.

Coloración de Giemsa:

- a. Se fija el frotis con metanol
- b. Aplicar colorante de Giemsa, 10 minutos
- c. Lavar en agua destilada y dejar secar
- d. Una vez seco se aplica aceite de inmersión y se observa con objetivo de 100X.

Figura 16. Visualización al microscopio



¹⁷⁴ CORONA, RODRIGUEZ, y MARTINEZ. Op. Cit., p.14

¹⁷⁵ Ibid., p.14

¹⁷⁶ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES. Babesiosis Bovina. 2004. (En línea) (Consultada: 9 enero 2009). Disponible en la dirección electrónica: http://www.oie.int/es:_index.htm

5.4 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN, PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados en el programa SPSS versión 15.0 (Statistical Package for the Social Sciences), para Windows, en el cual se realizó un análisis descriptivo unidimensional utilizando proporciones, valores promedio y límites de confianza, con un 95% de confiabilidad, y una tabla para la estimación de la prevalencia. También se realizó una tabla ANOVA multifactorial para establecer diferencias estadísticamente significativas entre los valores de hematocrito según grupos de edad.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

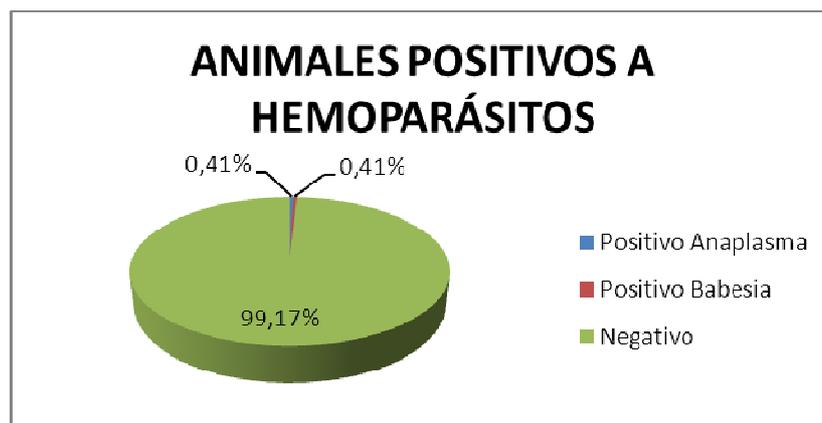
6.1 ANIMALES POSITIVOS PARA *Anaplasma spp* y *Babesia spp*

La prevalencia determinada en este trabajo para *Anaplasma spp* y *Babesia spp* mediante frotis sanguíneo en el municipio de San Bernardo es de 0,41%, para cada tipo de parásito.

Tabla 1. Animales positivos a hemoparásitos

ANIMALES POSITIVOS A HEMOPARASITOS		
	Frecuencia	Porcentaje
Positivo Anaplasma	1	0,41493776
Positivo Babesia	1	0,41493776
Negativo	239	99,1701245
Total	241	100

Figura 17. Animales positivos a hemoparásitos



6.1.1 Descripción

Mediante frotis sanguíneo se encontró 1 animal positivo a Anaplasma y 1 animal positivo a Babesia.

De los cuales se recogió los siguientes datos al examen clínico realizado y se consignaron en el formato de historia clínica (anexo J):

Cuadro 3. Descripción de animales positivos a hemoparásitos

TIPO DE HEMOPARASITO	Anaplasma	Babesia
SEXO	Macho	Hembra
EDAD	5 meses	3 meses
CONDICIÓN CORPORAL	3.0	3.5
FRECUENCIA CARDIACA	120 Lat/min	88 Lat/min
FRECUENCIA RESPIRATORIA	32 Resp/min	40 Resp/min
TIEMPO DE LLENADO CAPILAR	1 segundo	2 segundos
TEMPERATURA	39.2	39.2
MUCOSAS	Normales	Normales
HEMATOCRITO	45	28

Debido a que solo se encontró un animal positivo para cada hemoparásito, fue imposible calcular la prevalencia por sexo y por edad, tal como se planteó en los objetivos.

La baja prevalencia de hemoparásitos mediante frotis sanguíneo contrasta con las prevalencias reportadas en otros municipios del departamento.

Según Guerrero e Iguá¹⁷⁷, la prevalencia de hemoparásitos en los municipios de Imues y Guaitarilla es del 12.5%, correspondiente a 8.34% la prevalencia de Anaplasma y 4.16% la prevalencia de Babesia.

Enríquez y Muñoz reportan¹⁷⁸, que la presencia de enfermedad hemoparasitaria en

¹⁷⁷ GUERRERO ORTIZ, Víctor Mauricio. IGUA BARCENAS, Edgar Andrés. Determinación y asociación hematológica de las enfermedades hemoparasitarias presentes en los municipios de Imues y Guaitarilla Departamento de Nariño. Tesis de Grado (Médico Veterinario). Universidad de Nariño, facultad de ciencias pecuarias. 2006. p.69

¹⁷⁸ ENRIQUEZ CAMPO, Alexander. MUÑOZ RECALDE, Claudio Alexander. Determinación del estado y manejo de enfermedades hemoparasitarias presentes en los bovinos localizados en el sector rural del municipio de la Florida

el municipio de la florida es de 5.6%.

Muñoz y Ortega afirman¹⁷⁹, que en el municipio de Taminango existe una prevalencia del 4.83% para Anaplasma y del 13.79% para Babesia.

El municipio de San Bernardo por sus condiciones de altura y temperatura, es una zona donde existe presencia de garrapatas y el hecho de encontrar hemoparásitos mediante frotis sanguíneo aun en una baja proporción de animales indica que en el municipio si existe la presencia de los mismos.

La baja prevalencia a hemoparásitos obtenida en este estudio hace suponer la posible condición del municipio de San Bernardo como zona estable enzooticamente.

Cabe destacar que en el municipio de San Bernardo no se lleva a cabo un control riguroso de vectores; se realizan baños de aspersión, solo en algunos predios y con una frecuencia mucho menor a la recomendada. Pero esto resulta en un efecto benéfico para la conservación de estabilidad enzoótica pues de esta forma se garantiza infección de los animales antes de los nueve meses.

Según Rivera ¹⁸⁰, se estima que es necesario que se produzcan no menos de cinco teleoginas diarias por animal para asegurar la infección en la mayoría de los becerros de un rebaño antes de los nueve meses de edad y lograr la condición de estabilidad enzoótica. En zonas de estabilidad enzoótica, las poblaciones de garrapatas se mantienen en cantidades tales que pueden variar pero son suficientes para garantizar la exposición a estos hemoparásitos de la mayoría de terneros antes de los nueve meses ya que tanto los anticuerpos calostrales como los mecanismos de resistencia natural por la edad, protegerán a los animales de reacciones severas.

Los animales encontrados positivos en este estudio son animales menores de 9 meses coincidiendo con la edad de infección esperada en zonas enzoóticas de acuerdo con la literatura, además a esto se atribuye el hecho de no encontrar anomalías al examen clínico de estos animales, así como no se reporto por parte del propietario estado de enfermedad o alteración evidente en el estado estos.

departamento de Nariño. Tesis de Grado (medico veterinario). Universidad de Nariño, facultad de ciencias pecuarias. 2004. p.52

¹⁷⁹ MUÑOZ CASTILLO Danilo. ORTEGA MUÑOZ, José Luis. Prevalencia de Hemoparásitos en Bovinos del municipio de Taminango (Nariño). Tesis de Grado (zootecnistas). Universidad de Nariño, facultad de Zootecnia. 1985.p.66

¹⁸⁰ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.92

Ya que de acuerdo con Quiroz¹⁸¹, en zonas enzoóticas estas infecciones pasan generalmente inadvertidas; pero los terneros recuperados permanecen como portadores de la infección de por vida y son medianamente resistentes a infecciones.

Según Radostits¹⁸², La temperatura, la frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria normales en terneros son: 38,5 - 39,5C°, 80-100 Latidos por minuto, 24-36 Respiraciones por minuto respectivamente.

Se encontraron leves incrementos en estos parámetros, En el animal positivo a Anaplasma la frecuencia cardiaca fue de 120 latidos por minuto y el animal positivo a Babesia presento una frecuencia respiratoria de 40 respiraciones por minuto. Estos incrementos los atribuimos al estrés generado en los animales al momento del examen clínico. Ya que como se menciona, los animales no presentaban signos de enfermedad, ni el propietario reporto anomalías.

Según Blood y radostits para Anaplasma el promedio de edad a la que el ternero se infecta en áreas enzoóticas es de 11 (4-24) semanas y para Babesia la edad en promedio es de 11 (2-34) semanas y los cambios clínicos y patológicos en ellos son leves y breves.

Otte ¹⁸³, afirma que los terneros independientemente de si han recibido calostro o no, son menos susceptibles que los bovinos de mayor edad, o completamente refractarios a la infección por Babesia, hasta la edad de 7-9 meses. Este fenómeno se ha denominado resistencia natural o inmunidad inespecífica, este fenómeno es considerado un factor epidemiológico importante y se debe a dos elementos diferentes: un factor eritrocítico basado en la hemoglobina fetal, que dura un corto periodo, y un factor sérico de más larga duración. Este proporciona suficiente protección como para evitar una enfermedad severa mas no una infección, que luego induce una inmunidad activa. La situación es similar en el caso de *A. marginale*.

Cabe destacar que la baja prevalencia obtenida en este estudio asumiendo que San Bernardo fuese una zona estable enzooticamente puede atribuirse a la técnica usada para el diagnostico.

¹⁸¹ QUIROZ ROMERO, Héctor. Op, Cit..p.193

¹⁸² BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Op. Cit., p.1060

¹⁸³ OTTE, Edwald. Anaplasmosis y Babesiosis bovina en Colombia. ICA-GTZ. Santa Fe de Bogota.1992. p.11

Según la OIE¹⁸⁴, el frotis sanguíneo teñido con Giemsa es una técnica adecuada normalmente para la detección de infecciones agudas, pero no para la detección de portadores donde las parasitemias son en su mayoría muy bajas.

Corona, Rodríguez y Martínez¹⁸⁵, afirman que la tinción con Giemsa a los frotis de sangre es un método confiable, económico y capaz de detectar niveles de parasitemia de 0.1 a 0.2%. Sin embargo cuando el animal está en la fase crónica o en el estado de portador no expresa un elevado nivel de parasitemia para ser detectado.

Según otte¹⁸⁶, la prevalencia de parasitemias en las poblaciones bovinas en regiones endémicas es más alta a la edad de 6-24 meses. Después de esta cuando con un alto grado de probabilidad, los animales han sido expuestos a un gran número de variantes del antígeno, el estado inmune correspondiente impide el desarrollo de parasitemias patentes.

De esta manera se hace difícil detectar animales positivos mediante frotis sanguíneos teñidos con Giemsa en un área enzoótica, ya que la mayoría de animales son portadores. Así la identificación de los animales positivos en este estudio puede atribuirse a que estos fueron terneros y probablemente se encontraban en etapa de infección, sin signos clínicos como se menciono anteriormente.

Para determinar la prevalencia en una zona estable enzooticamente es necesario recurrir a estudios serológicos.

Rivera¹⁸⁷, afirma que los métodos serológicos son útiles para estudios epidemiológicos y para la evaluación del estado enzoótico de los rebaños.

Según otte¹⁸⁸, las pruebas serológicas son indispensables en las investigaciones epidemiológicas las más importantes son fijación de complemento (FC), prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes (IFAT), y la prueba de enzimas ligada a los anticuerpos (ELISA). Al emplear estas técnicas para la demostración indirecta de babesia y Anaplasma, se debe tener en cuenta que se pueden presentar reacciones cruzada y que puede ser difícil la interpretación de sueros con títulos bajos.

¹⁸⁴ OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES. Babesiosis Bovina. 2004. (En línea) (Consultada: 9 enero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.oie.int/es/index.htm>

¹⁸⁵ CORONA, RODRIGUEZ, y MARTINEZ. Op. Cit., p.14

¹⁸⁶ OTTE, Edwald. Anaplasmosis y Babesiosis bovina en Colombia. ICA-GTZ. Santa Fe de Bogota.1992. p.19

¹⁸⁷ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p118

¹⁸⁸ OTTE, Edwald. Anaplasmosis y Babesiosis bovina en Colombia. ICA-GTZ. Santa Fe de Bogota.1992. p.13

6.2 DETERMINACIÓN DE VALORES DE HEMATOCRITO EN ANIMALES MENORES DE 1 AÑO DE EDAD

Se realizó un procedimiento comparativo ANOVA factorial, a los valores de hematocrito, tomando 3 grupos etarios: Animales de 3-6 meses, animales de 6-9 meses, animales de 9-12 meses. Se obtuvo los siguientes resultados con un 95% de confiabilidad.

Tabla 2. Hematocrito por grupos de edad en animales menores de 1 año

EDAD	N	Error típico		Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
		Media		Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior
3-6 Meses	46	42,434	1,657	39,096	45,772	20	53
6-9 Meses	24	44,458	2,048	40,221	48,695	28	55
9-12 Meses	6	46,833	3,330	38,271	55,395	32	55
Total	76	43,421	1,219	40,992	45,850	20	55

No existen diferencias significativas entre los valores de hematocrito para los grupos etarios.

En los animales positivos, los valores de hematocrito no se encontraron por debajo de los rangos normales (24-48 %) para la especie.

Rivera¹⁸⁹, afirma que los terneros primoinfectados presentan descensos del hematocrito 2 semanas después; pero posteriormente vuelven a los valores normales 4-6 semanas postinfección, no manifestando enfermedad clínica.

El hematocrito del animal positivo a Anaplasma (45%) se encontró por encima de la media calculada para el primer grupo etario (3-6 meses), al cual corresponde de acuerdo a su edad (5 meses).

¹⁸⁹ RIVERA A. Manuel, Op. Cit., p.175

El hematocrito del animal positivo a Babesia (28%) aunque de acuerdo a la literatura se encuentra dentro de los rangos normales para la especie, se encuentra por debajo de la media calculada en este estudio para el primer grupo etario, de acuerdo a su edad (3 meses).

Según Benjamín¹⁹⁰, el promedio normal de hematocrito para un ternero de 4 meses de edad es 35 %, de acuerdo con esto el animal positivo a Babesia se encuentra por debajo de este promedio.

Esto podría atribuirse al mecanismo de destrucción de eritrocitos que se lleva a cabo durante de infección de estos parásitos.

Ferreira afirma: “en anaplasmosis se presenta una fuerte respuesta eritroide a diferencia de la babesiosis, debido a la destrucción intracelular de los eritrocitos, la cual elude la hemoglobinuria y permite reciclamiento de hierro y las proteínas”¹⁹¹.

Adicionalmente se realizo un frotis teñido con Wright, de cada muestra positiva. Encontrándose acantocitosis en el frotis positivo a Anaplasma.

Según Benjamín: “los acantocitos son eritrocitos con espinas y puntos agudos, estos se encuentran cuando existe la presencia de anemia hemolítica autoinmune. La acantocitosis se presenta en bovinos infectados con A. marginale, debido a un autoanticuerpo que es una globulina gamma que reacciona con las membranas de los eritrocitos de los animales infectados”¹⁹².

¹⁹⁰ BENJAMIN, B. Op Cit., p.92

¹⁹¹ FERREIRA DE LA CUESTA, Op. cit., p.439

¹⁹² BENJAMIN, B. Op Cit., p.164

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

La prevalencia de hemoparásitos en el municipio de San Bernardo determinada mediante frotis sanguíneo para *Anaplasma spp*, durante el período Junio-Agosto de 2009 fue del 0,41%.

La prevalencia de hemoparásitos en el municipio de San Bernardo determinada mediante frotis sanguíneo para *Babesia spp*, durante el período Junio-Agosto de 2009 fue del 0,41%.

La prevalencia de hemoparásitos mediante frotis sanguíneo en el municipio de San Bernardo, es baja en comparación con las prevalencias reportadas de otros municipios del departamento de Nariño.

Debido a que solo se encontró un animal positivo para cada hemoparásito, fue imposible determinar la prevalencia por sexo y por edad, como se planteó en los objetivos.

Los animales encontrados positivos en este estudio fueron menores de 9 meses, los cuales se encontraban en etapa de infección, sin signos clínicos o anomalías evidentes, atribuido a la resistencia natural, debido a su edad.

El hematocrito de los animales encontrados positivos a hemoparásitos en este estudio, está dentro del rango normal para la especie.

El hematocrito del animal encontrado positivo a *Anaplasma*, se encontró por encima de la media calculada para toda la muestra; así como también se encontró por encima de la media calculada para el grupo etario al cual corresponde.

El hematocrito del animal encontrado positivo a *Babesia*, se encontró por debajo de la media calculada para toda la muestra; así como también se encontró por debajo de la media calculada para el grupo etario al cual corresponde.

El frotis teñido con Giemsa, es una técnica adecuada para la detección de infección aguda, pero no para la detección de infecciones crónicas o animales portadores.

Se presume que el municipio de San Bernardo sea una zona estable enzooticamente para hemoparásitos *Anaplasma spp* y *Babesia spp*.

7.2 RECOMENDACIONES

- Realizar estudios serológicos en el municipio de San Bernardo para confirmar la condición de zona estable enzooticamente para hemoparásitos.
- Brindar capacitación a los ganaderos del municipio acerca de temas concernientes a manejo de enfermedades causadas por hemoparásitos, con el fin de lograr un mejoramiento en el sector ganadero de esta región.

ANEXOS

Anexo A. Frecuencia de sexo

SEXO		
	Frecuencia	Porcentaje
Macho	66	27,385
Hembra	175	72,614
Total	241	100

Anexo B. Frecuencia de estado reproductivo

ESTADO REPRODUCTIVO		
	Frecuencia	Porcentaje
Vacía	77	32,365
Preñada	14	5,809
Lactancia	84	34,854
Macho	66	26,970
Total	241	100

Anexo C. Frecuencia del estado de mucosas

MUCOSAS		
	Frecuencia	Porcentaje
Normal	210	87,136
Pálidas	22	9,128
Congestivas	9	3,734
Total	241	100

Anexo D. Análisis unidimensional frecuencia cardíaca

FRECUENCIA CARDIACA				
Mínimo	Máximo	Media		Desv. típ.
Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico	Estadístico
60	180	88,141	1,079	16,754

Anexo E. Análisis unidimensional frecuencia respiratoria

FRECUENCIA RESPIRATORIA				
Mínimo	Máximo	Media		Desv. típ.
Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico	Estadístico
20	52	29,493	0,332	5,166

Anexo F. Análisis unidimensional tiempo de llenado capilar

TIEMPO DE LLENADO CAPILAR				
Mínimo	Máximo	Media		Desv. típ.
Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico	Estadístico
1	3	1,141	0,026	0,404

Anexo G. Análisis unidimensional temperatura

TEMPERATURA				
Mínimo	Máximo	Media		Desv. típ.
Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico	Estadístico
38	40	38,645	0,148	2,302

Anexo H. Análisis unidimensional condición corporal

CONDICIÓN CORPORAL				
Mínimo	Máximo	Media		Desv. típ.
Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico	Estadístico
2,5	4	3,336	0,019	0,301

Anexo I. Análisis unidimensional hematocrito

HEMATOCRITO						
Mínimo	Máximo	Media		Desv. típ.		
Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico	Estadístico	Límite inferior	Límite superior
20	55	43,717	0,630	9,792	42,481	44,954

Anexo J. Historia clínica

DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE HEMOPARASITOS *Anaplasma spp, Babesia spp*, MEDIANTE FROTIS SANGUÍNEO EN BOVINOS MESTIZOS DEL MUNICIPIO DE SAN BERNARDO NARIÑO.

HISTORIA CLÍNICA: _____

FECHA: _____

RESEÑA

PREDIO: _____

NOMBRE DEL PROPIETARIO: _____

SEXO: H_____ EDAD: ____ años RAZA: _____ CONDICION

CORPORAL: ____

ESTADO REPRODUCTIVO: V_____ P_____ L_____

CONSTANTES FISIOLÓGICAS

FRECUENCIA CARDIACA: _ lat/min
_ resp/min

FRECUENCIA RESPIRATORIA:

TIEMPO LLENADO CAPILAR_seg

MUCOSAS: N_ P_ I_ C_ CI_

OTRO_____

TEMPERATURA: _____

ANAMNESIS: _____

CONTROL DE VECTORES

BAÑOS_____ PRODUCTO_____ DILUCIÓN_____

FRECUENCIA_____

OTROS:

DESPARASITACIÓN

SI -- NO_ PRODUCTO_ DOSIS_ FRECUENCIA_ VIA

ALIMENTACION

CLASE DE PASTO: SAL MINERALIZADA: ___CONCENTRADO:___OTRO:

MANEJO

PASTOREO ROTACIONAL: SI___ NO_ OTRO:

ESTRÉS: TRANSPORTE___ ENFERMEDAD___
INANICIÓN___ OTRO:_____

V: vacía P: preñada L: lactante N: normal P: pálida I: icterica C: congestivas CI:
cianóticas

BIBLIOGRAFIA

BASSO, Nilda. Bases de parasitología veterinaria. 1Ed. Buenos Aires. Hemisferio sur.1998.157P.

BENJAMIN, B. Manual de Patología Clínica en Veterinaria.3 Ed. México. Ed. LIMUSA. 1991. p. 30-165

BLOOD, D.C. Y RADOSTITS, O.M. Medicina veterinaria.7 ed. México. Interamericana. Vol.2. 1992.1568 P.

BORCHERT, Alfred. Parasitología veterinaria. 3 Ed. Zaragoza. Acribia. 1981. 745.P.

BOTANA L.M. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Mc Grawn Hill Interamericana. Madrid. 2002. 734P.

BOWMAN D. Dwight. Georgis Parasitología para veterinarios. 8 Ed. Madrid. Elsevier. 2004. 440 P.

CORONA, Belkis; RODRIGUEZ, Majela y MARTINEZ, Siomara, Anaplasmosis bovina (En línea). En: Revista electrónica de veterinaria REDVET en Cuba (La Habana): Abril 2004 (Consultada: 16 enero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040405.html>

CORPORACIÓN DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA, Epidemiología, Diagnostico y Control de Enfermedades Parasitarias en Bovinos. Medellín. Editorial Piloto S.A.1996. 93 P.

ENRIQUEZ CAMPO, Alexander. MUÑOZ RECALDE, Claudio Alexander. Determinación del estado y manejo de enfermedades hemoparasitarias presentes en los bovinos localizados en el sector rural del municipio de la Florida departamento de Nariño. Tesis de Grado (Medico veterinario). Universidad de Nariño, facultad de ciencias pecuarias. 2004. 52 P.

FERREIRA DE LA CUESTA, Gloria. Patología veterinaria.1 Ed. Medellín – Colombia. Editorial Universidad de Antioquia.2003.p.434-439

FIGUEROA, Max. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica. México. EUNED. 1984. 691 P.

GARCÍA TAPIA, David. ALVAREZ MARTINEZ, Jesús Antonio. FIGUEROA

MILLAN, Julio Vicente. VEGA, Carlos Agustín. Babesiosis Bovina, características relevantes de la respuesta inmune. En: Revista ciencia veterinaria (México): Septiembre 2003 (consultada: 3 febrero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol9/CVv9c4.pdf>

GUERRERO ORTIZ, Víctor Mauricio. IGUA BARCENAS, Edgar Andrés. Determinación y asociación hematológica de las enfermedades hemoparasitarias presentes en bovinos en las diferentes zonas de vida de los municipios de Imues y Guaitarilla Departamento de Nariño. Tesis de grado (Médico veterinario). Universidad de Nariño, facultad de ciencias pecuarias. 2006. p.69

ICA- FEDEGAN. Epidemiología Pecuaria Regional Nariño. Febrero 2009

KOKAN, Katherine. DE LA FUENTE, José. GUGLIELMONE, Alberto. MELENDEZ, Roy. Antigens and alternatives for control of Anaplasma marginale infection in cattle. (En línea).En: Clinical Microbiology reviews. 2003. (Consultada: 20 enero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.cmr.asm.org/>

MEDWAY. PRIER. WILKINSON. Patología Clínica Veterinaria. UTEHA. 1 Ed. México.1990. p.364

MELENDEZ, Roy. Revisión Integral de los Factores Epidemiológicos que Inciden en la Relación Boophilus microplus-Bovino-Babesia spp. Revista Científica FCV-Luz.Vol III.Venezuela.1998.p. 25-34

MUÑOZ CASTILLO, Danilo. ORTEGA MUÑOZ, José Luis. Prevalencia de Hemoparásitos en bovinos Mestizos del municipio de Taminango (Nariño). Tesis de Grado (zootecnistas). Universidad de Nariño, facultad de Zootecnia. 1985. p.67

OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES. Anaplasmosis bovina. 2004. (En línea) (Consultada: 9 enero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.oie.int/es/index.htm>

OIE. MANUAL DE LA OIE SOBRE ANIMALES TERRESTRES. Babesiosis Bovina. 2004. (En línea) (Consultada: 9 enero 2009). Disponible en la dirección electrónica: <http://www.oie.int/es/index.htm>

OTTE, Edwald. Anaplasmosis y Babesiosis bovina en Colombia. ICA-GTZ. Santa Fe de Bogota.1992. 240 P.

QUIROZ ROMERO, Héctor. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. UTEHA. 7 Ed. México. 1994. 876 P.

RIVERA A. MANUEL, Hemoparásitos Bovinas. Caracas: UCV, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. 1996. 237 P.

SAN BERNARDO. PLAN AGROPECUARIO MUNICIPAL.2008. p. 6-12

SUMANO, López Héctor. Farmacología clínica en bovinos. 1Ed. México. Editorial Trillas. 2003. p.153-155

THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH. Bovine Babesiosis. Iowa state university college veterinary medicine.2003 (En línea) Consultada (21 de enero 2009). Disponible en la dirección electrónica: [http://: www.ivis.org](http://www.ivis.org)

URQUHART G. M. Parasitología Veterinaria.2 Ed. Zaragoza. Acribia. 2001. 355 P.

VELEZ, A.R. Guías en parasitología veterinaria. Medellín: Exitodinamica Editores.1983. p.305 - 310

VIZCAINO GERTZ, Otoniel .BENAVIDES ORTIZ, Efraín. Inmunoprofilaxis para Anaplasmosis y Babesiosis.Bogota.Convenio Corpoica – Limor.2004.10 P.