

UNIVERSIDAD AMAZÓNICA DE PANDO
AREA CIENCIA BIOLÓGICAS Y NATURALES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**TESIS DE GRADO PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**DETERMINACIÓN DE LA INCIDENCIA DE ANAPLASMOSIS EN
GANADO BOVINO LECHERO EN TRES PROPIEDADES EN EL
MUNICIPIO DE COBIJA**

Univ. Reynaldo Ivan Quisbert Apaza

Asesor: Ing. Jacob Carballo Tirina

Asesora: Dra. Verónica Flores A.

Cobija-Pando-Bolivia
2022

HOJA DE APROBACION

Tesis aprobada por:

.....
Dr. Víctor Saire Espinoza
TRIBUNAL

.....
Dr. Mario Yasser Aguada
TRIBUNAL

.....
Dr. Emilio Román Monasterio
TRIBUNAL

.....
Ing. Jacob Carballo Tirina
ASESOR

.....
Dra. Verónica Flores A.
ASESORA

Cobija ____ de ____ 2022

DEDICATORIA

Dedicado el presente trabajo a mis padres Constancio Quisbert Arratia, Feliza Apaza Poma, por su amor de siempre, a mi hermano Roly Quisbert Apaza, a mi esposa Claudia Merlín Saucedo que siempre han estado ayudando en el trascurso de mi formación universitaria.

AGRADECIMIENTO

- A Dios por darme la sabiduría, protegerme y guiarme siempre en cada momento de mi vida
- A mis padres Constancio Quisbert Arratia & Feliza Apaza con su incondicional amor nos apoyan en cada etapa de nuestra vida.
- A mi hermano Roly Quisbert Apaza es parte de mi vida y siempre serán un estímulo para ser una persona de bien y servirles como ejemplo.
- A mi esposa Claudia Merlín Saucedo por su paciencia y comprensión para lograr este triunfo porque los dos somos uno y mis logros son suyos.
- A mis asesores Ing. Jacob Carballo Tirina, Dra. Verónica Flores A. por su apoyo constante que me brindo para que este documento final sea posible.
- A Mis tribunales al Dr. Víctor Saire Espinoza, Mario Yasser Aguada, Dr. Emilio Román Monasterios quienes con sus observaciones ayudaron a mejorar la contribución del trabajo de tesis
- A todos mis Docentes de la carrera de medicina veterinaria y zootecnia por brindarme sus conocimientos y experiencias haciendo de mí una persona de bien.
- A la Universidad Amazónica de Pando (U.A.P), por abirme sus puertas hasta la culminación de mis estudios. Todos mis compañeros de carrera por brindarme su amistad y ayuda durante la vida universitaria.

AGRADECIMIENTO

- A Dios por darme la sabiduría, protegerme y guiarme siempre en cada momento de mi vida
- A mis padres Constancio Quisbert Arratia & Feliza Apaza con su incondicional amor nos apoyan en cada etapa de nuestra vida.
- A mi hermano Roly Quisbert Apaza es parte de mi vida y siempre serán un estímulo para ser una persona de bien y servirles como ejemplo.
- A mi esposa Claudia Merlín Saucedo por su paciencia y comprensión para lograr este triunfo porque los dos somos uno y mis logros son suyos.
- A mis asesores Ing. Jacob Carballo Tirina, Dra. Verónica Flores A. por su apoyo constante que me brindo para que este documento final sea posible.
- A Mis tribunales al Dr. Víctor Saire Espinoza, Mario Yasser Aguada, Dr. Emilio Román Monasterios quienes con sus observaciones ayudaron a mejorar la contribución del trabajo de tesis
- A todos mis Docentes de la carrera de medicina veterinaria y zootecnia por brindarme sus conocimientos y experiencias haciendo de mí una persona de bien.
- A la Universidad Amazónica de Pando (U.A.P), por abrirme sus puertas hasta la culminación de mis estudios. Todos mis compañeros de carrera por brindarme su amistad y ayuda durante la vida universitaria.

RESUMEN

La anaplasmosis es una enfermedad febril, infecciosa, no contagiosa, inmunosupresora, anemizante y con tendencia hemorrágica, transmitida por la picadura de garrapatas del género Ixodes que causa la destrucción de células sanguíneas (eritrocitos, leucocitos y plaquetas), es potencialmente zoonótica y asintomática llegando a producir la muerte del animal, por lo que está despertando atención especial en Medicina Veterinaria. El trabajo de investigación se realizó en tres propiedades de la ciudad de Cobija: (Hacienda Palma Hacienda Cruz Milagrosa Hacienda Cotoca), cuyo objetivo general fue determinar la incidencia de anaplasmosis en ganado bovino mediante la prueba de laboratorio de frotis sanguíneo con coloración Giemsa, se llevó a cabo mediante el análisis de un total de 150 muestras de sangre las mismas que fueron extraídas de ganado bovino que tenían contacto con la garrapata que se identificó la especie *Otobius megnini* y que pasaban su mayor tiempo en contacto con el ganado, los parámetros evaluados fueron: edad, sexo, raza y el sector al cual pertenecían, con los datos obtenidos se realizó un análisis descriptivo de tipo cuantitativo y cualitativo, donde las 150 muestras analizadas resultaron negativas obteniendo una incidencia de anaplasmosis en la tres propiedades del 0%. La identificación de la garrapata es de la Familia Ixodidae de la especie *Otobius megnini* predominando en las tres propiedades.

Palabra Clave: *Anaplasmosis en Ganado Bovino Lechero, Cobija*

ABSTRACT

Anaplasmosis is a febrile, infectious, non-contagious, immunosuppressive, anemizing disease with a hemorrhagic tendency, transmitted by the bite of ticks of the Ixodes genus that causes the destruction of blood cells (erythrocytes, leukocytes and platelets), is potentially zoonotic and asymptomatic reaching cause the death of the animal, which is why it is attracting special attention in Veterinary Medicine. The research work was carried out in three properties in the city of Cobija: (Hacienda Palma Hacienda Cruz Milagrosa Hacienda Cotoca), whose general objective was to determine the incidence of anaplasmosis in cattle by means of the blood smear laboratory test with Giemsa staining. carried out through the analysis of a total of 150 blood samples, the same ones that were extracted from cattle that had contact with the tick that was identified as the *Otobius megnini* species and that spent most of their time in contact with the cattle, the parameters evaluated were: age, sex, race and the sector to which they belonged, with the data obtained a quantitative and qualitative descriptive analysis was carried out, where the 150 samples analyzed were negative, obtaining an incidence of anaplasmosis in the three properties of 0%. The identification of the tick is from the Family Ixodidae of the species *Otobius megnini*, predominating in the three properties.

Keywords: *Anaplasmosis in Dairy Cattle, Cobija*

INDICE

HOJA DE APROBACION.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
RESUMEN.....	V
ABSTRACT.....	VI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
3. JUSTIFICACIÓN.....	4
4. OBJETIVOS.....	5
4.1. Objetivo General.....	5
4.2. Objetivo específico.....	5
5. HIPÓTESIS.....	5
6. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
6.1. Hemoparásitos.....	6
6.2. Garrapatas.....	6
6.3. Anaplasmosis bovina.....	6
6.4. Clasificación Taxonómica de Anaplasmosis bovina.....	7
6.5. Morfología.....	7
6.6. Patogenia.....	7
6.7. Transmisión.....	8
6.8. Síntomas clínicos.....	8
6.9. Diagnóstico.....	9
6.9.1. Tinción con Giemsa a los frotis de sangre.....	9
6.10. Control y prevención.....	10
6.11. Tratamiento.....	10
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
7.1. Área de estudio.....	11
7.2. Materiales.....	12
De campo.....	12

De Laboratorio	12
De Oficina	13
7.3. Tipo y diseño de investigación.....	14
7.4. Métodos	14
7.5. Variables	14
Variables Dependiente.....	14
Variables Independientes	14
7.6. Población	14
7.7. Muestra	15
7.8. Metodología	16
7.8.1. Registro de datos.....	16
7.8.2. Toma de muestras en el campo	16
7.8.2.1. Equipos para la contención de los animales	16
7.8.2.2. Identificación y registro del animal y de la muestra.....	16
7.8.2.3. Manipulación del ganado bovino para la extracción de sangre	16
7.8.2.4. Muestra de sangre extraída del ganado bovino	17
7.8.2.5. Acondicionamiento para el envío de muestras para diagnóstico	17
7.8.2.6. Recolección de vector	18
7.8.3. Laboratorio	18
7.8.3.1. Manejo de la micropipeta	18
7.8.3.2. Frontis Sanguínea.....	18
7.8.3.3. Fijación de muestras con metanol	19
7.8.3.4. Tinción Giemsa	19
7.8.3.5. Observación Microscopía	19
8. RESULTADOS.....	22
8.1. Variables de estudio.....	22
8.2. Población y Muestra.....	23
8.3. Identificación garrapata	28
9. DISCUSIÓN	30
10. CONCLUSIONES.....	31
11. RECOMENDACIONES	32
12. BIBLIOGRAFÍA.....	33

ANEXO	37
--------------------	-----------

INDICE DE FIGURA

Figura 1: Forma de las células sanguíneas al microscopio.....	20
Figura 2: Resultado negativo de anaplasmosis.....	21
Figura 3: Porcentaje de incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino	24
Figura 4: Porcentajes de incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según el factor sexo.....	25
Figura 5: Porcentajes de incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según las edades.	26
Figura 6: Porcentajes de incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según el sector	27

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Variables Dependientes	22
Tabla 2: Variables Independientes (sexo y raza).	23
Tabla 3: Factores analizados en el proceso experimental.	23
Tabla 4: Incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino.....	24
Tabla 5: Incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según el factor raza..	25
Tabla 6: Incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según el factor sexo. 25	
Tabla 7: Incidencia de anaplasmosis en ganado bovino según las edades.	26
Tabla 8: Incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según el sector	27

INDICE DE FOTOS

Fotos N° 1 Materiales utilizados en el laboratorio. ... ¡Error! Marcador no definido.	9
Fotos N° 2 contención del animal	39
Fotos N° 3 Registrando al ganado bovino	39
Fotos N° 4. Manipulación del ganado bovino para la extracción de sangre.....	39
Fotos N° 5 Muestra de sangre extraída del ganado bovino	39
Fotos N° 6 Transporte de muestras después de ser extraídas.....	39
Fotos N° 7 Vectores	40
Fotos N° 8 Sistema Vacutainer.	40
Fotos N° 9 Realización del frotis sanguíneo	40

Fotos N° 10 Fijación de muestras con metanol. 40

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias del ganado constituyen un problema en la salud de los animales, aumentando los costos de producción, con efectos económicos negativos en el desarrollo de la ganadería, dadas las pérdidas severas que éstos ocasionan, especialmente en regiones tropicales, subtropicales, en donde las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de los parásitos (Turruella et al. 2020; Vasco, 2013; Yousefi et al. 2017).

La anaplasmosis bovina es una enfermedad de distribución mundial mediada por vectores, que afecta a las pérdidas económicas están relacionadas con la reducción en la producción de leche o de carne, infertilidad, calidad del cuero, costo de tratamiento, gastos con medidas preventivas, cuidados en la introducción de animales de áreas libres en áreas endémicas, principalmente, por morbilidad y mortalidad (Corona et al. 2012; Silva et al. 2021; Turruella et al. 2020).

Esta enfermedad es causada por la infección por *Anaplasma marginale* y *Anaplasma centrale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae), que suele causar infecciones benignas, se transmite biológicamente por varias especies de garrapatas (principalmente de los géneros *Rhipicephalus*, *Dermacentor* e *Ixodes*) y mecánicamente por moscas o fómites contaminados con sangre, los animales que sobreviven a la infección aguda permanecen como portadores con continuos ciclos submicroscópicos de rickettsemia que pueden persistir durante toda la vida del animal (Vargas-Cuy, 2019; Muñoz-Guarnizo, 2017).

Estudios realizados en Brasil, en 2019, alcanzó una pérdida económica de alrededor de 3.5 millones de dólares en la producción ganadera (Mendes, 2019), adicionalmente la infestación por garrapatas en vacas lecheras generando una reducción de 90,24 litros de leche por vaca por lactancia, provocando una pérdida nacional de US \$ 922,36 millones (Ferreira, 2019; Silva et al. 2021).

Para Bolivia, las enfermedades ocasionadas por hemoparásitos causan problemas económicos a los productores, afectando la producción, productividad de la ganadería

de carne y leche, muchos trabajos se han desarrollado para evaluar la prevalencia e incidencia, hasta el momento no se conocen trabajos publicados y son de difícil acceso, la falta de asistencia técnica, asesoramiento oportuno, da lugar a la ausencia de un tratamiento, que contribuya a reducir la ocurrencia de las enfermedades, con la presente investigación se realizó la determinación de la incidencia de anaplasmosis en ganado bovino lechero en tres propiedades en el municipio de Cobija del departamento de Pando.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En América Latina es un área de riesgo permanente para el desarrollo de garrapatas, la trasmisión de enfermedades, con más de 264 millones de bovinos amenazados en países del Mercosur (Vasco, 2013), las enfermedades parasitarias del ganado constituyen un problema en la salud de los animales, aumentando los costos de producción, con efectos económicos negativos en el desarrollo de la ganadería, dadas las pérdidas severas que éstos ocasionan, especialmente en regiones tropicales y subtropicales, en donde las condiciones ambientales son favorables para el desarrollo de los parásitos (Corona B. O., 2012).

Entre estas enfermedades figura la anaplasmosis, la cual tiene una amplia distribución mundial, causando una importante pérdida económica y sanitaria en la ganadería bovina en zonas endémicas, además se producen pérdida de peso por la presencia de entre 20 a 30 garrapatas por animal, daños en la piel por acción de las picaduras, pérdida de sangre, debilitamiento, estrés, disminución en la producción de leche y menor eficiencia reproductiva del hato (Rodríguez-Vivas et al. 2012; Sepúlveda et al. 2017).

En el municipio de Cobija, el problema se basa que no se han realizado estudios sobre la anaplasmosis bovina, motivo que hace necesario conocer si existe la enfermedad lo que sería un gran riesgo para el ganado bovino por falta de información de cómo controlar dicha enfermedad, la mayoría de los propietarios no toman en consideración este aspecto que es de vital importancia para la buena salud del animal, las consecuencias que dejan las patologías hemoparasitarias son muy manifiestas sobre todo en los sectores rurales del departamento en donde la ayuda tarda mucho en llegar.

Por lo antes mencionado se propone determinar la incidencia de anaplasmosis en ganado bovino lechero mediante la aplicación de análisis en tres propiedades del municipio de Cobija, para que en base a los resultados que se obtengan se puedan desarrollar medidas de prevención y control de la enfermedad.

3. JUSTIFICACIÓN

El municipio de Cobija, posee una importante población de ganado bovino productor de leche, sin embargo, actualmente no se cuenta un plan sanitario para el control de garrapatas, moscas, tábanos, artrópodos hematófagos, que tiene una importante participación en uno de los mecanismos de transmisión de la anaplasmosis como vectores.

Realizo el estudio de anaplasmosis bovina, es muy importante desde el punto de vista económico y zoonótico, para contribuir al mejoramiento en la producción ganadera de la zona local, departamental y nacional, además dejar una base de información sólida referente al estudio, con el fin de brindar herramientas para dar solución al problema, no se registran publicaciones sobre estudios de la incidencia de anaplasmosis en bovino en el departamento, pero se describen la frecuente presencia de casos clínicos de hemoparasitarias, la cual hemos tomado como referencia para el presente estudio, ya que estos análisis son de bajo costo económico, fácil y rápido de realizar tendremos la oportunidad de poner la tecnología utilizada a disposición de los ganaderos para que logren evaluar el estado zosanitario y aplicar medidas correctivas adecuadas en cada caso, con objeto de incrementar la producción, contribuir al avance del desarrollo agropecuario de la zona y del departamento; Los resultados de esta investigación se darán a conocer a los productores involucrados detalladamente, productores en general, a profesionales, estudiantes, y a población en general.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Determinar la incidencia de anaplasmosis en ganado bovino lechero en tres propiedades en el municipio de Cobija.

4.2. Objetivo específico

- Analizar la técnica de frotis sanguíneo con tinción Giemsa para la identificación de la anaplasmosis
- Realizar la incidencia de anaplasmosis por edad y sexo
- Identificar los principales vectores biológicos que condicionan la presencia de Anaplasmosis en el ganado bovino.

5. HIPÓTESIS

Hi: La incidencia de anaplasmosis presenta variación significativa en relación a la edad, raza y sexo del ganado bovino lechero en las tres propiedades del municipio de Cobija.

Ho: La incidencia de anaplasmosis no presenta variación significativa en relación a la edad, raza y sexo del ganado bovino lechero en las tres propiedades del municipio de Cobija.

6. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

6.1. Hemoparásitos

Son organismos que viven en la sangre, son transmitidos por vectores artrópodos (moscas y garrapatas), que pueden ser transmitidos a los animales domésticos por vectores mecánicos y biológicos, produce cuadros hemáticos que afectan la salud animal. Entre estas enfermedades figuran, Anaplasmosis, las cuales tienen amplia distribución mundial, causando grandes pérdidas económicas y sanitarias en la ganadería bovina en zonas endémicas (González & Catín, 2020).

6.2. Garrapatas

Son artrópodos conocidas como garrapatas duras, de cuerpo generalmente ovalado, aplastado, con una capa o placa dura quitinizada (escutum o escudo) que cubre la parte anterior de la región dorsal de la hembra y casi toda la superficie dorsal del macho (Díaz Alulema, 2015).

6.3. Anaplasmosis bovina

La anaplasmosis bovina es una enfermedad infecciosa pero no contagiosa causada por la bacteria Gram negativa por *Anaplasma marginale* y *Anaplasma centrale*, que se encuentra distribuida en regiones tropicales, subtropicales y regiones montañosas o semiáridas en el mundo. Esta enfermedad afecta a los bovinos y otros rumiantes, tales como; ovejas, cabras y diversos ungulados salvajes, estos reportes hacen notar que estas especies son susceptibles a la infección, pero en raras ocasiones desarrollan la enfermedad de forma grave. En el ganado bovino que es susceptible de manera natural, los animales que logran recuperarse de la infección aguda permanecen infectados de por vida y sirven como reservorios de la bacteria para transmisión mecánica e infección por garrapata hacia ganado no infectado (Turruella et al. 2020).

Es una de las enfermedades más importantes en la ganadería en términos de las pérdidas económicas ocasionadas y como obstáculo para la mejora de hatos de baja producción, producida por la bacteria *Anaplasma marginale*. La enfermedad produce anemia, pérdida de peso y baja producción láctea, aborto y muerte (Celi, 2013).

6.4. Clasificación Taxonómica de Anaplasmosis bovina

Se describe el siguiente orden taxonómico según (Ristic & Kreir, 1984)

Reyno:	Procarionte
Grupo:	Eubacteriales
Sub grupo:	Protobacterias
Phylum:	Ciliophora
Clase:	Kinetofragminophora
Orden:	Rickettsiales
Familia:	Anaplasmataceae
Género:	Anaplasma
Especie:	marginal Centrale

6.5. Morfología

Anaplasmosis es una rickettsia intraeritrocitaria gram negativa que al microscopio ofrece el aspecto de una inclusión redondeada, basófila, pequeña (0,3-1 μ m), única o doble, generalmente localizada a lo largo del margen del eritrocito; consta de un cuerpo inicial, que invade el eritrocito y posteriormente se multiplica para formar inclusiones con 4 a 8 cuerpos iniciales se caracteriza como todas las rickettsias, por no tener su cromatina organizada en un núcleo con membrana limitante y por carecer de retículo endoplásmico (Soto, 2010).

6.6. Patogenia

Es una bacteria intracelular obligada que una vez dentro del torrente sanguíneo, penetra en los eritrocitos maduros por endocitosis; infectando estos con la formación de una vacuola en donde se multiplica por fisión binaria para formar hasta ocho organismos individuales dentro de una sola vacuola y luego, nuevos organismos salen del eritrocito, utilizando exocitosis e infectan los eritrocitos aledaños, después que el parásito entra al huésped el número de eritrocitos infectados se duplica entre las 24 y 48 horas siguientes. El período de incubación de la enfermedad es de dos a tres semanas y la duración depende de la cantidad de organismo infectante, la infección

puede detectarse por microscopía entre 20 y 40 días después de la transmisión, dependiendo del número de microorganismos transmitidos y de la virulencia (Soto, 2010).

6.7. Transmisión

La transmisión de Anaplasmosis es muy compleja, debido a las características ecológicas de cada región, al gran número de vectores que participan y a las características de las propias cepas de Anaplasma que existen en las regiones endémicas. La fuente de infección siempre es la sangre de bovinos infectados, no se transmite por simple contacto entre animales enfermos y sanos, requiere la participación de un artrópodo hematófago o del hombre para que transporte la sangre infectada de un animal a otro. Usualmente para que se realice una transmisión eficiente se requiere una replicación del patógeno y su desarrollo dentro del vector. En la mayoría de las interacciones vector-patógeno se involucra la invasión de uno o más órganos del vector, existen dos tipos de transmisión: biológica y mecánica (Vasanthachar, 2014).

Transmisión biológica: existe multiplicación de la rickettsia en el organismo de garrapatas, de los géneros *Boophilus*, *Dermacentor*, *Ixodes*, *Amblyoma*, y *Rhipicephalus* (Vasanthachar et al. 2014).

Transmisión mecánica: solamente se inocula la rickettsia de un animal a otro, aquí intervienen las moscas hematófagas (*Stomoxys* y *Haematobia*) y los mosquitos (*Anopheles* y *Psorophora*), en forma importante el hombre mediante la iatrogenia como transfusiones de sangre, cirugías colectivas (descorne, castración) cuando no se tiene cuidado de lavar y esterilizar los instrumentos utilizados en el intervalo de un bovino a otro, vacunaciones con jeringas automáticas principalmente cuando se usa la misma aguja para varios animales (Baldacchino, 2014).

6.8. Síntomas clínicos

La enfermedad clínica ocurre durante la fase aguda, donde el número de eritrocitos infectados es de ~10⁷ a ~10⁹/ml de sangre, los signos clínicos que se han reportado

en anaplasmosis son: anemia hemolítica, anorexia, pérdida de peso, fiebre de hasta 41°C, mucosas pálidas, ictericia, taquicardia, disnea, letargia, lagrimeo, salivación, diarrea, micción frecuente, atonía ruminal y en algunos casos, la muerte en menos de 24 horas (Sharma et al. 2013; Hornok et al. 2012). La producción de leche disminuye, las vacas preñadas pueden abortar durante el último tercio de la gestación y en los toros se puede desarrollar infertilidad temporal (Rivera, 2012).

La recuperación es más común en animales jóvenes, en adultos se han reportado tasas de mortalidad de 60%, especialmente en animales viejos sometidos a estrés, cuando los signos clínicos son muy severos, el animal puede estar cerca de la muerte y no es raro que los bovinos infectados mueran durante el manejo preparatorio para el tratamiento (Monroy, 2015).

6.9. Diagnóstico

Para el diagnóstico de Anaplasmosis en los bovinos, existen métodos directos que identifican a la bacteria mediante pruebas tales como: examen microscópico de sangre con tinción de Giemsa y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de muestras de DNA genómico. Por otro lado, los métodos indirectos, detectan anticuerpos dirigidos contra antígenos de superficie de *A. marginale*, incluye técnicas como rMSP5-cELISA con un 96% de sensibilidad y 95% de especificidad cuando se realiza de 16 a 27 días posteriores a la inoculación, aglutinación en tarjeta con 84% de sensibilidad y fijación de complemento con 79% de sensibilidad, además de inmunofluorescencia indirecta e inmunoensayo enzimático indirecto (Fosgate et al., 2010; González et al. 2014).

6.9.1. Tinción con Giemsa a los frotis de sangre

Esta técnica utilizada para detectar el organismo se incluye la tinción con Giemsa a los frotis de sangre, es un método confiable, barato y capaz de detectar niveles de parasitemia de 0.1 a 0.2%, sólo puede detectar niveles mayores a 106 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* (Soto, 2010).

6.10. Control y prevención

Según Vasanthachar et al. (2014) Las herramientas disponibles para controlar la anaplasmosis varían según el área geográfica y se basan en el uso de vacunas vivas, tratamiento antibiótico, control de los vectores y en el mantenimiento de la estabilidad enzoótica dentro de un rebaño, dividen los métodos para el control de las garrapatas en métodos químicos basados en el uso de acaricidas y no químicos entre los que se encuentran la limpieza de los animales, manejo de pasturas, enfoque endosimbiótico, control biológico, manipulación genética, uso de biopesticidas, acaricidas herbales y vacunación con antígenos de las garrapatas.

6.11. Tratamiento

Tetraciclina a una dosis de 20mg/ kg PV durante 2-3 días, vía parenteral, administrar protectores hepáticos, cardiotónicos y transfusión de sangre en anemias intensas.

Oxitetraciclinas 10-20 mg/Kg de PV, por 3-5 días.

Dipropionato de Imidocarb 2.5 ml/100kg

Cacodilato de Na y Difosfato de Cloroquina.

Terapia de sostén: hierro, vitamina B12, soluciones salinas o glucosadas.

La transfusión sanguínea está indicada cuando el No. de eritrocitos sea menor a 2.5 millones/mm³ y el Ht. menor al 12%. Se pueden aplicar hasta 7.5 litros (Celi Torres, 2013)

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Área de estudio

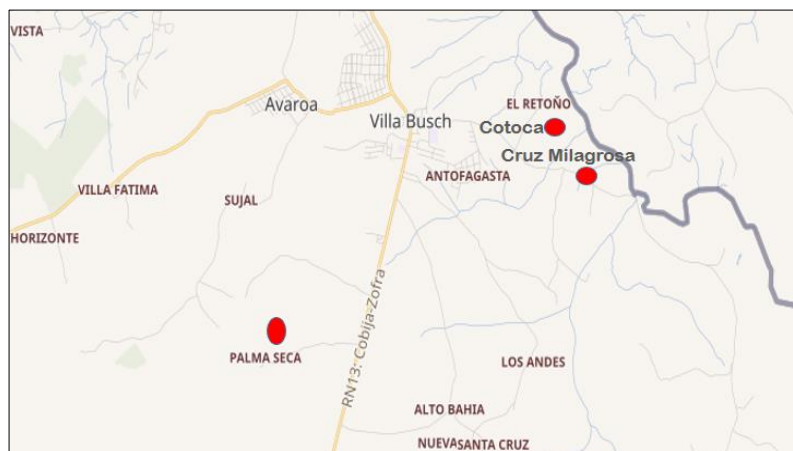
El presente estudio se llevó a cabo en tres predios productora de leche del municipio de Cobija, la localización de este municipio ubicado en la parte norte de Bolivia, limita al Norte con el municipio de Brasiléia (Acre-Brasil); Este con el municipio de Epitaciolândia (Acre-Brasil); Oeste con el municipio de San Pedro de Bolpebra y al Sur con el municipio de Porvenir; a continuación, detallamos los siguientes sitios de muestreos:

Primera propiedad: Hacienda Palma Seca, propietario Darío Burgos Aramayo, ubicada a 10 km de la ciudad de Cobija.

Segunda propiedad: Hacienda Cruz Milagroso, propietario Alberto Kioto Oliva, ubicada a 15 km de la ciudad de Cobija.

Tercera propiedad: Hacienda Cotoca, propietario Jesús Hurtado, se encuentra a una distancia de la ciudad de Cobija a 20 km aproximadamente.

Mapa de del área de las tres propiedades



7.2. Materiales

De campo

- Botas
- Cuerdas
- Termo
- Tubos vacutainer con anticoagulante EDTA
- Agujas
- Placas portaobjetos
- Marcador indeleble
- Frascos para garrapatas
- Hoja de registro
- Encuestas
- Cámara fotográfica

De Laboratorio

- Mandil
- Guantes
- Mascarilla
- Placas portaobjetos
- Aceite de inmersión
- Colorante de Giemsa
- Frasco lavador o lavador de placas
- Microscopio
- Estereoscopio
- Cajas Petri
- Pipeteador
- Autoclave
- Estufa
- Agua destilada
- Gradillas

- Tijeras

De Oficina

- Ordenador
- Memoria USB
- Impresora
- Papel bond
- Lápices
- Registros
- Borrador

7.3. Tipo y diseño de investigación

El tipo de investigación es descriptivo, no experimental, con enfoque cuantitativo y cualitativo, que tiene como objetivo principal determinar la incidencia de anaplasmosis en el ganado bovino lechero.

7.4. Métodos

Se utilizó los métodos teóricos: inductivo-deductivo y análisis-síntesis; el método empírico denominado experimental:

- El método inductivo: se utilizó para la obtención de los resultados en los objetivos específicos del proyecto,
- El método deductivo: se utilizó en la evaluación del muestreo.
- Método experimental: en el establecimiento del ensayo de campo.
- El análisis: se utilizó en los resultados,
- La síntesis: en las conclusiones y recomendaciones

7.5. Variables

Variables Dependiente

- Incidencia de la anaplasmosis bovina

Variables Independientes

- Edad (0-2 becerros; 3-12 años, vaca lechera)
- Raza
- Sexo

7.6. Población

La población está constituida por 150 bovinos en las tres propiedades del municipio de Cobija, de diferentes edades razas y sexo, de donde se extrajo estadísticamente la muestra para el estudio.

7.7. Muestra

Se empleó un total de 150 muestras representativas. La fórmula que se realizó para calcular el tamaño de la muestra es:

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

N= Tamaño de la población

Z= Nivel de confianza

e= Error máximo

σ = Desviación estandar de la población

n= Número de muestras

N= 150

Z= 1,96 (de acuerdo a tabla de distribución, con 94% de confiabilidad y 6% de error)

e= 0,06

σ = 0,25

n= 96

$$n = \frac{150 (0,25) (1,96)^2}{(150-1) (0,06)^2 + (0,25) (1,96)^2}$$

n= 96

N: Es el número de ganado bovino de las tres propiedades que fueron consideradas en el estudio para la toma de muestras sanguíneas, pero que también pertenecen al Municipio de Cobija. Entre las tres propiedades Hacienda Palma seca, Hacienda Cruz Milagrosa y Hacienda Cotoca. Una vez obtenido los resultados, será este el número mínimo a quienes se les aplicó la encuesta, teniendo en cuenta que son del sector productivo agropecuario.

7.8. Metodología

7.8.1. Registro de datos

En el presente trabajo de investigación se utilizó el método descriptivo de tipo transversal, para determinar la incidencia de anaplasmosis asociada con la identificación de anaplasmas spp en frotis sanguíneo. El proceso experimental contó con 150 muestras de sangre ganado bovino, en tres propiedades productoras de leche (Hacienda Palma Seca, Hacienda Cruz Milagroso y Hacienda Cotoca) para cada propiedad se realizó un registro de información en donde se detalla el nombre del propietario, el nombre del lugar, código del animal, edad, raza, sexo, condición corporal, presencia de vectores, etc. (ver anexo 1).

7.8.2. Toma de muestras en el campo

En la presente investigación, se recolectó muestras de tres sectores y la selección de los animales se realizó aleatoriamente, de acuerdo con los registros de cada propiedad y se comunicó a sus propietarios y se llenó una ficha clínica con los datos que se tomaron a los propietarios del ganado. Los datos tomados fueron los siguientes:

7.8.2.1. Equipos para la contención de los animales

Las instalaciones y equipos estaban bien disponibles, adecuados y en buenas condiciones de uso. Se pudo lograr una buena contención del animal para obtener la muestra sanguínea.

7.8.2.2. Identificación y registro del animal y de la muestra

Los métodos más comunes de identificación de los animales con ayuda de los propietarios o su personal encargado: tatuaje marcación a fuego y registrar en la planilla del animal

7.8.2.3. Manipulación del ganado bovino para la extracción de sangre

Se realizó la identificación de la muestra comienza con la identificación del animal. Esa etapa es crucial para garantizar la rastreabilidad al final del proceso. En el momento de la toma de la muestra de cada animal se deberá verificar el número del animal y anotarlo en el rótulo del frasco y en el formulario de recolección.

Se realizó enroscar la aguja en el adaptador retirar el capuchón protector de la aguja recién en el momento de la punción; desinfectar el lugar elegido para la punción; pasar un algodón embebido en alcohol al 70%, en la dirección del pelo, retirar el capuchón de la aguja y realizo el torniquete; Punzar la vena, introducir el tubo en el adaptador, presionándolo hasta el límite; esperar que la sangre deje de fluir dentro del tubo, y recién ahí retirar el tubo, asegurando la proporción adecuada de sangre/anticoagulante, soltar el torniquete y recién después retirar el tubo y luego la aguja, separar la aguja del adaptador y desecharla en recipiente para material corto punzante.

7.8.2.4. Muestra de sangre extraída del ganado bovino

Se realizó a colocar la aguja en la jeringa, sin retirar el capuchón protector. Asegurarse de que la aguja esté bien ajustada. mover el émbolo de la jeringa (hacia adelante y hacia atrás) para retirar el aire; desinfectar el lugar elegido para la punción; pasar un algodón embebido en alcohol al 70%, en la dirección del pelo, retirar el capuchón de la aguja y realizar el torniquete, Introducir la aguja en la vena y tirar del émbolo de la jeringa lentamente, para que la sangre pueda fluir, extraer aproximadamente 5 - 10 mL de sangre, soltar el torniquete luego de la venopunción, separar la aguja de la jeringa. Desechar la aguja en recipiente para material corto punzante. Transferir la sangre de la jeringa a un tubo de ensayo con o sin anticoagulante. Para evitar hemólisis, la sangre debe fluir lentamente por la pared del tubo; desechar la jeringa, en una bolsa de plástico adecuada, en el mismo recipiente en que se desechó la aguja. Registrar la identificación del animal en el recipiente de recolección, preferentemente con bolígrafo, sobre una etiqueta adhesiva. Para sustituir esa forma de identificación, es necesario evaluar previamente la opción alternativa que se empleó.

7.8.2.5. Acondicionamiento para el envío de muestras para diagnóstico

Se realizó sistema de embalaje, acomodar el recipiente en la caja isotérmica (embalaje intermedio) que, a su vez, se colocó en el embalaje terciario (externo). Utilizo hielo en una cantidad compatible con el tamaño de la muestra y el tiempo hasta la llegada al

laboratorio (como alternativa, utilizo una botella plástica bien cerrada con agua congelada). Lleno el espacio vacío con rellenos blandos.

Para el transporte, los embalajes de material biológico relacionado con especímenes para diagnóstico hasta llegar al laboratorio con todos los cuidados de bioseguridad.

7.8.2.6. Recolección de vector

Se procedió a recolectar de los animales seleccionados, vectores (como por ejemplo garrapata) de diferente tamaño y de las distintas regiones del cuerpo, en una cantidad de garrapatas por cada propiedad. Las muestras colectadas fueron serán conservadas en tubos plásticos de ensayo con el conservante alcohol al 70%. Donde se identificó de acuerdo a las claves dicotómicas y características morfológicas bajo el material referencial de Nuttall et al. 1926; Aragao & Da Fonseca, 1961; Solari et al,2006; Castilho, 2007 y Voltzit, 2007.

7.8.3. Laboratorio

Una vez ubicada la muestra en el laboratorio se realizó un extendido de la sangre sobre un portaobjeto para luego su posterior tinción (Giemsa)

7.8.3.1. Manejo de la micropipeta

Se realizó la toma de la muestra donde se encuentra la sangre del ganado bovino pasa se introduce la punta de la micropipeta en el líquido a succionar y se retorna el émbolo a la posición inicial, el líquido se mantiene en la punta. Se presiona el émbolo hasta la segunda posición para expulsar el líquido. Se suelta el émbolo, con lo que éste vuelve a su posición inicial, directamente al porta objeto.

7.8.3.2. Frontis Sanguínea

Se homogenizo la muestra, se tomó sangre con un aplicador se depositó una gota pequeña sobre un extremo del portaobjetos para frotis, el cual debió descansar en una superficie plana, se apoyó el extremo del portaobjeto extensor sobre la superficie del portaobjetos para frotis por delante de la gota de sangre, se retrocedió el portaobjetos extensor hacia la gota de sangre, sin separarlo de la superficie del portaobjetos para frotis.

Una vez el portaobjetos extensor haya hecho contacto con la sangre, se inclinó, de modo que ambos formen un ángulo de 30-45 grados, cuando la sangre haya corrido por capilaridad, se procedió a la extensión. Se realizó un movimiento rápido, continuo y uniforme, se extenderá el portaobjetos extensor hacia delante.

7.8.3.3. Fijación de muestras con metanol

Se realizó la fijación de colocar recipientes con la muestra y el fijador poniendo cantidades muy superiores de fijador frente al volumen de la muestra y se deja un tiempo de infiltración.

Se utilizó el fijador del tejido es de preservar sus características morfológicas y moleculares lo más parecidas posibles a las que poseía en su estado vivo.

7.8.3.4. Tinción Giemsa

El colorante Giemsa es una mezcla de azul de metileno, eosina y azul de metileno, glicerol y alcohol metílico, es la más usada en hematología veterinaria, es muy buena para valorar morfología celular y permite la identificación en anaplasmosis.

El procedimiento consiste en:

- Se realizó un frotis y dejar que se seque completamente.
- Se Fijó con alcohol metileno durante cinco minutos y posterior mente se dejará secando en posición vertical.
- Posteriormente se tiñera con tinción Giemsa durante 15 minutos.
- Se lavó la preparación con abundante agua destilada o con agua del grifo con una posición vertical

7.8.3.5. Observación Microscopía

Para la identificación del agente se utilizó las técnicas de microscopia óptica con 100x de aumento y tinción Giemsa, los frotis sanguíneos al ser observados en el microscopio nos dan una imagen de las células sanguíneas las mismas que son: eritrocitos, leucocitos (neutrófilos), y plaquetas, se procedió a observar de forma completa cada una de las muestras de sangre para detectar de esta manera si existía la presencia o ausencia de Anaplasma spp.

Se optó por utilizar la técnica de tinción Giemsa, debido a que es una coloración habitual para frotis sanguíneos, es una tinción capaz de distinguir diferentes estructuras celulares según su afinidad por colorantes básicos, ácidos o mezcla de ellos. Con esta tinción los eritrocitos se tiñen de color naranja rosa, los núcleos de los leucocitos de un color púrpura, el citoplasma de azul claro, las granulaciones neutrófilos se tiñen de violeta claro, y por último las plaquetas de un lila oscuro..



Figura 1: Forma de las células sanguíneas al microscopio

Fuente: (Reagan, Sanders, y DeNicofa, 1999, pp.10-11).

Figura 1: Resultado positivo de anaplasmosis en ganado bovino.

Como ya se mencionó la anaplasmosis es una enfermedad que causa destrucción de eritrocitos, leucocitos y plaquetas, la muestra de sangre es positiva cuando al enfocarla y observarla al microscopio con lente de 100x de aumento, se ve la presencia de 1 o hasta 8 mórulas en el centro o a lo largo del margen del neutrófilo.

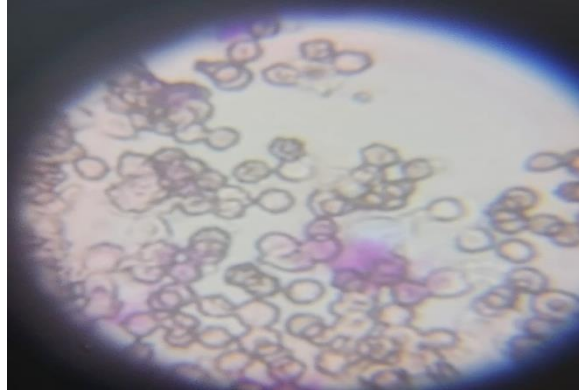


Figura 2: Resultado negativo de anaplasmosis

La muestra de sangre es negativa cuando al observar al microscopio con lente de 100x de aumento, no se detecta la presencia de mórulas en el interior del neutrófilo, solamente se observan las células sanguíneas teñidas de diferentes tonos por efecto del colorante Giemsa.

8. RESULTADOS

El diseño estadístico empleado en esta investigación fue un análisis descriptivo transversal, el trabajo fue diseñado para estimar la incidencia de anaplasmosis en muestras sanguíneas extraídas de ganado bovino de tres propiedades de la ciudad de Cobija. Para el análisis de los resultados se han considerado parámetros tales como: edad, sexo, raza y sector al cual pertenecían, siendo la información registrada en una ficha de identificación clínica. Los resultados han sido procesados estadísticamente a través de tablas de frecuencia, gráficos y análisis porcentual.

8.1. Variables de estudio

Tabla 1: Variables Dependientes

<i>CONCEPTO</i>	<i>CATEGORÍAS</i>	<i>INDICADORES</i>	<i>ÍNDICE</i>
<i>Anaplasmosis en ganado bovino</i>	<i>Parasitología</i>	<i>identificación mediante frotis sanguíneo</i>	<i>Numérico</i>

Tabla 2: Variables Independientes (sexo y raza).

<i>CONCEPTO</i>	<i>CATEGORÍAS</i>	<i>INDICADORES</i>	<i>ÍNDICE</i>
<i>Sexo del animal</i>	<i>Biológica</i>	<i>Hembra</i> <i>Macho</i>	<i>Numérico</i>
<i>Raza del animal</i>	<i>Biológica</i>	<i>Mestizo</i>	<i>Numérico</i>

8.2. Población y Muestra

La población es de un total de 150 animales bovinos denominados unidades experimentales, y la muestra corresponde al 100% de la población. De las muestras obtenidas, se evaluaron parámetros específicos como: edad, sexo, raza y sector. Es importante indicar que la técnica de muestreo empleada para la recolección de muestras de sangre de los bovinos fue completamente aleatoria.

Tabla 3: Factores analizados en el proceso experimental.

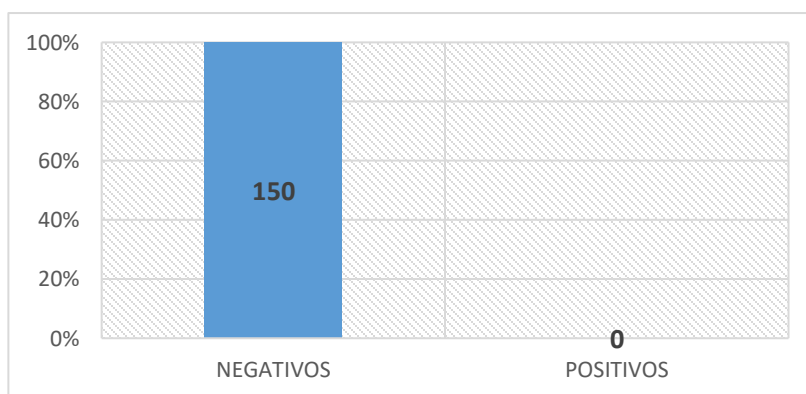
<i>FACTOR</i>	<i>INDICADOR</i>
<i>Raza</i>	<i>Mestizo/Puro</i>
<i>Raza del animal</i>	<i>Biológica</i>
<i>Edad</i>	<i>0-6 meses 7 meses- 1 año</i> <i>2 años- 6 años 10 años en adelante</i>
<i>Sexo</i>	<i>Macho/Hembra</i>
<i>Sector</i>	<i>Palma Seca/Cruz Milagroso/Cotoca</i>

Los aspectos evaluados para determinar la incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino de la ciudad de Cobija fueron: edad, sexo, raza y en las propiedades, (se recolectaron en Palma Seca 50 muestra, Cruz Milagroso 50 muestras, Cotoca 50 muestras). La estimación de los factores determinantes para la incidencia de Anaplasmosis se realizó con un análisis descriptivo que se presenta en forma de tablas estadísticas y gráficos.

Tabla 4: Incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino.

<i>MUESTRAS</i>	<i>NÚMERO DE MUESTRAS</i>	
<i>Positivos</i>	<i>0</i>	<i>0%</i>
<i>Negativos</i>	<i>150</i>	<i>100%</i>
<i>Total</i>	<i>150</i>	<i>100%</i>

Figura 3: Porcentaje de incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino



Como se observa en la figura N° 3 el número de positivos fue de 0, mientras que el número de casos negativos fue para las 150 muestras analizadas, es decir el porcentaje de incidencia de anaplasmosis en ganado bovino en las tres propiedades fue del 0%.

Tabla 5: Incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según el factor raza.

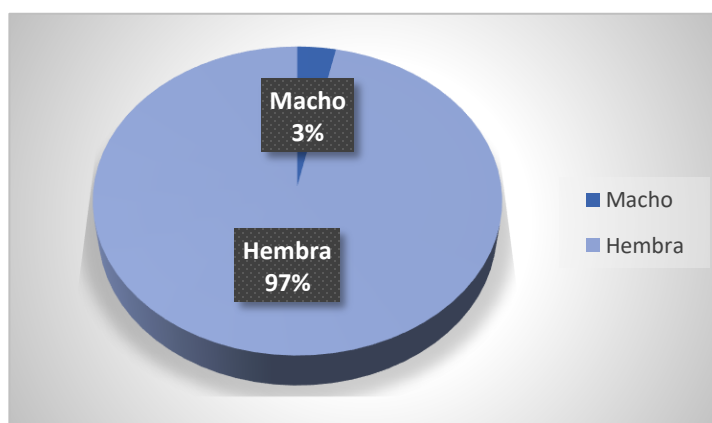
<i>Raza</i>	<i>Número de muestras</i>	<i>Muestras Positivas</i>	<i>Porcentaje (%)</i>	<i>Muestras negativas</i>	<i>Porcentaje (%)</i>
Mestizo	150	0	0%	150	100 %

En la tabla N° 5. Se observa que las razas analizadas en esta investigación fueron tanto razas mestizas, dando como resultado un 0% de incidencia para la raza analizada, mientras que por otro lado un porcentaje del 100% de casos negativos para en ganado bovino mestizo, lo que se dice que la incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino en las tres propiedades para el factor raza fue de un 0%

Tabla 6: Incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según el factor sexo.

Sexo	<i>Número de muestras</i>	<i>Muestras Positivas</i>	<i>Porcentaje (%)</i>	<i>Muestras negativas</i>	<i>Porcentaje (%)</i>
Macho	5	0	0%	5	3%
Hembra	145	0	0%	145	97%
Total	150	0	0%	150	100 %

Figura 4: Porcentajes de incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según el factor sexo.

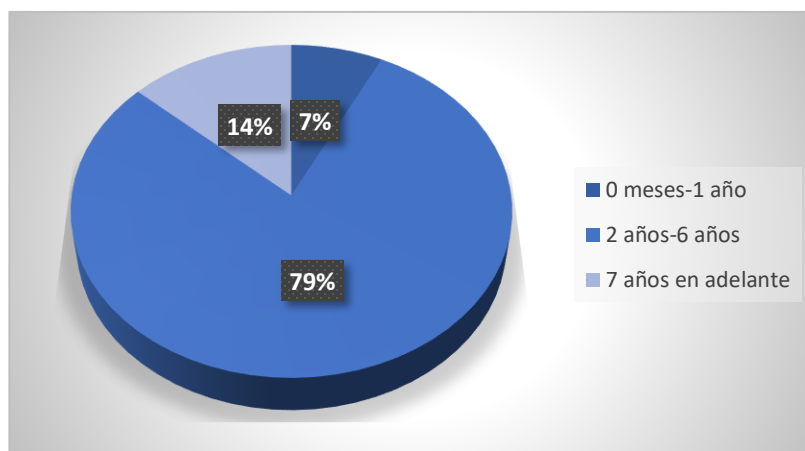


Como se puede observar en la tabla N° 6, se analizaron un total de 5 en ganado bovino machos, obteniendo un porcentaje del 3 % de casos negativos, mientras que el número de hembras analizadas en esta investigación fue de 145, obteniendo de igual manera una no incidencia del 97%, es decir que para ambos sexos se obtuvo una incidencia del 0%.

Tabla 7: Incidencia de anaplasmosis en ganado bovino según las edades.

Edades	Muestras Tomada	Muestras Positivas	Porcentaje (%)	Muestras negativas	Porcentaje (%)
0 meses-1 año	11	0	0%	11	7%
2 años-6 años	119	0	0%	119	79%
7 años en adelante	20	0	0	20	14%
Total	150	0	0%	150	100 %

Figura 5: Porcentajes de incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según las edades.

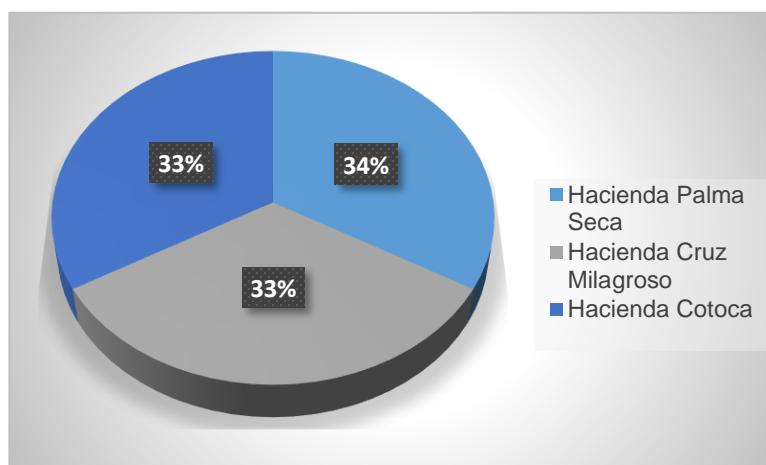


Con respecto a los parámetros edades podemos decir que para la edad 0 meses a 1 año se analizaron 11 muestras resultando todas negativas con un 7%, entre la edad de 2 a 6 años se analizaron 119 muestras donde todas resultaron negativas con un porcentaje del 79%, al igual que para las edades de 7 años en adelante el porcentaje de casos negativos fue del 14%. Incidencia del 0% para todas las edades.

Tabla 8: Incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según el sector

Sector	<i>Muestras Tomada</i>	<i>Muestras Positivas</i>	<i>Porcentaje (%)</i>	<i>Muestras negativas</i>	<i>Porcentaje (%)</i>
Hacienda Palma Seca	50	0	0%	50	34%
Hacienda Cruz Milagroso	50	0	0%	50	33%
Hacienda Cotoca	50	0	0	50	33%
Total	150	0	0%	150	100 %

Figura 6: Porcentajes de incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino según el sector



La tabla N° 8. nos indica la incidencia de Anaplasmosis de acuerdo al sector, de Hacienda Palma seca se analizaron 50 muestras representando un 34% de muestras negativas y un 0% para muestras positivas, del sector de la Hacienda Cruz Milagrosa se analizaron 50 muestras dándonos como resultado un 33 % de casos negativos y un 0% positivo, y por último del sector de la hacienda Cotoca se analizaron 50 muestras obteniendo así un porcentaje del 33% para casos negativos y un 0% para casos positivos, es decir en los tres sectores de las propiedades la incidencia de Anaplasmosis fue del 0%.

8.3. Identificación garrapata

Se recolecto garrapata directo del ganado bovino y se colocó en envase con tapa, luego se trasladó a laboratorio directo al microscopio para identificación de la especie *Otobius megnini*, también conocida como garrapata espinosa de la oreja, es una garrapata de cuerpo blando que solo es parásita en las etapas de larva y ninfa. Como sugiere su nombre común, las formas parásitas de la garrapata espinosa del oído generalmente se encuentran dentro de los oídos del huésped definitivo.

Las garrapatas espinosas del oído son una fuente constante de molestia e irritación para sus huéspedes definitivos. Su tendencia a ocurrir en grandes cantidades puede causar ulceración del oído interno, alta sensibilidad de los oídos, grandes pérdidas de sangre e incluso sordera. Los animales muy infestados a menudo se sacuden y se frotan la cabeza, lo que puede causar excoriación y desolación en las orejas externas. Se han informado varios casos de infestación humana, y la garrapata ha sido incriminada en algunos casos de transmisión de patógenos.

Al igual que con muchas garrapatas blandas, las piezas bucales de *Otobius megnini* no son visibles desde la vista dorsal. La ninfa tiene una especie de forma de violín con pequeñas espinas que se proyectan hacia atrás que cubren el cuerpo, que son la razón de la descripción espinosa en el nombre común. El adulto puede alcanzar los 10 mm (0,4 pulgadas) de largo, es marrón y tiene una cutícula corporal ligeramente granular. El macho y la hembra se parecen mucho entre sí; ninguno posee un escudo

Aunque las garrapatas espinosas del oído generalmente se asocian con ambientes semiáridos o áridos, también se pueden encontrar en otras áreas climáticas debido al transporte interestatal generalizado de animales. Las larvas y las ninfas suelen permanecer dentro de los oídos de su huésped. Las ninfas y los adultos completamente desarrollados viven del anfitrión, pero aún dentro del entorno general del anfitrión. Por lo general, prefieren lugares secos y protegidos, como grietas y hendiduras o debajo de troncos y postes de cercas (Mastropaolo, Nava, Guglielmone, & Mangold, 2011).

Se describe el siguiente orden taxonómico según (Gelvez, 2021)

Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Clase:	Arachnida
Subclase:	Acari
Orden:	Ixodida
Familia:	Argasidae
Género:	Otobius
Especies:	megnini



Foto N° 11 Fuente: propia

9. DISCUSIÓN

El presente estudio realizado sobre la incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino en tres propiedades de la Ciudad de Cobija, se analizó un total de 150 muestras, para su identificación, el método empleado fue de frotis sanguíneo con colorante giemsa, donde no se detectó la presencia de ningún caso positivo de Anaplasmosis, lo que difiere de (Domínguez, 2011); quién manifiesta haber analizado en su investigación un total de 50 muestras, empleando la técnica de frotis sanguíneo con colorante Giemsa, resultando únicamente 0 muestras negativa, dando como resultado un porcentaje del 34% de incidencia de Anaplasmosis en ganado bovino en la propiedad Palma seca, donde las condiciones climatológicas son similares y la técnica empleada para diagnosticar anaplasmosis fue la misma para ambas investigaciones.

En su investigación realizada en la propiedad Hacienda Cruz Milagrosa se reportó un 33% de ganado bovino negativos con anaplasmosis, en las cuales 50 muestras resultaron negativas, para la identificación de *Anaplasma* spp. En la hacienda Cotoca donde 50 ganado bovino resultaron negativo, que equivale a un porcentaje del 33%, difiero de dicha investigación ya que para diagnosticar la presencia de *Anaplasma* spp. en ganado bovino en las tres propiedades solamente se realizó la técnica de frotis sanguíneo con colorante Giemsa, donde no se reportó ningún caso positivo de anaplasmosis; pero se identificó si garrapata de la Familia Ixodidae de la especie *Otobius megnini* la mayor ubicación de la garrapata en el cuerpo del animal la más afectada fue la región inguinal, seguida por la vulva, la tabla del cuello y la región torácica.

10. CONCLUSIONES

- En base a los resultados obtenidos de la investigación, se determinó que la incidencia de Anaplasmosis de los 150 ganado bovino muestreados en las tres propiedades privadas de la Ciudad de Cobija mediante pruebas de laboratorio, en relación a la edad, sexo, raza y sector fue del 0%. De acuerdo con las investigaciones y reportes en diferentes zonas. podemos concluir que la anaplasmosis es una enfermedad que afecta en mayor cantidad al ganado bovino que habitan en zonas tropicales y subtropicales del país donde el porcentaje de incidencia de anaplasmosis es mucho más elevado con relación a zonas frías y templadas, debido a la facilidad que tienen estos vectores en desarrollarse y sobrevivir a altas temperaturas.
- La garrapata identificada es de la Familia Ixodidae de la especie *Otobius megnini* predominando en las tres propiedades de los animales estudiado

11. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que a más de la prueba de la tinción de Giemsa de laboratorio, se continúe otras investigaciones utilizando pruebas de Elisa cuantitativa o PCR.
- Se recomienda realizar más de una prueba de laboratorio en caso de pacientes negativos debido al tiempo de incubación que presenta la enfermedad.
- Planificar planes zoonosarios para el control de vectores y ectoparásitos, e higiene de utensilios de los criadores de ganado bovino.
- Utilización de rotación de potreros para evitar el aumento de carga ectoparasitaria.
- Capacitar a los productores sobre el ciclo biológico de estas garrapatas para así poder hacer un mejor manejo del ambiente.
- Efectuar campañas de información de las diferentes enfermedades en bovinos, especialmente en anaplasmosis (diagnóstico, manejo y tratamiento), dirigida a los criadores de ganado bovino, para así evitar que el problema infeccioso se incremente.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Baldacchino, F. D. (2014). *Baldacchino, F., Desquesnes, M., Mihok, S., Foil, L., Duvallet Tabanids: Neglected subjects of research, but important vectors of disease agents! Infection, Genetics and Evolution, 28 (1):596-615.*
- Celi, M. (2013). *Diagnóstico de anaplasma spp. y babesia spp. en el ganado bovino que se faena en ña camal frigorífico "cafrilosa" de Loja mediante la técnica de giemsa [tesis licenciatura Universidad Nacional de Loja].*
- Corona, B. O. (2012). *Corona, B., Obregón, D., Martínez, S., EsDetección por PCR de Anaplasma marginale en búfalos de la región occidental de Cuba. Revista de Salud Animal, 34(1), 11-18.*
- Díaz Alulema, S. F. (2015). *Identificación taxonómica de garrapatas en ganado bovino de la parroquia La Matriz del cantón Patate [tesis de licenciatura, Universidad Técnica de Ambato].*
- Domínguez, G. G. (2011). *Prevalencia e identificación de hemoparásitos (Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum) en perros de la ciudad de Cuenca. Tesis de.*
- Escobar, A. F. (2015). *Prevalencia y detección por PCR anidada de Anaplasma marginale en bovinos y garrapatas en la zona central del Litoral ecuatoriano. Revista Ciencia y Tecnología, 8(1), 11-17.*
- Ferreira, T. A. (2019). *Diagnóstico molecular e taxas de infecção de Anaplasma marginale e Babesia bovis em rebanhos bovídeos e artrópodes parasitas na Amazônia [Tesis de maestria, Universidade Federal Rural da Amazônia]. Repositorio Institucional-UFRA.*
- Fosgate, G. T.-R. (2010). *Diagnostic accuracy of methods for detecting Anaplasma marginale infection in lactating dairy cattle of Puerto Rico. Journal of veterinary diagnostic investigation, 22(2), 192-199.*
- Gelvez, L. (2021). *Garrapata que parasitan a los animales. Venezuela .*
- González Siles, H. J. (2020). *Diagnóstico de la situación sanitaria y económica referente a hemoparásitos que afectan el hato bovino activamente productivo de la comarca El Alto, municipio de Santo Tomas, Departamento de Chontales [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Agraria].*
- González, B. C. (2014). *González, B. C., Obregón, D., Alemán, Y., Alfonso, P., VeTendencias en el diagnóstico de la anaplasmosis bovina. Revista de Salud Animal, 36(2), 73.*

- Hornok, S. M. (2012). Fatal anaplasmosis in a herd with new genotypes of *Anaplasma marginale*, *Anaplasma ovis* and concurrent haemoplasmosis. *Research in Veterinary Science*, 92 (1), 30-35.
- Martínez-Estélez, M. Á. (2002). Anaplasmosis bovina. *Bovis*, (108), 77-84.
- Mastropaolo, M., Nava, S., Guglielmono, A. A., & Mangold, A. J. (2011). Developmental changes in salivary glands of nymphs and adults of the spinose ear tick *Otobius megnini*". *Journal of Parasitology*. 97 (3): 535–537. doi.
- Mendes, N. S. (2019). Ocorrência e diversidade genética de babesia bovis em bovinos de corte amostrados no pantanal sul mato-grossense [Tesis de maestria, Universidade Estadual Paulista]. Repositorio Institucional-UEP. <http://hdl.handle.net/11449/180975>.
- Monroy, M. F. (2015). Determinación de la seroprevalencia de *Anaplasma marginale*, a través del Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) en la población Bovina de la provincia de Galápagos-Ecuador [Tesis de Licenciatura, Universidad San Francisc.
- Muñoz-Guarnizo, T. R.-F.-N.-G.-M. (2017). Muñoz-Guarnizo, T. R., Ayora-Fernández, P., Luzuriaga-Neira, A., Corona-GonzálezPrevalence of *Anaplasma marginale* in cattle from Zamora Chinchipe province, Ecuador. *Revista de Salud Animal*, 39(1), 68-74.
- Oliveira, J. B.-B. (2011). Oliveira, J. B., Montoya, J., Romero, J. J., Urbina, A., Soto-Barrientos, Epidemiology of bovine anaplasmosis in dairy herds from Costa Rica. *Veterinary Parasitology*, 177(3-4), 359-365.
- Rivera, V. (2012). Evaluación de una vacuna experimental inactivada contra la anaplasmosis bovina preparada con dos cepas nativas de *Anaplasma marginale*, en cinco ranchos del Estado de Veracruz [Tesis de licenciatura, Universidad Veracruzana]. Repositorio Institucional-UV.
- Rodríguez-Vivas, R. I.-M.-G. (2004). Rodríguez-Vivas, R. I., Mata-MThe effect of management factors on the seroprevalence of *Anaplasma marginale* in Bos

indicus cattle in the Mexican tropics. *Tropical animal health and production*, 36(2), 13.

Sepúlveda, A. L.-M.-P.-C. (2017). Sepúlveda, A. L., Pulido-Medellín M. O., Rodríguez-Pacheco J. E. Eficiencia in vitro de hongos entomopatógenos y productos químicos sobre *Rhipicephalus microplus*. *Revista Veterinaria y Zootecnia (On Line)*, 11(2), 67 - 80. .

Sharma, A. S. (2013). Sharma, A., Singla, L. D., Kaur, P., Bal, M. S., Batt. Prevalence and haemato-biochemical profile of *Anaplasma marginale* infection in dairy animals of Punjab (India). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 6(2), 139-144.

Silva, T. F.-S. (2021). Silva, T. F., Alves-Sobrinho, A. V., de Lima, L. F. S., Ziemniczak, H. M., Ferraz, Tristeza parasitária bovina: Revisão. *Research, Society and Development*, 10(1), e15410111631-e15410111631.

Soto, K. (2010). Determinación de la prevalencia de anaplasmosis en el ganado bovino faenado en la empresa metropolitana de rastro de Quito (EMRQ) mediante la aplicación de las técnicas de diagnóstico: microscopía de frotis sanguíneos, reacción en cadena .

Turruella, Y. F., Pompa, G. Y., & Rodríguez, E. T. (2020). Anaplasmosis en bovinos de la raza Siboney de Cuba, infectados con (*Boophilus*). (REVISIÓN) REDEL. *Revista Granmense de Desarrollo Local.*, 16(4), 469-477.

Vargas-Cuy, D. H.-C.-M. (2019). Vargas-Cuy, D. H., Torres-Caycedo, M. I., & P. Anaplasmosis y babesiosis: estudio actual. *Pensamiento y Acción*, (26), 45–60. .

Vasanthachar, H. C. (2014). Vasanthachar, H., Chandrasekaran, B., Kesavan, M., Karthik, K., Rathod, P., Gop. Economic importance of ticks and their effective control strategies. *Asian Pacific Journal Tropical Disease*, 4 (2), S770-S779.

Vasco Aguas, K. A. (2013). Estandarización de la técnica de análisis de función de alta resolución para la detección de *Babesia* en garrapatas utilizando polimorfismos

de nucleótidos. [Tesis de Licenciatura, Universidad Central del Ecuador].
Repositorio Institucional UCE. Obtenido de
<http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/2783299>

Yáñez Cazco, C. M. (2013). Determinación de la Incidencia de Anaplasmosis y Babesiosis en el ganado bovino sometido a explotación en la parroquia Huigra, cantón Alausí, provincia de Chimborazo (Bachelor's thesis).

Yousefi, A., Rahbari, S., Shayan, P., Bahonar, A., & Sadeghi-dehkordi, Z. (2017). Molecular detection of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma ovis* in sheep and goat in west highland pasture of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(5), 455–459. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.017>

ANEXO

ANEXO N° 1
FOTOGRAFÍAS



Fotos N° 1 Materiales utilizados en el laboratorio



Fotos N° 2 contención del animal



Fotos N° 3 Registrando al ganado bovino



Fotos N° 4. Extrayendo de sangre-animal



Fotos N° 5 Muestra de sangre al tubo de ensayo



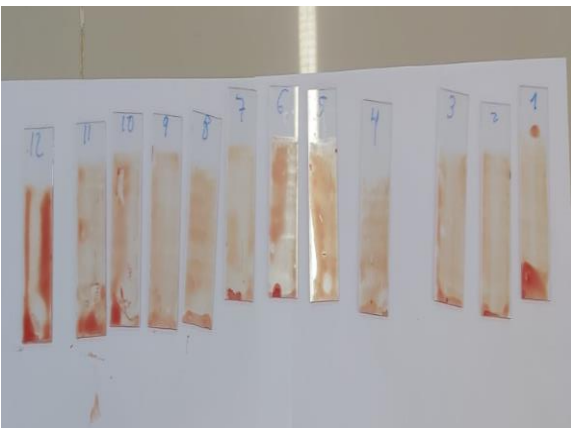
Fotos N° 6 Transporte de muestras al laboratorio



Fotos N° 7 Vectores



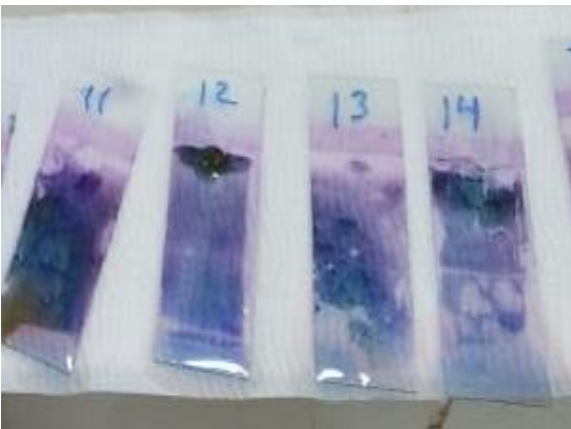
Fotos N° 8 Sistema Vacutainer.



Fotos N° 8 Realización del frotis sanguíneo



Fotos N° 9 Fijación de muestras con metanol.



Fotos N° 10 Secado de muestras al aire libre.

ANEXO N° 2

REGISTROS DE CAMPOS
REGISTROS DE LABORATORIOS