



**Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de anaplasmosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha – Ecuador**

Obando Castro, Evelyn Virginia

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Dr. Ron Román, Jorge Washington Ph.D.

25 de agosto del 2022



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera Agropecuaria**

**Certificación**

Certifico que el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de anaplasmosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha – Ecuador**, fue realizado por la señorita: **Obando Castro, Evelyn Virginia**, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizada en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 25 de agosto del 2022



Escrito y firmado digitalmente por:  
**JORGE  
WASHINGTON RON  
ROMAN**

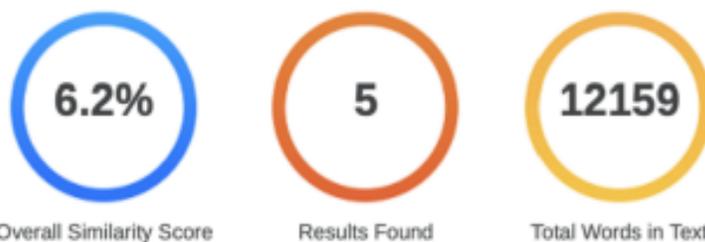
**Dr. Ron Román, Jorge Washington, PhD.**

C. C: 1709505125

**Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos**

CL\_Obando Castro Evelyn Virginia.docx

Scanned on: 16:1 August 24, 2022 UTC



Identical Words	113
Words with Minor Changes	72
Paraphrased Words	572
Omitted Words	0



**Dr. Ron Román, Jorge Washington, PhD.**

C. C: 1709505125



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura  
Carrera Agropecuaria**

**Responsabilidad de Autoría**

Yo, **Obando Castro, Evelyn Virginia** con cédula de ciudadanía n°1718605684, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de anaplasmosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha – Ecuador**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 25 de agosto del 2022

**Obando Castro, Evelyn Virginia**

C.C: 1718605684



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera Agropecuaria**

**Autorización de Publicación**

Yo, Obando Castro, Evelyn Virginia con cédula de ciudadanía n° 1718605684, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de anaplasmosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha – Ecuador**, en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 25 de agosto del 2022

**Obando Castro, Evelyn Virginia**

C.C.: 1718605684

## Dedicatoria

El presente trabajo va dedicado en primer lugar a Dios por brindarme la salud y la paciencia durante mi formación profesional. A mis padres, Julio y Angélica por su amor, esfuerzo, sacrificio y apoyo constante en el transcurso de mi formación personal y profesional.

A mis hermanos, Javier y Christian ya que con sus palabras de aliento me han inspirado a no rendirme. A mi familia que han sido quienes me han acompañado durante mi carrera universitaria.

A ti Danilo por todo el amor, apoyo y paciencia que me has brindado en esta etapa tan importante de mi vida.

## Agradecimiento

Expreso mi profundo agradecimiento a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, a la Facultad de Ingeniería Agropecuaria IASA 1, a sus autoridades, docentes y personal Administrativo, de manera muy especial al laboratorio de sanidad animal y mejoramiento genético.

Universidad de Liege por proporcionarme los medios y recursos para el desarrollo del presente proyecto.

A mi tutor Dr. Jorge Ron, por su destacada labor y paciencia en el desarrollo del presente proyecto de investigación

Dra. María Augusta Chávez y al Dr. Armando Reyna, por su apoyo y guía durante el desarrollo de este proyecto de investigación

A los Ingenieros, Gabriela Morales, Jimmy Jumbo y Andrés Mullo, por el apoyo en la parte práctica y de laboratorio a lo largo de la realización del presente trabajo de integración curricular

A los tesisistas del Laboratorio del laboratorio de sanidad animal y mejoramiento genético y mejoramiento genético

A mi familia por su apoyo incondicional y por ser quienes me han acompañado durante mi carrera universitaria.

A mis amigos, Mishell, Vanessa, Daniel, Álvaro, Jennifer, Daniela, Joselyn y Bryan por su apoyo incondicional en buenos y malos momentos a lo largo de esta etapa.

## Índice de contenidos

Carátula.....	1
Certificación.....	2
Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos.....	3
Responsabilidad de autoría .....	4
Autorización de la publicación .....	5
Dedicatoria .....	6
Agradecimiento.....	7
Resumen.....	15
Abstract .....	16
Capítulo I.....	17
Introducción.....	17
Antecedentes .....	17
Justificación.....	18
Objetivos .....	20
Objetivo General.....	20
Objetivos Específicos.....	20
Hipótesis .....	20
Capítulo II.....	21
Marco referencial .....	21
Generalidades .....	21
Agente etiológico .....	22
Tipos de agente causal .....	23
Vectores.....	25
Vectores animados .....	25
Vectores inanimados .....	26

Patogenia.....	26
Vías de transmisión .....	26
Síntomas de la Enfermedad .....	28
Periodo de la Infección.....	28
Diagnóstico .....	29
Tinción Giemsa.....	29
ELISA .....	30
PCR.....	31
Distribución y prevalencia.....	32
Distribución y prevalencia en el mundo.....	32
Distribución y prevalencia en América Latina .....	33
Distribución y prevalencia en Ecuador .....	34
Determinación de factores de riesgo.....	35
Medidas epidemiológicas en estudios transversales.....	35
Control de la enfermedad.....	35
Programas de control en América Latina .....	35
Programas de control de Agrocalidad .....	36
Capítulo III.....	37
Materiales y métodos.....	37
Metodología.....	37
Área de estudio .....	37
Ubicación Geográfica.....	37
Determinación del tamaño de muestra.....	38
Encuesta epidemiológica .....	41
Obtención de muestras .....	41
Recolección muestras de sangre.....	41

	10
Extracción de muestras de sangre.....	42
Procesamiento de muestras .....	43
Frotis sanguíneo .....	43
Fijación del frotis sanguíneo .....	44
Tinción Giemsa.....	45
Visualización del frotis al microscopio .....	45
Empleo de la aplicación EpiCollect .....	46
Análisis estadístico .....	46
Determinación de la prevalencia de la enfermedad .....	46
Análisis de factores de riesgo.....	47
Capítulo IV.....	49
Resultados y Discusión .....	49
Estadística descriptiva de la muestra.....	49
Distribución de animales muestreados por zona, sexo y tamaño de la UPA .....	49
Distribución de animales muestreados por raza .....	51
Prevalencia de anaplasmosis .....	54
Prevalencia general de Anaplasma marginale.....	54
Prevalencia de animales muestreados por zona, sexo y tamaño de la UPA .....	55
Prevalencia de la enfermedad por edad.....	57
Prevalencia de la enfermedad por raza de los animales muestreados.....	58
Validación de la estrategia de muestreo con la finca 14 (FN 14) .....	59
Prevalencia general de anaplasmosis en la FN14 .....	60
Prevalencia de la enfermedad por edad y sexo de la UPA seleccionada (FN 14).....	61

Factores de Riesgo.....	62
Datos generales de las Unidades de Producción Agropecuaria (UPA) .....	62
Factores de Riesgo para Anaplasmosis bovina.....	62
Georeferenciación .....	63
Capítulo V .....	65
Conclusiones y Recomendaciones .....	65
Conclusiones.....	65
Recomendaciones .....	65
Bibliografía .....	67

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Especies del género Anaplasma, según las células que infectan, hospedador y distribución geográfica .....	24
<b>Tabla 2</b> Distribución y prevalencia de Anaplasmosis en América Latina .....	33
<b>Tabla 3</b> Distribución y prevalencia de Anaplasmosis en Ecuador .....	34
<b>Tabla 4</b> Coordenadas geográficas de las zonas donde se realizó el presente estudio .....	38
<b>Tabla 5</b> Clasificación de las propiedades según el número de animales.....	39
<b>Tabla 6</b> Porcentaje de animales a muestrear, según el número de animales totales presentes en la finca.....	39
<b>Tabla 7</b> Animales a muestrearse por tamaño de UPA y número de animales de la UPA.....	39
<b>Tabla 8</b> Categorización de edades de los bovinos.....	41
<b>Tabla 9</b> Análisis de distribución de animales muestreados por zona, sexo y tamaño de UPA.....	51
<b>Tabla 10</b> Distribución de número de animales muestreados por UPA y por sexo.....	51
<b>Tabla 11</b> Distribución de animales muestreados por raza.....	52
<b>Tabla 12</b> Distribución de los animales muestreados con respecto a la edad.....	54
<b>Tabla 13</b> Análisis general de prevalencia de anaplasmosis por frotis sanguíneo .....	55
<b>Tabla 14</b> Análisis de prevalencia de animales muestreados por zona, sexo y tamaño de UPA, de anaplasmosis por frotis sanguíneo .....	57
<b>Tabla 15</b> Análisis de prevalencia de anaplasmosis por frotis sanguíneo con respecto a la edad de los bovinos.....	58
<b>Tabla 16</b> Análisis de prevalencia de anaplasmosis por frotis sanguíneo con respecto a la raza de los bovinos .....	58
<b>Tabla 17</b> Análisis de prevalencia de anaplasmosis por frotis sanguíneo.....	60

<b>Tabla 18</b> Análisis de prevalencia de anaplasmosis por frotis sanguíneo con respecto a la edad y al sexo de los bovinos de la FN14 .....	61
---	----

### Índice de figuras

<b>Figura 1</b> Anaplasma marginale visualización al microscopio.....	22
<b>Figura 2</b> Mapa de distribución de Anaplasmosis bovina en el mundo .....	32
<b>Figura 3</b> Ubicación geográfica de la Provincia de Pichincha.....	37
<b>Figura 4</b> Georreferenciación fincas ganaderas muestreadas en el noroccidente de Pichincha.....	64

## Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia y factores de riesgo de anaplasmosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, mediante la aplicación de frotis sanguíneo y tinción Giemsa, se muestrearon 853 animales de estos se analizaron un total de 819 muestras de sangre mismas que fueron extraídas de bovinos de 53 explotaciones ganaderas, estas fueron categorizadas en grandes, medianas y pequeñas de acuerdo al número de animales total que cada una posee, los parámetros que se evaluaron fueron: zona, tamaño de explotación, edad, sexo y raza; con los datos obtenidos se realizó el análisis estadístico, donde de las 819 muestras 575 fueron positivas, es así que se obtuvo una prevalencia del 70,21% para *Anaplasma marginale* en la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, en cuanto a los factores de riesgo se determinó con la realización de una encuesta epidemiológica misma que fue aplicada a los encargados de las fincas, sin embargo no se pudo establecer dichos factores de riesgo debido a que existió una positividad global de las 53 explotaciones ganaderas muestreadas, finalmente con el uso del programa QGIS se realizó un mapa de georreferencia mediante las coordenadas que se pudo tomar con la aplicación epicollect al momento de visitar cada una de las fincas.

**Palabras clave:** Tinción Giemsa, frotis sanguíneo, *Anaplasma marginale*

### Abstract

The objective of this study was to determine the prevalence and risk factors of anaplasmosis in cattle farms (large, medium and small) in the northwestern area of the province of Pichincha, through the application of blood smear and Giemsa staining, A total of 853 animals were sampled and a total of 819 blood samples were analyzed from cattle from 53 cattle farms, these were categorized into large, medium and small according to the total number of animals that each one has, the parameters that were evaluated were: zone, farm size, age, sex and breed; The parameters evaluated were: area, farm size, age, sex and breed; with the data obtained, a statistical analysis was carried out, where of the 819 samples, 575 were positive, thus obtaining a prevalence of 70.21% for *Anaplasma marginale* in the northwestern zone of the province of Pichincha, as for the risk factors, it was determined by carrying out an epidemiological survey which was applied to those in charge of the farms, However, it was not possible to establish these risk factors because there was a global positivity of the 53 cattle farms sampled. Finally, with the use of the QGIS program, a georeference map was made using the coordinates that could be taken with the epicollect application at the time of visiting each of the farms.

**Keywords:** Giemsa stain, blood smear, *Anaplasma marginale*.

## Capítulo I

### Introducción

#### Antecedentes

En el Ecuador, existe una alta prevalencia de enfermedades infecciosas animales, las cuales representan un impacto importante en ámbitos como, la salud pública y veterinaria, la economía se ve afectada debido a que la baja de la producción representa grandes pérdidas a nivel mundial y por ende nacional (Moyano et al., 2016).

Una de las enfermedades de gran importancia en el sector pecuario, es la anaplasmosis, la cual es causada por *Anaplasma marginale* y *Anaplasma centrale* perteneciente a la familia Anaplasmataceae del orden Rickettsiales. El agente causal, principalmente se puede transmitir por vectores como las garrapatas, aunque también puede darse una transmisión mecánica mediante la picadura de insectos o por material quirúrgico (Córdoba, 2016).

Los signos clínicos que pueden aparecer en animales infectados son, la anemia, ictericia y muerte súbita, a más de esto se ve una baja significativa en la producción de leche y de peso, sin embargo la enfermedad clínica tan solo se puede constatar por medio de la identificación del microorganismo a través de la visualización del frotis sanguíneo con tinción Giemsa, siendo este el método más común para su identificación (Córdoba, 2016).

La anaplasmosis está ampliamente distribuida principalmente en sitios que son poseedores de climas cálidos, por ejemplo en bovinos es muy común en África del sur, Australia, Unión Soviética, Centroamérica, Norte y Sur América (Figuroa, 1994).

En países de Sur América como Colombia, Venezuela y Perú ha sido reportada una alta prevalencia del 75%, 66,4 % y 61,6 %, respectivamente, lo que demuestra que esta enfermedad es de carácter enzoótico, produciendo grandes pérdidas económicas (Figuroa, 1994).

En Ecuador, a lo largo del tiempo se han hecho diferentes estudios especialmente en bovinos los mismos que confirman la prevalencia de esta enfermedad; Soto, (2010) menciona que en Guayas, Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas existe un promedio del 51,9% de prevalencia, otro estudio realizado por Muñoz et al., (2017) en la amazonia afirma que existe un 49,5 % de prevalencia de dicha patología, por lo que para Tana et al., (2017) la anaplasmosis bovina representan un gran impacto en cuanto a salud y economía

La Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, en colaboración con la Universidad de Lieja (ULg) de Bélgica, se encuentra ejecutando el proyecto denominado: “Establecimiento de una Plataforma de apoyo a la formación y sensibilización, diagnóstico y desarrollo de una estrategia de control de la Brucelosis y Tripanosomosis bovina en Ecuador” (Proyecto Bru-Tryp). El proyecto desarrolla una estrategia innovadora que busca establecer una plataforma interdisciplinaria e interinstitucional, buscando centralizar y difundir los conocimientos adquiridos, sobre la brucelosis y tripanosomosis mediante una estrategia de formación-capacitación de tipo teórico-práctico, además de validar las herramientas de diagnóstico, de prevención y de tratamiento para la Brucelosis y Tripanosomosis.

### **Justificación**

Las enfermedades como la anaplasmosis bovina se ha convertido en una amenaza latente para las explotaciones ganaderas gracias a los efectos que esta ocasiona con su infección, tanto en el área de producción como de reproducción de los animales.

La anaplasmosis bovina ya ha sido identificada hace tiempo atrás en el Ecuador, Según OIE, (2017) el Ecuador ha reportado dicha patología ausente desde el 2005 hasta el 2017. El último reporte de esta patología ha sido en el año de 1999.

El diagnóstico de la anaplasmosis preferentemente se fundamenta en los signos clínicos, resultados de la necropsia y resultados del laboratorio. La infección principalmente se diagnostica por demostración serológica de anticuerpos con aseveración por procedimientos de

detección molecular; no obstante, el diagnóstico definitivo necesita la identificación de eritrocitos parasitados por *A. marginale* durante las etapas de desarrollo (Abdisa, 2019).

Mediante la utilización de pruebas de laboratorio más sensibles se puede determinar la presencia de anaplasmosis en hatos ganaderos y así se puede facilitar su diagnóstico y prevalencia, lo que será de una gran ayuda para poder establecer un sistema eficiente de control, además se pueden tomar medidas preventivas para evitar la diseminación de esta enfermedad y mejorar la producción ganadera.

Por lo anterior se tomó la decisión de realizar un estudio con el objetivo de determinar la prevalencia y factores de riesgo de anaplasmosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha.

## **Objetivos**

### ***Objetivo General***

Determinar la prevalencia y factores de riesgo de anaplasmosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha.

### ***Objetivos Específicos***

Determinar la prevalencia de anaplasmosis a nivel de hato e individual, a través de la aplicación de frotis sanguíneo y coloración Giemsa.

Determinar los factores de riesgo de la presencia de anaplasma en las fincas (grandes, medianas y pequeñas) mediante la aplicación y análisis de encuestas epidemiológicas.

Elaborar mapas de distribución de la prevalencia, y factores de riesgo, a través la georeferenciación de las explotaciones ganaderas de la zona de estudio.

## **Hipótesis**

**Ho:** La prevalencia y factores de riesgo de anaplasmosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) en la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, es baja e inexistente respectivamente.

**Hi:** La prevalencia y factores de riesgo de anaplasmosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) en la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, es alta e identificados respectivamente.

## Capítulo II

### Marco referencial

#### Generalidades

La Anaplasmosis es una enfermedad hemoparasitaria, que afecta a distintas especies, la misma que como ya se ha mencionado está distribuida en zonas con climas cálidos alrededor del mundo, dicha enfermedad es caracterizada por síntomas como anemia hemolítica, fiebre, entre otros, de este género se conocen varias especies que tienen la posibilidad de afectar a las diferentes especies animales (Viseshakul et al., 2000).

A partir de los años 1870 se presentan reportes de picos febriles en ovejas, cabras y bovinos, no obstante, solo después de 150 años se da el reporte del primer caso de *E. phagocytophilum*, mismo que en la actualidad es conocida como *A. phagocytophilum*. (Rymaszewska & Grenda, 2008). *Anaplasma marginale* tiene su primer reporte en el año de 1894 diagnosticado como inclusiones en células eritrocitarias en becerras y posterior a esto en 1910 en África del sur Theiler realiza la descripción completa de esta (Kocan et al., 2003).

En América Latina se pudieron evidenciar varios reportes a lo largo de los años, sin embargo, Brasil es el primer país latinoamericano en reportar la existencia de Rickettsiosis, Posterior a esto Colombia en el año de 1937 reporta el segundo caso, Las rickettsias son bacterias intracelulares forzadas transmitidas por artrópodos que infectan primordialmente células endoteliales. Estas bacterias poseen una repartición universal y ocasionan enfermedades agudas con compromiso sistémico, mismas que tienen la posibilidad de ser letales, incluso en individuos adolescentes, si no reciben tratamiento de manera correcta y oportuna (Valbuena, 2010).

En Ecuador en realidad existe muy escasa información acerca de la prevalencia de anaplasmosis en el ganado bovino, sin embargo de manera extraoficial han sido reportados la existencia de vectores y signos clínicos que van acorde con la enfermedad (Monroy, 2015).

Según OIE, (2017) el Ecuador ha comunicado la patología como ausente a partir del año 2005 hasta el 2017. La última en la que se ha reportado esta patología ha sido en el año de 1999.

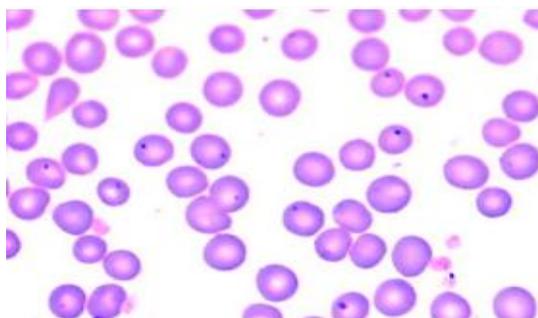
Esta patología es causada por una Rickettsia, correspondiente a el núcleo familiar Anaplasmatacea, género Anaplasma, especie *Anaplasma marginale*. Pese a que hay otras especies de trascendencia veterinaria como *Anaplasma bovis* o *Anaplasma centrale*, la *Anaplasma marginale* es la que causa inconvenientes más graves en los animales ya que crea brotes de patología clínica (OIE, 2015).

### **Agente etiológico**

El causante de esta enfermedad es *Anaplasma* spp, esta es una bacteria perteneciente al orden Rickettsiales, Familia Anaplasmataceae; bacteria tipo gram negativa, intracelular obligatoria misma que se encuentra de manera exclusiva dentro de las vacuolas parasitóforas en el citoplasma del eritrocito o glóbulo rojos, ofrece un aspecto de una inclusión redondeada, basófila, pequeña (0,3-1 um) (Del Cura, 2003), la misma que se encuentra generalmente localizada a lo largo del margen de los glóbulos rojos; caracterizada por que su cromatina no se encuentra organizada en un núcleo, con membrana y a la vez por no tener retículo endoplasmático (Rodríguez et al., 2003).

### **Figura 1**

#### **Anaplasma marginale visualización al microscopio**



*Nota:* Eritrocitos de bovinos infectados con cuerpos compatibles con *A. marginale*, tomado de (Muñoz et al., 2017).

### Tipos de agente causal

El agente causal de la Anaplasmosis, pertenece al género *Anaplasma*, este se compone de tres especies:

- *Anaplasma marginale*
- *Anaplasma centrale*
- *Anaplasma ovis*

***Anaplasma marginale***, agente etiológico de la Anaplasmosis bovina (*Bos taurus-indicus*) es un organismo intraeritrocítico perteneciente a la familia Anaplasmataceae misma que tiene la capacidad de parasitar a los eritrocitos maduros de los bovinos, como consecuencia de esta se dan pérdidas económicas en zonas tropicales y subtropicales (Añez-Rojas et al., 2010). A la vez es considerada una bacteria intraeritrocítica, misma que es transmitida por garrapatas. Es el agente etiológico de la Anaplasmosis, una patología que se caracteriza clínicamente por fiebre, anemia hemolítica, baja del peso y muerte súbita del animal (Corona et al., 2004).

*Pertenece: Genogrupo II de las Ehrlichias*

*Super Reino: Bacteria*

*Clase: Proteobacteria*

*Subclase: Alfa*

*Orden: Rickettsiales*

*Familia: Anaplasmataceae*

*Género: Anaplasma*

*Especie: A. marginale A. centrale*

A continuación, se muestra el tipo de agente etiológico de Anaplasma que afecta a distintas especies y la distribución del mismo (Tabla 1).

**Tabla 1**

**Especies del género Anaplasma, según las células que infectan, hospedador y distribución geográfica**

<b>Especie</b>	<b>Células amenazadas</b>	<b>Hospedador</b>	<b>Distribución Geográfica</b>
<i>Anaplasma equi</i>	Granulocitos	Equinos	Europa, Estados Unidos
<i>Anaplasma platys</i>	Plaquetas	Perros	América del Norte y del Sur
<i>Anaplasma marginale</i>	Eritrocitos	Bovinos	Estados Unidos, Costa Rica, Venezuela, Colombia, Brasil, Paraguay, Argentina
<i>Anaplasma centrale</i>	Eritrocitos	Bovinos	Estados Unidos, Costa Rica, Venezuela, Colombia, Brasil, Paraguay, Argentina
<i>Anaplasma ovis</i>	Eritrocitos	Ovinos y caprinos	Estados Unidos

*Nota.* Recuperado de Determinación de prevalencia de anaplasmosis, babesiosis y tripanosomiasis en el hato lechero de la hacienda Jhomar, cantón Pedro Vicente Maldonado, enero y febrero, 2015 (Oñate, 2015).

### ***Reportados en América Latina***

De acuerdo con Kocan et al., (2010), Anaplasma ha sido reportada en la mayoría de estados de los Estados Unidos, sin embargo, es considerada endémica en México, América Central y del sur, también en las islas del Caribe, a excepción de las zonas desérticas. La OIE, (2015) *Anaplasma marginale* ha sido identificada en la mayoría de países tropicales y subtropicales, y también en varias de las regiones templadas en el mundo.

### ***Reportados en Ecuador***

En el Ecuador, existen varias investigaciones que reportan esta patología, las prevalencias reportadas en la Amazonía, diagnosticadas por varios métodos de diagnóstico varían entre el 28% y 91,16%. En este sentido, Soto, (2010) reporta una prevalencia del 28,8% por frotis sanguíneo, 91,7% por PCR y 91,16% por ELISAc; Muñoz et al., (2017) , menciona una prevalencia del 68% mediante observación directa en frotis sanguíneos en la provincia de Zamora Chinchipe; Medina et al., (2017) reporta una prevalencia del 65,5% de anticuerpos

contra *Anaplasma marginale* por ELISAi en la provincia de Pastaza y, Tana et al., (2017) reporta el 86,1% de *A. Marginale* por PCR.

## **Vectores**

La anaplasmosis es una enfermedad que ha sido denominada endémica en zonas tropicales y subtropicales alrededor del mundo, La sangre de animales infectados suele ser la fuente de infección para los animales susceptibles (OIE, 2015). *Anaplasma marginale* puede ser transmitida por vectores como garrapatas de distintos géneros Dípteros hematófagos o por contaminación iatrogénica

### **Vectores animados**

#### **Garrapatas**

Se han logrado identificar 19 especies que pueden transmitir esta infección(OIE, 2015), sin embargo, solo *Boophilus annulatus*, *Dermacentor occidentalis* y *Dermacentor andersoni*, son considerados como vectores biológicos, el resto son vectores mecánicos (Gasque, 2008).

Se tiene una amplia lista de reportes de especies de garrapatas mismas que actúan como vectores capaces de transmitir *A. marginale*, dentro de estas tenemos *Boophilus (Rhipicephalus) spp.*, *Dermacentor spp.*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus spp.* e *Hyalomma rufipes* (Sala, 2013).

Se define como una garrapata de exclusivo hospedador ya que ejecuta sus estadios parasitarios sobre un mismo animal; su periodo de vida se divide en una etapa de vida independiente desarrollada fuera del animal, en las pasturas, y una etapa parasitaria sobre el bovino. La etapa de vida independiente, además llamada etapa no parasitaria (Cipolini & Jacobo, 2004).

### **Dípteros Hematófagos**

Scoles et al., (2005) mencionan que *Stomoxys calcitrans*, ocho especies de tabanus spp., tres especies de *Culicidae* y *Haematobians irritans*, Foil & Gorham, (2004) aseguran que estos son considerados como transmisores mecánicos de *Anaplasma marginale*.

Los insectos del género Tabanus, son por lo general implicados en la transmisión mecánica de *Anaplasma marginale*, ya que son poseedores de un gran aparato bucal y a su comportamiento de alimentación interrumpida, es decir al un animal ser picado por estos insectos se defiende y el tábano no completa su alimentación es por esto que este se dirige hacia otro animal para poder finalizar su alimentación (Baldacchino et al., 2014).

### **Vectores inanimados**

Dentro de este grupo encontramos la infección Iatrogénica la cual se da a partir de agujas, descornadores, mochetas, pinzas para tatuar, bisturíes y además otros instrumentos, mismos que actúan como transmisores mecánicos de la sangre infectada con *Anaplasma marginale* (Monroy, 2015).

### **Patogenia**

#### **Vías de transmisión**

*Anaplasma marginale* puede ser transmitido a través de mecanismos biológicos, mecánicos, iatrogénicos y transplacentarios.

#### **Transmisión Biológica**

Las garrapatas son transmisores de una gran variedad de microorganismos patógenos, con mayor posibilidad que cualquier otro tipo de vectores artrópodos, estos representan uno de los vectores con mayor importancia al momento de transmitir enfermedades que afectan al ganado bovino (Ameen et al., 2012). Las garrapatas son responsables de varias de las pérdidas dentro de la producción ganadera, estas al adherirse al hospedador son capaces de

inyectar toxinas, causan estrés, pérdidas de sangre, irritación, todo esto nos lleva a una disminución tanto en la producción láctea y de carne (Manjunathachar et al., 2014).

La transmisión biológica de *Anaplasma marginale* se da mediante al menos 20 especies de garrapatas. *Rhipicephalus microplus* y *R. annulatus* son los principales vectores en las regiones tropicales y subtropicales (Kocan et al., 2004).

La transmisión en artrópodos como las garrapatas puede ser transestadial o interestadial, esto implica que la infección con *Anaplasma marginale* puede pasar de una etapa a otra del ciclo de vida de las garrapatas; o también puede ser intraestadial, lo que implica que, dentro de una etapa específica, ya sea de larva, ninfa o adulto, el vector es infectado con el patógeno al alimentarse de un animal portador de *A. marginale* (Doudier et al., 2010; Hornok et al., 2012; Kocan et al., 2010; OIE, 2015).

La transmisión transovarial en garrapatas de una generación a la siguiente, no ha sido demostrada, sin embargo, es posible que los huevos de garrapatas se infecten con una muy baja frecuencia (Rovid Spickler, 2004).

La transmisión biológica por garrapatas es considerada mucho más eficiente que la transmisión mecánica y puede promover la estabilidad enzoótica

### **Transmisión mecánica**

Kocan et al., (2003) Afirman que la transmisión mecánica de anaplasmosis se da por al menos 10 especies de dípteros hematófagos, dentro de estos se incluyen *Stomoxys calcitrans*, *Haematobia irritans* y *Tabanus spp.* Este tipo de transmisión dependerá del nivel de bacteremia que posea el hospedador al momento que el vector se alimente, es por esto que solamente se puede dar durante la fase aguda de la infección, es decir cuando la rickettsemia está en su pico más alto (Scoles et al., 2008). La transmisión mecánica puede llegar a ser tan eficiente como la transmisión biológica (Baldacchino et al., 2014).

### ***Transmisión iatrogénica***

Este tipo de transmisión se da por medio de instrumentación contaminada con sangre (Ashuma et al., 2013), es decir durante el proceso de vacunación contra las distintas enfermedades del ganado no se da la utilización de agujas nuevas o individuales para cada animal o cuando se utilizan instrumentos quirúrgicos que no estén esterilizados (OIE, 2015), también puede darse durante procesos como los tatuados, areteados y la castración (Kocan et al., 2010).

### ***Transmisión transplacentaria***

En este tipo de transmisión, los glóbulos rojos infectados se movilizan por la placenta en el útero de vacas que están infectadas con Anaplasmosis hacia sus crías sin amplificación de *Anaplasma marginale* (Monroy, 2015).

### **Síntomas de la Enfermedad**

Al inicio de la infección el animal no presenta síntomas clínicos, tan solo cuando el 15 % de los eritrocitos han sido parasitados o infectados el animal presenta sintomatología. Es en este periodo que la parasitemia comienza a desarrollarse, posterior a eso los eritrocitos infectados se eliminan del torrente circulatorio, este proceso se da por fagocitosis de las células del retículo endotelial del bazo, hígado y nódulos linfáticos; induciéndose así el desarrollo de una fase aguda (Corona et al., 2004).

### ***Periodo de la Infección***

#### ***Fase Aguda***

Al momento en que se da la parasitemia, los eritrocitos que han sido infectados por medio de la fagocitosis de las células del retículo endotelial del bazo, hígado y nódulos linfáticos, empieza el desarrollo de la fase aguda (Corona et al., 2004). Se tiene como primer signo clínico fiebre, rodeando los 41°C, misma que provoca un aumento en la tasa metabólica, principalmente del catabolismo proteico, dando paso a una descompensación, disminución de

peso, anorexia, depresión, debilidad muscular, aislamiento del animal, anemia, baja de producción, deshidratación, pérdida de apetito, disnea, taquicardia, constipación, ictericia y bilirrubinemia. En vacas gestantes se producen abortos y en los machos se da la disminución de la calidad espermática (Monroy, 2015).

### ***Fase Hiperaguda***

Los animales presentan una acelerada baja de peso, abortos, fallo cardiopulmonar, taquipnea, taquicardia, salivación, anemia y muerte súbita en 24 horas, se tiene el 90 % de los eritrocitos ya infectados (Monroy, 2015).

### ***Fase Crónica***

En algunos casos el animal llega a esta etapa sin presentar ningún tipo de manifestación clínica, disminuyen drásticamente la parasitemia, después de varias semanas el perfil hematológico vuelve a la normalidad. Los animales que se han recuperado puede permanecer infectado persistentemente con niveles bajos de la parasitemia, estos son mejor conocidos como “portadores asintomáticos”, durante esta fase resulta difícil diagnosticar la enfermedad mediante la utilización de métodos tradicionales (Viseshakul et al., 2000).

## **Diagnóstico**

### ***Tinción Giemsa***

#### ***Fundamento y características de la prueba***

El examen microscópico de frotis sanguíneo con tinción Giemsa es una técnica diagnóstica de referencia, y a la vez es el método más común para la identificación de *Anaplasma marginale* en animales con infección clínica (OIE, 2015).

El resultado de esta tinción puede ser alterado por factores como el valor del Ph de la solución, el tiempo de tinción y fijación.

### ***Sensibilidad y especificidad***

Presenta una sensibilidad de 28,92% y especificidad de 80% para identificar el agente de la anaplasmosis bovina, solo en parasitemias agudas; la sensibilidad y especificidad baja en parasitemias asintomáticas (Kocan et al., 2015; OIE, 2015; Quiroz et al., 2011; Reyna-bello, 2014)

## ***ELISA***

### ***Fundamento y características de la prueba***

El ensayo inmunoenzimático: «Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay» (ELISA) está extensamente difundido para el diagnóstico serológico de muchas patologías. Se fundamenta en la utilización de antígenos o de anticuerpos marcados con una enzima, de manera que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática logrando ser revelada por medio del aumento de un substrato específico que, en contacto con la enzima, crea un color observable a primera vista y cuantificable por un lector de densidad óptica (Ruiz & Morici, 2009).

Una desventaja de esta prueba es que puede carecer de sensibilidad adecuada para detectar la infección en animales que tienen un nivel de bacteriemia muy bajo (Bilgiç et al., 2013).

Las pruebas de ELISA basadas en las MSP1 y MSP2 recombinantes, han demostrado tener un buen rendimiento, por lo que son adecuadas para utilizarse en estudios epidemiológicos para la detección de anticuerpos contra *A. marginale* en ganado bovino (Araújo et al., 2004).

### ***Sensibilidad y especificidad***

El ELISA basada en el MSP5 tiene una sensibilidad (93,39%) y especificidad (66,67%), para la detección de anticuerpos IgG. Sin embargo, esta prueba presenta reacciones cruzadas

con *A. centrale*, *A. marginale* y *A. ovis* , por lo que resulta precisa únicamente al género *Anaplasma spp.* pero no a nivel de especie (Kocan et al., 2015).

Sin embargo, las pruebas de ELISA basadas en las MSP1 y MSP2 recombinantes son poseedoras de una sensibilidad 99% y especificidad 100%, siendo una de las mejores para detección de anticuerpos contra *A. marginales* en bovinos (Araújo et al., 2004).

## **PCR**

### ***Fundamento y características de la prueba***

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es utilizada con el fin de detectar niveles bajos de bacteriemia ya sea en los animales reservorios como en los vectores (garrapatas) (Kocan et al., 2010). La técnica de PCR convencional se ha utilizado con mucha frecuencia debido a su bajo costo, comparada con la PCR en tiempo real, esta es poseedora de sensibilidad más alta, esta también se la puede poner en práctica para estudios epidemiológicos de rumiantes silvestres, siempre y cuando estos presenten infecciones crónicas con bajos niveles de rickettsemia (Bacanelli et al., 2014).

El principio fundamental de PCR es la amplificación de un fragmento específico de ADN utilizando ADN polimerasas, y por medio de ciclos sucesivos de altas y bajas temperaturas alternadas (multiplicación exponencial), es así que se logra obtener una cantidad idónea del producto, el cual puede ser visualizado por electroforesis. De esta manera, una sola molécula puede generar más de un millón de copias de sí misma luego de 30 ciclos de replicación exponencial (Espinosa Asuar, 2007).

### ***Sensibilidad y especificidad***

Las pruebas moleculares tienen una especificidad del 100% y una sensibilidad analítica que equivale a 30 parásitos por ml (Jaimes-Dueñez et al., 2018).

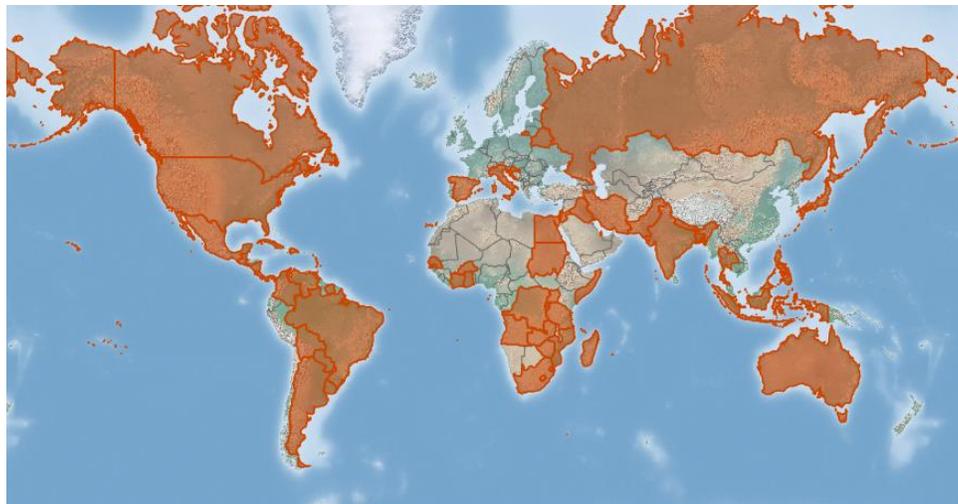
## Distribución y prevalencia

### *Distribución y prevalencia en el mundo*

La Anaplasmosis es una de las enfermedades que afectan a los bovinos que se encuentra ampliamente distribuida de manera global principalmente en lugares que son poseedores de climas cálidos, dicha enfermedad es muy frecuente en África del sur, Australia, Unión Soviética, América Central, Norte y Sur América; al Hablar de Prevalencia se puede asegurar que esta es relativamente alta ya que supera en la mayoría de los casos un 40 % de positivos a lo largo de los territorios antes mencionados (Figuroa, 1994).

Figura 2

Mapa de distribución de Anaplasmosis bovina en el mundo



CABI, 2022. bovine anaplasmosis. In: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. <https://www.cabi.org/isc>

● CABI Summary Data

*Nota.* Representación de los reportes de anaplasmosis a nivel mundial, tomado de (Cabi, 2019).

## Distribución y prevalencia en América Latina

Tabla 2

### Distribución y prevalencia de Anaplasmosis en América Latina

Año	Lugar	Especie	N°Animales	País	Método	Prevalencia	Autor
2015	Córdoba	Bovinos <i>Anaplasma spp.</i>	131	Colombia	Frotis sanguíneo	20,61 %	(Blanco et al., 2015)
2017	Municipio de Macuelizo	Bovinos <i>Anaplasma marginale</i>	100	Honduras	Frotis sanguíneo	31,25 %	(Aguilar, 2017)
2019	Cuba	Bovinos <i>Anaplasma marginale</i>	89	Cuba	Frotis sanguíneo	20,6 %	(Torres, 2019)
2019	Cholulteca	Bovinos <i>Anaplasma marginale</i>	270	Honduras	ELISA	84,83 %	(Padilla, 2019)
2020	Arauca	Bovinos <i>Anaplasma marginale</i>	269	Colombia	Frotis sanguíneo	66 % época seca 100% época lluviosa	(Salamanca-Carreño et al., 2020)
2018	Nicaragua	Bovinos <i>Anaplasma spp.</i>	75	Nicaragua	Frotis sanguíneo	54,7 %	(Huezo & Cruz, 2019)
2017	Sucre	Ovinos <i>Anaplasma spp.</i>	194	Colombia	Frotis sanguíneo y PCR	9,14% y 30,77%	(Carrilo, 2017)
2022	Villavicencio	<i>Anaplasma spp.</i>	1000	Colombia	Frotis sanguíneo	26,20%	(Montenegro, 2022)
2013	Paraíba	<i>Anaplasma marginale</i>	509	Brasil	Inmunofluorescencia indirecta	15%	(Medeiros et al., 2013)

Nota. Distribución y prevalencia de anaplasmosis en América latina, según número de animales y método utilizado. Tabla de autoría.

## Distribución y prevalencia en Ecuador

Tabla 3

### Distribución y prevalencia de Anaplasmosis en Ecuador

Año	Lugar	Especie	# Animales	Método	Prevalencia	Autor
2018	Río Verde, Eloy Alfaro y Quininde	Bovino <i>Anaplasma marginale</i>	181	c-ELISA	86 %	(Fernández, 2018)
2018	Guasmo Sur-Guayaquil	Canino	120	ELISA y Frotis	69,17% y 20,83 %	(Dávalos & Muñoz, 2018)
2018	Azogues	Canino	150	Frotis	0 %	(Ulloa, 2018)
2016	Guayaquil	Canino	100	ELISA	18 %	(Tutacha, 2016)
2015	Galápagos	Bovino <i>Anaplasma marginale</i>	184	ELISA	64,1 %	(Monroy, 2015)
2020	Napo	Canino <i>Anaplasma spp.</i>	53	PCR convencional y PCR SYBR Green en tiempo real	0 %	(Villamarín, 2020)
2020	Morona Santiago	Bovinos <i>Anaplasma marginale</i>	165	Frotis y PCR	2,27 % y 44,24 %	(Caroa, 2020)
2020		Bovinos <i>Anaplasma spp.</i>	109	PCR	64%	(Landázuri, 2020)
2022	Cantón Santa Isabel –Azuay	Bovinos <i>Anaplasma marginale</i>	188	ELISA competitivo	53 %	(Piedra, 2022)
2011	Cuenca	Caninos <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	560	Frotis sanguíneo	3,13 %	(Domínguez Álvarez, 2011)
2015	Cantón Pedro Vicente Maldonado – Pichincha	Bovinos <i>Anaplasma spp.</i>	65	Frotis sanguíneo	93,3 %	(Oñate, 2015)
2017	Puerto López-Manabí	Caninos y felinos <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	147	Frotis sanguíneo	33 % y 12 %	(Pérez et al., 2017)

Año	Lugar	Especie	#Animales	Método	Prevalencia	Autor
2020	Lago Agrio	<i>Anaplasma marginale</i>	132	Frotis sanguíneo	44,07 %	(Guamán-Quinche et al., 2020)
2021	Salitre	Bovinos <i>Anaplasma marginale</i>	192	Frotis sanguíneo	31,58 %	(R. Díaz & Licuy, 2021)
2022	Pedro Carbo	Bovinos <i>Anaplasma marginale</i>	50	Frotis sanguíneo	14 %	(Orrala & Lombeida, 2022)

*Nota.* Distribución y prevalencia de anaplasmosis en Ecuador, según número de animales y método utilizado. Tabla de autoría.

## Determinación de factores de riesgo

### *Medidas epidemiológicas en estudios transversales*

#### ***Riesgo relativo***

El riesgo relativo comprende la medición de la asociación de la exposición con la enfermedad o la muerte, esto se realiza a menudo por medio de una razón donde el numerador es el riesgo contraer la enfermedad o de morir de los expuestos,  $R_1$  y el denominador, es el riesgo de contraer la enfermedad o de morir por la misma de los no expuestos,  $R_0$ . A esta razón  $R_1/R_0$ , es conocida como riesgo relativo (Londoño, 2010).

#### ***Riesgo atribuible***

El riesgo atribuible no es más que la asociación que presenta un factor de riesgo con la incidencia de una enfermedad, se manifiesta como medida de interés la diferencia en el riesgo de los expuestos y no expuestos  $R_1 - R_0$ , es decir la diferencia que se presenta entre las tasas o proporciones de incidencia, según el caso y que conoce como riesgo atribuible (Londoño, 2010).

## Control de la enfermedad

### ***Programas de control en América Latina***

Aun en la actualidad no se cuenta con un tratamiento que resulte efectivo para el control de la anaplasmosis bovina en varios lugares de Latinoamérica, pese al incremento de los

animales portadores asintomáticos, el aumento tanto de los animales susceptibles, como de los vectores de transmisión y de las cuantiosas pérdidas económicas que provoca (Corona et al., 2004).

Los principales métodos de prevención y control de anaplasmosis tienen una gran importancia ya que mediante estos se puede evitar la aparición de la enfermedad, dentro de estos se tiene el uso de antibióticos, el control de artrópodos con acaricidas y la vacunación (Fernández, 2018).

El tratamiento que se puede aplicar en etapa clínica de anaplasmosis, puede ser oxitetraciclina con una dosis de 6 a 10 mg/kg por peso vivo durante tres días, o una dosis única de 20 mg/kg por vía intramuscular de oxitetraciclina de acción prolongada, otro medicamento que se puede aplicar es Imidocarb 3 mg/kg, este es considerado efectivo para casos clínicos y no interfieren con el desarrollo de la inmunidad adquirida a *A. marginale* (Radostits et al., 2007).

### ***Programas de control de Agrocalidad***

En el Ecuador en la actualidad no existen referencias acerca de un programa de diagnóstico y control para anaplasmosis establecido por agrocalidad para esta enfermedad pese a que esta es considerada una de las enfermedades que ocasiona grandes pérdidas económicas.

## Capítulo III

### Materiales y métodos

#### Metodología

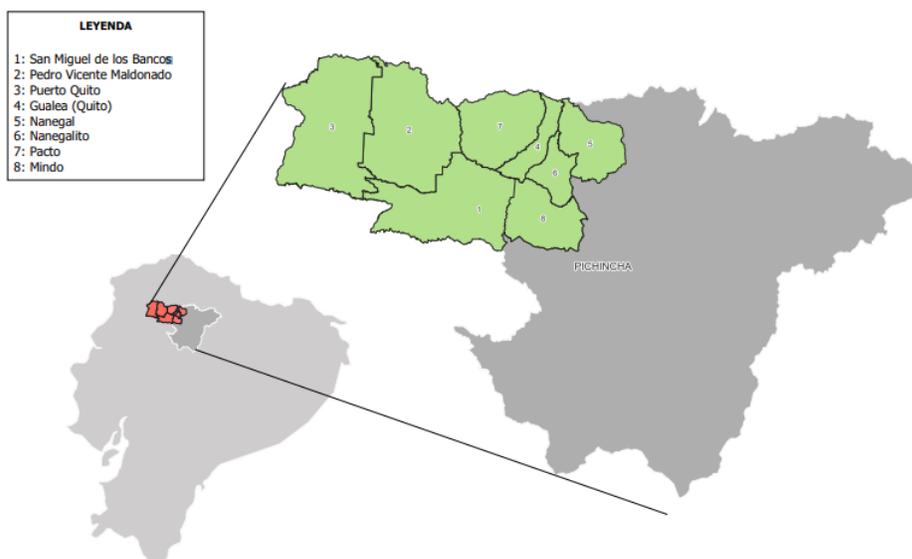
#### Área de estudio

Para el presente estudio los escenarios fueron los predios localizados en la zona noroccidental de la provincia de Pichincha. En total se lograron muestrear un total de 53 fincas teniendo así, en el cantón Distrito metropolitano de Quito se muestrearon 17 fincas; en el cantón San Miguel de los Bancos se muestrearon 7 fincas, en el cantón Puerto Quito se muestreo 1 finca y en el cantón Pedro Vicente Maldonado se muestrearon 18 fincas

#### Ubicación Geográfica

Figura 3

Ubicación geográfica de la Provincia de Pichincha



*Nota.* Representación de la ubicación de las propiedades donde se realizó el muestreo. Figura de autoría.

### **Determinación del tamaño de muestra**

En la zona noroccidente de la provincia de Pichincha se socializó el proyecto de vinculación “Establecimiento de una plataforma en apoyo a la formación y la sensibilización, al diagnóstico y al desarrollo de una estrategia de control de la brucelosis y de la tripanosomosis en Ecuador -BruTryp” con los productores de la zona que estuvieren interesados en formar parte de la presente investigación permitiendo ingresar a sus fincas a personal docente y estudiantes de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Por medio de visitas se pudo conocer ubicaciones exactas y el tamaño del hato de 53 propiedades, para estimar el tamaño de muestra a tomarse en cada predio se categorizó a las propiedades según el número de animales que se tengan en cada una.

**Tabla 4**

#### **Coordenadas geográficas de las zonas donde se realizó el presente estudio**

<b>Ubicación</b>	<b>Longitud</b>	<b>Latitud</b>	<b>Altitud</b>
Parroquia Nanegal	78° 42' 00" O	0° 13' 00" N	912 m.s.n.m.
Parroquia Nanegalito	78° 40' 00" O	0° 4' 00" N	1286 m.s.n.m.
Parroquia Gulea	78° 43' 60" O	0° 7' 00" N	1488 m.s.n.m.
Cantón Pedro Vicente Maldonado	79° 00' 00" O	0° 10' 00" N	1150 m.s.n.m.
Cantón Puerto Quito	79° 14' 48" O	0° 09' 21" N	1200 m.s.n.m.
Cantón San Miguel de los Bancos	78° 53' 09" O	0° 00' 58" N	1100 m.s.n.m.

*Nota.* Localización de las zonas de muestreo en el noroccidente de Pichincha. Realizado por: Obando, 2022. Tomado de (Google, 2022).

Es así que, para el cálculo de la muestra de los animales en cada propiedad, se clasificó las explotaciones ganaderas según su tamaño grandes medianas y pequeñas teniendo, así como resultados 8 UPA´s pequeñas, 29 UPA´s medianas y 16 UPA´s grandes, ver detalle en (tabla 5). A continuación, se tomó en cuenta la altitud en la que se encontraban las propiedades muestreadas, con eso se realizó una división en zonas, la zona 1 se la tomo a partir de los 1000 a 1017 m.s.n.m. y la zona 2 desde 1017 m.s.n.m. en adelante. Posterior a

esto, se realizó el cálculo de la muestra de animales a muestrear, este proceso se lo realizó en base a una investigación realizada por (Paucar et al., 2021), en la misma que se indica el porcentaje de muestreo según el número de animales que se tiene en cada propiedad (Tabla 6).

**Tabla 5**

**Clasificación de las propiedades según el número de animales**

Tamaño de la UPA	Número total de animales	Número de muestras/ UPA
Pequeña	1 – 20	Máximo 8
Mediana	21 – 70	6-18
Grande	>70	Máximo 40

*Nota.* UPA: Unidad de producción agropecuaria. Número de muestras a tomar según el número de animales y tamaño de la UPA. Tomado de (Paucar et al., 2021).

**Tabla 6**

**Porcentaje de animales a muestrear, según el número de animales totales presentes en la finca**

Número total de animales	Porcentaje de muestreo	Máximo de animales a muestrear
4 – 6	75%	5
7 – 15	50%	8
16 – 30	33%	10
31 – 81	29%	24
81 – 160	25%	40
>160	Máximo 40 animales	40

*Nota.* Animales a muestrear según el número total de animales totales en la explotación. Tomado de (Paucar et al., 2021).

Para realizar el cálculo del número de muestras a tomarse en cada propiedad se utilizó la siguiente fórmula estadística en la cual se debe conocer el total de animales de cada finca.

**Tabla 7**

**Animales a muestrearse por tamaño de UPA y número de animales de la UPA**

Tamaño UPA	# Animales UPA	% Muestreo	# Animales a muestrear
PEQUEÑO	0 a 7	50 %	4
	8 a 14	45 %	6
	15 a 20	40 %	8
	21 a 33	30 %	6 a 10
MEDIANO	34 a 47	30 %	10 a 14
	48 a 60	25 %	12 a 15
	61 a 70	25 %	15 a 18

Tamaño UPA	# Animales UPA	% Muestreo	# Animales a muestrear
GRANDE	71 a 135	25 %	18 a 34
	136 a 200	20 %	27 a 40
	Más de 200	20 %	40

*Nota.* UPA= Unidad de producción agropecuaria; Animales a muestrear según el tamaño de la UPA; % muestreo= porcentaje de animales a muestrear según tamaño de la UPA y # de animales por UPA (Paucar et al., 2021).

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

Donde:

n= Número de animales a muestrear

N= Número de animales totales en la UPA

Z= Nivel de confianza

p= Porcentaje de prevalencia teórica

d= Nivel de precisión absoluta

Es así que se obtuvieron 853 bovinos muestreados, sin importar su raza y sexo, sin embargo, se tomó en cuenta que estos sean mayores a 6 meses de edad, además se realizó el muestreo total de una finca la cual presentó un brote de brucelosis, de este muestreo se logró obtener muestras útiles para la realización del análisis para verificar la presencia o ausencia de *Anaplasma spp.*, es así que de esta propiedad se muestrearon 209 bovinos teniendo finalmente un total de 1062 bovinos muestreados.

Se realizó una categorización de la edad de los animales con la finalidad de que al momento de realizar el análisis en cuanto a distribución y prevalencia se obtengan datos exactos de cada grupo etario, el detalle de la categorización se lo puede observar en la tabla 8.

Tabla 8

**Categorización de edades de los bovinos**

<b>Edad (meses)</b>
0 a 9
10 a 18
19 a 36
Mayor a 36

*Nota.* categorización de los bovinos según los meses de edad. Tabla de autoría.

**Encuesta epidemiológica**

Se aplicó una encuesta epidemiológica mediante la cual se buscaba conocer de manera general, sistemas en los que se desarrolla la producción pecuaria, situación de los hatos, inventario de todos los animales presentes en la propiedad, tipo de alimentación, tratamientos aplicados, condiciones y procesos al momento del ordeño, manejo sanitario, de manera especial se centró en el conocimiento de la enfermedad, su presencia en bovinos, los tratamientos aplicados y las pruebas de diagnóstico para la misma. Para el análisis de factores de riesgo se registraron datos zootécnicos (edad, raza, sexo) así como, asistencia veterinaria, presencia de otros animales, conocimiento de las enfermedades analizadas y vacunación contra brucelosis o desparasitación contra parásitos gastrointestinales, de cada uno de los animales muestreados y las propiedades a las que pertenecen.

**Obtención de muestras*****Recolección muestras de sangre*****Materiales****Bioseguridad Personal**

- Overol

- Botas de caucho
- Guantes

### **Campo**

- Tubos vacutainer de 4 ml de tapa lila con anticoagulante EDTA
- Agujas de precisión vacutainer 21G x 1"
- Capuchones
- Marcadores
- Gradillas para tubos
- Termómetro
- Frasco para desechos corto punzantes
- Papel toalla
- Cooler de espumaflex
- Apoya manos
- Registro de muestreo
- Encuestas Epidemiológicas
- Esferos

### ***Extracción de muestras de sangre***

1. Con la ayuda de los propietarios se colocaron bovinos de 6 meses de edad en adelante en la manga.
2. Se realizó la sujeción de la cola y la limpieza de la misma con papel toalla.
3. Posteriormente se localizó la vena coccígea y se realizó una punción en la misma con una aguja vacutainer 21G y su capuchón.
4. Se introdujo el tubo tapa lila con anticoagulante EDTA y se recolecto de 3 a 4 ml de sangre.
5. Finalmente se rotuló con el número de arete o nombre del animal muestreado y se almaceno en una gradilla misma que se colocó dentro de un cooler.

6. Se procedió a etiquetar cada una de las muestras con un código único en el registro de cada propiedad.

### **Procesamiento de muestras**

Para el procesamiento de las muestras obtenidas se instaló un laboratorio de campo en la Hostería Yumbocucho ubicada en la parroquia de Nanegalito y en la segunda salida de campo en el Hotel Apolo ubicado en el cantón Pedro Vicente Maldonado y posterior se las transportó al laboratorio de Sanidad Animal de la carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA 1 de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, ubicado en la provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui, parroquia San Fernando.

### **Frotis sanguíneo**

#### **Materiales**

- Guantes
- Mandil
- Tubos tapa lila con anticoagulante
- Micropipetas
- Puntas
- Alcohol 70 %
- Portaobjetos
- Extensor
- Agua destilada
- Detergente neutro
- Papel toalla
- Vaso de precipitación 500 ml
- Lijas

## Procedimiento

1. Se procedió a realizar la limpieza de los portaobjetos en un vaso de precipitación, se colocó agua destilada y 5 ml de detergente neutro, se sumergió los portaobjetos por 3 minutos y se los secó con un trozo de papel toalla para su posterior utilización.
2. Posteriormente se tomó un portaobjetos y se lo lijo su extremo, el cual sirvió como extensor.
3. Se tomó un portaobjetos y con la ayuda de una micropipeta se colocó 3  $\mu$ l de sangre en el mismo, a continuación, se colocó al extensor sobre la gota de sangre, con una inclinación de 45°, se llevó el extensor hacia la gota de sangre con el fin de que esta se extendiera en el mismo mediante acción capilar.
4. Con una presión y movimiento constante, se arrastró el extensor por todo el portaobjetos.

## Fijación del frotis sanguíneo

### Materiales

- Placa con frotis
- Metanol
- Tubos falcon 50 ml
- Cronómetro

## Procedimiento

1. Para realizar la fijación del frotis se inició poniendo 45 ml de metanol en un tubo falcon.
2. En el tubo falcon con metanol se sumergió el frotis por 1 min.
3. Finalmente, el frotis seco, fue almacenado a temperatura ambiente.

## **Tinción Giemsa**

### **Materiales**

- Frotis Fijado
- Colorante Giemsa
- Cubeta de tinción
- Agua destilada
- Pipetas Pasteur
- Cronómetro

### **Procedimiento**

1. Se tomó el frotis y se lo colocó en la cubeta de tinción.
2. Con la ayuda de una pipeta Pasteur se colocó una lámina a manera de espejo de colorante Giemsa y se lo dejó reposar durante 20 minutos.
3. Transcurridos los 20 minutos se lavó el frotis con agua destilada con el fin de eliminar los restos del colorante.
4. Se colocó la placa verticalmente y se lo dejó secar a temperatura ambiente.

## **Visualización del frotis al microscopio**

### **Materiales**

- Frotis sanguíneo
- Microscopio
- Aceite de inmersión
- Papel para limpieza del microscopio

## Procedimiento

1. Una vez listas las placas ya fijadas y teñidas, se instaló el microscopio y se colocó el frotis en la platina y se lo sujeto con la ayuda de la pinza.
2. Posterior a esto se empezó a enfocar la placa con el objetivo de 4X, seguido del objetivo de 10X, y posteriormente con el de 40X. Una vez que se ha enfocado con el objetivo de 40X se dió un ligero movimiento al revolver para colocar el objetivo de 100X, antes de colocar este lente objetivo se colocó una gota de aceite de inmersión en la placa y finalmente se visualizó y enfocó con el objetivo de 100 X.
3. Para que una placa sea considera positiva a *Anaplasma sp.*, se visualizó varios campos al microscopio con más de dos *Anaplasmas sp* en la placa.
4. La determinación de Anaplasma marginales y centrale, se dio por localización del Anaplasma dentro del eritrocito.

## Empleo de la aplicación EpiCollect

Mediante el uso la aplicación Epicollect se logró almacenar la información geográfica de cada una de las propiedades visitadas en el presente estudio, siendo de gran ayuda para tener una base de datos con las ubicaciones exactas y datos importantes.

## Análisis estadístico

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el paquete informático Epi Info TM versión 7.2 y para la elaboración de mapas de georreferenciación se utilizó el programa QGIS.

## ***Determinación de la prevalencia de la enfermedad***

Para la determinación de la prevalencia se tomó en cuenta el número total de animales considerados positivos para la prueba, aplicando la siguiente fórmula:

$$PT = \frac{\text{Número de animales muestreados positivos}}{\text{Número total de animales muestreados}} * 100$$

Así como también de forma parcial en cada UPA

$$Pf = \frac{\text{Número de animales positivos por finca}}{\text{Número total de animales muestreados por finca}} * 100$$

Prevalencia por sector

$$Psc = \frac{\text{Número de animales positivo por sector}}{\text{Número total de animales muestreados por sector}} * 100$$

Prevalencia por sexo

$$Psx = \frac{\text{Número de animales positivos por sexo}}{\text{Número total de animales muestreados por sexo}} * 100$$

Prevalencia por edad

$$Pe = \frac{\text{Número de animales positivos por edad}}{\text{Número total de animales muestreados por edad}} * 100$$

### **Análisis de factores de riesgo**

Debido a la naturaleza del muestreo y del estudio (cohorte) las medidas epidemiológicas para este tipo de estudios es el Riesgo Relativo (RR), el Riesgo Atribuible (RA) y la Fracción etiológica de exposición a nivel de población (FEP). Para la determinación de los factores de riesgo se realizó un análisis de factores como (sexo del animal, vacunación, presencia de garrapatas, edad, tamaño de la finca) junto con los resultados obtenidos a la prueba aplicada.

#### **Riesgo relativo**

Mediante este se buscó comparar la frecuencia con la que ocurre la enfermedad en animales expuestos y no expuestos, para este análisis se aplicó la siguiente fórmula.

$$RR = \frac{Ie}{Ine}$$

Donde:

RR= Riesgo relativo.

Ie= Incidencia de los animales expuestos.

Ine=Incidencia de los animales no expuestos.

### ***Riesgo atribuible***

Este tipo de factor de riesgo se buscó determinar la proporción de la incidencia de la enfermedad en los animales expuestos, para este análisis se aplicó la siguiente fórmula.

$$RA = Ie - Ine$$

Donde:

RR= Riesgo atribuible.

Ie= Incidencia de los animales expuestos.

Ine=Incidencia de los animales no expuestos.

### ***Fracción etiológica de exposición a nivel de población***

Esta nos brindó información acerca de la proporción en la que se reducirá la incidencia de la enfermedad en la población, con la eliminación de la exposición de la causa de la enfermedad, para realizar este análisis se aplica la siguiente fórmula.

$$FEP = \frac{(Ip - Ine)}{Ip}$$

Donde:

FEP= Fracción etiológica de exposición a nivel de población.

Ip= Incidencia de la población total.

Ine=Incidencia de los animales no expuestos.

## Capítulo IV

### Resultados y Discusión

#### Estadística descriptiva de la muestra

##### *Distribución de animales muestreados por zona, sexo y tamaño de la UPA*

En el presente estudio epidemiológico se muestrearon un total de 853 bovinos, mismos que fueron distribuidos en dos zonas de muestreo, en la zona 1 se muestrearon 566 bovinos correspondiente al (66,36%) en tanto que en la zona 2 se muestrearon el restante 33,65%, correspondiente a 287 bovinos.

Como se mencionó en la sección de materiales y métodos, las fincas fueron categorizadas en grandes, medianas y pequeñas según el número de los animales existentes en ellas. Los resultados del muestreo permitieron observar que se intervinieron 8 fincas pequeñas, 29 fincas medianas y 16 fincas grandes mismas que se dedican a la producción de leche, carne, así como a doble propósito. Un total de 853 bovinos fueron muestreados en el estudio, los cuales se distribuyeron de la siguiente forma: 61 (7,15%) en fincas pequeñas, 388 (45,49%) en fincas medianas y el restante 404 (47,36%) en fincas grandes.

Los animales muestreados en cuanto a la división por sexo, fueron 762 (89,33%) hembras y el restante 91 (10,67%) fueron machos. La tabla 9, presenta de forma resumida la distribución de los animales muestreados según la zona geográfica, el tamaño de fincas en cada una de las zonas, así como el sexo de los animales. En la tabla 10, se presenta el detalle de la información de los animales muestreados por finca y sexo.

Tabla 9

## Análisis de distribución de animales muestreados por zona, sexo y tamaño de UPA

Parámetro		N	%
Zona 1			
Fincas pequeñas		23	2,70
Animales	M	5	0,58
	H	18	2,11
Fincas medianas		244	28,60
Animales	M	33	3,87
	H	211	24,73
Fincas grandes		299	35,06
Animales	M	25	2,93
	H	274	32,13
Subtotal fincas		33	
Subtotal animales		566	66,36
Zona 2			
Fincas pequeñas		38	4,46
Animales	M	3	0,35
	H	35	4,11
Fincas medianas		144	16,88
Animales	M	19	2,23
	H	125	14,65
Fincas grandes		105	12,31
Animales	M	6	0,70
	H	99	11,61
Subtotal fincas		20	
Subtotal animales		287	33,65
TOTAL FINCAS		53	
TOTAL ANIMALES		853	100

Nota. N=número de bovinos muestreados; M=machos; H: hembras; %= porcentaje correspondiente. Tabla de autoría.

Tabla 10

## Distribución de número de animales muestreados por UPA y por sexo

UPA	Sexo		Muestras	
	M	H	N	%
FN1	0	31	31	3,63
FN2	1	11	12	1,41
FN3	0	8	8	0,94
FN4	1	11	12	1,41
FN5	1	5	6	0,70
FN6	1	15	16	1,88
FN7	3	14	17	1,99
FN8	2	35	37	4,22
FN9	0	15	15	1,76
FN10	8	2	10	1,17
FN11	3	14	17	1,99
FN12	1	15	16	1,88
FN13	1	17	18	2,11
FN14	7	34	41	4,81

UPA	Sexo		Muestras	
	M	H	N	%
FN15	1	9	10	1,17
FN16	0	31	31	3,63
FN17	1	23	24	2,81
FN18	1	7	8	0,94
FN19	0	10	10	1,17
FN20	1	13	14	1,64
FN21	0	13	13	1,52
FN22	0	8	8	0,94
FN23	2	6	8	0,94
FN24	3	18	21	2,46
FN25	0	8	8	0,94
FN26	0	25	25	2,93
FN27	3	4	7	0,82
FN28	1	24	25	2,93
FN29	3	28	31	3,63
FN30	0	15	15	1,76
FN31	9	6	15	1,76
FN32	1	13	14	1,64
FN33	1	10	11	1,29
FN34	6	12	18	2,11
FN35	1	11	12	1,41
FN36	2	10	12	1,41
FN37	2	23	25	2,93
FN38	1	33	34	3,99
FN39	2	10	12	1,41
FN40	2	11	13	1,52
FN41	3	12	15	1,76
FN42	3	11	14	1,64
FN43	0	12	12	1,41
FN44	2	7	9	1,06
FN45	1	11	12	1,41
FN46	1	12	13	1,52
FN47	1	8	9	1,06
FN48	0	7	7	0,82
FN49	0	7	7	0,82
FN50	3	16	19	2,23
FN51	1	12	13	1,52
FN52	2	12	14	1,64
FN53	2	28	30	3,52
<b>TOTAL</b>	91	762	853	100

Nota. FN: Finca; N=número de bovinos muestreados; M= machos; H=hembras; %= porcentaje equivalente. Tabla de autoría.

### ***Distribución de animales muestreados por raza***

En las propiedades muestreadas en la zona noroccidental de Pichincha se pudo encontrar una gran variedad de razas de ganado bovino, la mayoría de estas eran mestizas sin

embargo se las categorizó por tipos como Bos indicus, Bos taurus y los cruces Bos indicus x Bos taurus.

**Tabla 11**

**Distribución de animales muestreados por raza**

Raza	N	%
I	70	8,21
T	568	66,59
IXT	207	24,27
ND	8	0,94
TOTAL	853	100

*Nota.* N=número de bovinos muestreados por raza; %=porcentaje equivalente; I=Indicus; T=Taurus; IXT=IndicusxTaurus; ND=No determinada. Tabla de autoría.

Dentro de las razas que se encontraron en los lugares de muestreo, en base a la categoría antes mencionada se tiene, 8,21% (70/853) de tipo Bos indicus, seguido de 66,69 % (568/853) de tipo Bos taurus, también se encontró que el 24,27% (207/853) pertenece a Bos indicus x Bos taurus. Por otra parte, no fue posible conseguir información acerca de la raza de un 0,94% (8/853) de los animales muestreados (Tabla 11).

***Distribución de animales muestreados por edad***

Los 853 animales muestreados en cuanto a la edad, fueron agrupados en 4 categorías, las cuales fueron las siguientes; 0 a 9; 10 a 18; 16 a 36; mayor a 36 meses. En cuanto a la distribución de los animales, la categoría que presento el mayor aporte animal fue la de mayor a 36 meses con un 48,30%(412/853), mientras que la categoría que presentó un menor aporte animal con un 7,74% (66/853). El detalle de los animales muestreados y de la distribución en cuanto a la edad, puede ser observada en la tabla 12

Tabla 12

**Distribución de los animales muestreados con respecto a la edad**

<b>Edad (meses)</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
0 a 9	116	13,59
10 a 18	66	7,74
19 a 36	157	18,41
Mayor a 36	412	48,30
ND	102	11,96
TOTAL	853	

*Nota.* N=número de bovinos muestreados por edad %=porcentaje equivalente; ND=No determinada. Tabla de autoría.

**Análisis del estado de los animales a muestrear**

En el presente estudio, se recolectó información de la temperatura y edad de los animales muestreados; complementariamente se realizaron análisis de hematocrito con el fin de verificar el estado de los animales muestreados.

En cuanto a la temperatura se tomó en cuenta un valor normal de 39,5°C, los animales que tuvieron un valor superior se los considera animales febriles. Con el fin de conocer el estado de los animales en cuanto a temperatura se realizó el análisis de los 853 animales y observó que la media aritmética de la temperatura fue de 38,50°C; el porcentaje de animales que superaron el rango normal de temperatura fue de 4,81% (41/853) y el porcentaje de animales que se encontraron bajo el valor impuesto como normal fue de 95,19% (812/853).

Para el análisis del hematocrito se estableció un valor de 24% como normal, por lo que los animales que se encontraron bajo este valor, fueron considerados como anémicos. Con el análisis de las 853 muestras, fue posible determinar que la media aritmética del hematocrito fue de 28,59%; observándose que el 87,59% (741/853) de animales fueron considerados como anémicos y un 12,41% (105/853) presentaron un valor de hematocrito como normal.

## Prevalencia de anaplasmosis

### ***Prevalencia general de Anaplasma marginale***

De los 853 animales muestreados, 819 muestras de sangre bovina fueron analizadas mediante la prueba microscópica de frotis sanguíneo. Las 34 muestras restantes, no fueron incluidas en el análisis debido a que no fue posible observar estructuras dentro de los frotis.

**Tabla 13**

#### **Análisis general de prevalencia de anaplasmosis por frotis sanguíneo**

<b>Frotis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Positivo	575	70,21
Negativo	244	29,79
TOTAL	819	100

*Nota.* N=número de bovinos positivos y negativos para prueba de frotis sanguíneo; %=porcentaje de prevalencia equivalente. Tabla de autoría.

Para la prueba microscópica de frotis sanguíneo el criterio de evaluación que marca la positividad de una muestra, fue la presencia de al menos 2 o más *Anaplasma marginale* dentro de los eritrocitos presentes en la placa. Por lo cual, en el presente estudio, el porcentaje de muestras negativas fue de 29,79% (347/819), mientras que, la cantidad de muestras positivas fue de 70,21% (715/819) (Tabla 13).

Con la técnica aplicada de frotis sanguíneo se puede observar que, *A. marginale* se muestra dentro de los glóbulos rojos como cuerpos densos y redondeados de 0.3-1.0  $\mu\text{m}$  de diámetro, la mayor parte de ellos situados en la zona marginal del glóbulo rojo o en su proximidad (OIE, 2015). En la presente investigación, se ha tomado en cuenta los parámetros antes mencionados para determinar la positividad de cada placa.

Soto, (2010) reportó una prevalencia de 28,18% en bovinos faenados en la Empresa Metropolitana de Rastro de Quito (EMRQ). En otro estudio realizado por Oñate, (2015) en el cantón Pedro Vicente Maldonado, se pudo evidenciar una prevalencia de 93,3% con la aplicación de la técnica de frotis sanguíneo, en tanto que en un estudio realizado en región

amazónica (Lago Agrio) la prevalencia fue de 44,07% (Guamán-Quinche et al., 2020). Los altos valores de prevalencia obtenidos por los estudios de antes indicados, no solo reportan la presencia de *A. marginale*, sino que han alertado que un alto porcentaje de la población bovina de diferentes regiones de Ecuador, estarían afectadas por este hemotrópico. La presente investigación ha corroborado la alta prevalencia de anaplasmosis en bovinos en el noroccidente de Pichincha, la cual podría estar relacionada con la endimidad de la enfermedad, así como a los factores de riesgo que favorecen su transmisión.

### ***Prevalencia de animales muestreados por zona, sexo y tamaño de la UPA***

En el trabajo de investigación se evidenció la presencia de animales positivos a anaplasmosis en relación a la zona donde están ubicados y al tamaño de la UPA. La zona 1 obtuvo una prevalencia de 65,19% (369/566) de animales positivos a la prueba de frotis sanguíneo; mientras que en la zona 2 el valor de prevalencia fue de 71,77% (206/287), sin que exista una diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) (Tabla 14).

En cuanto al tamaño de las fincas, la distribución de los resultados positivos a la prueba de frotis sanguíneo, no presento una diferencia significativa ( $p > 0,05$ ). Los animales positivos para anaplasmosis se encontraron tanto en fincas pequeñas, medianas y grandes, presentando una prevalencia de 69,49% (41/59) para fincas pequeñas, 70,98% (274/386) para fincas medianas y 69,52% (260/374) para fincas grandes (Tabla 14)

Diferentes autores, han mencionado que la localización de los animales (zona de muestreo) así como el tamaño de las fincas, no son factores de riesgo para la anaplasmosis (Gralen, 2009; Monroy, 2015); esta aseveración, coinciden con lo evidenciado en la presente investigación, puesto que a nivel de finca no existen diferencias significativas que indiquen que el tamaño de los predios sea un factor que influya en la presencia de casos positivos. Un hecho importante reportado por Escobar et al., (2015), podría explicar que la elevada prevalencia de esta enfermedad en el noroccidente de Pichincha podría estar relacionada con su transmisión, considerando que esta enfermedad tiene como vía de transmisión la vertical (madre a hijo).

Tabla 14

**Análisis de prevalencia de animales muestreados por zona, sexo y tamaño de UPA, de anaplasmosis por frotis sanguíneo**

Parámetro		N	%	+	Prevalencia
Zona 1					
Fincas pequeñas		21	2,56	14	66,67
Animales	M	4	0,49	2	50
	H	17	2,07	12	70,59
Fincas medianas		242	29,54	172	71,07
Animales	M	31	3,78	23	74,19
	H	211	25,76	149	70,61
Fincas grandes		269	32,84	183	68,03
Animales	M	24	2,93	13	54,16
	H	245	29,91	170	69,39
Subtotal fincas		33		369	
Subtotal animales		566	69,11	369	65,19
Zona 2					
Fincas pequeñas		38	4,64	27	71,05
Animales	M	3	0,37	2	66,67
	H	35	4,27	25	71,43
Fincas medianas		144	17,58	102	70,83
Animales	M	19	2,32	11	57,89
	H	125	15,26	91	72,8
Fincas grandes		105	12,82	77	73,33
Animales	M	6	0,73	5	83,33
	H	99	12,09	72	72,73
Subtotal fincas		20		206	
Subtotal animales		287	35,04	206	71,77
TOTAL FINCAS		53		575	
TOTAL ANIMALES		819	100	575	70,21

*Nota.* N=número de bovinos muestreados; %= porcentaje equivalente; += animales positivos para prueba de frotis sanguíneo; Prevalencia= porcentaje de prevalencia equivalente; H= hembras; M=machos. Tabla de autoría.

El análisis llevado a cabo en base al sexo de los animales muestreados, indicó que la prevalencia de anaplasmosis bovina en hembras fue de 70,90% (519/732), mientras que en machos fue de 64,37% (56/87) (Tabla 14). Estos resultados indican que, el sexo de los bovinos no presentó un efecto significativo ( $p > 0,05$ ) sobre la presencia de *Anaplasma marginale*.

Díaz et al., (2003) en su estudio, menciona que en cuanto al sexo no se observaron diferencias significativas entre los resultados obtenidos para machos y hembras, con prevalencias de 93,75% y 96,03% respectivamente, este hecho permite explicar que el sexo no es un factor que influye en la presencia o ausencia de *Anaplasma marginale*. Al comparar los resultados de Díaz et al., (2003) y Escobar et al., (2015) con la presente investigación, fue posible corroborar lo antes mencionado, ya que ambos sexos están expuestos por igual a los

diferentes tipos de transmisión para anaplasmosis, por lo cual los altos niveles de prevalencia son similares para ambos casos y no varían en función de si un bovino es macho o hembra.

### ***Prevalencia de la enfermedad por edad***

Como fuera descrito en la sección de materiales y métodos, los animales en cuanto a la edad, fueron agrupados en 4 categorías, las cuales fueron las siguientes; 0 a 9; 10 a 18; 16 a 36; mayor a 36 meses. En cuanto a la distribución de los animales con resultados positivos a la prueba de frotis sanguíneo, la categoría que presentó la mayor prevalencia fue la de 19 a 36 meses con un 75,82% (116/153). En el presente estudio existieron animales en los cuales, no fue posible determinar la edad, sin embargo, estos presentaron una prevalencia de 68,32% (69/101). El detalle de los animales muestreados y de la distribución de los animales positivos, puede ser observada en la tabla 15.

**Tabla 15**

#### **Análisis de prevalencia de anaplasmosis por frotis sanguíneo con respecto a la edad de los bovinos**

<b>Edad (meses)</b>	<b>N</b>	<b>+</b>	<b>Prevalencia %</b>
0 a 9	113	72	63,72
10 a 18	57	41	71,93
19 a 36	153	116	75,82
Mayor a 36	395	277	70,13
ND	101	69	68,32
TOTAL	819	575	70,21

*Nota.* N=número de bovinos muestreados por edad; += positivos para prueba de frotis sanguíneo; Prevalencia %=porcentaje de prevalencia equivalente.  
Tabla de autoría.

Adicionalmente, fue posible determinar que la edad no presentó un efecto significativo ( $p > 0,05$ ) sobre la distribución de los resultados positivos. Sin embargo, es posible mencionar que los animales de 0 a 9 meses de edad presentan el porcentaje más bajo de prevalencia (63,72%), lo cual puede estar relacionado a la inmunidad pasiva adquirida que es transmitida desde la madre al neonato a través del calostro. Kocan et al., (2003) menciona que, siempre y cuando las madres sean inmunes a una determinada enfermedad, los terneros reciben la protección del calostro, dicha protección tiene una duración de aproximada de tres meses,

aunque, en la mayoría de los casos se puede presentar una resistencia dada por la edad, misma que dura alrededor de los 9 a 12 meses.

En cuanto a la edad Barbosa da Silva et al., (2014), afirman que los bovinos pueden contraer anaplasmosis a cualquier edad, sin embargo este factor resulta determinante en cuanto a la gravedad de la enfermedad, en otros términos, el índice de mortalidad y severidad de la enfermedad aumenta conforme la edad de los animales sea mayor. Además Corona et al., (2004) mencionan que los bovinos entre los seis meses y los tres años de edad incrementan el padecimiento de anaplasmosis, al igual que el porcentaje de mortalidad. Estos hechos podrían ser una fuente que explique la alta prevalencia obtenida en animales con edades superiores a los 10 meses.

### ***Prevalencia de la enfermedad por raza de los animales muestreados***

El análisis de los resultados del presente estudio, evidenció la ausencia de un efecto significativo entre la raza de los animales y la positividad para anaplasmosis bovina ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 16**

#### **Análisis de prevalencia de anaplasmosis por frotis sanguíneo con respecto a la raza de los bovinos**

<b>Raza</b>	<b>N</b>	<b>+</b>	<b>Prevalencia %</b>
I	68	55	80,88
T	549	387	70,49
IXT	194	128	65,98
ND	8	5	62,5
TOTAL	819	575	70,21

*Nota.* N=número de bovinos muestreados por raza; += positivos para prueba de frotis sanguíneo; Prevalencia %=porcentaje de prevalencia equivalente; I=Indicus;T=Taurus; IXT=IndicusxTaurus; ND=No determinada. Tabla de autoría.

En cuanto a la prevalencia obtenida en base a la raza de los animales, se pudo observar que el mayor porcentaje de prevalencia 80,88% (55/68) se presentó en razas de bovinos pertenecientes al tipo Bos indicus, mientras que la menor prevalencia fue observada en razas del tipo Bos indicus x Bos taurus misma que fue de 65,98% (128/194). Estos resultados son motivo de una gran controversia debido a que las razas derivadas del Bos indicus son muy

comunes en climas tropicales por lo que estas deberían estar mejor adaptadas a las condiciones de estas zonas; es así que la probabilidad de ser víctimas del ataque de vectores que participan en la transmisión biológica y mecánica de anaplasmosis debería ser baja en comparación con otras razas, sin embargo los animales del cruce *Bos indicus* x *Bos taurus* tiene un menor porcentaje de prevalencia 65,98% (128/194), lo que nos permite deducir que la hibridación obtenida por este cruce, ha permitido adaptar de mejor manera a los animales frente a las condiciones climáticas, topográficas y sobre todo en cuanto a la susceptibilidad al ataque de vectores, disminuyendo la probabilidad del contagio de anaplasmosis dado por vectores (Tabla 16).

En un estudio realizado por Madruga et al., (2000) sostienen que la presencia de anticuerpos contra *Anaplasma marginale* no depende la raza de los bovinos, sin embargo en la investigación realizada por Muñoz et al., (2017), afirman que todas las razas de bovinos son susceptibles, sin embargo, *Bos indicus* sufre en forma más leve la infección que *Bos taurus*, estos hechos contrastan con el presente estudio, donde curiosamente la mayor prevalencia corresponde a tipos *Bos indicus*, hecho que puede estar relacionado con factores distintos al tipo de raza.

#### ***Validación de la estrategia de muestreo con la finca 14 (FN 14)***

Con la finalidad de validar la tabla de muestreo de los animales según la tabla de las fincas, la misma que se encuentra en la tabla 10, una finca con alta prevalencia de anaplasmosis fue muestreada en la totalidad de animales y estos resultados fueron comparados con los obtenidos en un muestreo de un grupo al azar de los animales muestreados en la finca.

Para determinar si el muestreo fue efectivo se aplicó la fórmula de la prueba de hipótesis para dos proporciones, con lo que se tuvo un valor de  $Z=1,21$ , con este resultado fue posible partir de dos nuevas hipótesis en base a la prueba bilateral, considerando un nivel de significancia del 0,05 con el cual se obtuvo lo siguiente:

H0: La prevalencia del muestreo realizado en la finca 14 (FN14) es igual a la prevalencia obtenida en toda la población de bovinos presentes en la finca 14 (FN14).

H1: La prevalencia del muestreo realizado en la finca 14 (FN14) no es igual a la prevalencia obtenida en toda la población de bovinos presentes en la finca 14 (FN14).

De esta forma se obtuvo que  $Z < Z_{\alpha/2}$ , por lo cual, al no cumplirse la regla de decisión, no se rechazó H0; lo que quiere decir la estrategia de muestreo aplicada en el presente estudio es efectiva, debido a que la prevalencia real (muestreo total de los animales) de la FN 14 respecto a la prevalencia aparente (basada en el muestreo de una parte de la población total) de la misma finca, resultaron ser estadísticamente iguales.

### ***Prevalencia general de anaplasmosis en la FN14***

De los 209 animales muestreados, 205 muestras de sangre bovina fueron analizadas mediante la prueba microscópica de frotis sanguíneo. Las 4 muestras restantes no fueron sometidas a análisis puesto que no fue posible observar estructuras en las placas.

**Tabla 17**

#### **Análisis de prevalencia de anaplasmosis por frotis sanguíneo**

<b>Frotis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Positivo</b>	140	68,29
<b>Negativo</b>	65	31,70
<b>TOTAL</b>	205	100

*Nota.* N=número de bovinos positivos y negativos para prueba de frotis sanguíneo; %=porcentaje de prevalencia equivalente. Tabla de autoría.

Para la prueba microscópica de frotis sanguíneo el criterio de evaluación fue la presencia de 2 o más *Anaplasma marginale* dentro de los eritrocitos. Por lo cual, en el presente estudio, el número total de muestras negativas fue de 31,70% (69/205) y el número de muestras positivas fue de 68,29% (140/205) (Tabla 17).

La alta prevalencia encontrada en el presente estudio concuerda con los hallazgos realizados por Oñate, (2015) quien observó una prevalencia de 93,3% en animales

muestreados en el cantón Pedro Vicente Maldonado, dado que el autor menciona que la enfermedad se ha constituido como endémica en la zona de estudio.

### **Prevalencia de la enfermedad por edad y sexo de la UPA seleccionada (FN 14)**

En el presente estudio no se encontró un efecto significativo entre el sexo de los bovinos y la positividad de anaplasmosis ( $p > 0,05$ ) dentro de la FN 14. La prevalencia de anaplasmosis bovina para hembras fue de 72,03% (103/143) y en machos fue de 59,68% (37/62) (Tabla 18).

En cuanto a la prevalencia obtenida por sexo, se presenta en un mayor porcentaje en bovinos hembras, sin embargo al no existir diferencia estadística con lo obtenido en machos, se puede mencionar que estos resultados coinciden con lo expuesto por Díaz et al., (2003) donde con relación al sexo no se observaron diferencias significativas entre los resultados obtenidos para machos y hembras se tiene una prevalencia de 93,75% y 96,03% respectivamente, lo que quiere decir que el sexo no influye en la presencia o ausencia de *Anaplasma marginale*, teniendo en cuenta que en las explotaciones lecheras existe un mayor porcentaje de hembras.

**Tabla 18**

**Análisis de prevalencia de anaplasmosis por frotis sanguíneo con respecto a la edad y al sexo de los bovinos de la FN14**

Edad (meses)	H			M		
	N	+	P	N	+	P
0 a 9	5	5	100	5	3	60
10 a 18	24	19	79,17	33	19	55,88
19 a 36	56	39	69,64	23	14	60,87
Mayor a 36	58	40	68,97	1	1	100
TOTAL	143	103	72,03	62	37	59,68

*Nota.* N=número de bovinos muestreados por edad; += positivos para prueba de frotis sanguíneo; P=porcentaje de prevalencia equivalente; H=Hembras; M=Machos. Tabla de autoría.

De acuerdo a la edad no existe diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) con la positividad de anaplasmosis, sin embargo al realizar un análisis basado en el sexo y edad fue posible observar que la prevalencia en hembras fue 100% (5/5) en edades de 0 a 9 meses, mientras que para hembras mayores a 36 meses (Tabla 18) la prevalencia fue menor; estos datos

concuerdan con Barbosa da Silva et al., (2014) quienes afirma que anaplasmosis puede darse en cualquier edad sin embargo, este factor influye en los índices de mortalidad y severidad de la enfermedad, mismos que aumentan conforme la edad de los animales avanza.

Los resultados además indican que, en machos con edades superiores a los 36 meses existe una prevalencia del 100% (1/1) (Tabla 18), con esto se logró confirmar lo que mencionan Corona et al., (2004), donde se sostiene que el ganado entre los 6 meses y 3 años de edad, incrementa el padecimiento de anaplasmosis y aumentan los porcentajes de mortalidad.

## **Factores de Riesgo**

### ***Datos generales de las Unidades de Producción Agropecuaria (UPA)***

Mediante la aplicación de una encuesta epidemiológica, se logró recopilar la información necesaria para el establecimiento de los factores de riesgo existentes para enfermedades del ganado vacuno como la Anaplasmosis y pérdidas económicas que ocasiona esta enfermedad en las explotaciones ganaderas.

Dicha encuesta se aplicó a las personas encargadas de cada predio, sin embargo, debido a la falta de registros zootécnicos, reproductivos y sanitarios; no fue posible obtener toda la información requerida de los bovinos.

### ***Factores de Riesgo para Anaplasmosis bovina***

En el presente estudio, no fue posible establecer los factores de riesgo asociados a la presencia de anaplasmosis bovina en las fincas de la zona noroccidental de Pichincha debido a que la totalidad de los predios fueron positivos para *Anaplasma marginale*. En base al análisis estadístico, no fue posible determinar algún efecto significativo ( $p > 0,05$ ) para los factores relacionados a la zona de ubicación, al tamaño de las fincas, la raza, la edad, el sexo; tampoco se evidenciaron efectos significativos en signos como el hematocrito, las mucosas pálidas y la temperatura. Estas razones permiten afirmar que estos factores no se encuentran relacionados con la presencia de anaplasmosis, sin embargo, al realizar el análisis entre la presencia de

garrapatas con la enfermedad, si fue posible encontrar un efecto significativo ( $p < 0,05$ ), lo que implica que la anaplasmosis tiene dependencia o asociación con la presencia de garrapatas.

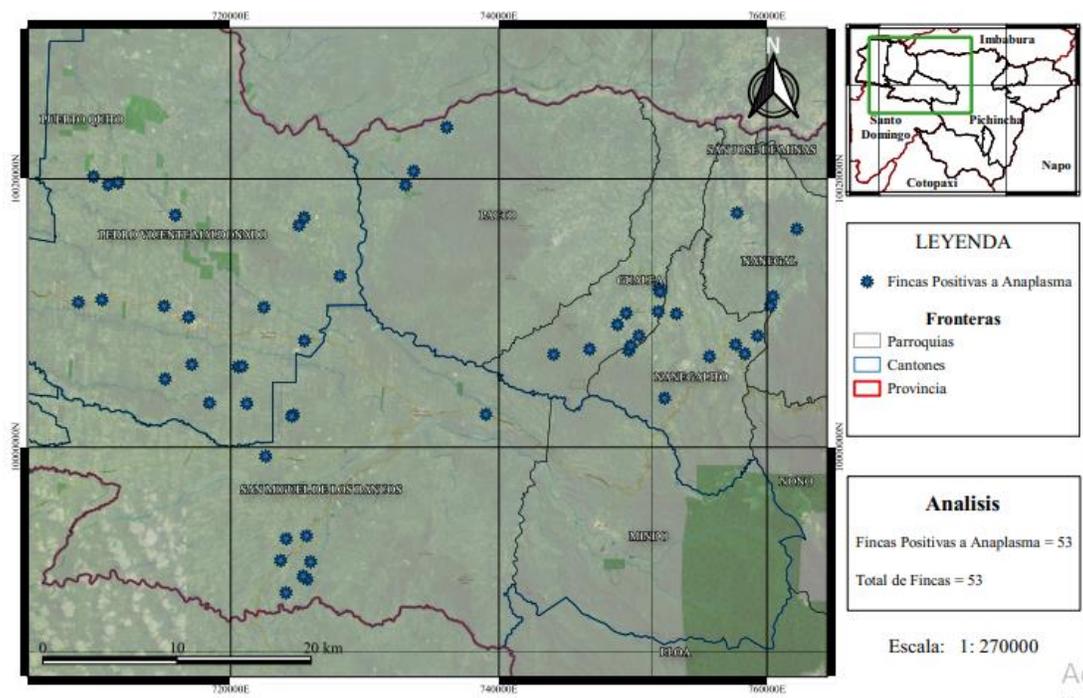
Sin embargo Ola-Fadunsin et al., (2018) y Barbosa da Silva et al., (2014), señalan que los factores de riesgo más frecuentes para la presencia de *A. marginale* son la raza, tipo de producción, edad del hato, tamaño del hato, tamaño de la explotación, sistema de manejo, frecuencia de tratamiento para parásitos sanguíneos, densidad poblacional y presencia de garrapatas; este último factor concuerda con lo encontrado en el presente estudio, donde, a pesar no poder definir a la presencia de vectores como un factor de riesgo, sí existe una fuerte asociación entre la presencia de anaplasmosis con alta prevalencia de vectores observados en la zona.

### **Georeferenciación**

Mediante el uso del programa QGIS se obtuvo el mapa de georeferenciación que se muestra en la figura 4, en la cual se describen 53 explotaciones ganaderas, y todas fueron positivas para *Anaplasma marginale*, mismas que están reportadas en el mapa con su ubicación geográfica distinguidas con color azul.

Figura 4

## Georeferenciación fincas ganaderas muestreadas en el noroccidente de Pichincha



Nota. Representación de las propiedades positivas para anaplasmosis. Figura de autoría

## Capítulo V

### Conclusiones y Recomendaciones

#### Conclusiones

- Se determinó que la prevalencia de anaplasmosis en el ganado bovino muestreado en la zona nor-occidental de Pichincha fue del 70,21% por medio de la técnica de microscopía de frotis sanguíneo y coloración Giemsa.
- Debido a la alta prevalencia y distribución de los resultados positivos en la totalidad de las fincas, factores como zona geográfica, edad, raza sexo, tamaño de la UPA, en el presente estudio no fueron considerados como factores de riesgo en la zona de estudio.
- Según la observación de cuerpos densos y redondeados de 0.3-1.0  $\mu\text{m}$  de diámetro dentro de los eritrocitos y alrededor del borde de los mismos, se concluye que el anaplasma presente en la zona de estudio es *Anaplasma marginale*
- Se concluye que la enfermedad es endémica en la zona, debido a que existe un alto porcentaje de la población bovina afectada por *Anaplasma marginale*.

#### Recomendaciones

- Se recomienda confirmar mediante técnicas moleculares que el agente causal de la zona de estudio es efectivamente *Anaplasma marginale*.
- Profundizar los estudios para la identificación de la vía de transmisión de mayor importancia en la zona, lo cual posibilitará la capacitación de los productores respecto a la vía de transmisión influenciando en la disminución de la prevalencia de la enfermedad.
- Dada la elevada prevalencia a nivel individual 70,21 y a nivel hato 100% se recomienda profundizar en la realización de estudios para la cuantificación de pérdidas económicas

directas e indirectas relacionadas a la anaplasmosis bovina en la zona de estudio, así como en Ecuador.

- Socializar información de diferentes enfermedades de los bovinos con el apoyo de entidades gubernamentales, que implementen un sistema de identificación y control eficiente de *Anaplasma marginale*, para de esta manera evitar que se disemine la enfermedad en la zona de estudio.
- Se recomienda realizar estudios similares en otras zonas geográficas por ejemplo en la Amazonía ecuatoriana para la determinación de la prevalencia de anaplasmosis así como la identificación del agente causal y factores de riesgo.

## Bibliografía

- Abdisa, T. (2019). Epidemiology of Bovine Anaplasmosis. *SOJ Veterinary Sciences*, 5(1), 1–6.  
<https://doi.org/10.15226/2381-2907/5/1/00165>
- Aguilar, C. (2017). Prevalencia de Anaplasmosis Bovina en cuatro fincas del Municipio de Macuelizo, Nueva Segovia, en el período Julio-Noviembre de 2017. Universidad nacional Agraria.
- Añez-Rojas, N., Romero, O., Valbuena, H., Crisante, G., Rojas, A., María Bolívar, A., & Añez, N. (2010). Detection of *Anaplasma marginale* Transplacental Transmission in Asymptomatic Cattle. *XX*, 377–382.
- Araújo, F. R. de., Melo, V. S. P. de, Ramos, C. A. do N., Madruga, C. R., Soares, C. O., Kessler, P. H., Almeida, N. F. de, Araújo, G. S. de, Alves, L. C., Torres Júnior, R. A. de A., Fragoso, S. P., Arauco, P. R. C., Bacenelli, G., & Oliveira, M. B. de. (2004). Desenvolvimento de ensaios de imunoadsorção enzimática baseados em MSP1a e MSP2 recombinantes de isolado brasileiro de *Anaplasma marginale*.
- Ashuma, Sharma, A., Singla, L. Das, Kaur, P., Bal, M. S., Batth, B. K., & Juyal, P. D. (2013). 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.  
[https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(13\)60010-3](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60010-3)
- Bacenelli, G. M., Ramos, C. A. N., & Araújo, F. R. (2014). Molecular diagnosis of *Anaplasma marginale* in cattle: quantitative evaluation of a real-time PCR (Polymerase Chain Reaction) based on *msp5* gene. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(1), 29–33.  
<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000100005>
- Baldacchino, F., Desquesnes, M., Mihok, S., Foil, L. D., Duvallet, G., & Jittapalapong, S. (2014). Tabanids: neglected subjects of research, but important vectors of disease agents!

Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases, 28, 596–615.

<https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2014.03.029>

Barbosa da Silva, J., Vinhote, W. M. S., Oliveira, C. M. C., André, M. R., Machado, R. Z., da Fonseca, A. H., & Barbosa, J. D. (2014). Molecular and serological prevalence of *Anaplasma marginale* in water buffaloes in northern Brazil. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 5(2), 100–104. <https://doi.org/10.1016/J.TTBDIS.2013.09.007>

Bilgiç, H. B., Karagenç, T., Simuunza, M., Shiels, B., Tait, A., Eren, H., & Weir, W. (2013). Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Theileria annulata*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in cattle. *Experimental Parasitology*, 133(2), 222. <https://doi.org/10.1016/J.EXPPARA.2012.11.005>

Blanco, R., Cardona, J., & Vargas, M. (2015). Prevalencia de parásitos hematópicos endoglobulares en bovinos gyr puros en Córdoba, Colombia. *SCIELO*, 31.

Cabi. (2019). anaplasmosis bovina.

<https://www.cabi.org/isc/datasheet/91734#toDistributionMaps>

Caroa, D. (2020). Identificación de hemoparásitos en sangre de bovinos y humanos, en dos áreas ganaderas de la provincia de Morona Santiago a través de microscopía y Npcr. Universidad Central del Ecuador.

Carrilo, A. (2017). Detección microbiológica y molecular de *Anaplasma* spp. en ganado bovino del municipio de Ovejas Sucre-Colombia. Universidad de sucre.

Cipolini, M. F., & Jacobo, A. Y. (2004). Actualización: tristeza bovina, diagnóstico clínico, tratamiento.

Córdoba, M. (2016). Anaplasmosis bovina: abordaje clínico y patológico de la enfermedad.

- Corona, B., Rodriguez, M., & Martínez, S. (2004). Anaplasmosis bovina (bovine anaplasmosis). REDVET, VI.
- Dávalos, C., & Muñoz, J. (2018). "Diagnóstico de ehrlichiosis, anaplasmosis, dirofilariosis y enfermedad de Lyme y caracterización de vectores en caninos callejeros del sector Guasmo Sur – Guayaquil. Universidad Central del Ecuador.
- Del Cura, A. (2003). Parásitos eritrocitarios del ganado vacuno.
- Díaz, D., Valera, Z., De Andrade, E., & Parra, O. (2003). (PDF) Prevalence of Anaplasma spp. in cattle of La Pinata sector, Canada de Urdaneta county, Zulia state, Venezuela. Revista Científica Veterinaria, 13(193–198).
- Díaz, R., & Licuy, P. (2021). Prevalencia de hemotrópicos en ganaderías bovinas del cantón Salitre de la provincia del Guayas. Universidad de Guayaquil.
- Domínguez Alvarez, G. (2011). "Prevalencia e identificación de hemoparásitos (Ehrlichia canis, Babesia canis y Anaplasma phagocytophilum) en perros de la ciudad de Cuenca." Universidad de Cuenca.
- Doudier, B., Olano, J., Parola, P., & Brouqui, P. (2010). Factors contributing to emergence of Ehrlichia and Anaplasma spp. as human pathogens. Veterinary Parasitology, 167(2–4), 149–154. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2009.09.016>
- Escobar, A., Cevallos, O., Villarreal, P., Carranza, M., Carranza, H., & Pinargote, E. (2015). Prevalence and detection by nested PCR of Anaplasma marginale in cattle and tick in the center of the coast of Ecuador. Publicado Como artículo científico En Ciencia y Tecnología, 8(1), 11–17.
- Espinosa Asuar, L. (2007). Guía práctica sobre la técnica de PCR 517 Guía práctica sobre la técnica de PCR.

- Fernández, D. (2018). Prevalencia de anaplasmosis bovina en los cantones Río Verde, Eloy Alfaro y Quinindé de la provincia de Esmeraldas. Universidad San Francisco de Quito USFQ colegio ciencias de la salud.
- Figueroa, M. (1994). Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica.
- Foil, L. D., & Gorham, J. R. (2004). Mechanical Transmission of Disease Agents by Arthropods. *Medical Entomology*, 461–514. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1009-2\\_12](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1009-2_12)
- Gasque, R. (2008). Reproducción bovina. *Enciclopedia Bovina*, 389–405.
- Google, E. (2022). Google Earth. <https://www.google.com/intl/es-419/earth/>
- Gralen, B. (2009). Enfermedades transmitidas por garrapatas en Tayikistán: anaplasmosis, babesiosis y teileriosis. Universidad Sueca de Agricultura.
- Guamán-Quinche, F., Guamán-Quinche, F. S., Sarango-Guamán, D. E., & Guerrero-Pincay, Á. E. (2020). Prevalencia de hemoparásitos en bovino de carne en la Comunidad Cocha del Betano, Ecuador. *Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinonía*, 5(2), 131–143. <https://doi.org/10.35381/r.k.v5i2.987>
- Hornok, S., Micsutka, A., Fernández de Mera, I. G., Meli, M. L., Gönczi, E., Táncoz, B., Mangold, A. J., Farkas, R., Lutz, H., Hofmann-Lehmann, R., & de la Fuente, J. (2012). Fatal bovine anaplasmosis in a herd with new genotypes of *Anaplasma marginale*, *Anaplasma ovis* and concurrent haemoplasmosis. *Research in Veterinary Science*, 92(1), 30–35. <https://doi.org/10.1016/J.RVSC.2010.10.011>
- Huezo, A., & Cruz, E. (2019). Determinación de la prevalencia de *Anaplasma* spp en bovinos de tres fincas del Occidente de Nicaragua, enero-marzo del 2018. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.

- Jaimes-Dueñez, J., Triana-Chávez, O., & Mejía-Jaramillo, A. M. (2018). Genetic, host and environmental factors associated with a high prevalence of *Anaplasma marginale*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(5), 1286–1295. <https://doi.org/10.1016/J.TTBDIS.2018.05.009>
- Kocan, K., De la Fuente, J., Guglielmone, A., & Meléndez, R. (2003). Antigens and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(4), 698–712. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/CMR.16.4.698-712.2003>
- Kocan, K. M., de la Fuente, J., Blouin, E. F., Coetzee, J. F., & Ewing, S. A. (2010). The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary Parasitology*, 167(2–4), 95–107. <https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2009.09.012>
- Kocan, K. M., De La Fuente, J., Blouin, E. F., & Garcia-Garcia, J. C. (2004). *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host-pathogen adaptations of a tick-borne rickettsia. *Parasitology*, 129 Suppl(SUPPL.). <https://doi.org/10.1017/S0031182003004700>
- Kocan, K. M., De La Fuente, J., & Cabezas-Cruz, A. (2015). The genus *Anaplasma*: new challenges after reclassification. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 34(2), 577–586. <https://doi.org/10.20506/RST.34.2.2381>
- Landázuri, T. (2020). Optimización de un protocolo de extracción de ADN a partir de sangre bovina hemolizada y coagulada para la detección molecular de *Anaplasma* spp. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Londoño, J. L. (2010). *Metodología de la Investigación epidemiológica* (4ta ed.).
- Madruga, C. R., Marques, A. P. C., Leal, C. R. B., Carvalho, C. M. E., Araújo, F. R., & Kessler, R. H. (2000). Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies

against *Anaplasma marginale*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 20(3), 109–112.

<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2000000300004>

Manjunathachar, H. V., Saravanan, B. C., Kesavan, M., Karthik, K., Rathod, P., Gopi, M., Tamilmahan, P., & Balaraju, B. L. (2014). Economic importance of ticks and their effective control strategies. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(S2), S770–S779.

[https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60725-8](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60725-8)

Medeiros, V., Barbosa, M., Leite, A., Mangueria, J., Almeida, A., Azevedo, S., Medeiros, A., Riet-Correa, F., & Bahia, M. (2013). Soroprevalência e fatores de risco para anaplasmose, babesiose e tripanosomíase bovina em uma região semiárida do Brasil. *Scielo*, 22.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S1984-29612013005000022>

Medina, V., Reyna, A., Tavares, L., Campos, A., & Ron, J. (2017). Diagnóstico de los hemotrópicos *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma* spp. Y *Babesia* spp. mediante las técnicas de ELISA y PCR en tres fincas ganaderas de la provincia de Pastaza, Ecuador.

<https://www.redalyc.org/journal/959/95952010005/movil/>

Monroy, M. (2015). Determinación de la seroprevalencia de *Anaplasma marginale*, a través del Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) en la población Bovina de la provincia de Galápagos-Ecuador. Universidad San Francisco de Quito.

Montenegro, J. (2022). Estudio de prevalencia y factores de riesgo asociados a hemoparásitos en bovinos de Villavicencio, Colombia. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales.

Moyano, J., Riofrío, A., López, J., Vargas, J., Quinteros, O., & Marini, P. (2016). Prevalencia de enfermedades infecciosas en ganado bovino: caso amazonía ecuatoriana. *Huellas Del Sumaco*, 15.

- Muñoz, T., Ayora, P., Luzuriaga, A., Corona, B., & Siomara, M. (2017). Prevalence of *Anaplasma marginale* in cattle from Zamora Chinchipe province, Ecuador. *Scielo*, 39.
- OIE. (2015). Anaplasmosis Bovina. In *Manual Terrestres de la OIE* (pp. 1–16). OIE.
- OIE. (2017). Animal Health situation.  
[https://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Countryinformation/animalsituation](https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/animalsituation)
- Ola-Fadunsin, S. D., Gimba, F. I., Abdullah, D. A., Sharma, R. S. K., Abdullah, F. J. F., & Sani, R. A. (2018). Epidemiology and risk factors associated with *Anaplasma marginale* infection of cattle in Peninsular Malaysia. *Parasitology International*, 67(6), 659–665.  
<https://doi.org/10.1016/J.PARINT.2018.06.013>
- Oñate, Y. (2015). Determinación de la prevalencia de anaplasmosis, babesiosis y tripanosomiasis en el hato lechero de la hacienda Jhomar, cantón Pedro Vicente Maldonado, enero y febrero 2015. Universidad de las Américas.
- Orrala, E., & Lombeida, E. (2022). “Prevalencia de *Anaplasma marginale* en bovinos del camal municipal en el cantón Pedro Carbo de la provincia del Guayas, Ecuador. Universidad de Guayaquil.
- Padilla, E. (2019). Epidemiología de *Anaplasma marginale* (Theiler) bacteria causante de anaplasmosis bovina, en Choluteca, Honduras. Zamorano-Escuela Agrícola Panamericana.
- Paucar, V., Ron-Román, J., Benítez-Ortiz, W., Celi, M., Berkvens, D., Saegerman, C., & Ron-Garrido, L. (2021). Bayesian estimation of the prevalence and test characteristics (Sensitivity and specificity) of two serological tests (rb and sat-edta) for the diagnosis of bovine brucellosis in small and medium cattle holders in Ecuador. *Microorganisms*, 9(9).  
<https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9091815>

- Pérez, R., López, N., Sarango, M., & Álvares, C. (2017). Caracterización de ectoparásitos y determinación de las enfermedades hematozoáricas y bacterianas presentes en la población canina y felina del cantón Puerto López. Universidad Central del Ecuador.
- Piedra, L. (2022). Prevalencia de *Anaplasma marginale* en bovinos mediante el método de ELISA competitivo. Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca.
- Quiroz, H., Figueroa, J., Ibarra, F., & López, M. (2011). Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos (Primera Edición).
- Radostits, O., Gay, C., Hinchcliff, K., & Constable, P. (2007). *Veterinary Medicine* (10th ed.). Saunders.
- Reyna-bello, A. (2014). *Anaplasma marginale*: Logros y Retos. In C. González-Stagnaro, N. Madrid-Bury, & E. Soto (Eds.), *Logros & Desafíos de la Ganadería Doble Propósito*.
- Rodríguez, D., García, M., Torres, R., Cantó, J., & Barigye, R. (2003). Inmunología e Inmunopprofilaxis de la Anaplasmosis Bovina.
- Rovid Spickler, A. (2004). Ehrlichiosis and Anaplasmosis: Zoonotic Species.
- Ruiz, M., & Morici, G. (2009). *Revista Veterinaria Argentina*» Importancia de las técnicas de diagnóstico serológicas en trichinellosis porcina: técnica inmunoenzimática de diagnóstico (ELISA). <https://www.veterinariargentina.com/revista/2009/10/importancia-de-las-tecnicas-de-diagnostico-serologicas-en-trichinellosis-porcina-tecnica-inmunoenzimatica-de-diagnostico-elisa/>
- Rymaszewska, A., & Grenda, S. (2008). Bacteria of the genus *Anaplasma* – characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. *Veterinarni Medicina*, 11(53), 573–584.
- Sala, J. (2013). Transmisión transplacentaria de *Anaplasma marginale* en bovinos nativos del noreste argentino. Universidad nacional del Litoral.

- Salamanca-Carreño, A., Tamasaukas, R., Giraldo-Forero, J. C., Quintero, A. D., Hernandez, M. E., Salamanca-Carreño, A., Tamasaukas, R., Giraldo-Forero, J. C., Quintero, A. D., & Hernandez, M. E. (2020). Valoración de las relaciones de Rickettsemia de *Anaplasma marginale* con factores agroecológicos y productivos en bovinos doble propósito en sabanas inundables del Arauca, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 31(3). <https://doi.org/10.15381/RIVEP.V31I3.16134>
- Scoles, G. A., Miller, J. A., & Foil, L. D. (2008). Comparison of the Efficiency of Biological Transmission of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) by *Dermacentor andersoni* Stiles (Acari: Ixodidae) with Mechanical Transmission by the Horse Fly, *Tabanus fuscicostatus* Hine (Diptera: Muscidae). *Journal of Medical Entomology*, 45(1), 109–114. <https://doi.org/10.1093/JMEDENT/45.1.109>
- Scoles, G., Bronce, A., Lysyk, T., & Palmer, G. (2005). Eficiencia relativa de la transmisión biológica de *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) por *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) en comparación con la transmisión mecánica por *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) - PubMed. *J. Med Entomol*, 42(4). [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2005\)042\[0668:REOBTO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2005)042[0668:REOBTO]2.0.CO;2).
- 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 de la polimerasa. Escuela Politécnica del Ejército.
- Tana, L., Navarrete, K., Jorge, R., Armando, R., & Chávez, M. A. (2017). PCR-diagnosis of *Anaplasma marginale* in cattle populations of Ecuador and its molecular identification through sequencing of ribosomal 16S fragments. *BMC Veterinary Research*, 4–5. <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1311-1>

- Torres, E. (2019). Anaplasmosis en bovinos de la raza Siboney de Cuba, infectados con (*Boophilus*) *microplus* (REVISIÓN) | Redel. Revista Granmense de Desarrollo Local. REDEL, 16.
- Tutacha, D. (2016). Identificación de animales seropositivos a enfermedades hematozoáricas: ehrlichiosis, anaplasmosis, dirofilariasis y enfermedad de lyme en caninos callejeros de la ciudad de guayaquil. Universidad Central del Ecuador.
- Ulloa, M. (2018). Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia.
- Valbuena, G. (2010). Pathogenesis of infections caused by rickettsiae in the Americas. Redalyc.
- Villamarín, C. (2020). Detection of *Anaplasma*, *Babesia* and *Mycoplasma* in hunting dogs from the riverbank of Napo River. Universidad San Francisco de Quito USFQ.
- Viseshakul, N., Sondra, K., Bowie, M., & Barbet, A. (2000). Sequence and expression analysis of a surface antigen gene family of the rickettsia *Anaplasma marginale*. GENE, 253.

**Enlace :** <https://drive.google.com/drive/folders/1oF6GgtlZnzOXs65Li65lue64ZBd367E-?usp=sharing>