

Prevalencia de *Anaplasma marginale* en bovinos de la provincia Zamora Chinchipe, Ecuador

Prevalence of *Anaplasma marginale* in cattle from Zamora Chinchipe province, Ecuador

Tito Ramiro Muñoz-Guarnizo^{✉1}, Patricia Ayora-Fernández¹, Augusto Luzuriaga-Neira¹, Belkis Corona-González², Siomara Martínez-Marrero²

¹ Universidad Nacional de Loja, Ecuador.

² Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), CP 32700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: Zamora Chinchipe es una provincia perteneciente al sur de la Amazonía ecuatoriana, con un clima que va desde subtropical a tropical húmedo, donde la anaplasmosis bovina ha sido diagnosticada clínicamente, sin un mayor estudio que evidencie su prevalencia y oriente el control de la misma. El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de *Anaplasma marginale* mediante visualización al microscopio de frotis sanguíneos teñidos con Giemsa. Se analizaron 600 muestras de sangre, tomadas de bovinos asintomáticos de cuatro sectores de la provincia, de las cuales el 49,5 % resultaron positivas, sin que existieran diferencias significativas entre los animales de los sectores estudiados. El análisis de la prevalencia en dicho Cantón arroja valores de 46,5 % en los machos y 50,3 % en las hembras; en cuanto a la edad, se presentó 57,7 % en animales menores a un año, 47,6% en animales de uno a dos años, 47,1 % en animales mayores a cuatro años y 41,7 % en animales entre dos a cuatro años, sin diferencias significativas. Estos resultados constituyen el primer estudio de prevalencia de *Anaplasma marginale* en la región de Zamora Chichipe, Ecuador.

Palabras clave: *Anaplasma marginale*, hemoparásito, prevalencia, diagnóstico.

ABSTRACT: Zamora Chinchipe is a province belonging to the southern part of the Ecuadorian Amazon. It has a climate ranging from a humid subtropical to tropical regime. Bovine anaplasmosis has been clinically diagnosed in such area, without a greater study, evidencing its prevalence and control. The aim of the present study was to determine *Anaplasma marginale* prevalence by visualization under the microscope of blood smears stained with Giemsa. Six hundred blood samples from asymptomatic animals from 4 sectors of the province were analyzed. Of them, 49,5 % were positive, without having significant differences among the animals of the sectors studied. The prevalence analysis in the Canton showed values of 46,5 % in males and 50.3% in females. In terms of age, there were 57,7 % in animals less than one year, 47,6 % in animals aged one to two years, 47,1 % in animals older than four years, and 41,7 % in animals between two and four years, with no significant differences. These results constitute the first study on *Anaplasma marginale* prevalence in Zamora Chichipe, Ecuador.

Key words: *Anaplasma marginale*, hemoparasite, prevalence, diagnosis.

✉ Autor para correspondencia: Tito Ramiro Muñoz-Guarnizo. E-mail: titoflaco@yahoo.com

Recibido: 13/1/2017

Aceptado: 15/3/2017

El género *Anaplasma* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) incluye especies importancia médica y veterinaria (1). *Anaplasma marginale* es la especie más importante que causa anaplasmosis bovina en América del Sur. Esta bacteria se transmite biológicamente por varias especies de garrapatas (principalmente de los géneros *Rhipicephalus*, *Dermacentor* e *Ixodes*) y mecánicamente por moscas o fómites contaminados con sangre (2).

El ganado bovino desarrolla infecciones persistentes con esta bacteria y por lo tanto, pueden servir como reservorio de la infección. La gravedad de la enfermedad aumenta con la edad del animal, ya que los terneros son mucho más resistentes al desarrollo de anaplasmosis clínica (3). En los bovinos de más de dos años de edad, *A. marginale* provoca una enfermedad leve o grave que se caracteriza por fiebre persistente, letargo, ictericia, pérdida de peso, aborto, disminución del rendimiento de la leche y muerte en más del 50 % de los animales no tratados (4).

Los bovinos jóvenes se consideran más resistentes a los efectos de una infección por *A. marginale*. Con relación a las razas, todas las razas de bovinos son susceptibles, pero *Bos indicus* sufre en forma más leve la infección que *Bos taurus* (5).

El diagnóstico de la anaplasmosis bovina se puede realizar mediante la visualización de cuerpos compatibles con *A. marginale* en frotis de sangre teñidos con Giemsa. Este método es capaz de detectar niveles de parasitemia de 0,1 a 0,2 %; sin embargo, aunque se sabe que el diagnóstico en animales portadores se dificulta con el uso de esta técnica, en ocasiones se utiliza como una primera herramienta de diagnóstico, ante el desconocimiento de la prevalencia de *A. marginale* en una zona determinada (6).

En Ecuador se han realizado investigaciones en bovinos con el propósito de determinar la prevalencia de la anaplasmosis utilizando diferentes métodos de diagnóstico. Soto (7), en un estudio realizado a nivel de matadero en

Quito, revela una prevalencia de 28,18 % mediante la visualización de los frotis sanguíneos, de 91,71 % por PCR y de 91,16 % utilizando ELISAc. Por otra parte, Villafuerte (8), con la técnica de frotis sanguíneo y la coloración de Giemsa, encontró una prevalencia de anaplasmosis de 17,5 % en el cantón Lomas de Sargentillo de la provincia Guayas; mediante la técnica de Wright en el cantón Jama de la provincia Manabí, se determinó una prevalencia de 43 % (9); en el cantón Antonio Elizalde de la provincia Guayas, empleando la técnica de frotis sanguíneo coloreado con Giemsa, se encontró una prevalencia de 9 % (10); mientras que con la misma técnica en el cantón Chone de la provincia Manabí, pudo determinarse una prevalencia de 65,20 % (11).

La provincia Zamora Chinchipe, perteneciente a la Amazonía ecuatoriana, tiene un clima que va desde subtropical a tropical húmedo, lo que pudiera coadyuvar a la presencia de la anaplasmosis en la región; el presente trabajo tiene como objetivo determinar la prevalencia de *Anaplasma marginale* mediante visualización al microscopio de los frotis sanguíneos teñidos con Giemsa en la provincia Zamora-Chinchipe, Ecuador.

Selección de la muestra: Se seleccionaron 600 muestras de sangre de bovinos seleccionados al azar de diferentes categorías (edad, raza y sexo), sin síntomas aparentes de enfermedad hemolítica y procedentes de varias ganaderías ubicadas en cuatro sectores (norte, sur, este y oeste) de la provincia Zamora Chinchipe, Ecuador (Tablas 1 y 2).

Realización de los frotis sanguíneos: A cada animal se le extrajo sangre de la vena yugular con el uso de tubos Vacuntainer K2 EDTA 7,2 mg, con cámara de vacío y agujas calibre 22 x 1½ y se realizó frotis sanguíneos delgados en placa portaobjetos. Las extensiones se llevaron al laboratorio, se fijaron con metanol absoluto (Uni-Chem) y se tiñeron durante 30 minutos con Giemsa. La lectura se realizó en un microscopio (Motic-BA310), con cámara de 10,0 MP y empleando lente de

TABLA 1. Categorías de los animales de acuerdo a su procedencia, grupo etario y sexo./*Animal categories according to their origin, age group and sex.*

Provincia	Sector	Grupo etario	Muestras	Categoría	Muestras
Zamora Chinchipe	Norte	< a 1 año	46	Hembras	160
		de 1 a 2 años	38		
		de 2 a 3 años	50		
		> a 4 años	66		
	Sur	< a 1 año	22	Hembras	71
		de 1 a 2 años	51		
		de 2 a 3 años	22		
		> a 4 años	8		
	Este	< a 1 año	18	Hembras	79
		de 1 a 2 años	29		
		de 2 a 3 años	24		
		> a 4 años	29		
Oeste	< a 1 año	49	Hembras	151	
	de 1 a 2 años	70			
	de 2 a 3 años	41			
	> a 4 años	40			
Total	4	4	600	2	600

TABLA 2. Categorías de animales de acuerdo a su procedencia y raza./*Animal categories according to their origin and race.*

Provincia	Sector	Grupo racial	Muestras
Zamora Chinchipe	Norte	Holstein	132
		Charoláis	30
		Brown swiss	25
		Mestiza	13
	Sur	Holstein	47
		Charoláis	2
		Brown swiss	7
		Mestiza	15
	Este	Jersey	21
		Brahman	8
		Holstein	71
		Charoláis	4
	Oeste	Brown swiss	2
		Mestiza	23
		Holstein	154
		Charoláis	16
Oeste	Brown swiss	30	
	Mestiza	0	
Total	4	4	600

inmersión de 100X.

Análisis estadístico: Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Chi Cuadrado de Pearson (χ^2) y las proporciones se calcularon y graficaron mediante la aplicación del programa CompaProWin 2.0.1 (12).

De las 600 muestras analizadas, 297 (49,5 %) resultaron positivas; en algunos casos se encontraron varios eritrocitos parasitados por campo (Fig. 1). Estos resultados demuestran una elevada prevalencia del hemoparásito, a pesar de que este método es útil para el diagnóstico en la fase aguda de la enfermedad (6) y solo puede detectar niveles de parasitemia de 0,1 a 0,2 % (13), ya que el número de eritrocitos infectados en estado de infección persistente varía entre 0,000025 % a 0,0025 %.

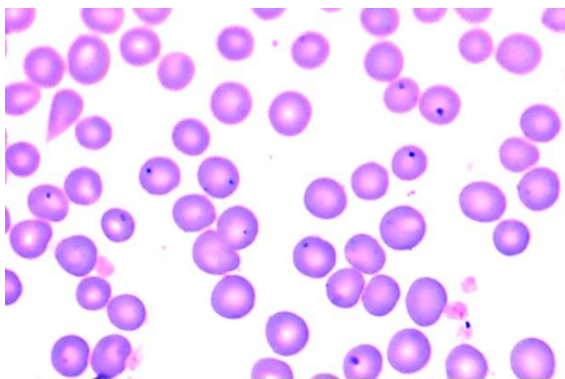


FIGURA 1. Visualización al microscopio de eritrocitos bovinos infectados con cuerpos compatibles con *A. marginale*./Visualization under microscope of bovine erythrocytes infected with *A. marginale* compatible bodies.

Sin embargo, Díaz *et al.* (14), en un estudio de prevalencia de anaplasmosis bovina realizado en el estado de Zulia, Venezuela y utilizando la técnica de frotis de capa blanca (coloración Diff Quick Stain), también detectaron una elevada prevalencia (56,9 %). Este resultado concuerda con lo reportado por Noaman *et al.* (15) en un diagnóstico mediante la coloración de Giemsa en Teheran, Irán, donde se encontró una prevalencia de 50 % con un porcentaje entre 10^{-3} y 10^{-2} de eritrocitos infectados. También Villamil (11), en el cantón Chone de la provincia Manabí, Ecuador,

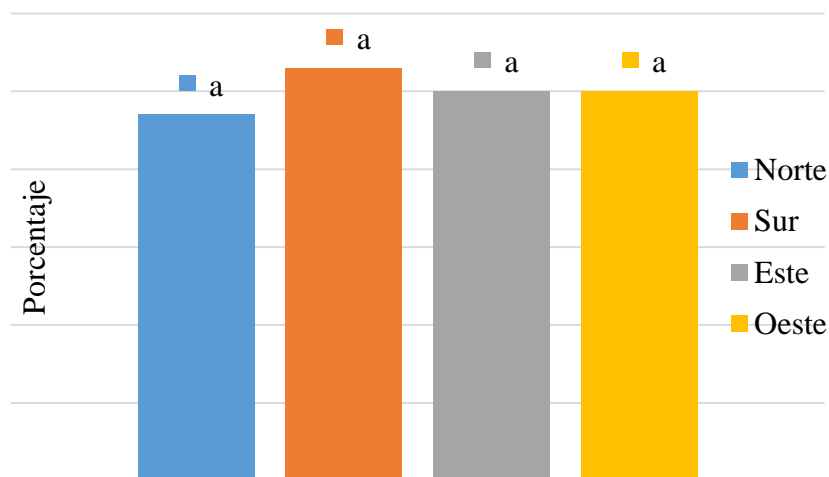
mediante la técnica de tinción con Giemsa obtuvo una tasa de prevalencia de 65,20 %; muy diferente a la encontrada mediante la misma técnica en Quito por Soto (7), que fue de 28,18 %.

La prevalencia de *A. marginale* que se detectó en Zamora Chinchipe fue elevada (49,5 %), sin existir diferencias significativas entre los animales de los diferentes sectores estudiados ($p < 0.05$) (Fig. 2), a pesar de que la provincia Zamora Chinchipe presenta pisos altitudinales que van desde los 815 a los 2800 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), con temperaturas entre 17 °C y 22 °C; se encontraron cultivos de pastizales y actividad ganadera bovina, desde los 1800 msnm hacia abajo (16), donde se tomaron las muestras, a lo que se suma el conocimiento previo de que *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* se ha registrado en altitudes que oscilan entre 0 y 2 600 m.s.n.m (17).

Todos los sectores incluidos en la investigación mostraron prevalencias superiores a 47 %. Esto hace suponer que en la zona estudiada la enfermedad es de carácter enzoótico, lo que coincide con los resultados de Jaimes-Dueñez *et al.* (18), quienes plantean que *A. marginale* es la infección más prevalente y que ocurre bajo estabilidad enzoótica en dos regiones estudiadas de Colombia.

Con relación al sexo de los animales en estudio, la prevalencia fue de 46,81 % en los machos y de 50,33 % en las hembras; resultados sin diferencia estadística significativa ($p > 0.05$). Estos resultados concuerdan con lo señalado por Alfaro *et al.* (19), quienes manifiestan que no existe diferencia estadística en la prevalencia entre sexos; también con lo encontrado por Díaz *et al.* (14) en el estado Zulia en Venezuela, donde la seroprevalencia de *Anaplasma marginale* en machos y hembras fue de 93,75 % y 96,03 %, respectivamente, sin presentar diferencias significativas.

La prevalencia de *A. marginale* fue elevada en todos los grupos raciales de bovinos en la provincia Zamora Chinchipe, sin diferencia significativa entre los grupos estudiados



Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas

FIGURA 2. Prevalencia de *Anaplasma marginale* en los diferentes sectores estudiados./ *Prevalence of Anaplasma marginale in the different sectors studied.*

($p > 0.05$). Díaz *et al.* (14) plantean que el ganado *Bos indicus* padece en forma más leve la infección que *Bos Taurus*, situación que corrobora lo manifestado por Coromoto y Toro (20), quienes encontraron diferencias ($p < 0.01$) entre *B. taurus* y *B. indicus*, pero no así entre sistemas básicos de explotación lechera y doble propósito. En cambio, Guglielmone (21) manifiesta que las razas lecheras, debido al desgaste y al estrés continuo al que son sometidos durante la lactancia, son más propensas a padecer la enfermedad. Al respecto, Herrera *et al.* (22) argumentan que la raza es un factor importante en la infección con hemoparásitos, pues los bovinos dedicados a la explotación de leche y sus cruces son más susceptibles que las razas tipo carne, debido a una mayor susceptibilidad a las garrapatas y al hemoparásito.

Por otra parte, Matliolli *et al.* (23) plantean que *Bos taurus* parece ser una raza única que exhibe resistencia a varias enfermedades parasitarias y/o infecciones, incluyendo helmintos, en comparación con otras razas de ganado en África Occidental.

En lo que respecta a la edad, se obtuvieron tasas de prevalencia de 57 % para animales menores de un año, 47,9 % para animales entre uno y dos años, 44 % para animales entre dos y

cuatro años y 49,7 % para animales mayores de cuatro años, sin que se evidenciaran diferencias significativas entre los grupos ($p > 0.05$). Sin embargo, según Rodríguez *et al.* (24) los animales jóvenes son más resistentes a la enfermedad. Coromoto y Toro (20), en un estudio sobre epidemiología de la anaplasmosis bovina en el estado Monagas, Venezuela, mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), encontraron diferencia significativa entre los grupos estudiados. Sin embargo, Díaz *et al.* (14), en un estudio de prevalencia realizado en el estado Zulia, Venezuela, no encontraron diferencias significativas entre los grupos estudiados.

Al encontrarnos en la zona ecuatorial, donde la acción del clima tiene poca variabilidad durante el año, los animales desde su nacimiento están cotidianamente expuestos a la infección, ya sea a través de vectores o por acciones mecánicas (biológicas o iatrogénicas).

Los resultados del presente estudio indican que más del 57 % de los terneros antes de cumplir los nueve meses de edad ya estuvieron en contacto con los hemoparásitos. Solari (25) manifiesta que pueden adquirir anticuerpos por el calostro, desde el nacimiento hasta los dos meses de edad, luego se puede desarrollar inmunidad innata entre los tres y nueve meses,

por lo que los animales que se infectan durante este periodo pueden no padecer la enfermedad clínicamente, pero se convierten en animales persistentemente infectados, que constituyen un reservorio para la transmisión al resto de los animales susceptibles del rebaño. Se considera que los bovinos jóvenes son más resistentes a los efectos de una primoinfección por *A. marginale*; pues en estos casos disminuyen los síntomas clínicos de la enfermedad y desarrollan una larga inmunidad (5).

Si se tiene en cuenta que los animales estudiados no presentaban signos clínicos relacionados con la enfermedad, estos pudieran constituir un reservorio para la diseminación de la enfermedad al resto de los animales susceptibles. A partir de estos resultados podemos concluir que existe una elevada prevalencia de *A. marginale* en la región de Zamora Chimchipe, Ecuador, por lo que se recomienda continuar estos estudios con ensayos de diagnóstico más sensibles, y que incluyan otras regiones donde no se ha determinado la prevalencia de *A. marginale*.

REFERENCIAS

1. Palomar AM, Portillo A, Santibáñez P, Mazuelas D, Roncero L, García-Álvarez L, Santibáñez S, Gutiérrez Ó, Oteo JA. Detection of tick-borne *Anaplasma bovis*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma centrale* in Spain. *Med Vet Entomol.* 2015;29(3):349-53. doi: 10.1111/mve.12124.
2. Estrada-Peña A, Bouattour A, Camicas JL, Guglielmone A, Horak I, Jongejan F, Latif A, Pegram R, Walker AR. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (Acari: ixodidae) in Africa and Latin America. *Exp App Acarol.* 2006; 38:219-235.
3. Kocan, KM, de la Fuente J, Blouin E, Coetzee JF, Ewing SA. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet Parasit.* 2010;167:95-107. doi:10.1016/j.vetpar.2009.09.012
4. Kocan KM, de la Fuente J, Guglielmone AA, Meléndez RD. Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16:698-712.
5. Carrique, J, Ribera H. Manual Práctico sobre Garrapatas y Enfermedades transmitidas por Garrapatas. 2000. LIDIVET. Santa Cruz, Bolivia. pp. 1-36.
6. Aubry P, Geale DW. A Review of Bovine Anaplasmosis. Canadian Food Inspection Agency, Ottawa, ON, Canada. Crown in the right of Canada. *Transbound Emerg Dis.* 2010;58:1-30.
7. Soto K. 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 (PCR) y ensayo inmunoenzimático competitivo (cELISA). Escuela politécnica del Ejército. 2010; p. 85-145.
8. Villafuerte G. Prevalencia de Anaplasmosis Bovina en el cantón Lomas de Sargentillo, Provincia del Guayas. Tesis de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria del Ecuador. 2001;p. 54.
9. Benítez W. Determinación de la presencia de *Anaplasma* en el Ganado Bovino del cantón Jama, Provincia de Manabí. Tesis de Grado Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria del Ecuador. 2003;p. 55.
10. Arreaga K. Determinación de la prevalencia de Anaplasmosis en el cantón General Antonio Elizalde (Bucay), Provincia del Guayas. Tesis de Grado Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria del Ecuador. 2004;p. 60.
11. Villamil G. Determinación de *Anaplasma centrale* y *marginale* del Ganado Bovino en las haciendas ganaderas del norte del cantón Chone, Provincia de Manabí. Tesis

- de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Agraria del Ecuador. 2005;p. 50.
12. Duvergel Y, Miranda I. COMPAPROP: Sistema para comparación de proporciones múltiples. Rev Protección Veg. 2014;29(3):231-234.
 13. Eriks IS, Palmer GH, McGuire TC, Barbet AF. Detection and quantification of *Anaplasma marginale* in carrier by using a nucleic acid probe. Clin. Microbiol. 1989;27:279-284.
 14. Díaz D, Valera Z, De Andrade E, Parra O, Escalona F, Ramírez R. Prevalencia de *Anaplasma marginale* en bovinos del sector la Piñata, Municipio la Cañada de Urdaneta, Estado de Zulia, Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ. 2003;XIII(3):193-198.
 15. Noaman V, Shayan P, Amininia N. Molecular Diagnostic of *Anaplasma marginale* in Carrier Cattle. Center for Ticks and Tick-borne Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran. 2008;p. 8.
 16. GPZCh. Gobierno Provincial de Zamora Chinchipe. Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial. Unidad de Gestión Territorial. 2011;p.163.
 17. Cortés J, Betancourt J, Argüelles J, Pulido L. Distribución de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos y fincas del Altiplano cundiboyacense (Colombia), CorpoicaCienc. Tecnol. Agropecu. 2010;11(1):73-84.
 18. Jaimes-Dueñez J, Triana-Chávez O, Mejía-Jaramillo AM. Parasitological and molecular surveys reveal high rates of infection with vector-borne pathogens and clinical anemia signs associated with infection in cattle from two important livestock areas in Colombia. Ticks Tick-borne Dis. 2017;8:290-299.
 19. Alfaro C, García F, Toro M, Valle A. Prevalencia de Anaplasmosis Bovina de acuerdo a factores intrínsecos del hospedador en bovinos del Estado Monagas. Memorias VIII Congreso Venezolano de Zootecnia. San Juan de los Morros, Venezuela. 1994.
 20. Coromoto E, Toro M. Epidemiología de la Anaplasmosis Bovina en Fincas Lecheras del Estado Monagas. Journal Article. 1998;p.3.
 21. Guglielmone AA. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. Vet. Parasitol. 1995;57:109-119.
 22. Herrera M, Soto A, Urrego V, Rivera G, Zapata M, Ríos L. Frecuencia de hemoparásitos en bovinos del bajo Cauca y alto San Jorge, 2000-2005.; Rev MVZ Córdoba. 2008; 13(3):1486-1494.
 23. Mattioli RC, Pandey VS, Murray M, Fitzpatrick JL. Immunogenetic influences on tick resistance in African cattle with particular reference to trypanotolerant N'Dama (*Bos taurus*) and trypanosusceptible Gobra zebu (*Bos indicus*) cattle. Acta Trop. 2000;75(3):263-77.
 24. Rodríguez S, García M, Aboites G, Cantó R. Inmunología e Inmunoprofilaxis de la Anaplasmosis Bovina. Revista Ciencia Veterinaria México. 2003;9(4):123.
 25. Solari M. Epidemiología y perspectivas en el control de hemoparásitos, XXXIV Jornadas de Buiatría, Paysandú. Departamento de Parasitología, DILAVE "Miguel C. Rubino". Argentina. 2006. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/dgsg/dilave/Parasitolog%C3%ADa/Publicaciones/8_Epidemiolog%C3%ADa%20y%20perspectivas%20en%20el%20control%20de%20hemopar%C3%A1sitos.pdf