

13100020

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS**



**DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA (Babesia bovis)  
EN GANADO BOVINO DE CUATRO COOPERATIVAS DEL  
DEPARTAMENTO DE LA PAZ, EL SALVADOR.**

Por:

**CARLOS OSMIN ACOSTA RIVERA**  
**JOSE ROBERTO RIVERA ZELAYA**  
**EDENILSON EDUARDO TORRES MOLINA**

San Salvador, Octubre de 1987

Inv entario: 13100020

ES  
4  
5

# UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**"DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA Babesia  
bovis EN GANADO BOVINO DE CUATRO COOPERATIVAS  
DEL DEPARTAMENTO DE LA PAZ, EL SALVADOR"**

POR:

CARLOS OSMIN ACOSTA RIVERA  
JOSE ROBERTO RIVERA ZELAYA  
EDENILSON EDUARDO TORRES MOLINA

REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE  
**INGENIERO AGRONOMO**

SAN SALVADOR, OCTUBRE DE 1997

TUES  
1304  
A185  
1997

2  
65



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

DOCTOR BENJAMIN LOPEZ GUILLEN

SECRETARIO GENERAL

LIC. ENNIO ARTURO LUNA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

DECANO

ING. AGR. RODOLFO MIRANDA GAMEZ

SECRETARIO

ING. AGR. LUIS HOMERO LOPEZ GUARDADO

*Donado por la Secretaria de la Fac.*

**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**



**ING. AGR. RAMON ANTONIO GARCIA SALINAS**

**ASESORES**

**LIC. GILMA HAYDE MOLINA**



**DR. M.V. ORLANDO ALBERTO SILVA HERNANDEZ**

**JURADO CALIFICADOR**



**ING. AGR. RODOLFO MIRANDA GAMEZ**



**ING. AGR. CARLOS RENE PLATERO MONTOYA**



**ING. AGR. GINO ORLANDO CASTILLO BENEDETTO**



## RESUMEN

De un total de 1.960 bovinos pertenecientes a 4 cooperativas ubicadas en el departamento de La Paz, 271 (14%) se muestrearon y se obtuvo sangre por punción de la vena yugular, y los sueros fueron analizados mediante la prueba de ENZIME LINKED INMONOSORBENT ASSAY (ELISA) enzimas ligadas a anticuerpos para determinar el nivel de anticuerpos contra Babesia bovis presentes en los mismos. Además se tomaron muestras de sangre de cada animal para realizar la prueba de microhematocrito. De los 271 animales investigados, 153 resultaron positivos a la prueba de "ELISA", lo cual corresponde a una prevalencia de 56.45%, lo que indica que más del 50% de la población han generado inmunidad contra B. bovis. Se evidenció un incremento del nivel de anticuerpos a mayor edad de los animales. No se encontró relación entre los niveles de anticuerpos contra B. bovis de los animales investigados y sus respectivos hematocritos, los cuales a su vez resultaron con valores normales.

## AGRADECIMIENTOS

- A la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, por contribuir a nuestra formación profesional
- Agradecemos de manera especial a nuestros asesores Licda. Gilma Hayde Molina, Dr. M.V. Orlando Alberto Silva Hernández, por su valiosa colaboración en el desarrollo de la investigación.
- Al Jurado Examinador, por su valiosa colaboración en la revisión y aprobación del presente documento.
- A todas las personas que hicieron posible la realización de este trabajo, al Ingeniero Juan Francisco Alvarado Panameño, Don Juan Anzora, Licda. Alicia, a los encargados de cada una de las cooperativas evaluadas (Cooperativa Santa Clara, Santo Tomás, Nilo I y Nilo II), al personal de Biblioteca de Ciencias Agronómicas; y a todos nuestros amigos y compañeros que de una u otra manera colaboraron con la realización de este trabajo.

## DEDICATORIA

- A Dios Todopoderosa : por haberme iluminado durante la realización de este trabajo.
- A mis padres : Por su amor, comprensión y paciencia durante mi formación profesional. ¡GRACIAS PADRES!
- A mis Hermanos : José Joaquín, Jhon Walter, José Osmin, Cecilia María, José Roberto, Luis, David, Mercedes. Por su apoyo incondicional.
- A mis sobrinos : Cecilita, Kenia, Adrianita y Juan Carlos con mucho cariño.
- A mi mamá TETA (Q.D.D.G.) : Con amor y profundo agradecimiento, por toda su bondad, entrega sacrificio y apoyo en el tiempo que compartimos "TE EXTRAÑO".
- A mis abuelos : Mamá LOLA (Q.D.D.G.), mamá Sara (Q.D.D.G.) y a papá CHOMO por todo su cariño.
- A mis tíos : Minchito, Ramón, Payo, Salvador, Mario, Elbita, Lucita, Tere, Teresa Martínez, por su amor y comprensión.
- A mis primos : Hernán y Jeovany por su estímulo a seguir adelante.
- A mis compañeros de tesis : Roberto y Edenilson por su cooperación en el desarrollo de su trabajo.
- A mis amigos : Carlos Alberto, Julio Alvarenga, Ivon, Carla, Roxana, Violeta, Margaret, Marta Lorena, Adán, Fredy, Verónica, Calero, Maverit, Hugo, Deysi, Ernesto, Rodolfo, David, Víctor, Guillermo, Tulio, Osorio, Nelson, Julio, Luis Soto, Marcelino, Mauricio Palacios, Oscar B., Douglas y Eusebio Luna.

CARLOS OSMÍN ACOSTA RIVERA





2.6.3. Sinónimos de la enfermedad.....	7
2.6.4. Especies susceptibles.....	7
2.6.5. Clasificación de la Babesia.....	8
2.6.6. Ciclo Biológico.....	8
2.6.7. Etiología y Morfología.....	10
2.6.8. Transmisión y Epidemiología.....	10
2.6.9. Patogenia.....	10
2.6.10. Sintomatología.....	11
2.6.11. Lesiones.....	11
2.6.12. Diagnóstico.....	11
2.6.13. Tratamiento y Prevención.....	12
2.6.14. Control.....	12
2.6.15. Resistencia e inmunidad a la Babesiosis.....	13
2.7. Vectores.....	14
2.7.1. Descripción de la garrapata.....	15
2.7.1.1. Ubicación Taxonómica.....	15
2.7.2. Reproducción de la garrapata del género <u>Boophilus</u> .....	15
2.7.3. Ciclo de vida de la garrapata.....	16
2.8. La Sangre.....	17
2.8.1. Generalidades de la sangre.....	17
2.8.2. Funciones de la sangre.....	17
2.8.3. Elementos celulares de la sangre.....	17
2.8.3.1. Eritrocito.....	17
2.8.3.2. Plaquetas.....	17
2.8.3.3. Leucocitos.....	18
2.8.3.3.1. Granulocitos.....	18
2.8.3.3.2. Agranulocitos.....	19
2.8.3.4. El plasma.....	19
2.8.3.5. El suero.....	20
2.9. Papel de la sangre y tejidos relacionados con inmunidad, alergia	

o defensa contra enfermedades.....	20
2.9.1. Naturaleza de antígenos y anticuerpos.....	20
2.9.2. Formación de anticuerpos.....	21
2.9.3. Reacciones del antígeno con el anticuerpo.....	21
2.9.3.1. Respuesta primaria.....	21
2.9.3.2. Respuesta secundaria.....	22
2.9.4. Especificidad antigénica.....	22
2.10. Inmunidad.....	22
2.10.1. Clasificación de la inmunidad.....	23
2.10.1.1. Inmunidad natural o innata.....	23
2.10.1.2. Inmunidad adquirida.....	23
2.11. Hematócrito.....	24
2.11.1. Ventajas del microhematócrito sobre el hematócrito.....	24
2.12. Prueba inmuno enzimática.....	25
2.12.1. Fundamentos y procedimientos esenciales de ELISA.....	25
2.12.2. Lectura de ELISA.....	26
2.12.3. Sensibilidad y especificidad de ELISA.....	26
2.12.4. Ventajas de ELISA.....	27
2.12.5. Desventajas.....	27
2.13. Investigaciones sobre <u>B. bovis</u> en Latinoamérica.....	27
<b>3. MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>29</b>
3.1. Generalidades.....	29
3.2. Tipos de explotación.....	30
3.2.1. Caracterización de las cooperativas.....	30
3.3. Metodología estadística.....	30
3.3.1. Tamaño de la muestra.....	30
3.3.1.1. Cálculo del tamaño de la muestra.....	30
3.3.2. Prevalencia de la muestra.....	32
3.4. Metodología de campo.....	32
3.4.1. Materiales y equipo.....	32

3.4.2. Toma de muestra.....	33
3.5. Metodología de laboratorio.....	33
3.5.1. Hematocrito.....	33
3.5.1.1. Material y equipo.....	33
3.5.2. Procedimiento.....	34
3.5.3. Interpretación.....	34
3.6. Prueba inmunoenzimática (ELISA).....	34
3.6.1. Materiales y equipo.....	34
3.6.1.1. Materiales.....	34
3.6.1.2. Equipo.....	34
3.6.2. Reactivos y soluciones.....	35
3.6.3. Procedimiento.....	36
3.6.4. Descripción del método para el establecimiento del corte (Cut-off).....	37
3.6.5. Interpretación.....	38
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	39
5. CONCLUSIONES.....	44
6. RECOMENDACIONES.....	45
7. BIBLIOGRAFIA.....	46
8. ANEXOS.....	57

## INDICE DE CUADROS

CUADRO	PAGINA
1. Datos climaticos de las cooperativas.....	29
2. Prevalencia total por cooperativa y por estrato.....	41
3. Prevalencia total por estrato de edades y promedio de hematócrito.....	42
4. Promedio de hematócrito por cooperativa y por edades.....	43
A-1 Niveles normales tipicos de células sanguíneas.....	58
A-2 Comparación de ELISA con otras pruebas indirectas que utilizan antiglobulinas (RLA y IFAT).....	59
A-3 Caracterización de las cooperativas.....	60
A-4 Procedimiento de ELISA indirecta, para la detección de anticuerpos contra <u>Babesia bovis</u> .....	62
A-5 Población bovina por edades y número de muestras sanguíneas por edades y cooperativas.....	64
A-6 Cálculo del tamaño de la muestra.....	65
A-7 Cálculo de las prevalencias.....	67
A-8 Resultados de la prueba de ELISA.....	69
A-9 Resultados de la prueba de hematócrito.....	83



## INDICE DE FIGURAS

FIGURAS	PAGINA
1. Ciclo biológico de la <u>Babesia bovis</u> .....	9
2. Ciclo biológico de la garrapata de un solo huésped <u>Boophilus microplus</u> .....	16
3. Microplacas para muestras de suero.....	36
4. Prevalencia total por cooperativa.....	41
5. Prevalencia total por estrato de edades y promedio de hematócrito por estrato..	42
6. Promedio de hematócrito por cooperativa.....	43
A-7. Parte anatómica de extracción de la muestra sanguínea.....	61
A-8. ELISA indirecta para determinar anticuerpos contra <u>Babesia bovis</u> .....	63

## 1. INTRODUCCION

En El Salvador se ha comprobado la presencia del protozooario B. bovis, agente etiológico de la babesiosis, enfermedad transmitida por la garrapata, y que ocurre particularmente en bovinos de las regiones tropicales y sub-tropicales (Payne y Scott, 1982).

Esta enfermedad es una enzootia que ocasiona grandes pérdidas económicas al disminuir la producción de carne, leche y crías; en el país esto aún no ha sido cuantificado oficialmente.

Para el diagnóstico de la Babesiosis, existen diferentes métodos de laboratorio, los cuales, pueden ser directos, como la identificación del hemoparásito, e indirectos, dentro de los cuales el más recientemente utilizado, es la prueba de enzimas ligadas a anticuerpos "ELISA", (ENZYME LINKED INMUNOSORBENT ASSAY) la cual posee una alta sensibilidad y especificidad en la determinación de anticuerpos que poseen los bovinos.

La presencia y estimación de estos anticuerpos es importante, pues nos permite conocer el estado sanitario de una población con respecto a una enfermedad y establecer niveles de resistencia, susceptibilidad y de esta forma poder adoptar las medidas preventivas del caso.

El propósito de esta investigación es determinar la prevalencia de anticuerpos contra Babesia bovis, en el ganado bovino de las Cooperativas Agropecuarias: Nilo I, Nilo II, Santo Tomás y Santa Clara, del departamento de La Paz.

## 2. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades

En la mayor parte de las regiones tropicales y subtropicales, la producción de leche y carne se obtiene de razas bovinas no especializadas, bajo condiciones de sistema de manejo extensivo y semi - extensivo (Peña, 1994). El Salvador por encontrarse dentro de la zona tropical, presenta condiciones favorables para el desarrollo de la garrapata, principal vector de enfermedades como: Babesiosis y anaplasmosis, las que en consecuencia se manifiestan permanentemente (Enzootia), que ocasiona pérdidas económicas aún no cuantificadas al disminuir la producción de carne y leche. (Martinez, 1997).

### 2.2. Importancia económica y social de la ganadería

La ganadería en El Salvador es y ha sido una actividad muy importante en el aspecto económico y social, por las siguientes razones :

- Genera 25,000 empleos permanentes durante todo el año.
- Existen 65,000 ganaderos de los cuales el 67% corresponde a los ganaderos con hatos menores de 20 vacas.
- El 35% del territorio nacional, está ocupado por pastos naturales.
- Es la segunda actividad del sector agropecuario después del café.

Para el período 1990 / 1994, la ganadería ha sufrido una disminución en el aporte al Producto Interno Bruto (PIB) del sector pecuario; participa con el 17% para 1990 y con el 14% para en el año 1995 (MAG, 1995; PROLECHE, 1994).

### 2.3. Tipos de Ganadería en El Salvador

De acuerdo a las razas o encastes y especialización que poseen las explotaciones ganaderas; se clasifican en tres tipos :

- a. Ganaderías especializadas
- b. Ganaderías de doble propósito
- c. Ganaderías tradicionales

### 2.3.1. Ganaderías especializadas

En el país se encuentran con un buen desarrollo técnico las ganaderías de producción de leche, que se caracterizan por tener animales con alto grado de pureza, de las razas: Holstein, Brown Swiss y en algunos casos, Jersey. La participación de la ganadería de carne es menor, encontrándose razas como Bradford y Brahman (DGEA, 1987).

### 2.3.2. Ganaderías de doble propósito

La mayoría de haciendas y algunas cooperativas practican este sistema aún sin tener definidas las técnicas de manejo y organización; los animales que se explotan generalmente son cruces entre ganado Cebuinos, Holstein y Brown Swiss; pero con tendencia a mantener cruces definidos entre razas especializadas (Mejía, 1986).

### 2.3.3. Ganadería tradicional

En El Salvador, constituye el 70% de la población bovina, este sistema no posee un manejo adecuado debido a las condiciones socio económicas y técnicas de los productores; los animales que comúnmente se encuentran son cruces de criollo con cebuinos y otras razas sin tener sistemas de cruces definidos (DGEA, 1987).

## 2.4. Problemática de la ganadería bovina en El Salvador

El desarrollo limitado de la ganadería se ha debido a problemas económicos, políticos y sociales, los cuales han afectado cada uno de los aspectos siguientes:

### 2.4.1. Productividad

El promedio de rendimiento del hato nacional para 1992; en leche se estimó de 3 a 5 lts. por animal y el rendimiento en carne del 49% en canal, los cuales son valores relativamente bajos comparados con el vecino país centroamericano Costa Rica, que poseen una producción promedio de leche de 15 litros por animal y un rendimiento en canal del 58 al 60% (DGEA, 1987; Aharón et al., 1992).



#### 2.4.2. Manejo

En el aspecto reproductivo, El Salvador es uno de los países con índices más bajos, 45% al 50% de pariciones, mientras que en hatos bien manejados es del 85%, la mortalidad de los terneros es del 10% cuando podría ser del 3%; la tasa de descarte es del 14%, y lo ideal es del 25% ó más. (FUSADES, 1994).

En cuanto al aspecto salud, en un diagnóstico realizado por el Ministerio de Agricultura y Ganadería en la zona costera central del Departamento de la Libertad, se detectó una serie de enfermedades dentro de las cuales se mencionan las siguientes : El parasitismo gastrointestinal, que resultó ser la más evidente; la brucelosis Bovina se reportó como baja (0.8%); en cambio, la tuberculosis alcanzó un nivel del 10.9%, considerándose alta para el país.

La evidencia serológica de leptospirosis es del 39% considerado alto, y relacionado con un número elevado de abortos.

Los anticuerpos contra Babesia bovis se encontraron elevados (86.9%), lo cual permite afirmar que los bovinos de la zona son una población protegida contra este hemoparásito (DGSVA, 1992).

#### 2.4.3. Políticas agropecuarias para el sector ganadero

En El Salvador, en la época de los 80's el sector ganadero no tuvo políticas que promovieran su desarrollo y estabilidad. Se observó que los créditos para la ganadería y la misma agricultura disminuyó, y los existentes con altas tasas de interés (24 - 25%), los cuales no son accesibles para la mayoría de los ganaderos. Además con la implementación del IVA, y su aumento al 13%, se afecta principalmente a la ganadería lechera predominante, ya que es un impuesto que no puede ser trasladado al consumidor y representa un costo de producción del 15 - 20% en el producto de la ganadería. (AGES, 1997)

En cuanto a políticas comerciales internas, los precios de la leche y la carne producida en el país no pueden competir con sus similares importados de los países vecinos (que su costo es menor), y los tratados comerciales con otros países, han bajado los aranceles de un 10% a un 5%, y se abrió la puerta al sector importador de productos pecuarios de países que protegen con reglas claras a sus hatos ganaderos; además el alza en los servicios públicos y el aumento de los energéticos (gasolina, diesel, electricidad), han ocasionado golpes

en la producción, esto hace que el escenario de la comercialización interna de nuestros productos y sub productos están distorcionados. (AGES, 1997).

## 2.5. Relación huésped - parásito

Un parásito es un organismo que vive sobre o dentro de un organismo vivo en donde logra obtener el medio ambiente y los nutrientes necesarios para su crecimiento y reproducción. (Jawet, 1981).

La relación huésped - parásito está determinada por aquellas características de los parásitos que favorecen su establecimiento y que dañan al huésped, como por los diversos mecanismos que se oponen a estos procesos. Entre los atributos de los parásitos están la infestabilidad, patogenicidad y toxicidad. (Jawet, 1981)

### 2.5.1. Infestabilidad

La infestación es el proceso por el cual el parásito entra en relación con el huésped y las fases componentes esenciales en el hombre y los animales son : (Jawet, 1981)

#### 2.5.1.1 Entrada del parásito al huésped

Las vías de entrada más frecuentes son el aparato respiratorio el aparato digestivo y las escoriaciones en la superficie de las mucosas y la piel intacta, mientras que otras son introducidas pasivamente por artrópodos directamente a los vasos linfáticos o a la corrientes sanguínea. (Jawet, 1981)

#### 2.5.1.2. Establecimiento y multiplicación del parásito dentro del huésped.

De la puerta de entrada, el parásito puede diseminarse directamente a través de los tejidos o puede proseguir por los vasos linfáticos hasta la corriente sanguínea, la cual lo distribuye ampliamente y le permite alcanzar los tejidos particularmente adecuados para su multiplicación. La naturaleza bioquímica de los tejidos es la que en última instancia determina la susceptibilidad o resistencia al huésped para un parásito determinado. (Jawet, 1981)



### 2.5.2. Patogenicidad y Toxicidad

Denota la capacidad de los microorganismos para producir enfermedad o de provocar lesiones progresivas. El término virulencia introduce el concepto de grado, es decir, los organismos virulentos muestran patogenicidad al introducirse en el huésped en muy pequeñas cantidades. Estas propiedades pueden ser subdivididas en toxicidad (capacidad para producir sustancias tóxicas) e invasividad (capacidad para entrar en los tejidos del huésped, multiplicarse y diseminarse. (Jawet, 1981)

## 2.6. Babesiosis

### 2.6.1. Generalidades

La babesiosis es una enfermedad, causadas por protozoarios del genero *Babesia* y transmitida por garrapatas durante la alimentación, los parásitos presentes en la saliva de la garrapata pasan a la corriente sanguínea y entran en los eritrocitos del huésped, luego sufren división binaria y entran en el plasma para invadir a nuevas células (Schoploher et.al, 1963).

La babesiosis es un problema patógeno significativo en los animales domésticos y salvajes, donde quiera que existan garrapatas, (vectores adecuados) especialmente en los trópicos.

Las pérdidas económicas más importantes son causadas en el ganado bovino por infestación por *B. bovis* y *B. bigemina* (MERCK, 1993).

Entre tanto, se han identificado más de 70 especies de ocurrencia en varios tipos de huéspedes; pero solamente las siguientes seis son parásitos de bovinos :

<u><i>Babesia bovis</i></u>	<u><i>Babesia major</i></u>
<u><i>Babesia bigemina</i></u>	<u><i>Babesia ovata</i></u>
<u><i>Babesia divergens</i></u>	<u><i>Babesia beliceri</i></u>

(Otte, 1992)

Entre estas seis especies se confiere particular importancia a *Babesia bovis*, debido a la enfermedad relativamente severa que por lo general ocasiona *B. bovis*; Ocurre en todos los continentes del globo terráqueo entre 32° al norte y 30° al sur y constituye una amenaza potencial al 70% de la población bovina en el mundo, de 1.2 billones de animales.

La babesia, depende de la presencia de garrapatas vectores, la cual está ampliamente distribuida en los países tropicales y subtropicales. (Otte, 1992)

### 2.6.2 Definición de Babesiosis

- Es una enfermedad ocasionada por diversas especies de protozoarios del genero babesia que puede afectar a diversas especies de animales domésticos y es más común en los bovinos (Bayer, S.F.)

- Es una enfermedad ocasionada por diversas especies de babesia en bovinos, ovinos, caprinos y equinos, se caracteriza por fiebre y hemolisis intravascular, síndrome de anemia, hemoglobimeria y se transmite por garrapatas (Blood, 1976).

- La babesiosis es una enfermedad de los animales, transmitida por las garrapatas, se manifiesta a veces por hemoglobinemia y hemoglobinuria, la aparición de protozoarios infectantes en el eritrocito del huésped y se considera también una enfermedad zoonótica (Gibbson, 1984; FAO/OMS, 1979)

- La babesiosis o piroplasmosis en los bovinos es una enfermedad causada por hemoprotozoarios del género babesia, donde las especies, B. bigemina y B. bovis se han considerado enzooticas (Morilla, 1989).

### 2.6.3. Sinónimos de la enfermedad

Babesiosis, piroplasmosis, babesiasis, fiebre de la garrapata, fiebre de texas, fiebre de aguas rojas.

### 2.6.4. Especies Susceptibles

La babesiosis es una enfermedad generalizada que se puede presentar tanto en animales domésticos como silvestres, dentro de los que se mencionan :

Animales	Especie de Babesia
Bovino	<u>B. bovis</u> ,



	<u>B. Bigemina</u> o <u>B. argentina</u>
	<u>B. Divergens</u>
	<u>B. Ovata</u>
	<u>B. Majors</u>
Ovejas y Cabras	<u>B. Motasi</u>
	<u>B. Ovis</u>
Caballo	<u>B. Caballi</u>
	<u>B. Equi</u>
Perro	<u>B. Canis</u>
Cerdo	<u>B. Zui</u>
	<u>B. Trautmani</u>
Gato	<u>B. Felis</u>
Roedores	<u>B. Rodhaini</u>

(Gibbons, et al 1984; Otte, et al 1992).

#### 2.6.5. Clasificación de la babesia

Phylum	:	Protozoa
Clase	:	Sporozoa
Sub - Clase	:	Piroplasmia
Orden	:	Maemosporidia
Familia	:	Babesinae
Sub - familia	:	Babesinae
Género	:	Babesia
Especie	:	Bovis, Bigemina

(Laplage, 1971)

#### 2.6.6. Ciclo Biológico

Durante el desarrollo de babesia en la garrapata hembra, la invasión del ovario da por resultado la infestación de los embriones antes de que eclosionen los huevecillos.

1. Hematíes con babesias en el contenido intestinal de garrapata.

2. Los parásitos abandonan los hematíes y adoptan aspecto de gusanos, parasitan las células epiteliales del intestino y se multiplican por bipartición repetida. A continuación los parásitos emigran a la cavidad abdominal.
  3. Alcanzan los ovarios y penetran en los huevos.
  4. En la larva en desarrollo se hallan parásitos en el epitelio del intestino.
  5. Después de haber chupado sangre en el estadio de larva y ninfa los parásitos emigran a las glándulas salivales.
  6. Multiplicación en las células salivales.
  7. Con la saliva pasan al cuerpo del huésped donde penetran en los hematíes (Fig. 1)
- (BAYER, s.f.; O CONTROLE, s.f).

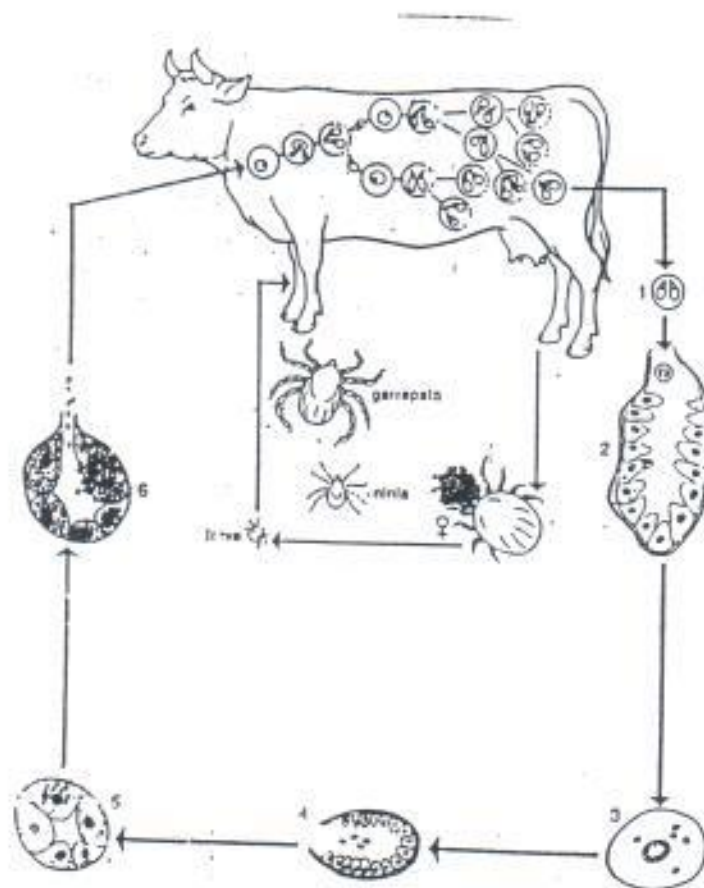


Fig. 1. Ciclo biológico de la Babesia bovis.

#### 2.6.7. Etiología y morfología

La babesia se encuentra en los eritrocitos circulantes de los mamíferos, como un cuerpo ovoide o periforme, generalmente forman pares y ángulos agudos dentro de la sangre. La B. bigemina mide aproximadamente 4 - 5 $\mu$  de ancho y 2 - 3 $\mu$  de largo; la B. bovis es una de las más pequeñas y su forma adulta mide de 2.5 $\mu$  por 1.5 $\mu$ . La forma esférica es la más común (Carlyle, et. al., 1990).

#### 2.6.8. Transmisión y epidemiología

Las garrapatas se infestan con babesia durante su alimentación en animales enfermos. La babesia entonces pasa a los ovarios, y las larvas que emergen se vuelven portadoras. La babesia continúa desarrollándose dentro de las larvas y generalmente se transmite a un nuevo hospedero durante las fases de ninfa y adulto. B. bovis es transmitida sólo hasta el quinto día de infestación y exclusivamente por las larvas de la garrapata B. bigemina únicamente por las ninfas y los adultos. (Otte, 1992). La parte del ciclo vital que ocurre en la garrapata, comienza con los merozoitos (piroplasmas) que están en el eritrocito de un animal infectado, son absorbidos por las garrapatas adultos durante su alimentación final y son pasados luego transovaricamente a sus larvas. El desarrollo de las larvas a partir de los huevos ocurre en el suelo, después que la hembra hinchada se ha desprendido de su huésped. La larva se adhiere a un nuevo huésped, en el que completa su ciclo vital.

La mayoría de las manifestaciones clínicas y de los brotes son causados por B. bovis ya que la B. bigemina es menos patógena y se transmite en una forma más efectiva, lo cual asegura la estabilidad enzootica en la mayoría de los casos (MERCK, 1993; O. CONTROLE, s.f.).

#### 2.6.9 Patogenia

Depende de la especie de babesia, el período de incubación varía entre 7-20 días. En los animales infectados, la anemia progresiva va seguida de fiebre, malestar general, anorexia y desarrollo de hemolisis que provoca la hemoglobinuria.

El bazo siempre está crecido y su pulpa, toma un color rojo oscuro. En el hígado, hay degeneración parenquimatosa, obstrucción de los conductos biliares y la resultante ictericia, puede aparecer áreas congestionadas sobre las membranas mucosas del aparato



gastrointestinal. La obstrucción de los capilares sanguíneos de ciertos órganos vitales como el cerebro, por eritrocitos parasitados o parásitos libres, pueden ser causa directa de la muerte. (Blood, et.al, 1976; Gibbons, et. al, 1970)

#### 2.6.10. Sintomatología

La enfermedad causada por *Babesia* está caracterizada por fiebre de hasta 42°C (107 °F), seguida por malestar, apatía, anorexia y anemia; a menudo acompañada por síntomas de shock. También es característica la hemoglobinuria (aguas rojas) y activan el sistema de calicreína que aumenta la vasodilatación y la permeabilidad celular, lo que causa hemoglobinemia, anemia y anoxia, e incrementa la frecuencia respiratoria. Por consiguiente, el hígado y los riñones pueden agrandarse y el bazo se hincha y toma aspecto pulposo. Cuando está afectado el cerebro puede ocurrir falta de coordinación, rechinado de dientes y trastornos en el sistema nervioso, seguido por coma y muerte (Gibbons, et, al., 1970; O. CONTROLE, s.f.).

#### 2.6.11. Lesiones

En el ganado que ha muerto en la fase inicial de la infección, los pulmones pueden estar edematosos y congestionados. El saco pericárdico puede contener líquido serosanguíneo y hemorragias subpericárdicas y subendocárdicas de tipo petequial. El hígado se encuentra aumentado de tamaño e icterico y la vesícula biliar puede mostrar hemorragias en la superficie mucosa y estar distendida con bilis gruesa y de color verde oscuro. El bazo está marcadamente aumentado con una consistencia pulposa y oscura. El abomaso y la mucosa intestinal se pueden observar ictericos y en algunas partes con hemorragias subserosas. La sangre está delgada y acuosa. La vejiga urinaria frecuentemente está distendida, la orina oscura de color rojo café. La ictericia comúnmente está distribuida en el tejido conectivo. Los ganglios linfáticos están edematosos y pueden presentar petequias (Gallis, 1988).

#### 2.6.12 Diagnóstico

El diagnóstico definitivo de la Babesiosis depende de demostrar el organismo causante,



esto puede realizarse mediante demostraciones directas como: Frotis de sangre teñidos con Giemsa y naranja de Acridina; también en extendidos cerebrales con cortes histolíticos teñidos con hematoxilina y eosina. Para garantizar la captación de densidades de parasitemia aún bajas es conveniente utilizar para esos exámenes, sangre capilar más que yugular, en particular si el parásito de interés es B. bovis.

Aunque los parásitos son comunes en los casos agudos, especialmente justo antes de la hemoglobinuria característica, puede ser necesario recurrir a frotis gruesos de sangre para confirmar los signos precoces como en algunas cepas de B. bovis (Medway, et. al., 1975).

La babesiosis también puede diagnosticarse por medio de demostraciones indirectas donde existen varias técnicas serológicas. Las más importantes son: Técnica de fijación del complemento (FC), hemoaglutinación indirecta, anticuerpos fluorescentes (AF), el radioinmuno ensayo (RIA), y recientemente la prueba de enzimas ligados a los anticuerpos ELISA (Otte, 1992).

#### 2.6.13. Tratamiento y prevención

El tratamiento exitoso de la Babesia, depende de un diagnóstico temprano y de la administración rápida de medicamentos efectivos. Hay menos posibilidad de éxito si el tratamiento es retrasado hasta que el desarrollo de la enfermedad sea completo. La Babesiosis aguda responde bien a una variedad de tratamientos si se administran precozmente, aunque puede ser necesario administrar transfusión suplementaria de sangre en las etapas tardías de la enfermedad. Los compuestos más antiguos, como el sulfato de quinuronio, todavía se usan con éxito, aunque el isotionato de fenamidina, disetonato de amicarbalido, aceturato de diminaceno (Berenil) y dipropionato de imidocarb se usan más ampliamente. Para el diminaceno se recomienda el 3 - 3.5 mg/kg de peso vivo y para el imidocarb, 2 mg/kg de peso.

Como en otras enfermedades transmitidas por vectores artrópodos, el baño de inmersión de los animales a intervalos apropiados, resulta ser la mejor medida preventiva (MERCK, 1993, BAYER, s.f; FYZER, 1996).

#### 2.6.14 Control

El control de la infestación en áreas enzoóticas se logra también por medio de la

premunización artificial de los animales jóvenes o recientemente introducidos al rebaño.

Aunque la infección resultante de la premunización puede ser controlada con fármacos antibabesiales. Este método no es del todo seguro, en particular en los animales viejos más susceptibles. Una estrategia eficaz para el control de la Babesiosis depende de controlar las garrapatas vectores, con acaricidas en los baños por inmersión, rociados generales o rociados a mano (Gibbons, 1970).

#### 2.6.15 Resistencia e inmunidad a la babesiosis

La babesiosis bovina es una enfermedad causada por diferentes parásitos del género *Babesia*. Sus especies más importantes son: La *Babesia bigemina* y la *Babesia bovis* las cuales son comunes en los países cálidos. Ambos dependen estrictamente de las garrapatas para su transmisión; la familia ixodidae es la implicada en este proceso y el género más importante es el *Boophilus* spp. (Otte, 1992)

El curso y el grado de severidad de la babesiosis depende de la virulencia del agente infectante, la cual puede variar considerablemente de una cepa a otra y la dosis de exposición (Mahoney, et. al., 1979); pero también de la edad y del grado de susceptibilidad de los huéspedes. Usualmente no se presentan casos de babesiosis aguda en áreas enzooticas con poblaciones estables de garrapatas (Joyner, Donnelly, 1979), ya que los terneros están protegidos inicialmente por anticuerpos maternos (Hall, 1963) que luego son reemplazados gradualmente por inmunidad adquirida. Ross y Loehr, 1970, encontraron que los anticuerpos calostrales de *B. bigemina*, demostrados por la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes (IFAT), persistieron durante 110 días; pero Berry, et., al., 1981, observaron que los anticuerpos maternos para *B. bovis* se reducían al mínimo ya en el transcurso de 38 días, cuando los títulos empezaron a subir nuevamente, probablemente debido a las infecciones naturales adquiridas en este lapso de tiempo.

Repetidamente se ha expresado que los terneros, independientemente de si han recibido calostro o no, son menos susceptibles que los bovinos de mayor edad, o completamente refractarios a las infecciones por babesia hasta la edad de 7 a 9 meses (Callow y Dalgllesh, 1982). Trueman y Blicht, 1978, llamaron a este fenómeno "resistencia natural"; mientras que Callow y Dalgllesh (1982), usaron el término "inmunidad inespecifica". Este fenómeno es



considerado un factor epidemiológico importante. Según Levy, et. al., 1992, se debe a dos elementos diferentes: Un factor eritrocítico basado posiblemente en la estructura de la hemoglobina fetal, que dura solamente un corto periodo, y un factor sérico de más larga duración. Este proporciona suficiente protección como para evitar una enfermedad severa, más no una infección que luego induce inmunidad activa.

Después de una infección con B. bovis, una reinfección con cepas homologas puede generar inmunidad por periodos hasta de 4 años.. Los bovinos infectados pueden permanecer portadores del parásito durante años, a pesar de ser sólidamente inmunes. Las parasitemias que ocurren en ocasiones durante este periodo, pueden tener conexión con reapariciones de enfermedades agudas y se deben probablemente a diferencias en la estructura del antígeno del nuevo parásito que invade. (Curnow, 1978; Young, 1988)

En general se ha observado que las razas Bos indicus son menos susceptibles a las infecciones con babesia, este se debe a un nivel más alto de resistencia a la garrapata en estos animales ya que las tasas de infestación con garrapatas aumentan exponencialmente a medida que decrecen los genes de Bos indicus en los hatos. (Boone, 1988; Daly y Hall, 1955; Utechy Wharton, 1982; Miller et. al., 1984; Okelly y Splers, 1978)

## 2.7. Vectores

Se considera vector todo organismo capaz de transmitir el agente causal de una enfermedad. Para la babesiosis se considera como vector universal, a la garrapata, debido a que en ella se desarrolla parte del ciclo biológico de la babesia que sufre una multiplicación en las glándulas salivales. Luego se alimentan con la sangre del Bovino, los esporozoitos de la saliva de la garrapata pasan al mamífero, (Price, 1973).

En la mayoría de regiones tropicales y sub - tropicales el parásito del ganado vacuno B. bovis es transmitido por garrapatas del género Boophilus.

En El Salvador la identificación de especies de garrapatas, han resultado que la garrapata prevaleciente para el país es Boophilus microplus. (Silva, 1977)

## 2.7.1 Descripción de la garrapata

### 2.7.1.1. Ubicación taxonómica

Las garrapatas se encuentran en el phylum artrópoda, clase arácnida y más estrechamente relacionada con el orden acarina, el cual está dividido en dos familias ixodidae o garrapatas duras, que poseen un escudo duro y son un serio problema en el mundo y las argacidae o garrapatas blandas que carecen de escudo, las cuales tienen también una distribución mundial. (Lapage, 1971)

Phylum : Artrópoda

Clase : Arácnida

Orden : Acarina

Sub - orden : Oxidoidea (garrapatas)

Familias : 1. Ixodidae (garrapatas duras); 2. Argacidae (garrapatas blandas).

- Género de garrapatas :

Amblyoma                      Rhipicepalus                      Boophilus

Anacentor                      Dermacentor                      Ornithodoros

Hyaloma                      Othobius                      Ixodides

- Especies (ejemplos): Boophilus micropplus (Garrapata bovina tropical).

Othobius megnini (garrapatas espinosa de la oreja)

(Lapage, 1971)

## 2.7.2. Reproducción de la garrapata del género Boophilus

La garrapata posee los dos sexos definidos los cuales tienen su aparato reproductor bien desarrollado, se alimentan y aparean en el mamífero huésped; las hembras lo hacen con varios machos y éste generalmente se aparean con una o más hembras y luego muere.

La garrapata hembra se llena de sangre, se desprende del huésped permanece durante un corto período de tiempo inactiva y luego inicia la postura de huevecillos, la cual puede ovopositar de 2000 a 10,000 huevos, según la especie, aunque no todos eclosionan y muchos recién nacidos mueren. Gran número alcanza la madurez sexual e inicia un nuevo ciclo biológico. (Bayes, sf.)



### 2.7.3. Ciclo de vida de la garrapata

Las garrapatas tienen cuatro fases en su ciclo de vida; Huevo, larva, ninfa y adultos; la transición de una fase a otra se efectúa mediante una o varias mudas, es decir, el desprendimiento del exoesqueleto.

Los huevos no eclosionan si están constantemente expuestos a la humedad o a temperaturas bajas; las temperaturas altas favorecen una eclosión rápida, siempre que la humedad sea adecuada para prevenir el desecamiento.

Las larvas sólo tienen 3 pares de patas y son sumamente ágiles, tienen mínima dentición en el hipostoma y carecen de espiráculos (respiran a través de la piel), sus posibilidades de adherirse a un huésped son precarias lo cual se les impone prolongados ayunos pero a pesar de la tolerancia del ayuno, es muy alto el porcentaje de larva que no llegan a sobrevivir.

La ninfa tiene 8 patas iguales que el adulto; pero carece de orificio genital. En el adulto el sexo se puede diferenciar puesto que la garrapata hembra difiere del macho porque tiene pequeño el escudo. De acuerdo al número de hospederos que parasitan, las garrapatas se clasifican de 1 a 3 huéspedes. (Lapage, 1971)(Fig. 2)

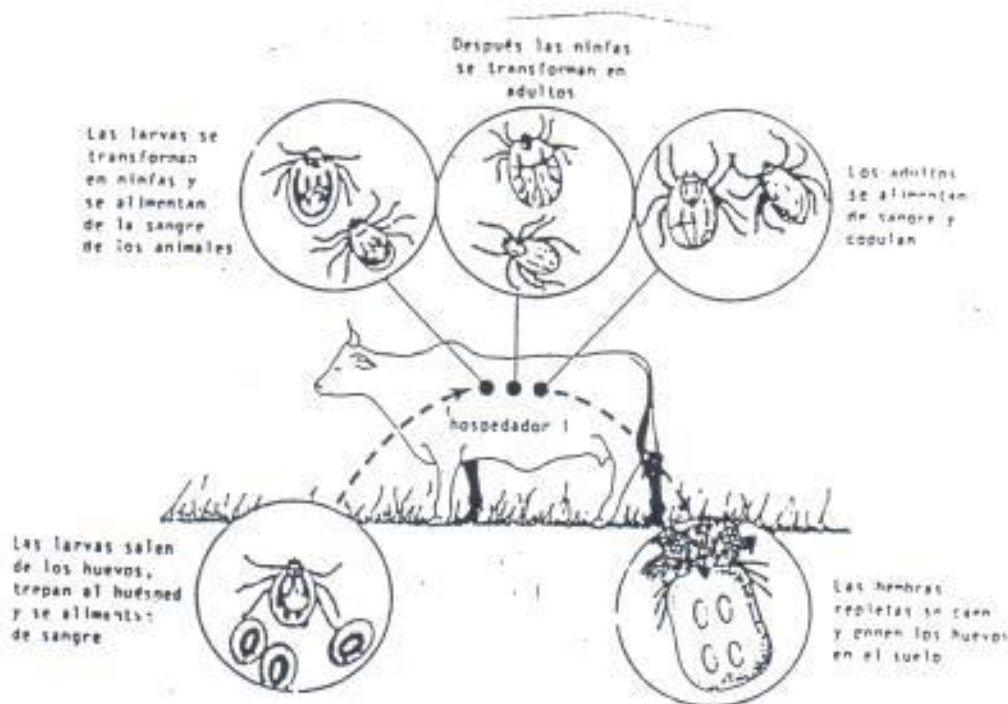


Fig. 2. Ciclo biológico de la garrapata de un solo huésped Boophylus microplus.

## 2.8. La sangre

### 2.8.1. Generalidades de la sangre.

La sangre es un líquido viscoso de color rojo escarlata, localizado en el sistema circulatorio del organismo animal, es decir, el corazón, las arterias, las venas y los capilares (Frandsen, 1965; Nasson, 1985).

### 2.8.2. Funciones de la sangre

Las principales funciones de la sangre son: La oxigenación de los tejidos, defensa contra las enfermedades, el transporte de nutrientes, eliminación de dióxido de carbono metabólico y mantiene el equilibrio térmico del cuerpo (Frandsen 1963; MERCK, 1993).

### 2.8.3 Elementos celulares de la sangre

Lo mismo que los tejidos, la sangre consta de células y de un material intercelular llamado plasma que es un líquido que mantiene las células separadas y libres para moverse dentro del sistema vascular.

Los componentes celulares de la sangre que son porciones sólidas de los mismos comprenden : Glóbulos rojos o eritrocitos, glóbulos blancos o leucocitos y plaquetas que sirven como mecanismo de defensa al organismo y se hallan en suspensión en una porción líquida de la sangre, llamado plasma y su número y proporción varía según la especie animal (Frandsen, 1965; MERCK, 1993).

#### 2.8.3.1 Eritrocitos

Los eritrocitos son elementos con diámetro de 6 - 7.34 micras especializadas en el transporte de oxígeno. La destrucción de los glóbulos rojos ocurren después de 3 - 4 meses de estar en circulación y forma pigmentos biliares como bilirrubina y biliverdina (Frandsen, 1965; MERCK, 1993).

#### 2.8.3.2 Plaquetas

Son fragmentos de protoplasma encontrados en la sangre, los cuales tienen menos de la mitad del tamaño de un eritrocito y son más numerosos que los leucocitos, son agentes

importantes en la coagulación sanguínea (Frandsen, 1965; MERCK, 1993; Nason, 1985).

### 2.8.3.3 Leucocitos

Los leucocitos son mucho menos numerosos que los eritrocitos, todos son células completamente formados y nucleados y ninguno tiene vida larga. Son producidos en la médula ósea, el bazo y otros tejidos linfoides. Su cifra aumenta en muchas enfermedades; al reconocer cual variante en particular está aumentada, suele relevarse la indole de la enfermedad.

Los leucocitos constituyen un sistema de defensa del organismo y sus concentraciones son variables según las especies, su aumento se denomina leucosis y su disminución leucopenia (Frandsen, 1965; MERCK, 1993; Nason, 1985).

Los leucocitos están formados por : Granulocitos y Agranulocitos. Los granulocitos están formados por neutrófilos, esinófilos, basófilos y los agranulocitos por monocitos y linfocitos, los cuales constituyen el sistema de defensa (Frandsen, 1965; MERCK, 1993).

#### 2.8.3.3.1. Granulocitos

Estos se distinguen por la afinidad de sus gránulos por colorantes neutros, básicos y ácidos y presentan un núcleo poliforme. (Frandsen, 1984; MERCK, 1993; Morilla, 1989)

##### a) Neutrófilos

Forman la primera línea de defensa contra las infecciones por su facultad de trasladarse activamente a las zonas invadidas por las bacterias, incluso a través de las paredes vasculares y luego con englobamiento de los agentes bacterianos. (Frandsen, 1984; MERCK, 1993)

##### b) Esinófilo

Estas células que en condiciones normales están en cantidad exiguas, se ha demostrado que aumentan en ciertas afecciones crónicas, como en las infecciones parasitarias (Frandsen, 1984; MERCK, 1993; Nason, 1985)



#### c) Basófilo

Son escasos en la sangre porque contienen heparina que es liberada en áreas de inflamación para prevenir la coagulación y estasis de la sangre y linfa (Frandsen, 1984; MERCK, 1993; Nason, 1985).

#### 2.8.3.3.2. Agronulocitos

No poseen casi ninguna granulación en el protoplasma, constituyen este grupo los monocitos originados en los ganglios linfáticos y el bazo y los linfocitos que se originan en toda clase de tejido linfoide como ganglio, bazo, amígdalas y posiblemente en el timo (Frandsen 1984; MERCK, 1993; Morilla, 1989).

#### a) Monocitos

Son los mayores glóbulos blancos, de forma más o menos redondeada que se colorean con giemsa de azul intenso y parenquina celeste claro sin granulaciones aparentes.

Tienen la propiedad de fagocitar como los neutrófilos, ésto es, englobar toda materia extraña aún bacterias, actúan sobre agentes formadores de pus (bacterias piógenas) y contra infecciones menos agudas como la tuberculosis. Al trasladarse a los tejidos los monocitos se convierten en grandes fagocitos llamados macrófagos (Frandsen, 1984, MERCK, 1993; Morilla, 1989).

#### b) Linfocitos

Son de tamaño y aspecto variable, con núcleo relativamente grande rodeado de una pequeña cantidad de citoplasma. Su función principal es la defensa contra las enfermedades locales y la formación de anticuerpos para el fenómeno de la inmunidad (Frandsen, 1984; MERCK, 1993).

#### 2.8.3.4. El plasma

El plasma es un líquido acuoso que se coagula fuera de los vasos sanguíneos en el que se halla disuelta albúmina, globulina, grasas, sales minerales. Las globulinas es la fracción relacionada con la inmunidad y la resistencia a las enfermedades, aumenta después de la

vacunación y durante la convalecencia de una enfermedad infecciosa. Las albúminas con las globulinas son las más importantes, ya que regulan el intercambio de líquidos y nutrientes con los tejidos adyacentes (presión oncótica).

El plasma está compuesto de un 90% de agua y 10% de sólidos, de este último el 7% corresponden a las proteínas y el 0.9% a la materia inorgánica no protéica (Frandsen, 1984; MERCK, 1993; Nason, 1985).

#### 2.8.3.5. El suero

Es el plasma menos el fibrinógeno y la mayor parte de los factores de la coagulación, contiene los anticuerpos formados por el animal, el cual es utilizado para pruebas de diagnóstico. (Frandsen, 1984; MERCK, 1993; Nason, 1985; Morilla, 1989).

### 2.9. Papel de la sangre y tejidos, relacionados con inmunidad, alergia o defensa contra enfermedades

El cuerpo de los animales pluricelulares superiores posee varios medios de defensa contra agentes nocivos del ambiente. Las barreras físicas del cuerpo como primera línea de defensa incluyen la piel y otras cubiertas membranosas; una vez que estas barreras físicas han sido atravesadas, entra en juego la segunda línea de defensa, constituida en su mayor parte por los glóbulos blancos. Estas células están ampliamente distribuidas en todo el cuerpo, encontrándose en la médula ósea, ganglios linfáticos, pulmón, bazo, hígado y tejido conectivo laxo. Algunos macrófagos son emigrantes, mientras otros son estacionarios. Los glóbulos blancos, protegen en dos formas, contra organismos patógenos: Por fagocitosis y produce sustancias protéicas específicas llamadas anticuerpos, en respuesta a la introducción de microorganismos y otros materiales extraños biológicos conocidos como antígenos, en este último caso confiere la importante característica de resistencia específica o inmunidad. (Nason, 1985)

#### 2.9.1. Naturaleza de antígenos y anticuerpos

Un antígeno es cualquier sustancia capaz de inducir la producción de anticuerpos específicos. (Nason, 1985; Morilla, 1989) La mayoría de antígenos (Ags) completos son



proteínas pero algunos son polisacáridos o polipéptidos. La mayor parte de los antígenos son macromoléculas con peso molecular mayor de 10,000. Para funcionar como antígenos, las sustancias deben ser reconocidas primero como "extrañas" o "no propias", por algún animal, ya que en general, estos no producen antígenos contra sus propias proteínas.

Determinantes antigénicos son aquellas porciones de moléculas antigénicas que determinan la especificidad de las reacciones Ag - Ab.

Anticuerpo (Abs) son proteínas formadas como respuesta a un antígeno en el que reaccionan específicamente o con uno inmunológicamente relacionado.

Solamente los vertebrados sintetizan anticuerpos, y su comportamiento depende hasta cierto punto de la clase de inmunoglobulinas a las cuales pertenecen (Nason, 1985; Morilla, 1989; Bautista, 1986; Morilla, 1989).

### 2.9.2. Formación de anticuerpos

En la actualidad la teoría de la selección clonal sostiene que una célula inmunitariamente activa puede responder sólo a un antígeno o grupo íntimamente relacionado de antígenos, cada individuo está dotado con una variedad grande de linfocitos, cada uno con la capacidad para responder a antígenos diferentes.

Cuando el antígeno penetra al cuerpo, selecciona mediante un receptor de superficie al linfocito que está más capacitado. El antígeno se fija a este receptor y la célula es estimulada a proliferar y formar un clon de células, en esta forma las células B se diferencian rápidamente en células plasmáticas y secretan anticuerpos el cual será específico para el antígeno que sirvió como el agente seleccionado original (o el grupo muy semejante de anticuerpos).

Parece ser que cada célula productora de anticuerpo, fabrica sólo un tipo de inmunoglobulinas y solamente un tipo de anticuerpo. Los receptores sobre la superficie de las células B son Igs específicas (Nason, 1983; Morilla, 1989; Bautista, 1986).

### 2.9.3. Reacciones del antígeno con el anticuerpo

#### 2.9.3.1 Respuesta primaria

Cuando un animal o humano es inyectado con un antígeno y si éste representa el primer contacto con el mismo, hay una elevación detectable de anticuerpos en el suero varios días



después, la cual depende de la vía de administración, de la dosis y naturaleza del antígeno. La concentración de anticuerpos asciende hasta un máximo en los primeros 60 días, y después desciende a niveles no detectables (Nason, 1985; Morilla, 1989; Jawetz, 1974).

#### 2.9.3.2. Respuesta secundaria

Cuando se inyecta un animal con el mismo antígeno, semanas, meses e inclusive años después de que las cifras de anticuerpos primarios hayan desaparecido, se da una respuesta rápida de anticuerpos a niveles e intervalos mayores que los obtenidos durante la respuesta primaria. Esto probablemente se basa en la persistencia de un número abundante de células "memorizantes" sensibles al antígeno específico, que quedaron después del contacto inicial con el antígeno. La memoria para la respuesta antigénica secundaria reside en las células B.

Una respuesta secundaria puede ser obtenida con algún antígeno que sea similar al que desencadenó la respuesta primaria en dicho individuo. Este fenómeno constituye una técnica útil que puede emplearse en enfermedades infecciosas provocadas por agentes antigénicamente relacionadas, aunque no idénticos (Nason, 1985; Morilla, 1989; Jawetz, 1974)

#### 2.9.4. Especificidad antigénica

Las reacciones de los antígenos con los anticuerpos son altamente específicas. Esto significa que un antígeno reaccionará solamente con anticuerpos desencadenados por su propia clase o por una antigénicamente similar. La mayoría de las sustancias antigénicas son especie específicas y algunas son inclusive hasta órgano - específicas dentro de la especie animal (Nason, 1985; Morilla, 1989; Jawetz, 1974).

### 2.10. Inmunidad

Se denomina inmunidad o resistencia a procesos fisiológicos que hacen capaz a un animal de reconocer sustancias, ya sean propias o extrañas y de eliminarlas o metabolizarlas y generan resistencia.

### 2.10.1. Clasificación de la inmunidad

#### 2.10.1.1. Inmunidad natural o innata

Comprende todas aquellas defensas inespecíficas, con las que cuenta un organismo en una forma espontánea; no depende de una previa exposición a un agente extraño y prevalece bajo cualquier circunstancia (Morilla, 1989).

#### 2.10.1.2. Inmunidad adquirida

Depende de la exposición previa del organismo a un agente extraño y del subsecuente reconocimiento y respuesta hacia este. Se caracteriza por ser inducible, específica, transferible y por tener memoria, son estos atributos la base de la inmunización, seroterapia, inmunoterapia y el diagnóstico serológico.

La inmunidad adquirida puede ser : Natural activa, natural pasiva, artificial activa y artificial pasiva. (Morilla, 1989)

##### a) Inmunidad adquirida natural activa

Puede ser temporal o duradera, y ocurre después que el individuo sufrió una infección.

##### b) Inmunidad adquirida natural pasiva

Es temporal y se refiere al paso de anticuerpos de la madre al producto, a través del huevo, placenta, calostro y la leche. (Morilla, 1985)

##### c) Inmunidad adquirida artificial activa

Es variable en su duración y ocurre después de la inmunización, ya sea con vacunas, bacterinas o toxoides. (Morilla, 1985)

##### d) Inmunidad adquirida artificial pasiva

Es temporal y ocurre al aplicar suero hiperimmune en que los anticuerpos fueron formados en otro animal (Morilla, 1985).

## 2.11 Hematócrito

El hematócrito se define como el volumen de glóbulos rojos empaquetados por 100 ml. de sangre.

Por centrifugación la sangre se separa en tres capas bien claras:

- a) La masa eritrocítica en el fondo, denominada volumen globular (Vg).
- b) Una capa blanca o gris de leucocitos y trombocitos situada inmediatamente por encima de la masa de glóbulos rojos y que se denomina capa antiada o capa flogística.
- c) El plasma sanguíneo

Para la determinación del valor de hematócrito se puede realizar por 2 métodos:

1. Hematócrito: se necesita aproximadamente 1 ml. de sangre para llenar el tubo de hematócrito de Wintrobe y una velocidad de centrifugación de 3000 rpm por un periodo de 45 minutos; la lectura se realiza a través de la escala que posee el tubo, a la izquierda que se ve de arriba hacia el fondo y la de la derecha a la inversa.

2. Microhematócrito: este método necesita 0.05 ml. de sangre aproximadamente para llenar el tubo capilar. Los capilares pueden obtenerse con anticoagulante en su interior para llenarlos directamente al puncionar la vena, o tubos capilares simples para emplearlos con sangre recogida en un frasco de la manera habitual, el capilar cerrado se centrifuga a 1,100 rpm. durante 5 minutos y posteriormente se mide con ayuda de un instrumento de lectura (el plato de Prunmond). (Schalm, 1964) (A-1)

### 2.11.1. Ventajas del microhematócrito sobre el hematócrito.

- a) Valores de volumen globular más exactos y constantes.
- b) El tiempo necesario para todo el procedimiento es inferior a 5 minutos.
- c) La cantidad de sangre requerida es mínima.

## 2.12. Prueba inmuno enzimática

El análisis inmunoenzimático (AIE), en la actualidad constituye una de las pruebas más importantes en el campo biomédico, parece tener un gran potencial para ser utilizado en gran



escala en patología clínica veterinaria. El AIE combina las ventajas de la inmunofluorescencia (IF) y el radio inmunoanálisis (RIA), y presenta pocos problemas semejantes a los que se encuentran en las técnicas antes mencionadas (A-2). Actualmente existen dos tipos de análisis: a) El AIE heterogéneo, donde al antígeno o el anticuerpo conjugado, con la enzima es separado del complejo enzima - antígeno - anticuerpo, antes de medir la actividad enzimática; y b) el AIE homogéneo, en el cual la actividad enzimática del antígeno marcador es medida de presencia del complejo antígeno - anticuerpo, en ambos casos es posible medir antígeno o anticuerpo (FAO-AIEA, 1993).

La forma más simple de la prueba utilizada es así llamada SANDWICH ELISA, una prueba indirecta no competitiva en el cual el antígeno es esparcido en una bandeja de microtitulación, se incuba primero con el anticuerpo de la prueba y luego con el anticuerpo marcado con la enzima (conjugada), finalmente los complejos enzimáticos unidos se hacen sensibles a través de una reacción enzima sustrato. Luego la placa es leída con un fotómetro y filtrómetro adecuado (Kenmeny, 1988). (A-9)

#### 2.12.1 Fundamentos y procedimientos esenciales de ELISA.

Los ensayos inmunoenzimáticos, categoría a la cual pertenecen la prueba de ELISA, se fundamenta en dos fenómenos biológicos :

- a) La capacidad discriminante extraordinaria de los anticuerpos específicos del sistema inmune.
- b) La alta potencia catalítica y la especificidad de las enzimas, la mayoría de las cuales son relativamente fáciles de demostrar.

La técnica de diagnóstico originada por lo tanto es una prueba de dos pasos compuesta de :

- a) Una acción inmune entre antígenos y anticuerpos
- b) Su demostración óptica a través de enzimas marcadas a esta reacción.  
(Kenmeny, 1988).

### 2.12.2 Lectura de ELISA

Cuando los resultados de ELISA se basan en algunas diluciones o títulos, el punto final puede leerse visualmente; pero cuando las reacciones están basados sólo en una dilución, la lectura se hará en espectrofotometría. El resultado puede darse de la siguiente manera:

a) Cualitativos o semicualitativos: positivo o negativo. Este método es fácil de entender, aunque tiene el inconveniente de ser las lecturas visuales subjetivas.

b) Reporte basado en titulación. En este caso el antisuero se diluye al título de punto final, y se reporta.

c) Reporte del porcentaje sobre un valor de referencia. Se basa en la selección de un grupo de individuos considerados como normales de una población que son analizados para un anticuerpo específico. Se prepara una distribución de frecuencia de estos datos y se porcentúa cada frecuencia; se traza una curva de valores de absorbancia contra porcentaje y la observancia del suero problema. Se compara con esta curva para determinar el porcentaje de positividad en que se encuentra la muestra (Bautista, 1986).

### 2.12.3 Sensibilidad y especificidad de ELISA

Si una prueba perfecta se desarrolla, todos los animales infectados resultaren positivos (100% de sensibilidad) y todos los no infectados deberán resultar negativos (100% especificidad)

La sensibilidad (Tasa de positivos verdaderos) de una prueba determinada, se define, como el grado de probabilidad de que un animal infectado reaccione positivamente al realizar la prueba. La especificidad (Tasa de negativos verdaderos) es la expresión del grado de probabilidad de que un animal no infectado reaccione negativamente. De esto se desprende que en una prueba con un bajo grado de sensibilidad, la probabilidad de reacciones falsas negativas es alta, mientras que una prueba con un bajo grado de especificidad produce porcentajes correspondientemente altos de reacciones falsas positivas. Los resultados negativos son mas confiable en pruebas con alta sensibilidad, las pruebas altamente específicas aportan resultados positivos más confiables.

La prueba de ELISA tiene la capacidad de reconocer niveles bajos de anticuerpos con



una alta sensibilidad de 99% y con una especificidad de 96.2%. (Otte, 1992; Bautista, 1986)

#### 2.12.4. Ventajas de ELISA

- Alto Grado de objetividad
- Reactivos estables y durables
- Simplicidad de manejar aún grandes cantidades de muestras.
- La disponibilidad comercial de una gran variedad de conjugados y enzimas.
- Bajos riesgos de salud para el personal que lo ejecuta
- Relativamente poco gasto en materiales y reactivos.

#### 2.12.5. Desventajas

- Requieren una inversión alta, la cual depende del tipo de equipo que se seleccione (Bautista, 1986).

### 2.13. Investigaciones sobre B. bovis en Latinoamérica

En Brasil, la babesiosis es considerada endémica en el Estado de Minas Gerais, a tasas de prevalencia de 79.04% para B. bigemina y de 52.53% para B. bovis (Salcedo, et. al., 1987).

En Santa Lucía, Argentina (Hugh - Jones, et. al., 1988), encontraron tasas de prevalencia de 68% para B. bigemina y 56% para B. bovis, según estimativos de veterinarios el 1.5% de las pérdidas por muerte en hatos productores de leche, es ocasionado por B. bovis (Speath, et. al., 1988).

En México, se realizaron investigaciones epidemiológicas en 190 animales de cinco hatos, se utilizó las pruebas IFAT y aglutinación en tarjeta por un período de diez meses. Se observaron cuatro seroconversiones para B. bovis entre mayo y septiembre; las seroconversiones de B. bigemina fueron más frecuentes y su distribución fue uniforme, durante todo el período de la investigación. (Teclaw, et. al., 1985)

En Venezuela, se examinaron dos grupos de terneros, uno de los cuales era Bos taurus y el otro Bos indicus, por lo regular hasta su séptimo mes de vida, encontraron que los terneros se infectaban entre el tercer y el cuarto mes con B. bovis, B. bigemina y A. marginale. No se presentaron diferencias significativas entre las razas (James, et. al., 1985).



En Bolivia se demostró mediante la prueba IFAT la presencia de anticuerpos maternos para B. bovis en 18 terneros hasta su quinta semana de vida. A partir de este punto, los títulos empezaron a incrementarse, lo cual según los autores se debió a infección natural (Berry, et. al., 1981).

Se informa que la ocurrencia de las infecciones con B. bovis es más frecuente en El Salvador, Bolivia y Guayana, que en Colombia, Venezuela y México.

En El Salvador, se examinaron regularmente 50 terneros de cuatro hatos, hasta los 12 meses de edad. La mayoría de los animales se infectó hasta el séptimo mes de vida con B. bovis, B. bigemina y A. marginale. (Payne, et. al., 1982)

De una población de 3,000 bovinos se muestrearon 425, se tomó en cuenta el sexo y edad en las cuatro zonas del territorio salvadoreño; se encontró una prevalencia estimada de anticuerpos contra B. bovis de 60.7% (Silva, 1992).

El diagnóstico preliminar en salud animal específicamente en el área centro costera de la República de El Salvador, reporta que los anticuerpos contra B. bovis, se encuentran elevados en un 86%, lo que permite afirmar que los bovinos están protegidos contra el hemoparásito. (DGSVA, 1994)

Se estudiaron en la provincia de Córdoba, Argentina, las infecciones con Babesia en 120 vacas con sus terneros; Estos contrajeron infecciones con B. bigemina entre la semana 2 y 24 de nacidos; pero sólo se detectaron seis parasitemias de B. bovis. Ninguno de los terneros mostró síntomas clínicos de enfermedad (Corrier y Guzmán, 1977).

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Generalidades

##### Ubicación geográfica

La investigación se llevó a cabo en cuatro Cooperativas del Departamento de La Paz; Cooperativa Agropecuaria Nilo I y Nilo II, ubicadas en el Cantón San Antonio Las Tablas, jurisdicción de Zacatecoluca, cuyas coordenadas geográficas son : 13°26'08" latitud Norte y 88°52'22" longitud oeste, con una elevación de 12 msnm; Cooperativa Santa Clara y Santo Tomás, localizadas en el Cantón Tecualuya, Jurisdicción de San Luis Talpa, con 13°27'51" latitud norte y 89°05'58" longitud oeste, con una elevación de 50 msnm.

CUADRO 1 Datos climáticos de las cooperativas

Cooperativa	Precip. x al año (mm)	T° max. (°C)	T° min. (°C)	(%) H.R.
Nilo I	3149	34	26.8	73
Nilo II	3149	34	26.8	74.3
Santa Clara	3779	30	27.0	80.7
Santo Tomás	3779	30	27.0	80.7

FUENTE : Almanaque Salvadoreño, 1990.

La fase de laboratorio se desarrolló en el Laboratorio Central de Patología Animal de la Dirección de Sanidad Animal y Vegetal del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), ubicado en el Cantón El Matazano, Municipio de Soyapango, Departamento de San Salvador. (DICCIONARIO GEOGRAFICO, EL SALVADOR, 1967).

##### Duración de la investigación

La investigación se llevó a cabo durante los meses de noviembre de 1996 a mayo 1997, y constó de dos fases : Una de recolección de muestras y la otra de laboratorio.

### 3.2. Tipos de explotación

Las cooperativas donde se realizó el estudio, su característica principal es de poseer animales de doble propósito y animales con aptitud lechera, los cuales poseen una genética predominante Brahman/ Brown Swiss.

Para el desarrollo del estudio sólo se consideró los animales con aptitud lechera (hembras), a los que se les realizó la estratificación de edades.

#### 3.2.1. Caracterización de las cooperativas

Las cooperativas se caracterizaron de acuerdo a su manejo, alimentación, estratificación de edades, razas y cantidad total de animales que poseen (A-3).

### 3.3. Metodología estadística

Para efectos del estudio los animales se dividieron en 4 estratos, 0-6 meses de edad, 7-12 meses de edad, 13-23 meses de edad y de mayores de 24 meses de edad, el muestreo estadístico utilizado fue estratificado al azar en base al número de animales presentes en cada estrato.

#### 3.3.1. Tamaño de la muestra

Cada bovino seleccionado se consideró una muestra y para el desarrollo de la investigación se utilizaron 271, sueros sanguíneos en base a las edades; así, 28 para el estrato 0-6; 32 para el de 7-12; 40 para 13-23; 171 para 24 a mayor edad. En total fueron 73 muestras de animales de la Cooperativa Nilo I; 43 muestras de la Cooperativa Nilo II; 63 muestras de la Cooperativa Santa Clara y 92 muestras de la Cooperativa Santo Tomás. (Cuadro A-5)

##### 3.3.1.1. Cálculo del tamaño de la muestra

La determinación del número de bovinos a muestrear en cada cooperativa, se realizó de la siguiente manera (A-5).

- Cálculo del tamaño de la muestra para estimar la prevalencia.

$$n = \frac{N Z^2}{N^2 d^2 + Z^2} \frac{N_e P_e Q_e}{N_e P_e Q_e}$$



Donde :

- n = Tamaño de muestra
- N = Tamaño de la población
- Ne= Número de elementos en el estrato "e"
- Pe= Prevalencia estimada en el estrato "e"
- Qe=  $1 - Pe$
- d = Precisión deseada
- Z = Valor crítico de tablas de la distribución normal estandar. Asignación de la muestra proporcional al estrato, la fracción de muestreo y el tamaño de la población.

El cálculo de este factores es importante para estimar el tamaño de la muestra para el estrato. De esta manera se obtiene la siguiente expresión :

$$n_e = \frac{N_e \times n}{N}$$

Donde:

- $n_e$  = Tamaño de muestra del estrato "e"
- n = Tamaño de muestra total
- $N_e$  = Tamaño del estrato "e"
- N = Población total

La prevalencia del estrato "e" se calculó con la siguiente expresión :

$$P_e = \frac{a_e}{n_e}$$

Donde :

- $a_e$  = Número de individuos que poseen atributo medio.
- $n_e$  = Tamaño de la muestra en el estrato "e"
- $P_e$  = Prevalencia en el estrato "e"

### 3.3.2. Prevalencia de la muestra

Se calcula por :

$$P_m = \frac{nePe}{n}$$

Donde :       $ne$  = Tamaño de la muestra en el estrato "e"

$Pe$  = Prevalencia en el estrato "e"

$n$  = Tamaño de la muestra total

Estimación de la prevalencia de la población

$$P = \frac{NePe}{N}$$

Donde :       $Ne$  = Tamaño del estrato "e"

$N$  = Tamaño de la población

$Pe$  = Prevalencia en el estrato "e"

$P$  = Prevalencia de la población

(Segura, et. al., 1993).

### 3.4. Metodología de campo

Seleccionadas las cooperativas se procedió a la asignación de los días de las visitas a cada una de las cooperativas, para obtener las muestras sanguíneas de los animales.

#### 3.4.1. Materiales y equipo

- |                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| - Papel toalla, algodón, alcohol  | - Marcador para identificar los animales |
| - Tubos y agujas Vacutainer       | - Hielera                                |
| - Gradilla para colocar los tubos | - Jeringas con agujas                    |
| - Narigón                         | - Lazos.                                 |

### 3.4.2. Toma de muestra

Procedimiento :

- Se llevan los bovinos a una manga de manejo o a un lugar donde se puedan inmovilizar.
- Seleccionar bovinos al azar
- Identificar al bovino tomando en cuenta sus datos de registro
- Identificar tubo por animal.
- Desinfectar la zona a sangrar con alcohol
- Extracción de muestra de 8-10 cc. de sangre por punsión en la vena yugular sin anticoagulante para la prueba de ELISA y con anticoagulante para determinar hematócrito. (A-6)
- Colocar los tubos con sangre en la gradilla.
- Transportar las muestras de sangre al Laboratorio Central de Patología Veterinaria de la Dirección General de Sanidad Vegetal y Animal, del MAG.

### 3.5. Metodología de laboratorio

Una vez las muestras en el laboratorio, se procede a registrarlas cada una de ellas y asignarle el análisis a realizarse.

#### 3.5.1 Hematócrito

Obtenida la muestra de sangre con anticoagulante previamente identificada se procede a llenar un tercio del tubo capilar sellándose un extremo con plastilina y se centrifuga a 1100 RPM y luego se procede a la lectura en un plato Prummond. (Schalm, 1964)

##### 3.5.1.1. Material y equipo

- Material
  - Tubo capilar
  - EDTA (anticoagulante)
  - Algodón
  - Plastilina
- Equipo
  - Microcentrífuga
  - Plato lector de microhematócrito



### 3.5.2. Procedimiento

- Se llena el tubo capilar con sangre y sellar en un extremo.
- Se ubica en el plato del microhematócrito y se centrifuga a 1,100 RPM por cinco minutos.
- Realizar la lectura lo más rápidamente posible, luego de la centrifugación.

### 3.5.3. Interpretación

Los animales que presentaron rangos de hematócrito de 24 a 46% de glóbulos rojos empaquetados se consideraron normales y pueden con valores menores presentar cuadros anémicos. (Schalm, 1964).

## 3.6. Prueba inmunoenzimática (ELISA)

Obtenida la muestra sanguínea se procede a centrifugarla por 10 minutos para la obtención del suero sanguíneo; luego el antígeno es fijado en una microplaca. La placa con el antígeno absorbido es lavada tres veces con buffer, seguidamente los sueros controles y los problemas acondicionados a cada uno de los 96 pozos e incubados a más de 37°C con agitación constante por un periodo de una hora.

Una vez finalizada la incubación de los sueros la placa es lavada inmediatamente y adicionando el conjugado e incubado por una hora a 37°C y con agitación constante.

Luego se procede a lavar las placas de la misma manera que los pasos anteriores y el sustrato cromógeno es adicionado y colocado con agitación constante a 37°C por un tiempo de 15 minutos, al final se desarrolla color, se detiene la reacción y la placa es leída con un filtro de 492 nm. (A-4) (FAO/AIEA, 1993)

### 3.6.1. Materiales y equipo

#### 3.6.1.1. Materiales

- Micropipetes multicanal, de 5-50 y de 50-200 microlitros.
- Micropipeta individual de 5-50, 50-200 y de 200-1000 microlitros.
- Microplacas dep Polisorp
- Crio viales de nalgeno

- Papel absorbente
- Marcador indeleble
- Puntas para micropipetas
- Cristalería de laboratorio

### 3.6.1.2. Equipo

- Refrigerador
- Congelador
- Agitador
- Incubadora
- Centrifuga
- Computadora
- Cronómetro
- Agitador de microplacas
- Sistema de purificación de agua
- Medidor de pH
- Sistema de lavado de microplacas
- Programa de computación (BAELISA)
- Filtro de 492 nm.
- Multiskan o lector de microplacas

### 3.6.2. Reactivos y soluciones

- Antígeno (Oxi-hemoglobina libre)
- Sueros controles :
 

C++	=	Positivo fuerte
C+	=	Positivo débil
C-	=	Negativo
Cc	=	Conjugado (Buffer dilución)
- Conjugado Mono clonal (Horseradish peroxidase (HRP) Conjugated Mouse mab anti-bovine Ig (T))
- Buffer de pegado (carbonato/bicarbonato)

- Buffer dilución de lavado (Buffer fosfato) o (PBS)
- Detergente bloqueador (Tween 20)
- Buffer sustrato (Citrato fosfato 0.05 M)
- Sustrato (peróxido de hidrógeno) 3%.
- Cromógeno (OPD - Ortho - phenylene diamine, Dihydrochloride)
- Agua destilada esteril y libre de pirógenos
- Solución de parado ( $H_2SO_4$ ) 2M

### 3.6.3. Procedimiento (A-4)

- Pegado del antígeno de *B. bovis*  
Adicionar 100 microlitros de antígeno (dilución 1:1000), a cada uno de los pozos de la microplaca, taparla y dejarla toda la noche a 4°C.
- Adición de sueros controles y muestras  
Lavar la placa 3 veces con buffer de lavado, invertir la placa y golpear suavemente sobre papel absorbente a fin de eliminar residuos de solución.  
Colocar en la placa pegada con antígeno, 100 microlitros de sueros controles y muestras (dilución 1:200). Como se indica en el protocolo. (Fig. 3)  
Incubar la microplaca con agitación constante por una hora a 37°C.

Fig. 3. Microplaca para muestras de sueros.

	Controles		Muestras de suero (en duplicado)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Cc	Cc	1	5								
B	Cc	Cc	1	5								
C	C++	C++	2	6								
D	C++	C++	2	6								
E	C+	C+	3									
F	C+	C+	3									
G	C-	C-	4									
H	C-	C-	4									

FUENTE: FAO/AIEA, 1993.



- Adición de conjugado (Inmunoglobulina marcada con una enzima)  
Lavar la placa 3 veces con buffer de lavado, como en el paso anterior.  
Colocar 100 microlitros de conjugado a toda la placa (dilución 1:22000)  
Incubar a 37°C con agitación constante por una hora.
- Adición del sustrato/cromógeno  
Lavar la placa 3 veces, asegurándose de eliminar toda la solución de lavado.  
Agregar a toda la placa, 100 microlitros de solución sustrato/cromógeno (OPD/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)  
Colocar la placa durante 15 minutos a 37°C y con agitación constante.
- Adición de solución de parado. (H<sub>2</sub>OSO<sub>4</sub>) 2M  
Depositar 100 microlitros de solución de parado a la placa con solución sustrato cromógeno, agitar a temperatura ambiente a fin de homogenizar la solución.
- Lectura de densidades ópticas.  
Realizar la lectura en el multiskan con un filtro de 492 nm. (Cuadro A-4)

NOTA: Todas las soluciones, controles y muestras deben estar a temperatura ambiente, antes de ser usadas.

#### 3.6.4. Descripción del método para el establecimiento del corte (Cutt off)

El establecimiento del cutt-off, corte que divide los valores negativos de los positivos en la prueba ELISA, se establece según normas de la Agencia Internacional de Energía Atómica (A.I.E.A.) Para lo cual se procedió a procesar 200 sueros de bovinos negativos y 200 sueros de bovinos positivos.

Los valores de densidad óptica (D.O.) de los sueros controles positivo fuerte (C++) que oscilaron entre 1.350 y 1.800 y los porcentajes de positividad (PP) del control positivo débil (C+), promedio entre 23-28% y del control negativo (C-), promedio entre 6-8%. Según la AIEA, el corte corresponde al doble del promedio de los negativos, en este caso el 14%.

En las pruebas efectuadas en el presente trabajo, el corte utilizado fue el referido por la AIEA de 12%, el cual se ha establecido para los Kits diagnósticos que la agencia envía al laboratorio a través de los programas de cooperación. (Silva et. al., 1992)

### 3.6.5. Interpretación

El resultado se obtiene por espectrofotometría en base a lecturas de densidades ópticas (OD), las cuales a través del programa BAELISA (IAEA), incorporada en el computador, son transformados automáticamente en porcentajes de positividad. Estos se comparan con el (cut off (corte)) previamente establecido, el cual es de 12%. Todos los valores iguales o mayores de 12% son resultados positivos y los menores que 12% son resultados negativos. (FAO-IAEA, 1993) (Fig. A-8)

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSION

Del análisis de los resultados se tiene que en los 271 animales investigados, 153 resultaron positivos a la prueba de ELISA, la que equivale a una prevalencia del 56.45% y 118 animales negativos (43.55%), lo que indica que más del 50% de los animales de la población han generado inmunidad.

La prevalencia anterior concuerda con la obtenida en el estudio realizado a nivel nacional por Silva, et. al. 1992, que de una población de 3,000 bovinos se extrajo una muestra de 425, se consideró el sexo y la edad, de la cual encontraron una prevalencia de B. bovis de 60.7%.

Del análisis particular, se observa que las cooperativas Santa Clara y Santo Tomás, presentan una prevalencia de anticuerpos contra B. bovis de 86% y 77% respectivamente. (Cuadro 2). Con valores normales de hematócrito de 29% y 28.53% (Cuadro 4); en cambio las cooperativas Nilo Y y Nilo II presentaron una prevalencia de 34.2% y 16% (Cuadro 2) relativamente menor en comparación con las cooperativas anteriores y valores normales de hematócrito de 32.12% y 25.59% respectivamente. (Cuadro 4)

Los valores menores de la prevalencia de anticuerpos para las cooperativas Nilo I y Nilo II, pueden deberse a que por su altura de 12 msnm permite que los niveles freáticos se encuentran más superficiales y los potreros permanecen inundados por un periodo mayor de tiempo, esto inside en el ciclo biológico de la garrapata, ya que la excesiva humedad interrumpe la eclosión de huevos, la eliminación de larvas y por ende una menor diseminación del hemoparásito (Cooper, 1974). Debido a estas circunstancias, los animales permanecen por más tiempo en jaulas cunas y estabulados en periodos de semi estabulación, lo que reduce las posibilidades de contacto con B. bovis; caso contrario ocurre en las cooperativas Santa Clara y Santo Tomás, las cuales se encuentran a una altura sobre el nivel de mar de 50 msnm, no presenta problemas de inundación, y permite condiciones de mayor estabilidad para el desarrollo de las garrapatas.

En los diferentes estratos de edades se puede observar en el cuadro 3 que el que presenta menor cantidad de anticuerpos contra B. bovis es el de 0-6 meses con un 10.71%, esto



puede deberse a que parte de este periodo permanecen estabulados por lo que reduce el contacto con la garrapata y el hemoparásito, además los anticuerpos maternos no tienen un efecto prolongado, lo cual concuerda con el estudio realizado por Berry et. al., quienes encontraron que los anticuerpos calostrales de B. bovis demostrados mediante la prueba indirecta anticuerpos fluorescentes (IFAT) se reducen al mínimo en el transcurso de 38 días. (Berry et. al., 1981)

La prevalencia encontrada en el estrato de 7-12 meses de edad es de 31.25%, lo cual indica que los terneros han estado en contacto con el hemoparásito lo que permite la generación de anticuerpos; por el contrario, debido al excesivo control de garrapatas o el aislamiento de terneros en corrales, los animales no adquieren la inmunidad requerida, y el hato tendrá un número grande de animales susceptibles. (Callow, 1974)

Los niveles de anticuerpos contra B. bovis en los estratos de 13 a 23 y de 24 a más meses son mayores, con prevalencias de 67.5% y 66% respectivamente. Esto se debe a que los animales permanecen por periodos mayores de tiempo en pastoreo, esto aumenta el contacto con la garrapata y por ende con el hemoparásito, permitiéndole al animal potenciar sus defensas naturales sin provocar el desarrollo de la enfermedad clínica, debido a los procesos inmunitarios que se llevan a cabo en las etapas anteriores, ya sea por el contacto directo con el hemoparásito o el desarrollo de una enfermedad sub-clínica.

Curnow y Young, encontraron que la inmunidad seguida a una infección frente a la reinfección con cepas homólogas dura por lo menos 4 años, los bovinos infectados pueden permanecer portadores del parásito durante años a pesar de ser sólidamente inmunes. (Curnow, 1973; Young, 1988)

Los valores de hematócrito encontrados en los diferentes estratos de edad (Cuadro 4), fueron de 0-6 meses, 29.52%; de 7-12 meses, 26.83%; de 13-23 meses, 29.01% y de 24 a más meses, 29.45% con un promedio poblacional de 28.70%, lo que indica que los diferentes estratos y la población en general se encuentra dentro de los rangos normales de hematócrito del 24-46%. (Schalm, 1964)

CUADRO 2. Prevalencia total por cooperativa y por estrato.

COOPERATIVA	PREV./EST PREV. TOTAL	0-6 MESES	7-12 MESES	13-23 MESES	24 o más
Santa Clara	86%	37.5%	100%	100%	90.4%
Santo Tomás	77%	0%	0%	91%	93.0%
Niño I	34.2%	0%	21.4%	16%	46.6%
Niño II	16%	0%	0%	0%	24.0%

FUENTE: Elaboración propia.

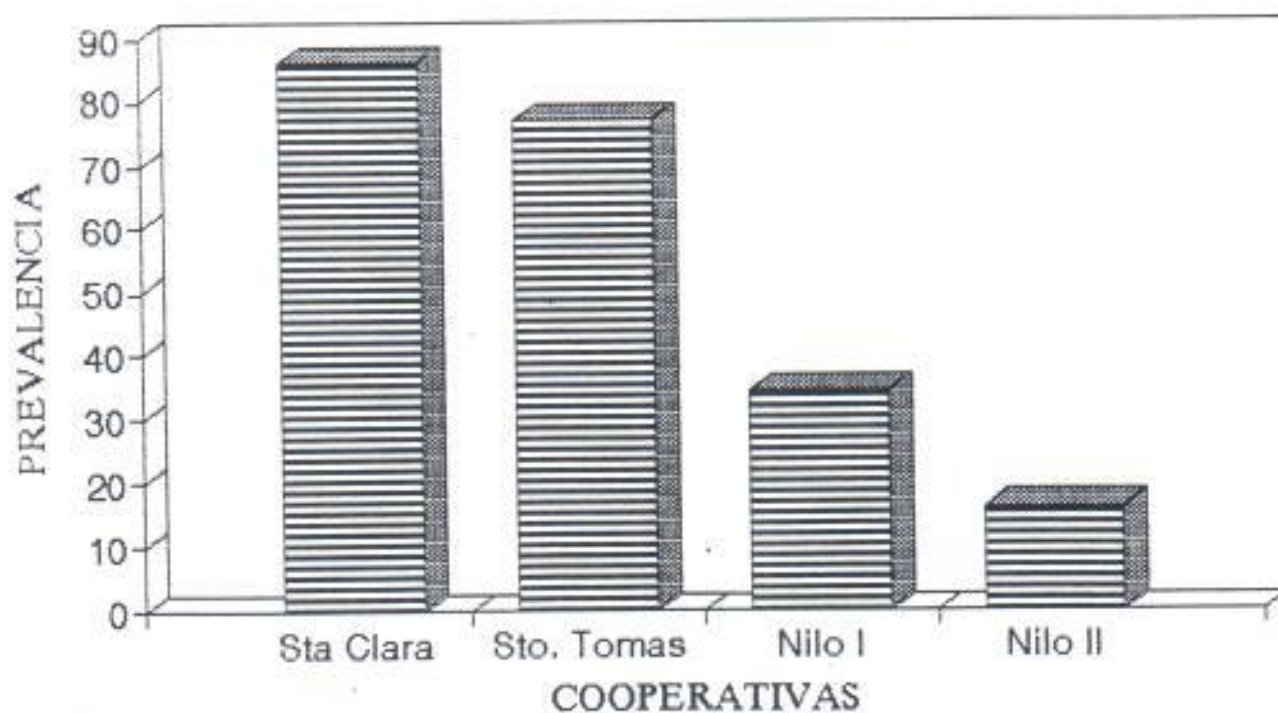


Fig. 4. Prevalencia total por cooperativa.

CUADRO 3. Prevalencia total por estrato de edades y promedio de hematócrito.

ESTRATOS	TOTAL DE MUESTRAS	POSITIVOS	NEGATIVOS	% PREVALENCIA	$\bar{X}$ HEMATOCRITO
0-6 MESES	28	3	25	10.71%	29.52
7-12 MESES	32	10	22	31.25%	26.83
13-23 MESES	40	27	13	67.5%	29.0
24 a más	171	114	57	66.66%	29.45
TOTAL POBLA. MUESTREADA	271	153	118	56.45%	28.70

FUENTE: Elaboración propia.

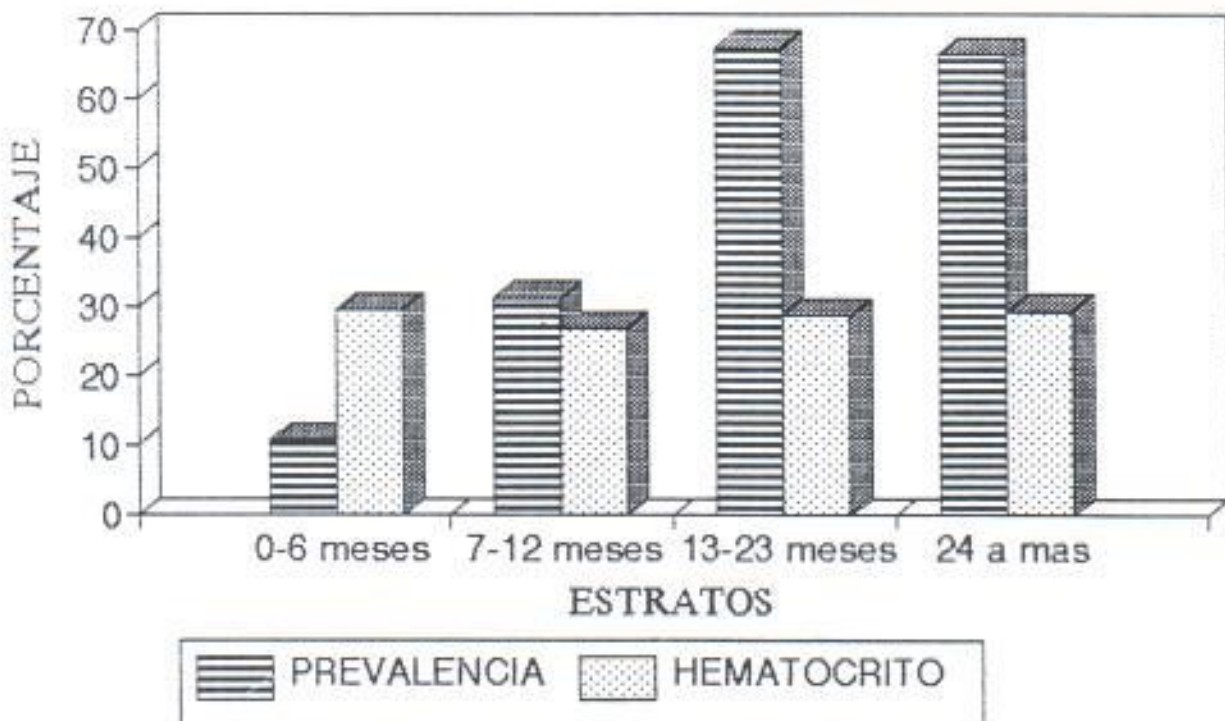


Fig. 5. Prevalencia total por estrato de edades y promedio de hematocrito, por estrato.



CUADRO 4. Promedio de Hematócrito por cooperativa y por edades.

ESTRATOS COOPERATIVAS	0-6 MESES	7-12 MESES	13-23 MESES	24 e más	x cooperativa
Santa Clara	29.44	26.71	31.75	28.92	29.00
Santo Tomás	29.21	28.94	29.54	27.97	28.53
Nilo I	30.06	26.03	25.83	35.22	32.12
Nilo II	29.4	25.66	28.92	25.72	25.59

FUENTE: Elaboración propia.

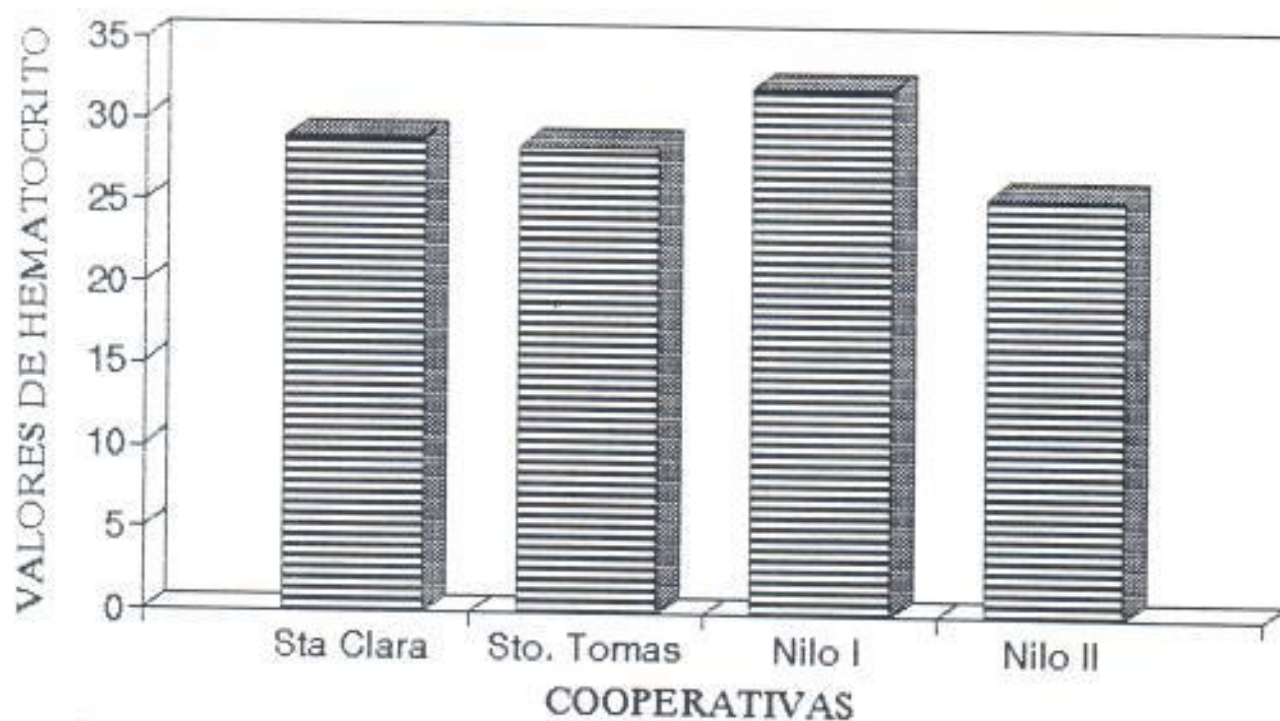


Fig. 6. Promedio de hematocrito por cooperativa.

## 5. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en la investigación podemos concluir lo siguiente:

- Existe la evidencia de la presencia y actividad de B. bovis en la zona de ubicación de las 4 cooperativas evaluadas.
- Los niveles de anticuerpos arrojan una prevalencia del 56.45% para la población total en estudio, la cual esta en concordancia con los datos encontrados a nivel nacional.
- El nivel de anticuerpos contra B. bovis en los animales es ascendente en relación a la edad y con tendencia a estabilizarse en los estratos superiores.
- A pesar de los altos niveles de anticuerpos encontrados, la incidencia de casos clínicos es mínima, ya que los hematócritos se encuentran dentro de los rangos normales establecidos.
- La prueba de enzimas ligadas a la reacción antígeno anticuerpo (ELISA), es apropiada para establecer programas de vigilancia epidemiológica.

## 6. RECOMENDACIONES

- Implementar sistemas de manejo de jaulas individuales en pastoreo, con la finalidad de incrementar el desarrollo inmunológico de los animales en las primeras etapas de desarrollo.
- El uso racional de ixodicidas de tal manera que los animales siempre mantengan una carga mínima que les permita el estímulo antigénico constante para la formación de defensas.
- Realizar ensayos con modelos de manejo preestablecidos con el propósito de evaluar el comportamiento de los niveles de anticuerpos según el tiempo de pastoreo.
- Realizar estudios con razas especializadas en la producción de leche, para determinar si los efectos de los altos niveles de anticuerpos tienen relación con los valores de hematócrito, esto con el propósito de evaluar la susceptibilidad de estas razas.



## BIBLIOGRAFIA

- AHARON, A; RODRIGUEZ, J; CRUZ, J. 1992. Diagnóstico de la ganadería en El Salvador; Ministerio de Agricultura Centro de Cooperación Internacional para el Desarrollo Agrícola (CINADCO), Embajada de Israel; Ministerio de Relaciones Exteriores, Estado de Israel. P. 2, 15, 16.
- ASOCIACION DE PRODUCTORES DE LECHE EN EL SALVADOR. 1994. Ponencia de la Cámara de Ganaderos de El Salvador y Proleche, ante el Foro Definición de Políticas para la producción de la leche en El Salvador, El Salvador, PROLECHE. P. 1.
- BAUTISTA G. 1986. Manual de inmunología DLANA D.F. México. P. 134-142.
- BAYER LEVERKUSE. S.F. Garrapatas; Manual de Bayer, Alemania, Bayer (Bayticol elimina las garrapatas, folleto ilustrado) G.P.
- BAYER LEVERKUSEN. S.F. Manual práctico del hacendado. Alemania, Bayer. P.
- BERRY, S; G. IBATA Y S. EDWARDS. 1981. Antibop y formation to babesia bovis and anaplasma marginale in calves in Bolivia. Trop. anim. Health prod. 13, 240-241.

- BOURNE, A.S.; R.W. SUTHERST, I.D. SUTHERLAND, G.F. MAY WALD Y D.A. STEGEMAN. 1988. Ecology of the cattle tick (*Boophilus microplus*) in subtropical Australia 3. Modelling population on different breeds of cattle. Aust. J. Agric. Res. 39-40.
- BLOOD, D.C. Y HENDERSON, J.A. 1976. Medicina veterinaria. 4ª Ed. Trad. Colchero Fernando A. Interamericana, México D.F. P. 603.
- CALLIS, J. 1988. Manual ilustrado para el reconocimiento y diagnóstico de ciertas enfermedades de los animales. Comisión México-Estados Unidos para la prevención de la fiebre aftosa y otras enfermedades exóticas de los animales. P. 15-17.
- CALLOW, L.L. 1974. The immunity of cattle to *Babesia argentina* after drug sterilisation of infections of varying duration. Aust. Vet. 50, 6-10.
- CALLOW, L.L. DALGLIESH R.J. 1982. Immunity and immunopathology in babesiosis. In s. cohen and K.S. Warren (Eds) immunology of parasitic infections. Blackwell scientific Publications Oxford, London, 2nd. Ed. 475-526.
- CARLYLE, T. 1990. Patología Veterinaria. Trad. Carlos H, Lightowler, Uruguay. Ed. Hemisferio Sur. P.89.

- COOPER, Mc. DOUGAL; ROBERTON. 1974. Control de las garrapatas del ganado vacuno. centro regional de ayuda técnica, A.I.D., México, Buenos Aires. 65P.
- CORRIER, D.E. Y S. GUERIAN. 1977. The effect of natural exposure to anaplasma and babesia infections on native calves in an endemic area of Colombia. Trop. anim. Health Prod. 9, 47-51.
- CURNOW, J.A. 1973. Studies on antigenic changes and strain differences in Babesia Argentina Infections. Aust. Vet. J. 49, 279-283.
- DALY, G.D. Y W.T.R. HALL. 1955. A note on the susceptibility of British and some Zebu type cattle to tick fever (babesiosis). Aust. vet. J. 31, 152.
- DIRECCION GENERAL DE ECONOMIA AGROPECUARIA. 1987. Situación actual y perspectivas de la ganadería y carne bovina en El Salvador. M.A.G. P. 57.
- DIRECCION GENERAL DE GANADERIA. 1980. Apuntes epidemiológicos de la anaplasmosis y babesiosis en el ganado bovino. El Salvador, M.A.G. 10p.
- DIRECCION GENERAL DE SANIDAD VEGETAL Y ANIMAL. 1992. Diagnóstico preliminar básico en salud animal en área centro costero de la república de El Salvador. P. 8, 9, 15.



DIVAKARAN, D. 1983. Industrialización y Aprovechamiento de la sangre animal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Boletín de Servicios agrícolas (32):101.

DUZGUN, A.; ALABAY M.; CERCI H. 1992. A serological survey using Elisa for Babesia bovis infection of cattle in turkey; In Regional Network for Latin America on animal disease diagnosis using immuno assay and labelled DNA probe techniques. Viena, Austria; AIEA-FAO P.15.

EL SALVADOR, CENTRO DE RECURSOS NATURALES. 1992. Almanaque Salvadoreño; San Salvador. M.A.G. P. 52.

FAO/AIEA. 1993. Programa Producción Animal "Protocolo de ELISA Indirecta de Babesia bovis". División de Laboratorio de Técnicas Nucleares. Viena Austria. P. 1-40.

FAO/OMS. 1979. Zoonosis parasitaria. Gráficas Reunidas. p. 59.

FRANDSON, R.D. 1984. Anatomía y Fisiología de los animales domésticos. Trad. por Vicente Agot Armer. 3ª Ed. México, D.F. Interamericana. P. 155-162-184.

FUNDACION SALVADOREÑA PARA EL DESARROLLO ECONOMICO Y SOCIAL. La Libertad, El Salvador. FUSADES. P. 1-10.

GIBBONS, W; CATCOTT, E; SMITH, J. 1970. Medicina y cirugía de los bovinos. Trad. Roberto Carroasco Ruiz. México, D.F. La prensa Médica mexicana. S.A. P. 199-200.

HALL, W.T.K. 1963. The inmunity of calves to tick-transmited Babesia argentina Infección, Aust. Vet. J. 39,386-389.

HUGH-JONES, M.E.K. SCOTRAND, K, APPLE WAIT Y F.M. ALEXANDER. 1988. Seroprevalence of anaplasmosis and Babesiosis in livestock on St. Lucia. Trop. Anim. Health prod. 20, 137-139.

INSTITUTO GEOGRAFICO NACIONAL. ING. PABLO ARNULDO GUZMAN. 1986. Diccionario geográfico de El Salvador, San Salvador, Ministerio de Obras Públicas (Tomo II:1-2). P. 1310.

JANES, M.A.A. CORONADO, W. LOPEZ, R. MELENDEZ Y M. RISTIC. 1985. Seroepidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Venezuela. Trop. anim. Health Prod. 17, 9-18.

- JAWETZ, E. et al. 1981. Manual de microbiología médica. 9 ed. Moderno, México. D.F. P. 144-147.
- JOYNER, L.P. Y J. DONNELLY. 1979. The epidemiology of Babesia infections (Review). ADV. Parasitol, 17-114.
- KEMENY, D.N. Y S. CHANTLER. 1988. An introduction to Elisa en D.M: Kemeny and S.J. Challacombe (Eds): Elisa and other solid phase immunoassays. John wiley & sons Ltd. Ch. 11-29.
- LAPAGE, G. 1971. Parasitología veterinaria. Trad. Roberto Carrasco Ruiz. México Ed. continental. P. 662.
- LEVY, M.G.;G. CLABAUGH Y M. RISTIC. 1982. Age resistance in bovine babesiosis, role of blood factors in resistance to babesia bovis. Infection and immunity. 37, 1127-1131.
- MAHONEY, D.; KERR, B. 1979. The immune response of cattle (Bos taurus) to Babesia bovis. (S. y N. B. argentina): studie on the nature and speciticity of protection. int. Sparasitol. P. 297-300.



- MARTINES, M. 1997. La piroplasmosis en el ganado. La prensa gráfica, San Salvador, El Salvador, febrero 18 martes. P. 42-A.
- MEDWAY, W. 1975. Patología clínica veterinaria. Trad. Hedberto Ruiz Skewes. UTEHA. México, Buenos Aires. P. 359-360.
- MEHLHORN, H.; DUNES, D; RACTHER, W. 1993. Manual de parasitología veterinaria GRASS PRESENCIA Ltda Colombia, Bogotá. P. 184-187.
- MEJIA, M. 1986. Sistemas de producción de ganado en América Tropical. CIAT. Cali, Colombia. P. 42.
- MERCK & CO. INC. 1993. El manual Merck de Veterinaria. 4ªEd. CETRUM, Madrid, España. P. 81, 82, 1699.
- MILLER, D.K.; DIAL, O.; CRAIG, T.M.; WAGNER, G.G. 1984. Serological prevalence of bovine babesiosis in mali trop. anim. health pro. 16, 71-77.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA. Informe Coyuntural octubre de 1995. P. 7-8.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA. Centro de Recursos Naturales, Servicio de meteorología e hidrología. 1983. Almanaque Salvadoreño, Soyapango, El Salvador, C.A.

MORILLA, G.A. 1989. Inmunología Veterinaria. DIANA D.F. México. P. 23, 27.

NASON, A. 1985. Biología. Trad. por Juan Luis Cifuentes. Limusa, México, D.F. P. 531-553.

O. CONTROLE LA TRISTEZA PARASITARIA. S.F. Brasil, Cooper (Manual Técnico, recesita única para acabar com a tristeza). P. 21-26.

O'KELLY Y J.C.; SPIERS, W.G. 1976. Resistance to *Boophilus microplus* (canestrini in generally different types of calves in early live) parasitol. P. 62.

OTTE, E. 1992. Ana plasmosis y Babesiosis bovina en Colombia. Colombo-Alemán. IICA-GTZ. P. 20.

PAYNE, R.; SCOTT, J. 1982. Anaplasmosis an babesiosis in El Salvador. Trop. Anim. Health prod. P. 14, 75-80.

- PEÑA, P.; COREA, etc. 1994. Evaluación de seis ixodíidas en el control de garrapata en ganado bovino durante la época seca. Tesis Ing. Agr. El Salvador, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas. P. 30-35.
- PFIZER, SF. Compendio veterinario. Ganado bovino. P. 1.
- PRICE, J.C.; REED E.J. 1973. Parasitología Práctica Herrero Hermanos. AID. México, Buenos Aires. P. 82.
- QUIROZ, R. 1984. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Limusa, México D.F. P. 187-189.
- RIVERA, A. 1996. Enfermedades de las garrapatas al ganado. El diario de Hoy, San Salvador, El Salvador, julio 9 martes. P. 56.
- ROSS, D.R.; LOEHR R.F. 1970. Vebertragungand verweildaver von kolostral erworbener *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale* antikoer pein 2 tropenmed parasitol. 21.
- SALCEDO, P.J. HERNAN, J.L. DOS SANTOS, M.F. BARBOSA Y J.E. DE FARIA. 1987. Epidemiology of cattle babesiosis in the state of minas Gerais, Brazil: I. prevalence of fluorescent antibodies in the zona da mata. Arg. Braz. Med. Vet. Zoot. 39, 423-430



SEGURA, J.; HON HOLD, N. 1993. Manual de muestreo para la salud y producción animal. México; Universidad Autónoma de Yucatán (Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia). P. 40-45.

SILVA, O.; BERNAL, R.; VARGAS, R. 1992. Elisa for studies on Babesia bovis infection in El Salvador, National Centre of Huestock Development (M.A.G.) El Salvador, In. first research Coordination meeting of the FAO/IAEA SIDA Coordinated Research Programme; Immuno Assay method and Workshops for the diagnosis and epidemiology of animal diseases in Latin America, Río de Janeiro, Brazil, Centro Panamericano de fiebre aftosa; Summary of proceedings and individual work plans. T.P.

SILVA, O. 1977. Determinación de la prevalencia de tuberculosis, brucelosis, mastitis sub-clínica e identificación de garrapatas en bovinos del municipio de Izalco, Sonsonate, El Salvador. Tesis Dr. Médico Veterinario, Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. P. 24.

SCHOPFLOCHER, R. 1963. Enciclopedia Agropecuaria Práctica, Diccionario completo de Ganadería, Ciencias e Industria Afines. México, Buenos Aires, El Ateneo (Tomo II). P. 329-330.

- SCHALM, O.W. 1964. Hematologia veterinaria. Trad. Pericles Franco Ornes. UTEHA. D.F. México. P. 44.
- SPAETH, E.; MONGOLD, A.; GUGLIELMONE, A. 1988. Estimation of the potencial demand of a vaccine for bovine. Babesiosis and Anaplasmosis in Argentina. FAO, Animal Health Service Inf. Arc. P. 67-287.
- TECLAW, R.F.; GARCIA, S. ROMO Y G.G. WAGNER. 1985b. Incidence of Babesiosis and Anaplasmosis infections in Cattle sampled montly in the mexican states of Nuevo León and San Luis Potosí. Prev. Vet. Med. 3, 427-435.
- TRUEMAN, K.F. y F.W. BLIGHT. 1978. The Effect of age on resistance of cattle to *Babesia bovis*. Aust. Vet. J. 54, 301-305.
- UTECH, R.B.W.; WHARTON R.H. 1982. Breeding for Resistance to Boophilus microplus, in Australia Illawara Shorthon and Brahman x Australia Illawara Short horn Cattle. Aust. Vet. J. 58, 41-46.
- YOUNG A.S. 1988. Epidemcology of babesiosis. En ristic (Ed) Babesiosis in domestic animal and man CKC. Press New York. 81-99.

## ANEXOS



CUADRO A-1. Niveles normales típicos de células sanguíneas.

ESPECIE	HEMATOCRITO %	HEMOGLOBINA g/dl	GLÓBULOS ROJOS X 10 <sup>6</sup> /µl	GLÓBULOS BLANCOS					
				TOTAL	NEUTRÓFILOS	LINFÓCITOS	MONOCITOS	ESINÓFILOS	ESÓFILOS
Bovino	24-46	8-15	5.0-12.0	4000-12500	400-9000	2500-5500	22-840	0-2000	0-200
Equino	32-52	11-19	4.5-12.5	5500-12500	3700-4700	1500-3500	0-600	0-25	0-170
Ovino	24-50	8-16	8.0-16.0	4000-12000	700-6000	2000-9000	0-700	0-1000	0-300
Caprino	19-38	8-14	8.0-18.0	4000-13500	1200-7000	3000-9000	0-550	0-670	0-140
Porcino	32-50	10-16	5.0-8.0	1100-22500	3200-10000	4500-12000	250-2000	0-2000	0-400
Canino	37-55	12-18	5.5-8.5	6000-17000	3000-11500	1000-4000	100-1500	0-1250	Rara
Felino	24-45	8-15	8.0-10.0	2500-14500	2700-12500	1500-7000	0-550	0-1500	Rara

FUENTE: Schalm et al 1964.

CUADRO A-2 Comparación de ELISA con otras pruebas indirectas que utilizan antiglobulinas (RIA, IF)

CRITERIO	ELISA	RIA	IFAT
Sensibilidad	Alto	Alta	Usualmente baja
Especificidad	Depende de la preparación del antígeno	Depende de la preparación del antígeno	Alta
Reproducibilidad	Aceptable	Aceptable	Aceptable
Lectura	Objetiva	Objetiva	Usualmente objetiva
Preparación del antígeno	Puede ser complicada	Puede ser complicada	Fácil
Conjugado	Bajo evaluación	Calidad estándar	Calidad estándar
Probabilidad de establecer en condiciones de campo	Intermedio	No fácil	Intermedio
Automatización de la prueba	Posible	Posible	Difícil
Costo relativo por prueba	Bajo	Alto	Alto
Vida media de los reactivos	Larga	Corta	Larga
Peligro para la salud del personal de laboratorio	Ninguno o mínimo	Presente	Ninguno o mínima

FUENTE: Morilla, 1989.

CUADRO A-3 Caracterización de las cooperativas.

COOPERATIVAS CARACTERÍSTICAS	NILO I	NILO II	HOJA DE SAL	STO. TOMAS	STA. CLARA	ESCUINTLA
CUNAS PARA TERNEROS	INDIVIDUAL	INDIVIDUAL	CON LA MADRE	INDIVIDUAL	INDIVIDUAL	CON LA MADRE
TIPOS DE RAZA	Br/Bs	Br/Bs	Br/Bs	Br/Bs	Br/Bs	Br/Bs
UTILIDAD DE GANADO	PRODUCCION LECHE	PRODUCCION LECHE	PRODUCCION LECHE DOBLE PROPOSITO	PRODUCCION LECHE	PRODUC. LECHE DOBLE PROPOSITO	PROD. LECHE DOB. PROFOS.
ORDENOS	2 ORD.	2 ORD.	2 ORD. 1 ORD.	2 ORD.	2 ORD. 1 ORD.	2 ORD. 1 ORD.
REPRODUCCION	I.A. MN	I.A. MN	I.A.	I.A. MN	I.A. MN	MN
ALIMENTACION	PASTOREO Y SEMI-ESTABULADO	PASTOREO Y SEMI-ESTABULADO	PASTOREO VERANO ENSILADO	PASTOREO VERANO ENSILAJE	PASTOREO	PASTOREO
DES PARASITACION EXTERNA	DE ACUERDO AL GRADO INDICENCIA GARRAPATA	DE ACUERDO AL GRADO INDICENCIA GARRAPATA	DE ACUERDO AL GRADO INDICENCIA GARRAPATA	DE ACUERDO AL GRADO INDICENCIA GARRAPATA	DE ACUERDO AL GRADO INDICENCIA GARRAPATA	DE ACUERDO AL GRADO INDICENCIA GARRAPATA
TIPO DE BAÑO	ASPERSION	ASPERSION	ASPERSION	ASPERSION	ASPERSION	ASPERSION
FRECUENCIA ENF. HEMOPARASITARIAS	ESPORADICAS	ESPORADICAS	ESPORADICAS	ESPORADICAS	ESPORADICAS	ESPORADICAS
PRODUCTO PARA ENF. HEMOPARASITARIAS	VERANID	VERANID	NO	NO	NO	NO

FUENTE: Elaborado.





Fig. A-7 Parte Anatómica de extracción de la muestra sanguínea.

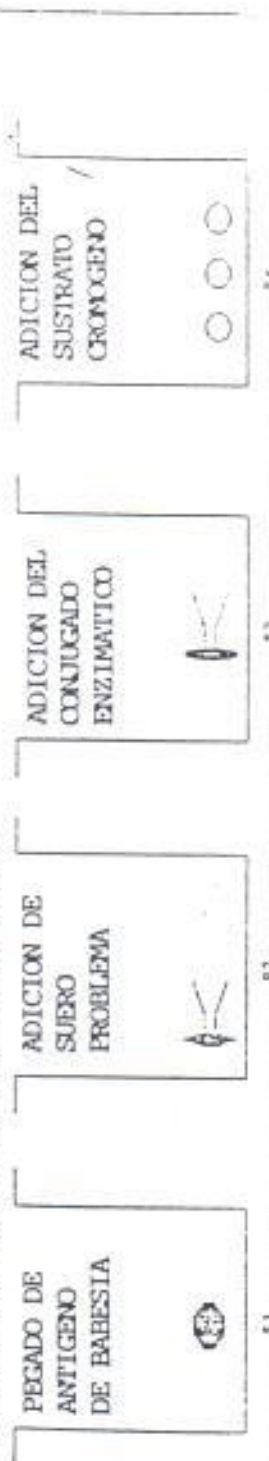
CUADRO A-4

Procedimiento de ELISA indirecta para la detección de anticuerpos contra Babesia bovis

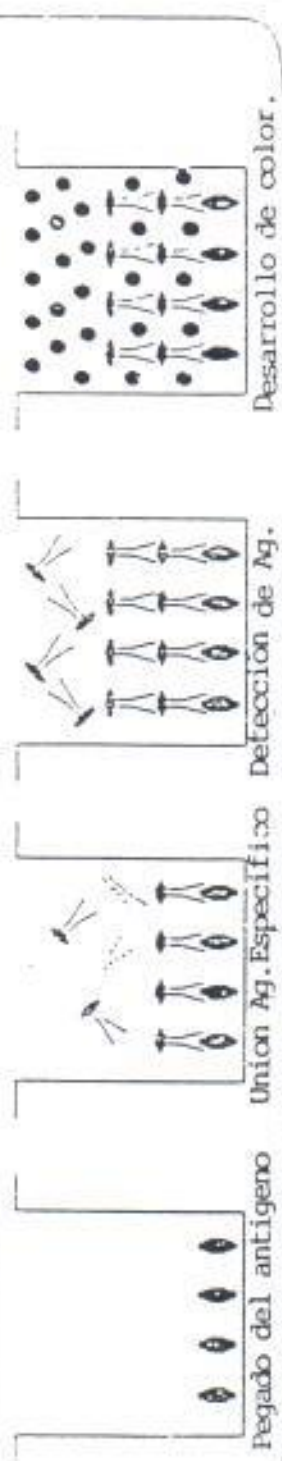
PASOS	CONDICIONES DE LA PRUEBA			
	Tiempo de incubación	Temperatura de incubación	Movimiento del plato	Procedimiento de lavado
1. Pegado de antígeno de Babesia	Toda la noche	4°C	No	Si 3 veces
2. Adición de suero problema	1 hora	37°C	Si	Si 3 veces
3. Adición de conjugado	1 hora	37°C	Si	Si 3 veces
4. Adición de sustrato cromógeno	15 minutos	37°C	Si	No
5. Adición de solución de pardo	no	Cuarto de temperatura	Tapar y mezclar	No
6. Lectura	(Un filtro de 492 nm debe ser utilizado)			

Fig. A-6 ELISA INDIRECTA PARA DETERMINAR ANTICUERPOS CONTRA BABESIA.

PASOS PARA EL PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA.

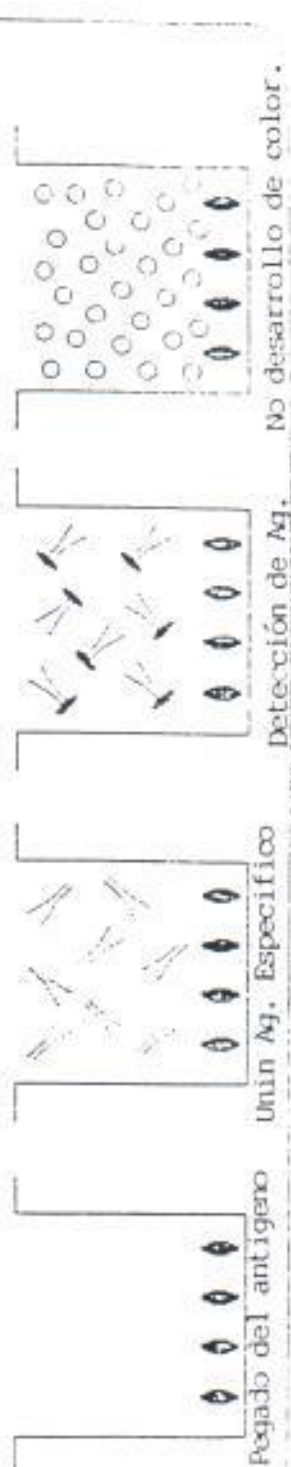


PRUEBA POSITIVA



63

PRUEBA NEGATIVA





CUADRO A-5. Población bovina por edades y número de muestras sanguíneas por edades y Cooperativas.

EIDADES (MESES)	COOPERATIVAS						TOTAL DE MUESTRAS
	NILO I	NILO II	SANTA CLARA	SANTO TOMAS			
0-6	61 (8)	30 (5)	60 (8)	51 (7)			202 (28)
7-12	100 (14)	22 (3)	50 (7)	62 (8)			234 (32)
12-23	45 (6)	46 (6)	40 (6)	156 (22)			287 (40)
> 24	325 (45)	212 (29)	300 (42)	400 (55)			1237 (171)
TOTAL DE ANIMALES	531	310	450	609			1690
TOTAL DE MUESTRAS	(73)	(43)	(63)	(92)			(271)

\* : Los valores entre paréntesis representan el tamaño de muestra (N° de animales) a considerar para evaluar prevalencia. Este valor equivale a un 14% del número de animales de cada cooperativa en cada rango de edad.

## A-6 Cálculo del tamaño de la muestra

### TAMANO DE LA MUESTRA

$$n = \frac{NZ^2 \sum Ne Pe Qe}{$$

$$Nd^2 + Z^2 \sum Ne Pe Qe}$$

Donde:  $n$  = Tamaño de muestra

$N$  = Tamaño de la población

$N^2$  = Número de elementos en el estrato "e"

$Pe$  = Prevalencia estimada en el estrato "e"

$Qe = 1 - Pe$

$d$  = Precisión deseada

$Z$  = Valor crítico de tablas de la distribución normal estandar.

Asignación de la muestra proporcional al estrato, la fracción de muestreo y el tamaño de la población.

$$n = \frac{1690(2.58)^2 (202 \times 0.863 \times 0.137) + \dots + (287 \times 0.863 \times 0.137)}{$$

$$1960(0.05)^2 + (2.58)^2 (202 \times 0.863 \times 0.137) + \dots + (287 \times 0.863 \times 0.137)}$$

$$n = \frac{3023297.82}{$$

$$11146.49}$$

$$n = 271.23$$

### NUMERO DE ELEMENTOS POR ESTRATO

$$e_1 = 0-6 \text{ meses} \quad 202/1960 \times 271.23 = 28$$

$$N_1I = 61/202 \times 28 = 8$$

$$N_2I = 30/202 \times 28 = 5$$

$$\text{Sto. Tomás} = 51/202 \times 28 = 7$$

$$\text{Sta. Clara} = 60/202 \times 28 = 8$$

$$e_2 = 7-12 \text{ meses} \quad 234/1960 \times 271.23 = 32$$

$$N_1I = 100/234 \times 32 = 14$$

$$N_2II = 22/234 \times 32 = 3$$

$$\text{Sto. Tomás} = 62/234 \times 32 = 8$$

$$\text{Sta. Clara} = 50/234 \times 32 = 7$$

$$e_2 = 12-23 \text{ meses} \quad 287/1960 \times 271.23 = 40$$

$$N_1I = 45/287 \times 39 = 6$$

$$N_2II = 46/287 \times 39 = 6$$

$$\text{Sto. Tomás} = 156/287 \times 39 = 22$$

$$\text{Sta. Clara} = 40/287 \times 39 = 6$$

$$e_4 = \text{mayores de 24 meses} \quad 1237/1960 \times 271.23 = 171$$

$$N_1I = 325/1237 \times 171 = 45$$

$$N_2II = 212/1237 \times 171 = 29$$

$$\text{Sto. Tomás} = 400/1237 \times 171 = 55$$

$$\text{Sta. Clara} = 300/1237 \times 171 = 42$$



#### A-7 Cálculo de las prevalencias.

$$Pe = \frac{ae}{ne}$$

ne

ae = # de individuos que posee atributo medio (animales positivos)

ne = Tamaño de la muestra del estrato

Pe = Prevalencia del estrato e

#### Prevalencia de estrato.

Pe

$$0-6 \text{ meses} = \frac{3}{28} = 0.10714 \approx 10.71\%$$

Pe

$$7-12 \text{ meses} = \frac{10}{32} = 0.3125 \approx 31.25\%$$

Pe

$$13-23 \text{ meses} = \frac{27}{40} = 0.675 \approx 67.5\%$$

Pe

$$> 24 \text{ meses} = \frac{114}{171} = 0.66 \approx 66.6\%$$

#### Prevalencia por cooperativa

Cooperativa Santo Tomás

$$\frac{71}{92} = 0.77 \approx 77\%$$

Cooperativa Santa Clara

$$54.63 = 0.86 \approx 86\%$$

Cooperativa Nilo II

$$7.43 = 0.16 \approx 16\%$$

Cooperativa Nilo I

$$25.73 = 0.3425 \approx 34.2\%$$

**Prevalencia de la muestra**

$$P_m = \frac{\sum n_e P_e}{n}$$

n

$n_e$  = Tamaño de la muestra en el estrato "e"

$P_e$  = Prevalencia en el estrato "e"

n = Tamaño de la muestra total

$$P_m = \frac{28(0.1074) + 32(0.3125) + 40(0.675) + 171(0.6608)}{271} \times 100$$

271

$$P_m = 56.45\%$$

**Prevalencia poblacional**

$$P_p = \frac{202(0.1074) + 234(0.3125) + 287(0.675) + 1237(0.6608)}{1960} \times 100$$

1960

$$P_p = 56.45\%$$

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA  
DIRECCION GENERAL DE SANIDAD VEGETAL Y ANIMAL  
LABORATORIO DE DIAGNOSTICO VETERINARIO Y CONTROL DE  
CALIDAD



LABORATORIO DE ELISA

FICHA DE INGRESO DE MUESTRAS

PROPIETARIO:	COOPERATIVA SANTO TOMAS
PROPIEDAD:	COOPERATIVA SANTO TOMAS
DEPARTAMENTO:	LA PAZ
MUNICIPIO:	SAN LUIS TALPA
CANTON:	TECUALUYA
TOTAL DE MUESTRAS:	92 SUEROS BOVINOS
ENVIADAS POR:	CARLOS OSMIN ACOSTA RIVERA
DIAGNOSTICO SOLICITADO:	BABESIOSIS

RESULTADO: VER HOJAS ANEXAS

*G. Molina*  
GILMA MOLINA  
TECNICO RESPONSABLE



*xt.*  
Dr. MARIO ITALO GRANIELLO  
JEFE DEL LABORATORIO



Resultados de la prueba de Elisa.

DIAGNOSTICO: Babesiosis (*Babesia bovis*)

ANALISIS: Prueba Diagnóstico de Elisa.

PROPIEDAD: Santo Tomas

NUMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 92

NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS: 71

NUMERO DE ANIMALES NEGATIVOS: 21

TOTAL DE BOVINOS: 609

Threshold:

PP >= 12%

OD <= 0,146

Controls [out side control limits: o D Ca) PP (\*)] MEAN

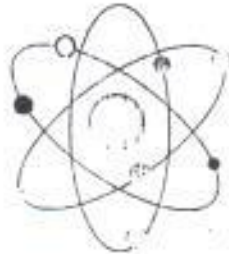
ID	STATUS	LCL	UCL	PP1	PP2	PP3	PP4	% (Vod)	OD	PP
C''		18	119	99	99	101	101	1.1	1.214	100
C'		23	55	47	48	44	46	3.1	0.561	46
C		-10	8	2	3	2	2	14.1	0.027	2
Cc		-10	7	1	2	2	2	6.5	0.019	2

N° Muestra	Estrato de edad	Identificación del bovino	% de positividad	diagnóstico
1	0-6 meses	580	2	Negativo
2	0-6	498	7	N
3	0-6	360	3	N
4	0-6	598	8	N
5	0-6	482	3	N
6	0-6	498	4	N
7	0-6	120	8	N
8	7-12	297	4	N
9	7-12	258	3	N
10	7-12	269	3	N
11	7-12	315	3	N
12	7-12	268	3	N
13	7-12	223	4	N
14	7-12	293	2	N
15	7-12	298	2	N
16	13-23	23	30	P
17	13-23	99	52	P
18	13-23	1352	31	P

Nº Muestra	Estrato de edad	Identificación del bovino	% de positividad	diagnóstico
19	13-23 meses	9	35	P
20	13-23	3	21	P
21	13-23	131	28	P
22	13-23	126	5	N
23	13-23	1	26	P
24	13-23	67	23	P
25	13-23	15	63	P
26	13-23	758	43	P
27	13-23	198	69	P
28	13-23	53	16	P
29	13-23	148	43	P
30	13-23	68	32	P
31	13-23	336	30	P
32	13-23	91	44	P
33	13-23	121	27	P
34	13-23	20	56	P
35	13-23	75	4	N
36	13-23	6	36	P
37	13-23	116	59	P
38	> 24 meses	616	28	P
39	> 24	942	31	P
40	> 24	448	33	P
41	> 24	37	58	P
42	> 24	806	31	P
43	> 24	625	23	P
44	> 24	993	16	P
45	> 24	185	30	P
46	13-23	34	32	P
47	13-23	481	26	P
48	13-23	617	10	N
49	13-23	46	50	P
50	13-23	921	13	P
51	13-23	954	47	P
52	13-23	574	9	N
53	13-23	791	20	P
54	13-23	645	26	P
55	13-23	595	18	P
56	13-23	648	32	P

Nº Muestra	Estrato de edad	Identificación del bovino	% de positividad	diagnóstico
57	13-23	522	62	P
58	13-23	742	44	P
59	13-23	292	29	P
60	13-23	493	31	P
61	13-23	927	25	P
62	13-23	184	9	N
63	> 24 meses	96	23	P
64	> 24	376	13	P
65	> 24	209	25	P
66	> 24	596	27	P
67	> 24	54	35	P
68	> 24	473	34	P
69	13-23 meses	79	60	P
70	13-23	881	30	P
71	13-23	246	52	P
72	13-23	210	11	N
73	13-23	429	29	P
74	13-23	373	28	P
75	13-23	377	31	P
76	13-23	573	25	P
77	13-23	1584	31	P
78	13-23	24	54	P
79	13-23	446	36	P
80	13-23	311	61	P
81	13-23	935	42	P
82	13-23	189	48	P
83	13-23	751	23	P
84	13-23	1179	28	P
85	13-23	178	58	P
86	13-23	604	45	P
87	13-23	1355	55	P
88	> 24 meses	714	22	P
89	> 24	1141	46	P
90	> 24	66	20	P
91	> 24	364	32	P
92	> 24	195	40	P

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA  
DIRECCION GENERAL DE SANIDAD VEGETAL Y ANIMAL  
LABORATORIO DE DIAGNOSTICO VETERINARIO Y CONTROL DE  
CALIDAD



**LABORATORIO DE ELISA**

**FICHA DE INGRESO DE MUESTRAS**

PROPIETARIO:	COOPERATIVA SANTA CLARA
PROPIEDAD:	COOPERATIVA SANTA CLARA
DEPARTAMENTO:	LA PAZ
MUNICIPIO:	SAN LUIS TALPA
CANTON:	TECUALUYA
TOTAL DE MUESTRAS:	63 SUEROS BOVINOS
ENVIADAS POR:	JOSE ROBERTO ZELAYA RIVERA
DIAGNOSTICO SOLICITADO:	BABESIOSIS

RESULTADO: VER HOJAS ANEXAS

  
GILMA MOLINA  
TECNICO RESPONSABLE



  
Dr. MARIO ITALO GRANIELLO  
JEFE DEL LABORATORIO



DIAGNOSTICO: Babesiosis (Babesia bovis)  
 PRUEBA: Diagnóstico de Elisa  
 PROPIEDAD: Cooperativa Santa Clara  
 NUMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 63  
 NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS: 54  
 NUMERO DE ANIMALES NEGATIVOS: 09  
 TOTAL DE BOVINOS: 450

Controls [out side control limits: o D Ca) PP (\*)] MEAN

ID	STATUS	LCL	UCL	PP1	PP2	PP3	PP4	% (Vod)	OD	PP
C**		81	119	99	99	101	101	1.1	1.214	100
C*		23	55	47	48	44	46	3.1	0.561	46
C		10	8	2	3	2	2	14.1	0.027	2
Cc		10	7	1	2	2	2	6.5	0.019	2

Nº Muestra	Estrato de edad	Identificación del bovino	% de positividad	diagnóstico
1	0-6 meses	3218	34	positivo
2	0-6	3210	10	N
3	0-6	3004	9	N
4	0-6	3190	7	N
5	0-6	3133	8	N
6	0-6	3132	14	P
7	0-6	3089	10	N
8	0-6	3067	44	P
9	7-12 meses	2967	43	P
10	7-12	2882	62	P
11	7-12	2987	72	P
12	7-12	2993	42	P
13	7-12	3005	61	P
14	7-12	2036	30	P
15	7-12	2994	63	P
16	13-23 meses	2762	26	P
17	13-23	2846	72	P
18	13-23	2587	20	P
19	13-23 meses	2902	47	P
20	13-23	2840	20	P
21	13-23	2735	38	P
22	> 24 meses	2711	45	P
23	> 24	2566	79	P
24	> 24	2719	45	P
25	> 24	2733	16	P
26	> 24	2766	31	P

Nº Muestra	Estrato de edad	Identificación del bovino	% de positividad	diagnóstico
27	> 24	2702	21	P
28	> 24	2878	44	P
29	> 24	2807	28	P
30	> 24	2737	16	P
31	> 24	2784	45	P
32	> 24	2885	8	N
33	> 24	2731	42	P
34	> 24	2845	61	P
35	> 24	2698	10	N
36	> 24	2770	70	P
37	> 24	2838	22	P
38	> 24	2798	20	P
39	> 24	2855	61	P
40	> 24	2794	31	P
41	> 24	2822	17	P
42	> 24	2832	40	P
43	> 24	2873	24	P
44	> 24	2831	13	P
45	> 24	2874	24	P
46	> 24	2657	29	P
47	> 24	2815	55	P
48	> 24	2875	51	P
49	> 24	2828	46	P
50	> 24	29/32	35	P
51	> 24	650	19	P
52	> 24	821	8	N
53	> 24	412/4	37	P
54	> 24	1606	22	P
55	> 24	3	25	P
56	> 24	71/15	31	P
57	> 24	402	37	P
58	> 24	701	36	P
59	> 24	43	61	P
60	> 24	2498	34	P
61	> 24	1717	24	P
62	> 24	736	25	P
63	> 24 meses	1001	4	N

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA  
DIRECCION GENERAL DE SANIDAD VEGETAL Y ANIMAL  
LABORATORIO DE DIAGNOSTICO VETERINARIO Y CONTROL DE  
CALIDAD



LABORATORIO DE ELISA  
FICHA DE INGRESO DE MUESTRAS

PROPIETARIO:	COOPERATIVA NILO II
PROPIEDAD:	COOPERATIVA NILO II
DEPARTAMENTO:	LA PAZ
MUNICIPIO:	ZACATECOLUCA
CANTON:	SAN ANTONIO LAS TABLAS
TOTAL DE MUESTRAS:	43 SUEROS BOVINOS
ENVIADAS POR:	EDENILSON EDUARDO TORRES
DIAGNOSTICO SOLICITADO	BABESIOSIS

RESULTADO: VER HOJAS ANEXAS

*Gilma Molina*  
GILMA MOLINA  
TECNICO RESPONSABLE



*Mario Italo Graniello*  
DR. MARIO ITALO GRANIELLO  
JEFE DEL LABORATORIO

DIAGNOSTICO: Babesiosis (*Babesia bovis*)

ANALISIS: Diagnóstico de Elisa.

PROPIEDAD: Nilo II.

NUMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 43

NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS: 7

NUMERO DE ANIMALES NEGATIVOS: 36

TOTAL DE BOVINOS: 310

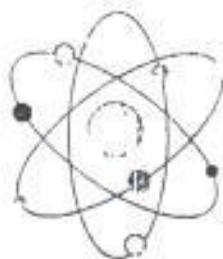
ID	STATUS	LCL	UCL	PP1	PP2	PP3	PP4	% (Vod)	OD	PP
C**		81	119	99	99	101	101	1.1	1.214	100
C*		23	55	47	48	44	46	3.1	0.561	46
C		-10	8	2	3	2	2	14.1	0.027	2
Cc		-10	7	1	2	2	2	6.5	0.019	2

Nº Muestra	Estrato de edad	Identificación del bovino	% de positividad	diagnóstico
1	0-6 meses	456	5	negativo
2	0-6	436	3	N
3	0-6	466	2	N
4	0-6	406	3	N
5	0-6	416	5	N
6	7-12	46	4	N
7	7-12	66	2	N
8	7-12	166	5	N
9	13-23	75	2	N
10	13-23	175	5	N
11	13-23	165	3	N
12	13-23	85	3	N
13	13-23	704	4	N
14	13-23	295	4	N
15	> 23 meses	214	3	N
16	> 23	204	2	N
17	> 23	353/6	6	N
18	> 23	244	3	N
19	> 23	643	3	N
20	> 23	14	2	N
21	> 23	453	2	N
22	> 23	173	8	N
23	> 23	34-6	4	N
24	> 23	10	45	P
25	> 23	363	2	N
26	> 23	563	11	N



Nº Muestra	Estrato de edad	Identificación del bovino	% de positividad	diagnóstico
27	> 23	553	2	N
28	> 23	523	10	N
29	> 23	17	2	N
30	> 23	233	10	N
31	> 23	84	13	P
32	> 23	273	13	P
33	> 23	34	3	N
34	> 23	163	4	N
35	> 23	97	7	N
36	> 23	10-9	14	P
37	> 23	174	22	P
38	> 23	384	39	P
39	> 23	209	16	P
40	> 23	88-6	11	N
41	> 23	603	11	N
42	> 23	284	2	N
43	> 23	134	2	N

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA  
DIRECCION GENERAL DE SANIDAD VEGETAL Y ANIMAL  
LABORATORIO DE DIAGNOSTICO VETERINARIO Y CONTROL DE  
CALIDAD



LABORATORIO DE ELISA  
FICHA DE INGRESO DE MUESTRAS

PROPIETARIO:	COOPERATIVA NILO I
PROPIEDAD:	COOPERATIVA NILO I
DEPARTAMENTO:	LA PAZ
MUNICIPIO:	ZACATECOLUCA
CANTON:	SAN ANTONIO LAS TABLAS
TOTAL DE MUESTRAS:	73 SUEROS BOVINOS
ENVIADAS POR:	EDENILSON EDUARDO TORRES
DIAGNOSTICO SOLICITADO	BABESIOSIS

RESULTADO: VER HOJAS ANEXAS

  
GILMA MOLINA  
TECNICO RESPONSABLE

  
  
Dr. MARIO ITALO GRANIELLO  
JEFE DEL LABORATORIO

DIAGNOSTICO: Babesiosis (*Babesia bovis*)

PRUEBA: Diagnóstico de Elisa.

PROPIEDAD: Nilo I.

NUMERO DE ANIMALES MUESTREADOS: 73

NUMERO DE ANIMALES POSITIVOS: 25

NUMERO DE ANIMALES NEGATIVOS: 48

TOTAL DE BOVINOS: 531

Controls [out side control limits: o D Ca) PP (\*)] MEAN

ID	STATUS	LCL	UCL	PP1	PP2	PP3	PP4	% (Vod)	OD	PP
C**		81	119	99	99	101	101	1.1	1.214	100
C*		23	55	47	48	44	46	3.1	0.561	46
C		10	8	2	3	2	2	14.1	0.027	2
Cc		10	7	1	2	2	2	6.5	0.019	2

N° Muestra	Estrato de edad	Identificación del bovino	% de positividad	diagnóstico
1	0-6 meses	107-96	5	negativo
2	0-6	108-96	4	N
3	0-6	101-96	2	N
4	0-6	85-96	4	N
5	0-6	94-96	3	N
6	0-6	70-96	6	N
7	0-6	71-96	9	N
8	7-12	79-96	3	N
9	7-12	128-96	9	N
10	7-12	54-96	7	N
11	7-12	56-96	4	N
12	7-12	36-96	55	P
13	7-12	66-96	7	N
14	7-12	39-96	5	N
15	7-12	55-96	5	N
16	7-12	9-96	5	N
17	7-12	12-96	12	P
18	7-12	35-96	22	P
19	7-12	17-96	6	N
20	7-12	55-95	5	N
21	7-12	149-95	11	N
22	7-12	19-96	5	N
23	13-23	92-95	11	N
24	13-23	19-95	4	N
25	13-23	11-95	4	N

Nº Muestra	Estrato de edad	Identificación del bovino	% de positividad	diagnóstico
26	19	27-95	6	N
27	19	2-95	6	N
28	19	33-95	84	P
29	> 24 meses	157-92	9	N
30	> 24	12-93	17	P
31	> 24	12-90	18	P
32	> 24	41-94	26	P
33	> 24	pollera	8	N
34	> 24	14-8	8	N
35	> 24	45-93	2	N
36	> 24	61-93	36	P
37	> 24	308	17	P
38	> 24	27-93	27	P
39	> 24	1854	8	N
40	> 24	16-91	36	P
41	> 24	36	9	N
42	> 24	110-92	17	P
43	> 24	103-9	4	N
44	> 24	84-8	18	P
45	> 24	Josefina	10	N
46	> 24	53-91	10	N
47	> 24	806	12	P
48	> 24	959	6	N
49	> 24	Delicia	41	P
50	> 24	Isidra	5	N
51	> 24	9-6	5	N
52	> 24	4-7	14	P
53	> 24	3591	9	N
54	> 24	Francia	22	P
55	> 24	125-92	17	P
56	> 24	Silvina	50	P
57	> 24	39-90	5	N
58	> 24	43-41	10	N
59	> 24	Extranjera	16	P
60	> 24	59-91	8	N
61	> 24	138-92	3	N
62	> 24	Volcánica	4	N
63	> 24	Lupe	10	N



Nº Muestra	Estrato de edad	Identificación del bovino	% de positividad	diagnóstico
64	> 24	Tortola	10	N
65	> 24	Betiz	20	P
66	> 24	Toronja	6	N
67	> 24	Te quiero	9	N
68	> 24	Margarita	47	P
69	> 24	Celosa	9	N
70	> 24	Miseria	44	P
71	> 24	69-92	21	P
72	> 24	Cecibel	10	N
73	> 24	319	24	P

A-9 Resultado de la prueba de hematocrito.

Cooperativa Santo Tomás: (A)

Estrato Edad	Muestra	Nombre o número del bovino	% de hematocrito
0-6 meses	1	580	31
0-6 meses	2	489	30.5
0-6 meses	3	360	34
0-6 meses	4	598	24
0-6 meses	5	482	35
0-6 meses	6	498	23.5
0-6 meses	7	120	26.5
7-12 meses	8	297	30
7-12 meses	9	258	31
7-12 meses	10	269	30
7-12 meses	11	315	30
7-12 meses	12	268	26
7-12 meses	13	223	27.5
7-12 meses	14	293	28
7-12 meses	15	298	29
13-23 meses	16	23	29
13-23 meses	17	99	30
13-23 meses	18	1352	26.5
13-23 meses	19	9	33.5
13-23 meses	20	3	24
13-23 meses	21	131	26
13-23 meses	22	126	25
13-23 meses	23	1	32.5
13-23 meses	24	67	31.5
13-23 meses	25	15	29.5
13-23 meses	26	758	29.5
13-23 meses	27	198	24
13-23 meses	28	53	36
13-23 meses	29	148	27
13-23 meses	30	68	34.5
13-23 meses	31	336	24
13-23 meses	32	91	34
13-23 meses	33	121	33
13-23 meses	34	20	29
13-23 meses	35	75	30

Estrato Edad	Muestra	Nombre o número del bovino	% de hematocrito
13-23 meses	36	6	28
13-23 meses	37	116	33.5
> 24 meses	38	616	26.5
> 24 meses	39	942	26.5
> 24 meses	40	448	29
> 24 meses	41	37	28.5
> 24 meses	42	806	26.5
> 24 meses	43	625	25
> 24 meses	44	993	24
> 24 meses	45	185	22.5
> 24 meses	46	34	31
> 24 meses	47	481	30.5
> 24 meses	48	617	26
> 24 meses	49	46	26.5
> 24 meses	50	921	29
> 24 meses	51	954	28
> 24 meses	52	574	30
> 24 meses	53	791	26
> 24 meses	54	645	36
> 24 meses	55	595	29
> 24 meses	56	648	25.5
> 24 meses	57	522	28
> 24 meses	58	742	25
> 24 meses	59	292	30.5
> 24 meses	60	493	30
> 24 meses	61	927	25.5
> 24 meses	62	184	33.5
> 24 meses	63	96	29
> 24 meses	64	376	28
> 24 meses	65	209	29.5
> 24 meses	66	596	29
> 24 meses	67	54	29
> 24 meses	68	473	25
> 24 meses	69	791	25.5
> 24 meses	70	881	24.5
> 24 meses	71	246	28.5

Estrato Edad	Muestra	Nombre o número del bovino	% de hematocrito
> 24 meses	72	210	21
> 24 meses	73	429	25.5
> 24 meses	74	373	25.5
> 24 meses	75	377	27
> 24 meses	76	573	28
> 24 meses	77	1584	30
> 24 meses	78	24	29
> 24 meses	79	446	33
> 24 meses	80	34	30
> 24 meses	81	935	30
> 24 meses	82	189	29.5
> 24 meses	83	751	25
> 24 meses	84	1179	28.5
> 24 meses	85	178	28.5
> 24 meses	86	604	32.5
> 24 meses	87	1355	24.5
> 24 meses	88	714	33
> 24 meses	89	1141	27.5
> 24 meses	90	66	30
> 24 meses	91	364	27
> 24 meses	92	195	27



Cooperativa Santa Clara

Estrato Edad	Muestra	Nombre o número del bovino	% de hematocrito
0-6 meses	1	3218	30
0-6 meses	2	3210	28
0-6 meses	3	3204	33.5
0-6 meses	4	3190	33
0-6 meses	5	3133	27.5
0-6 meses	6	3132	36.5
0-6 meses	7	3089	26
0-6 meses	8	3067	21
7-12 meses	9	2967	28
7-12 meses	10	2882	23.5
7-12 meses	11	2987	25
7-12 meses	12	2993	25.5
7-12 meses	13	3005	26
7-12 meses	14	2936	29
7-12 meses	15	2994	30
13-23 meses	16	2762	34
13-23 meses	17	2846	23
13-23 meses	18	2587	34
13-23 meses	19	2902	30
13-23 meses	20	2840	36
13-23 meses	21	2735	33.5
> 24 meses	22	2711	25.5
> 24 meses	23	2566	31.5
> 24 meses	24	2719	24
> 24 meses	25	2733	31.5
> 24 meses	26	2766	33.5
> 24 meses	27	2702	35.5
> 24 meses	28	2878	35.5
> 24 meses	29	2807	34.5
> 24 meses	30	2737	38
> 24 meses	31	2734	32.5
> 24 meses	32	2885	26
> 24 meses	33	2731	32
> 24 meses	34	2845	27
> 24 meses	35	2698	30
> 24 meses	36	2770	32

Estrato Edad	Muestra	Nombre o número del bovino	% de hematocrito
> 24 meses	37	2838	34
> 24 meses	38	2798	32
> 24 meses	39	2855	32
> 24 meses	40	2794	29.5
> 24 meses	41	2822	29
> 24 meses	42	2832	29.5
> 24 meses	43	2873	27
> 24 meses	44	2831	23.5
> 24 meses	45	2874	22.5
> 24 meses	46	2657	32
> 24 meses	47	2815	30.5
> 24 meses	48	2875	30
> 24 meses	49	2828	14
> 24 meses	50	29/32	25
> 24 meses	51	650	27.5
> 24 meses	52	821	29
> 24 meses	53	412/4	25.5
> 24 meses	54	1606	23.5
> 24 meses	55	3	28
> 24 meses	56	71/15	29.5
> 24 meses	57	40	25
> 24 meses	58	701	31.5
> 24 meses	59	43	28
> 24 meses	60	2498	28
> 24 meses	61	1717	25.5
> 24 meses	62	736	24.5
> 24 meses	63	1001	29.8

## Cooperativa Nilo II

Estrato Edad	Muestra	Nombre o número del bovino	% de hematocrito
> 24 meses	1	214	27
> 24 meses	2	204	26
> 24 meses	3	353-6	25
> 24 meses	4	244	30
> 24 meses	5	643	24.5
> 24 meses	6	14	27
> 24 meses	7	453	24
> 24 meses	8	173	26.5
> 24 meses	9	34-6	23
> 24 meses	10	10	27
> 24 meses	11	363	22
> 24 meses	12	563	26
> 24 meses	13	553	26
> 24 meses	14	523	20.5
> 24 meses	15	17	22.5
> 24 meses	16	233	22
> 24 meses	17	84	31.5
> 24 meses	18	273	22
> 24 meses	19	34	24
> 24 meses	20	163	22
> 24 meses	21	97	27.5
> 24 meses	22	10-9	26
> 24 meses	23	174	29
> 24 meses	24	383	27.5
> 24 meses	25	209	30
> 24 meses	26	88-6	29
> 24 meses	27	603	29.5
> 24 meses	28	284	23.5
> 24 meses	29	134	26.5
7-12 meses	30	46	26.5
7-12 meses	31	66	25.5
7-12 meses	32	166	25
0-6 meses	33	456	27
0-6 meses	34	436	33
0-6 meses	35	466	33
0-6 meses	36	406	27
0-6 meses	37	416	27

Estrato Edad	Muestra	Nombre o número del bovino	% de hematocrito
13-23 meses	38	75	31.5
13-23 meses	39	175	31
13-23 meses	40	165	28
13-23 meses	41	85	28
13-23 meses	42	704	31
13-23 meses	43	295	24



Cooperativa Nilo I

Estrato Edad	Muestra	Nombre o número del bovino	% de hematocrito
0-6 meses	1	107-96	32.5
0-6 meses	2	108-96	29
0-6 meses	3	101-96	30
0-6 meses	4	85-96	27
0-6 meses	5	94-96	32
0-6 meses	6	70-96	28
0-6 meses	7	71-96	30
7-12 meses	8	79-96	32
7-12 meses	9	128-96	22
7-12 meses	10	54-96	24
7-12 meses	11	56-96	26
7-12 meses	12	36-96	31
7-12 meses	13	66-96	29
7-12 meses	14	39-96	25
7-12 meses	15	55-96	30
7-12 meses	16	9-96	32
7-12 meses	17	12-96	30
7-12 meses	18	35-96	22.5
7-12 meses	19	17-96	16.5
7-12 meses	20	33-95	24
7-12 meses	21	149-95	22
13-23 meses	22	19-95	30.5
13-23 meses	23	92-95	27
13-23 meses	24	19-95	35
13-23 meses	25	11-95	23
13-23 meses	26	27-95	27.5
13-23 meses	27	2-95	20
13-23 meses	28	33-95	22.5
> 24 meses	29	157-92	32.5
> 24 meses	30	12-93	26
> 24 meses	31	12-90	24
> 24 meses	32	41-94	34.5
> 24 meses	33	Pollera	25
> 24 meses	34	77-8	26.5
> 24 meses	35	45-93	23.5

Estrato Edad	Muestra	Nombre o número del bovino	% de hematocrito
> 24 meses	36	61-93	24.5
> 24 meses	37	30-8	32
> 24 meses	38	27-93	30
> 24 meses	39	1854	28.5
> 24 meses	40	116-91	22.5
> 24 meses	41	36	24
> 24 meses	42	110-92	28
> 24 meses	43	103-9	31
> 24 meses	44	84-8	25
> 24 meses	45	Josefina	31
> 24 meses	46	5391	23.5
> 24 meses	47	80-6	32.5
> 24 meses	48	959	23.5
> 24 meses	49	Delias	30
> 24 meses	50	Isidra	34.5
> 24 meses	51	9-6	29
> 24 meses	52	4-7	32
> 24 meses	53	3591	30.5
> 24 meses	54	F	31
> 24 meses	55	125-92	27
> 24 meses	56	Silvina	28
> 24 meses	57	39-90	34.5
> 24 meses	58	4341	30
> 24 meses	59	Extranjera	37.5
> 24 meses	60	59-91	27.5
> 24 meses	61	138-92	24.5
> 24 meses	62	Volcanaña	34.5
> 24 meses	63	Lupe	29
> 24 meses	64	Tortola	35
> 24 meses	65	Vetiz	37.5
> 24 meses	66	Toronja	34.5
> 24 meses	67	Tequero	34
> 24 meses	68	Margarita	27
> 24 meses	69	Celosa	28.5
> 24 meses	70	Miseria	28
> 24 meses	71	6992	29.5
> 24 meses	72	Secibel	31.5
> 24 meses	73	319	30.5