

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA ANAPLASMA MARGINALE EN BOVINOS BAJO CONDICIONES DE TRÓPICO SUBHÚMEDO

Autor/es: *Palacios F.J.A., Preciado T.J.F., Martínez V.G., Bustamante G, J.J. José Antonio Palacios Fránquez. Sitio Experimental “El Verdineño”. Km. 7.5. Carretera Navarrete Sauta, Nayarit.

Resumen

Con el objetivo de conocer la prevalencia de anticuerpos contra *Anaplasma marginale* en bovinos de razas y edades diferentes, bajo un sistema de pastoreo extensivo, fue realizado un trabajo en el Sitio Experimental “El Verdineño” (INIFAP), ubicado en el Municipio de Santiago Ixcuintla, Nayarit, México, en condiciones de trópico subhúmedo Aw2, con precipitación pluvial promedio de 1,200 mm, temperatura media anual de 24° C, y época de estiaje con una duración que fluctúa entre siete y ocho meses al año. Fueron tomadas muestras de sangre de 151 bovinos, mediante punción de la vena coccígea, tomando aproximadamente 10 ml por animal mediante agujas vacutainer y tubos con vacío estériles sin anticoagulante. El suero obtenido se utilizó para determinar anticuerpos de *Anaplasma marginale*, mediante la prueba de Elisa indirecta. Para el análisis de la información fueron consideradas las estadísticas descriptivas, utilizando las medidas de resumen (Proporciones). Los valores de prevalencia fueron determinados mediante la presente fórmula: $P = np/T(100)$. En donde P=Seroprevalencia de anticuerpos (Ac.) de *Anaplasma marginale* en bovinos, np=número de sueros positivos y T=número total de sueros analizados y el resultado multiplicado por 100. La variable de respuesta fue títulos de Ac. de *Anaplasma marginale* en bovinos y las variables dependientes fue Raza: Guzerat (n=50), Criollo (n=45), Angus X Guzerat (n=31) y Angus X Criollo (n=17); edad de 5-9 años (n= 32), 10-14 años (n=61) y 15-21 años (n=58). Los resultados muestran una prevalencia general de 56.29% (85/151), también se demostró que la prevalencia de *Anaplasma marginale* para la raza Guzerat, Criollo, Angus x Guzerat y Angus x Criollo fue de 68% (34/50), 55.56% (25/45), 54.84% (17/31) y 41.18% (7/17), respectivamente. Mientras que para la edad la prevalencia fue de 18.75% (6/32), 63.93% (39/61) y 68.97% (40/58) para los bovinos que tenían de 5 a 9 años, 10 a 14 años y de 15 a 21 años,

respectivamente. Se concluye que la presencia de anticuerpos de *Anaplasma marginale* mostró ser importante para las dos variables (Raza y edad); ya que la prevalencia fue desde un 41% hasta el 68%, demostrando así una estabilidad enzootica para las razas antes mencionadas. Aunque fueron relativamente pocos animales de 5 a 9 años de edad positivos a la prueba 6/32 (18.75%) y por lo tanto más animales susceptibles no se tienen registros de casos clínicos de campo en “El Verdineño”.

INTRODUCCION.

Anaplasmosis. Es una enfermedad producida por la Rickettsia *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmatacea), la cual se encuentra distribuida en zonas tropicales y subtropicales (Kocan et al., 2004). Esta enfermedad se caracteriza por anemia severa asociada con anorexia, fiebre, pérdida de peso, disminución de la producción de leche y carne (Barigye y col., 2004). Comúnmente se le conoce como “mal del cacho”, “mal de llave”, “ranilla blanca”, “enfermedad de la hiel” y “vaca amarilla” entre otras (Callow, 1976). Existen tres especies del género anaplasma: *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale* que son infectantes para los bovinos y *Anaplasma ovis* para ovejas y cabras. *Anaplasma marginale* es la única especie de éste género de Rickettsias presentes en México y es precisamente la mas patógena de todas y geográficamente se distribuye en las áreas tropicales abarcando más de la mitad del Territorio Nacional (Osorno y Ristic, 1977). La Anaplasmosis se puede transmitir en forma biológica mediante garrapatas de los géneros *Boophilus*, spp., *Dermacentor*, spp., *Ixodes*, spp. y *Rhipicephalus* spp. (Sieber, 1910; Theiler, 1910); en forma mecánica por insectos hematófagos como mosca del establo, mosquitos de los géneros *Siphona* spp., y tábanos (Lotze, 1944; Ristic, 1968) y en forma iatrogénica por manipulaciones como castraciones, descornes y vacunaciones por no esterilizar adecuadamente los utensilios utilizados. En México se estima que las pérdidas anuales provocadas por anaplasmosis bovina, ascendían a 3 mil millones de pesos y que para el caso de Babesiosis era de 2,700 millones de pesos, lo que en conjunto representaba un equivalente de 48 millones de dólares EE.UU., de ésta cantidad, casi el 44%, aproximadamente 21 millones de dólares EE.UU., se derivaron de las pérdidas indirectas (Delegación Mexicana, 1981). Asimismo en 1995 se le responsabilizó de un 26% de la mortalidad total en bovinos sometidos a programas de mejoramiento genético “Ganado mejor”, esto sin incluir pérdidas no reportadas en animales fuera de estos programas gubernamentales (García y col., 1998). La Anaplasmosis afecta al ganado adulto y de primer contacto; los animales menores a 18 meses son relativamente resistentes a la enfermedad (Aboytes y col., 1994). Los bovinos de todas las razas son igualmente susceptibles a la infección por anaplasma, las razas cebuinas sin embargo, son más resistentes a la picadura por garrapatas y como consecuencia presentan menor probabilidad de ser infectadas por la Rickettsia (Otim y col., 1980). Para disminuir el impacto de esta enfermedad es necesario diagnosticar

oportunamente la infección. Un recurso para el diagnóstico es la estimación de la presencia de anticuerpos anti-anaplasma. Una de las técnicas más empleadas por su alta sensibilidad en medicina, para la mayoría de las infecciones, es la técnica de ensayo inmunoenzimático en placa (ELISA), la cual conjuga dos reacciones, la reacción inmunológica propiamente dicha entre un antígeno y un anticuerpo y una reacción enzimática que le brinda alta sensibilidad a la prueba (Winkler y col., 1987). No existen programas para el control de la *Babesiosis* y la *Anaplasmosis bovina*, ni información actualizada que nos indiquen el impacto en la producción. Ambas enfermedades se encuentran estrechamente ligadas a garrapatas por ser estas vectores de las mismas, por lo tanto, es necesario desarrollar acciones que lleven a la elaboración de programas integrales de control. El objetivo del presente estudio fue conocer la prevalencia de anticuerpos de *Anaplasma marginale* en bovinos de razas y edades diferentes, del Sitio Experimental “El Verdineño”, bajo condiciones de trópico subhúmedo, en Nayarit.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio fue realizado en el Sitio Experimental “El Verdineño”, Municipio de Santiago Ixcuintla, Nayarit, México. Se encuentra ubicado en el km 7.5 de la carretera Navarrete-Sauta. A una altitud de 25 msnm, clima tropical subhúmedo Aw2, con una precipitación media anual de 1200 mm y temperatura media anual de 24°C. Los bovinos se mantuvieron bajo un sistema de pastoreo extensivo con pastos introducidos, se bañaron por inmersión cada 21 días mediante la molécula de Organofosforados. Anualmente se les aplicó la vacuna triple (Pasteurellosis, Carbón Sintomático y Edema Maligno) y la vacuna contra la Rabia Paralítica. El número total de animales muestreados fue de 151 bovinos de raza sexo y edades diferentes. La obtención de sangre fue mediante punción de la vena coccígea a nivel del pliegue anocaudal y se obtuvieron aproximadamente 10 ml por animal, mediante agujas y tubos vacutainer estériles sin anticoagulante. Al momento de tomar la muestra se procedió a la identificación del tubo con los datos del animal y fecha de la toma de muestra. Las muestras se centrifugaron y los sueros fueron separados y mantenidos en congelación hasta su posterior análisis en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria (CENID-PAVET), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), en Jiutepec, Morelos; en donde se llevó a cabo la prueba de ELISA indirecta de la siguiente forma: En placas de poliestireno (Costar® 3590) de 96 pozos previamente sensibilizadas con antígeno de *Anaplasma marginale* al 1% de la cepa Yucatán y bloqueadas con una solución de leche descremada en polvo al 5% en SSAF/Tween 20, se colocaron por triplicado 200 µl de todas las muestras de suero a una dilución de 1:100, incluyendo controles positivos y negativos, y se incubaron durante una hora a 37°C. Posteriormente, se lavaron las placas a temperatura ambiente con una solución salina amortiguadora de fosfatos pH 7.2 (SSAF) - Tween 20 al 0.05%, por tres ocasiones. Después de los

lavados, se agregó el conjugado (anti IgG bovina de origen cabra, en SSAF/ Tween 20) diluido a una concentración de 1:10,000, en un volumen de 200 µl por pozo y se incubaron las placas por una hora a 37°C. Luego se lavaron nuevamente. Después de un último lavado, se depositarán 200 µl del sustrato (pnitrofenilfosfato al 0.075% en solución reguladora de Tris 100Mm, pH 9.5) por pozo. Se incubaron las placas por 50 minutos a 37° C y en un espectrofotómetro se registró la absorbancia a una longitud de onda de 405 nm; los valores se expresaron en unidades de densidad óptica (DO). La determinación de positividad se estableció en los sueros que presentaron valores superiores al punto de corte, calculado como resultado del promedio de DO de los controles negativos más 3 veces su desviación estándar. (Rodríguez y col., 1999). Para el análisis de la información fueron consideradas las estadísticas descriptivas, utilizando las medidas de resumen (Proporciones). Los valores de prevalencia fueron determinados mediante la fórmula $P=np/T(100)$ Málaga (1990). En donde P= Seroprevalencia de anticuerpos (Ac.) de *Anaplasma marginale* en bovinos, np= número de sueros positivos y T= número total de sueros analizados y el resultado multiplicado por 100. La variable de respuesta fue títulos de Ac. de *Anaplasma marginale* en bovinos y las variables dependientes fue Raza: Guzerat (n=50), Criollo (n=45), Angus X Guzerat (n=31) y Angus X Criollo (n=17); edad de 5-9 años (n= 32), 10-14 años (n=61) y 15-21 años (n=58).

RESULTADOS

Los análisis a la prueba de Elisa-indirecta mostraron que de los 151 sueros analizados 85 resultaron positivos, representando el 56.29% de la prevalencia general de anticuerpos de *Anaplasma marginale*. Con respecto a la raza, podemos observar en el cuadro 1, que cincuenta sueros probados para guzerat, 34 resultaron positivos, representando el 68% de la prevalencia. Para la raza criollo, de cuarenta y cinco sueros analizados, 25 fueron positivos siendo de 55.56% de la prevalencia. Diecisiete (54.84%) de 31 sueros analizados provenientes de la cruce angus x guzerat, resultaron positivos a anticuerpos de *Anaplasma marginale*. Siete (41.18%) de diecisiete sueros analizados provenientes de la cruce angus x criollo resultaron positivos. Al estratificar por edades, observamos en el cuadro 2, que treinta y dos sueros provenientes de animales que tenían de 5 a 9 años de edad, seis de ellos resultaron positivos a la prueba de Elisa-indirecta, representando un 18.75% de la prevalencia. Sesenta y un bovinos de 10 a 14 años de edad, 39 resultaron positivos (63.93%). Mientras que los animales de 15 a 21 años de edad, de 58 sueros probados, 40 resultaron positivos, representando el 68.97% de la prevalencia a Ac. de *Anaplasma marginale*.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

De los 151 sueros analizados 85 resultaron positivos a *Anaplasma marginale*; representando una prevalencia general del 56.29%. Sin embargo cuando se analizaron las muestras por raza de animales las prevalencias fueron de 68%, 55.56%, 54.84% y 41.18% para Guzerat, Criollo, Angus X Guzerat y Angus X Criollo, respectivamente. Cuando las muestras de los animales fueron distribuidas por edades, las prevalencias fueron de 18.75%, 63.93% y 68.97% para los bovinos que tenían 5 a 9 años, 10 a 14 años y 15 a 21 años de edad, respectivamente. Los resultados obtenidos en este trabajo son similares a lo reportado por García y col., (1996), en Veracruz con clima cálido húmedo, cuya prevalencia general fue del 56% y con una variabilidad del 12% al 90%. Con respecto a la edad reportó que los animales de 1 a 3 meses la prevalencia fue de 37% y en los mayores de tres años la prevalencia fue 61%, En cuanto a la raza la prevalencia fue similar entre las razas suizo (47%) y cruza de cebu x suizo (57%). Comparado con un estudio previo llevado a cabo 17 años atrás donde se informó de una prevalencia general de 82.1% en el mismo Sitio Experimental "El Verdineño". Los autores utilizaron para el análisis de las muestras la prueba de Fijación del Complemento (FC) y solamente utilizaron animales de la Raza Guzerat. En su distribución de edades, reporta una prevalencia de 89.3% para el grupo de bovinos mayores de 27 meses hasta los cinco años de edad (Fernández y col., 1995). Sin embargo otros estudios realizados en México para conocer el grado de inmunidad que presentan los bovinos en las diferentes zonas reportan prevalencias relativamente más bajas. En Aldama, Tamaulipas; con clima Tropical Seco, utilizaron bovinos Suizo Americano e híbridos Cebú Holstein y reportan una prevalencia del 11.11% y cuando realizan la distribución por edades reportan de 60 bovinos muestreados con edades arriba de los tres años de edad una prevalencia de 16.66%, (López y col., 1984). En Chiapas, bajo condiciones de trópico húmedo, reportan una prevalencia general de 33.60%. Las razas muestreadas fueron Gyr, Brahman, Suizo Americano y cruzados Cebú x Europeo, al hacer distribuciones por edad reportan que de 86 bovinos mayores de 27 meses hasta los 8 años de edad resultaron positivos 28, representando el 32.55% de prevalencia a *Anaplasma marginale* (López y col., 1985). En Venezuela, con la técnica de Elisa-indirecta, reportan una prevalencia general de 31.8% (de 400 bovinos muestreados) contra anticuerpos de *Anaplasma marginale* y al dividir los bovinos por etapa productivas en becerros, novillas, novillos y toros, reportan una prevalencia de 15.0%, 46.9%, 48.4% y 37%, respectivamente (González y Meléndez, 2007). En Ecuador, reportan una prevalencia general de 91.16% (165/181). Al realizar la distribución de bovinos por edades de 0 a 12 meses, 13 a 36 meses y >36 meses, encontraron prevalencias de anticuerpos de *Anaplasma marginale* de 90.91%, 92.31 y 89.47%, respectivamente (Soto, 2010). Con este estudio queda demostrado que se mantiene una alta prevalencia anticuerpo de *Anaplasma marginale* en el Sitio Experimental "El Verdineño", lo que indica

una persistencia de la infección y por lo tanto una estabilidad enzootica. Esto representa una baja probabilidad de casos clínicos sin embargo, existe una alta probabilidad de enfermedad clínica en animales que sean introducidos desde zonas libres de garrapatas y por lo tanto libres de *Anaplasma marginale*. Destaca que la cruce Angus x Criollo sea la que presenta la más baja prevalencia (41.18%), lo cual podría estar relacionado a su mayor resistencia a las garrapatas como se ha mencionado para las razas de tipo cebú y por lo tanto a una reducción en el nivel de exposición a garrapatas infectadas. Sería conveniente también evaluar la tasa de infección en las garrapatas de campo. Se concluye que la prevalencia general de *Anaplasma marginale* en la población bovina del Sitio Experimental “El Verdineño” continúa siendo alta para la raza Guzerat, Criollo, y Angus X Guzerat; por lo tanto se mantiene una estabilidad enzootica con estas razas; sin embargo, la cruce Angus X Criollo, y la edad (5-9 años) aun cuando presento el menor número de sueros positivos y por lo tanto más animales susceptibles, es raro observar casos clínicos en campo en “El Verdineño”. Por otro lado, deberá tenerse especial cuidado con la introducción de animales libres de la enfermedad, ya que tienen alta probabilidad de padecer la infección en forma clínica al ser expuestos a garrapatas en el campo.

CUADRO 1. SEROPREVALENCIA DE <i>Anaplasma marginale</i> EN BOVINOS SEGÚN RAZA				
Raza	Sueros probados	Anaplasma (+)	Anaplasma (-)	Prevalencia (%)
Guzerat	50	34	16	68,00
Criollo	45	25	20	55,56
Angus x Guzerat	31	17	14	54,84
Angus x Criollo	17	7	10	41,18

CUADRO 2. SEROPREVALENCIA DE <i>Anaplasma marginale</i> EN BOVINOS SEGÚN EDAD				
Edad en años	Sueros probados	Anaplasma (+)	Anaplasma (-)	Prevalencia (%)
5 - 9	32	6	26	18,75
10 - 14	61	39	21	63,93
15 - 21	58	40	18	68,97

LITERATURA CITADA FUENTE .

<https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/prevalencia-anticuerpos-contra-anaplasma-t40556.htm>

.