

SITUACIÓN DE LA BABESIOSIS Y ANAPLASMOSIS DE LOS BOVINOS EN EL SUDOESTE DE LA PROVINCIA DEL CHACO (ARGENTINA)

MASTROPAOLO, M.^{1,2}; **TORIONI DE ECHAIDE, S.**¹; **CUATRIN, A.**¹;
ARECE, H.³; **LOBATO, S.**³ & **MANGOLD, A. J.**¹

RESUMEN

Mediante pruebas de ELISA indirecto y de competición se estimaron las seroprevalencias para *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale* en establecimientos ganaderos del sudoeste de la provincia del Chaco. El área se encuentra en la zona infestada con *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Se analizaron 776 muestras de suero de terneras de 4 a 8 meses pertenecientes a 33 establecimientos (aprox. 25 por establecimiento) y se calculó la tasa de inoculación (*h*; probabilidad diaria de infección) para cada rodeo. El 91% (30) de los establecimientos se encontraron en una situación de inestabilidad enzoótica para todos o para alguno de los tres microorganismos, con el consiguiente riesgo de brotes de importancia económica. Los resultados muestran que es un error considerar que un rodeo presenta inmunidad contra estos microorganismos sólo por provenir de un área infestada con garrapatas.

Palabras clave: epidemiología, *Babesia*, *Anaplasma*, garrapatas, Argentina.

SUMMARY

Situation of cattle babesiosis and anaplasmosis in southwestern Chaco province (Argentina).

Serum samples of 776 calves (4-8 months) were obtained from 33 herds located in an area infested with *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in southwestern Chaco province. The prevalence to *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale* antibodies was estimated by using indirect and competitive ELISA tests. The inoculation rate (*h*; daily probability of infection) was obtained for each herd. Most herds (91%) were found to be in enzootic instability, at least for one of the three parasites, and therefore at risk of outbreaks of economical importance. These results show that cattle herds from tick-infected areas cannot be considered as immune solely on the basis of their origin.

Key words: epidemiology, *Babesia*, *Anaplasma*, ticks, Argentina.

1.-INTA, EEA Rafaela. Ruta 34, Km 227. C. C. 22. (2300) Rafaela, Santa Fe.

E-mail: mmastropaolo@rafaela.inta.gov.ar

2.- Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral. Kreder 2805. (3080) Esperanza, Santa Fe.

3.- Actividad privada. Villa Ángela, Chaco.

Manuscrito recibido el 4 de mayo de 2009 y aceptado para su publicación el 14 de mayo de 2009.

INTRODUCCIÓN

La babesiosis, causada por *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, y la anaplasmosis, por *Anaplasma marginale*, afectan a los bovinos, causando un significativo impacto económico negativo en la ganadería argentina (Späth *et al.*, 1994). Al ser transmitidas solamente por la garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, la presentación de ambas especies de *Babesia* está limitada a las regiones con presencia del vector (Guglielmo, 1995), denominadas oficialmente en nuestro país zona de lucha y zona infestada de garrapatas (Signorini & Mattos, 1987). *A. marginale* puede ser transmitida naturalmente por otros artrópodos hematófagos como garrapatas, tábanos, moscas, mosquitos o por iatrogenia, mediante agujas e instrumental veterinario, por lo que su distribución geográfica es mayor que la de la babesiosis, alcanzando la zona limpia de garrapatas. Un factor común a los tres microorganismos es que existe una resistencia inespecífica a la enfermedad inversamente relacionada con la edad de los bovinos, lo que determina que una primera exposición en animales menores a 8 o 9 meses curse de manera benigna y poco aparente mientras que animales mayores a esa edad pueden desarrollar un cuadro clínico grave (Guglielmo, 1994). En cualquier caso, la primoinfección induce a un estado de inmunidad que persiste para toda la vida útil del animal, independientemente de nuevas exposiciones (Mahoney *et al.*, 1973, Aguirre *et al.* 1993). De esto se desprende que si en un rebaño cada año la mayoría de los terneros se infecta antes de que su susceptibilidad se incremente, el rebaño se encontraría en una situación de estabilidad enzoótica y por ende no habría brotes. Por el contrario, si una gran proporción de los terneros no se infecta durante la etapa de resistencia, el rodeo se encontraría

en inestabilidad enzoótica, con alto riesgo de brotes de babesiosis y/o anaplasmosis con consecuencias económicas negativas potencialmente sustanciales (Bock *et al.*, 2004). La situación particular de cada rodeo puede conocerse calculando la tasa de inoculación mediante la determinación de anticuerpos para cada uno de los parásitos en terneros de 6-9 meses de edad y la aplicación del modelo desarrollado por Mahoney & Ross (1972):

$$h = [-\ln (1/1-I)]/t$$

Donde h es la tasa de inoculación (probabilidad diaria de infección), I es la prevalencia real de la infección y t representa la edad en días de los animales. Se alcanza una situación de estabilidad enzoótica cuando h adopta valores superiores a 0,005 mientras que valores entre 0,005 y 0,0005 determinan una situación de inestabilidad enzoótica de alto riesgo. Por debajo de 0,0005 se habla de inestabilidad de bajo riesgo ya que la circulación de microorganismos es muy baja como para desencadenar un brote de importancia pero las condiciones pueden tornarse de alto riesgo ante cambios climáticos o de manejo que determinen una mayor tasa de transmisión (Mahoney & Ross, 1972; FAO, 1984).

Se debe considerar que la tasa de inoculación es la consecuencia de una compleja interacción de factores que involucra a las condiciones ambientales para el desarrollo de poblaciones de garrapatas (u otros artrópodos hematófagos en el caso de anaplasmosis), el nivel de resistencia a las garrapatas de los biotipos bovinos, la proporción de garrapatas infectadas y factores de manejo tales como esquemas de control de ectoparásitos, carga animal por unidad de superficie y tipo de pasturas (Guglielmo, 1992).

Es importante considerar que el estatus

de estabilidad se debe alcanzar para cada uno de los tres microorganismos, por lo que resulta evidente que la situación puede cambiar de un año a otro e incluso ser diferente en establecimientos dentro de una misma región. El objetivo de este estudio fue determinar la tasa de inoculación e, indirectamente, el riesgo de ocurrencia de brotes de babesiosis y/o anaplasmosis en establecimientos ganaderos ubicados en una región de transición climática con aptitud intermedia para el desarrollo de garrapatas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio comprendió el departamento Mayor Luis J. Fontana, provincia del Chaco, en el Noreste de Argentina, ubicado en la transición entre el Distrito Chaqueño Oriental y el Occidental de la provincia fitogeográfica Chaqueña perteneciente al Dominio Chaqueño (Cabrera 1994). El departamento es el tercero en existencias ganaderas en la provincia. Cuenta con una superficie de 252.683 ha dedicadas a la ganadería, en las que se mantienen 210.118 cabezas distribuidas en 630 rebaños (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Ministerio de Economía y Producción, Presidencia de la Nación, Argentina). En líneas generales se siguió la metodología propuesta por Guglielmone (1991). Entre julio y agosto de 2003 se obtuvieron 776 muestras de sangre de terneras de 4 a 8 meses de edad (media y desvío estándar de 7,7 y 0,95) de 33 rebaños de producción de carne con una distribución de aproximadamente 25 terneras por rebaño. Se debe tener en cuenta que determinar la prevalencia de estas enfermedades en animales de menos de 4 meses de edad no es apropiado debido a la presencia de anticuerpos colostrales y en animales mayores a un año no es correcto por la caída de

anticuerpos con el paso del tiempo (de Ríos *et al*, 1988) y el sesgo de la evaluación por la exclusión de los animales que no sobrevivieron a la primoinfección. Además se encuestaron 29 productores con el fin de relacionar los resultados serológicos con: 1) superficie dedicada a la ganadería, categorizados en dos niveles: menos de 1000ha y más de 1000ha, 2) cantidad de animales, categorizados en dos niveles: menos de 500 y más de 500 cabezas, 3) biotipo de ganado (*B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* o *B. taurus*), 4) manejo nutricional y 5) número y tipo de tratamientos acaricidas anuales.

Tanto para *B. bovis* como para *B. bigemina* se utilizó la prueba de ELISA indirecta basada en antígeno nativo solubilizado derivado de merozoitos purificados obtenidos *in vitro*. El punto de corte para ambos casos fue establecido previamente en 16% utilizando sueros diluidos 1/80 para *B. bovis* y 1/120 para *B. bigemina*, con una sensibilidad (S_c) y una especificidad del 99% y 98% para *B. bovis* (Echaide *et al* 2004) y del 87% y 93% para *B. bigemina* respectivamente. (Echaide, I., no publicado). Los resultados se expresaron en porcentajes de positividad con respecto de sueros de referencia de *B. bovis* y *B. bigemina* (Guglielmone *et al* 1997 a). Para el caso de *A. marginale* se utilizó la prueba de ELISA de competición con una S_c del 98% y una S_p del 97%. Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición y el punto de corte utilizado fue del 28% (Torioni de Echaide *et al*, 1998). Las muestras de suero se procesaron también mediante la prueba de conglutinación en placa para *Anaplasma* conocida como "Card test" (Amerault *et al*, 1972).

La prevalencia real para cada enfermedad en cada establecimiento se obtuvo según el método desarrollado por Lew & Levy (1989).

$$\pi' = \frac{(d + S_p - 1)}{(S_e + S_p - 1)}$$

$$d = \frac{\int_{1-S_p}^{S_e} p^{x+1} * (1-p)^{n-x} dp}{\int_{1-S_p}^{S_e} p^x * (1-p)^{n-x} dp}$$

Donde π' representa el estimador de la prevalencia real de la enfermedad, d es el estimador de R, el cual representa la proporción de sujetos detectados como positivos por la prueba empleada (prevalencia aparente), p representa la proporción de pruebas positivas asociada a cada punto del intervalo de $(1-S_p)$ a S_e , n es el número de casos evaluados, x es el número de casos positivos a la prueba evaluados. El valor así obtenido se usó para reemplazar I en la fórmula de cálculo de h .

A los fines de relacionar la información obtenida mediante las encuestas con los resultados de la serología se comparó cada variable con la seroprevalencia como variable respuesta y se realizó un análisis de regresión logística mediante el Criterio de Información de Akaike (AIC) para la selección del modelo final, empezando por un modelo máximo (incluyendo factores de interés e interacciones de pares relevantes) y eliminando términos no significativos (un término se considero no significativo si no redujo el AIC en 2 unidades cuando fue incluido).

RESULTADOS

Encuestas

No todas las encuestas fueron respondidas en su totalidad, por lo que hubo diferencias en el número de respuestas para cada

pregunta. El 66,6% de los productores manifestó tener problemas de babesiosis y/o anaplasmosis en sus rodeos. El 51,8% de los establecimientos cuenta con una superficie ganadera menor a 1000 ha (100 – 900 ha) y el 48,2% con más de 1000 ha (1000 – 57000 ha). A su vez, el 51,7% tiene menos de 500 cabezas (134 – 479) y 48,3%, más de 500 cabezas (597 – 20712). El 100% de los rebaños presentó algún grado de cruzamiento *B. indicus* x *B. taurus*, que en ningún caso superó el 50% de genes *Bos indicus*. Un 64,3% ($n = 18$) de los rebaños presentó una proporción de genes *Bos indicus* menor al 25%, mientras que el 35,7% restante ($n = 10$) se ubicó entre el 25 al 49% de cruzamiento. En cuanto al manejo nutricional, el 70,4 % de los rodeos se mantiene en pasturas permanentes sin descanso, el 11,1% en pasturas permanentes con descanso, en el 14,8% se combinan pasturas permanentes con pasturas estacionales y en el 3,7% se utilizan otras combinaciones. Todos los establecimientos aplican tratamientos acaricidas. La forma de aplicación más utilizada es el derrame dorsal (48,3 %), seguido por los baños de inmersión (17,2 %) y los productos inyectables (10,3 %). La aspersión fija es utilizada por un productor (3,4 %), en tanto que el 20,8 % restante utiliza distintas combinaciones de las formas mencionadas. Estos tratamientos se realizan con una frecuencia de cuatro aplicaciones anuales en un 44,8 % de los rodeos, cinco aplicaciones en un 20,7 % de los rodeos, tres aplicaciones en el 13,8 % de los rodeos y entre seis y ocho aplicaciones en un 13,8% de los rodeos. Un establecimiento realiza un único tratamiento anual y otro lo hace 12 veces al año. Los únicos acaricidas utilizados fueron los piretroides en el caso de los establecimientos que realizan baños, derrames dorsales o aspersión, y endectocidas del grupo de las avermectinas en los que optan por la administración inyectable.

Serología

Para el caso de *B. bovis* el 9% (n = 3) de los rodeos presentó valores de $h > 0,005$. El 18% (n = 6) de los rodeos presentó valores de $h > 0,005$ para *B. bigemina* en tanto que el 39% (n = 13) de los rodeos superó ese valor para *A. marginale*. Analizando las tres enfermedades en conjunto, solamente el 9% (n = 3) de los establecimientos se encontró en una situación de estabilidad endémica, superando valores de h de 0,005 para cada microorganismo, mientras que el resto se encontró en una situación de inestabilidad para el conjunto o para alguna de las enfermedades en particular.

El análisis de regresión logística no arrojó relaciones estadísticamente significativas entre las variables evaluadas.

DISCUSIÓN

El presente trabajo junto con otros realizados en diferentes regiones del país (Aguirre *et al* 1990, Vanzini *et al* 1999, Späth *et al* 1987, Guglielmone *et al* 1997 b) muestran que es un error considerar que un rodeo presenta altos niveles de inmunidad contra las tres enfermedades aquí estudiadas basándose solamente en que provienen de la zona infestada con garrapatas. A pesar de pertenecer a dicha zona, una gran proporción de establecimientos del sudoeste de la provincia del Chaco se encontraban en inestabilidad enzoótica para babesiosis y/o anaplasmosis al momento de la realización del estudio. La región se encuentra en la transición ecológica entre el chaco húmedo y el chaco semiárido. En este tipo de áreas las condiciones climáticas no son continuamente favorables para el desarrollo de las garrapatas y el nivel de infestación varía ampliamente con la estación, pero los parásitos

permanecen y su presencia se caracteriza por la ocurrencia irregular de brotes de enfermedad clínica (Mahoney, 1962). De cualquier manera es probable que factores de manejo, particularmente los relacionados con el control de garrapatas, influyeran más la tasa de inoculación que la aptitud del ambiente para *R. (B.) microplus*.

En áreas favorables para el desarrollo de *R. (B.) microplus* puede darse una situación de baja inmunidad sólo por las medidas de control aplicadas, que puede tornarse de alto riesgo si dichas medidas se distienden, si se desarrolla resistencia a los acaricidas (Callow *et al*, 1976; Smith & Kakoma, 1989), o si la tropa es transportada a otro establecimiento con una dinámica de transmisión diferente.

Estudios de este tipo pueden ser conducidos para conocer la situación de un establecimiento en particular, ya que, si bien no permite hacer inferencias acerca de la incidencia clínica de la enfermedad, el conocimiento del riesgo de ocurrencia de brotes es fundamental para decidir medidas preventivas con un criterio económico (Ej.: vacunación anual de la reposición).

Los factores y las variables incluidos en las encuestas han sido relacionados con la epidemiología de estas enfermedades (Guglielmone, 1991). Sin embargo el limitado número de establecimientos analizados y la uniformidad de los resultados no permitió profundizar en el análisis de los factores que condicionan la situación particular de un rodeo. Un estudio que abarque mayor cantidad de establecimientos, diferentes regiones biogeográficas, y distintos años sería de utilidad para explorar la participación de las distintas variables en la epidemiología de estas enfermedades, así como para identificar factores de manejo que puedan conducir a una situación de riesgo.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por el convenio INTA EEA Rafaela-Asociación Cooperadora INTA Rafaela y la Sociedad Rural de Villa Ángela. Se agradece a CONICET por el apoyo financiero a Mariano Mastropaolo.

BIBLIOGRAFÍA

- AGUIRRE, D. H.; A. C. BERMÚDEZ; A. J. MANGOLD & A. A. GUGLIELMONE.** 1990. Infección natural con *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* en bovinos de raza Hereford, Criolla y Nelore en Tucumán, Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria*. Vol. 71. N°2. 54-60.
- AGUIRRE, D. H.; S. T. DE ECHAIDE; A. J. MANGOLD. & A. A. GUGLIELMONE.** 1993. Duración prolongada de la inmunidad contra *Babesia bigemina* en ausencia de reinfección. *Revista de Medicina Veterinaria*. Vol. 74. N° 4. 223-225.
- AMERULT, T. E.; J. E. ROSE; & T. O. ROBY.** 1972. Modified card agglutination test for bovine anaplasmosis: evaluation with serum and plasma from experimental and natural cases of anaplasmosis, p. 736-744. *In Proceedings of the 76th Annual Meeting of the U.S. Animal Health Association*. U.S. Animal Health Association, Richmond, Va.
- BOCK, R.; L. JACKSON; A. DE VOS & W. JORGENSEN.** 2004. Babesiosis of cattle. *Parasitology*. 129. 247-269.
- CALLOW, L.L.; F. R. EMMERSON; R. J. PARKER & S. G. KNOTT.** 1976. Infection rates and outbreaks of disease due to *Babesia argentina* in unvaccinated cattle on 5 beef properties in south-eastern Queensland. *Australian Veterinary Journal*. Vol 52. 446-450.
- CABRERA, A. L.** 1994. Regiones Fitogeográficas Argentinas. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Fascículo 1, Tomo II, Primera reimpression. Ed. ACME S.A.C.I. Buenos Aires. 85 pp.
- DE RÍOS, L. G.; D. H. AGUIRRE & A. B. GAIDO.** 1988. Evaluación de la dinámica de la infección por *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* en terneros. Diagnóstico por microscopía directa y prueba de inmunofluorescencia indirecta. *Revista de Medicina Veterinaria (Bs. As.)*. Vol. 69 N° 5. 254-260.
- ECHAIDE, I.; B. VALENTÍN; C. LUGARESI; A. MANGOLD & S. TORIONI DE ECHAIDE.** 2004. Evaluación de antígenos de *Babesia bovis* en un ELISA indirecto. *Memorias del XIV Reunión Científica Técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico Buenos Aires*, 15-17 de noviembre de 2004; pag. 102-103.
- FAO.** 1984. Ticks and tick borne disease control; a practical field manual. Vol. 2. Tick borne disease control programme. Rome, FAO – UNDP. 373-381.
- GUGLIELMONE, A.A.** 1991. Epizootiología de las enfermedades hemoparasitarias de los vacunos. FAO, Oficina Regional para la América Latina y el Caribe, Red de Cooperación Técnica entre Laboratorios de Investigación y Diagnóstico Veterinario, Serie RLAC-GAN (35). p 53.
- GUGLIELMONE, A. A.** 1992. Control y prevención de las enfermedades transmitidas por las garrapatas. *Avances en la producción de leche y carne en el trópico Americano*. Capítulo IX. S. Fernández-Baco (Ed.). Ofic. Reg. Amer. Lat. Caribe. Org. Agric. Alim. FAO. Naciones Unidas. Sgo. Chile. 369-404.
- GUGLIELMONE, A.A.** 1994. Epidemiología y prevención de los hemoparásitos (*Babesia* y *Anaplasma*) en la Argentina. *Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos*. Bases epidemiológicas para su prevención y control. Capítulo 23. Nari, A. & Fiel, C. (Ed.). Editorial Hemisferio Sur, Montevideo. 461-479.

- GUGLIELMONE, A. A.** 1995. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. *Veterinary Parasitology* 57, 109-119.
- GUGLIELMONE, A.A.; S.T. DE ECHAIDE; A. J. MANGOLD; I. E. ECHAIDE; A. A. ABDALA; O. S. ANZIANI; D. H. AGUIRRE; S. MONTENEGRO-JAMES; J. PATARROYO; M. ALONSO; E. CAMUS; C. CORDOVES, R. H. KESSLER; J. R. MARTINS; A. NARI; M. A. SOLARI; M. TORO; C. VEGA Y MURGUÍA & C. ARELLANO-SOTA.** 1997 a. Producción de sueros patrones anti-*Babesia bovis*, anti-*Babesia bigemina*, anti-*Anaplasma marginale* y negativos. (Santiago de Chile) Ser. Gan. (52) 17 pp.
- GUGLIELMONE, A. A.; S. T. DE ECHAIDE; M. PEREZ Y SANTAELLA; J. A. IGLESIAS; V. R. VANZINI; C. I. LUGARESI & E. L. DELLEPIANE.** 1997 b. Cross-sectional estimation of *Babesia bovis* antibody prevalence in an area of Argentina used for extensive cattle breeding as an aid to control babesiosis. *Preventive Veterinary Medicine* 30. 151-154.
- LEW R. A. & P. S. LEVY.** 1989. Estimation of prevalence on the basis of screening tests. *Statistics in Medicine*, Vol. 8 (10) 1225-1230.
- MAHONEY, D. F.** 1962. The Epidemiology of Babesiosis in Cattle. *The Australian Journal of Science*. Vol. 24:7 310-313
- MAHONEY, D. F. & D. R. ROSS.** 1972. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. *Australian Veterinary Journal*, 48, 292-298.
- MAHONEY, D. F.; I. G. WRIGHT & G. B. MIRRE.** 1973. Bovine babesiosis: The persistence of immunity to *Babesia argentina* and *Babesia bigemina* in calves (*Bos taurus*) after naturally acquired infection. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 67, 197-203.
- SIGNORINI, A. R. & C. E. MATTOS.** 1987. Hechos sobresalientes en la historia de la erradicación de la garrapata en la Republica Argentina – Consideraciones sociales, socio-económicas y Legales. La erradicación de las garrapatas. Actas de la Consulta de Expertos sobre la Erradicación de las Garrapatas con Referencia Especial a las Americas. Mexico, D. F. Estudio FAO. Producción y Sanidad Animal. N° 75. 28-44.
- SMITH, R. D. & I. KAKOMA.** 1989. A reappraisal of vector control strategies for babesiosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. Vol. 83, supplement, 43-52.
- SPÄTH, E. J. A.; A. A. GUGLIELMONE & L. E. G. DE RÍOS.** 1987. Utilización de un modelo matemático simple para evaluar la situación epizootiológica de la babesiosis bovina. *Revista de Medicina Veterinaria (Bs. As.)*. Vol. 68. N°3. 126-131.
- SPÄTH, E. J. A.; A. A. GUGLIELMONE; A. R. SIGNORINI & A. MANGOLD.** J. 1994. Estimación de las pérdidas económicas directas producidas por la garrapata *Boophilus microplus* y las enfermedades asociadas en la Argentina. 3ª parte. *Therios*, Vol. 23 (118) 454-468.
- TORIONI DE ECHAIDE, S.; D.P. KNOWLES, T. C. MCGUIRE; G. H. PALMER; C. A. SUAREZ & T. F. MCELWAIN.** 1998. Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in a region of endemicity by nested PCR and a competitive enzyme linked immunosorbent assay using recombinant Major Surface Protein 5. *J. Clin. Microbiol.* 36: 777-782.
- VANZINI, V. R.; A. J. MANGOLD & A. A. GUGLIELMONE.** 1999. Modelo técnico-económico para la prevención de la babesiosis y la anaplasmosis de los bovinos en la ganadería de cría extensiva de la provincia de Corrientes. *Therios*. Vol. 28, N° 147. 118-27.