

ANAPLASMOSIS DE LOS BOVINOS

Med. Vet. Susana Torioni e Ignacio E. Echaide*. 2003. Grupo de hemoparásitos E.E.A INTA Rafaela.
www.produccion-animal.com.ar

La anaplasmosis de los bovinos es una enfermedad infecciosa producida por *Anaplasma marginale*, rickettsia perteneciente al genogrupo II del complejo Ehrlichial, que parasita únicamente los eritrocitos maduros, produciendo anemia hemolítica, pérdida de producción, abortos y muerte. Es transmitida en forma natural por dípteros hematófagos, garrapatas además de las vías iatrogénica y congénita.

La anaplasmosis bovina está ampliamente distribuida en áreas tropicales y subtropicales del mundo donde causa severas pérdidas económicas a los sistemas de producción de leche y de carne. Es considerada una enfermedad en expansión hacia áreas templadas del mundo. En nuestro país el área de ocurrencia de la de latitud sur, aunque su enfermedad, se encuentra al norte del paralelo 33 distribución no es uniforme. Esta zona incluye aproximadamente 22 millones de bovinos. Al sur de este límite ocurren brotes esporádicos de anaplasmosis, debido al traslado de bovinos infectados desde el norte del país a zonas libres de la enfermedad. En 1994 en Argentina se estimaron en US\$ 12 millones las pérdidas directas causadas por la anaplasmosis en zonas enzoóticas. Incluyendo las provincias de Santa Fe,° y 34°Entre los paralelos 30 este de Córdoba, sudeste de Santiago del Estero y este de Entre Ríos, se encuentra una importante cuenca lechera del país, con una población que asciende a 1.710.000 bovinos lecheros. Gran parte de la misma reconoce la presencia de la anaplasmosis con una incidencia anual evaluada en el 0.09%. Sin embargo estos valores no hacen referencia a los casos individuales de establecimientos donde la incidencia puede generar un 10% de morbilidad y un 8% de mortalidad en áreas donde habitualmente no existía anaplasmosis. La cuenca lechera central del país es también una importante fuente de provisión de vientres hacia otras regiones libres de anaplasmosis del país y debe considerarse como potencial fuente de dispersión de *A. marginale*.

En áreas endémicas la anaplasmosis se encuentra en estabilidad enzoótica cuando se logra un equilibrio “bovino-transmisor-*Anaplasma*” que permite que más del 80% de los bovinos se infecte antes de los 9 meses de edad, sin sufrir la enfermedad clínica y asegurándoles una inmunidad duradera. Existen factores ambientales y de manejo que pueden alterar este equilibrio y desencadenar brotes de anaplasmosis. Si bien los bovinos de cualquier edad pueden contraer la infección, la mayoría de los casos de anaplasmosis clínica ocurre en bovinos adultos.

La enfermedad tiene un período de incubación promedio de aproximadamente 30 días, seguido de una etapa aguda de una semana de duración durante la cual *A. marginale* se multiplica activamente dentro de los eritrocitos, causando rickettsemias que varían entre el 10 y el 70% en los casos más severos. La unidad infectante de *A. marginale*, el corpúsculo inicial (0.1-0.2 µm), invade el eritrocito luego de adherirse a la membrana plasmática y provocar la invaginación de la misma generando una vesícula que incluirá a la bacteria, (1 µm). Dentro de esa vesícula, comienza la formación del corpúsculo de inclusión (multiplicación por división binaria con la producción de 3 a 8 cuerpos iniciales. Estos últimos abandonan el eritrocito sin lisarlo, para iniciar un nuevo ciclo de invasión y multiplicación. Los eritrocitos abandonados, son fagocitados destruidos por las células del sistema retículo endotelial principalmente en el hígado y bazo.

La enfermedad se caracteriza por hipertermia, palidez de las mucosas, ictericia, aborto y muerte. En los casos más graves se observan síntomas nerviosos por anoxia cerebral y tendencia al decúbito. La orina puede ser oscura debido a los pigmentos biliares, pero no se observa hemoglobinuria. En vacas en lactancia se registra un marcado descenso de la producción láctea que junto a la disminución del apetito son generalmente las primeras manifestaciones que se observan.

Durante la necropsia se observa esplenomegalia y hepatomegalia, repleción de la vesícula biliar, y esporádicamente puede haber ruptura de bazo, con la formación de un gran coágulo abdominal. Lesiones degenerativas del parénquima hepático, esplénico y renal se observan mediante el análisis histopatológico y es característico el acumulo de hemosiderina.

Los bovinos que se recuperan de la etapa aguda permanecen infectados persistentemente. Las técnicas de biología molecular, permitieron demostrar que en portadores crónicos de *A. marginale* se producen ciclos continuos de ricketsemia con intervalos aproximados a 5 semanas. Éstas alcanzan valores que oscilan entre el 0,1% y 0,0000001% o menores, de eritrocitos parasitados.

Estos ciclos están asociados a variaciones antigénicas que ocurren en las moléculas de la superficie de *A. marginale*. Estos cambios caracterizan a nuevas poblaciones de *A. marginale* resistentes a la respuesta inmune generada por la anterior, como un mecanismo para evadir el sistema inmune.

Para el diagnóstico de certeza de la enfermedad deben enviarse al laboratorio extendidos de sangre periférica, sangre con anticoagulante, muestras de suero y leche y aunque tienen menor utilidad, trozos de bazo, hígado y riñón. La microscopía directa de extendidos de sangre teñidos con la coloración Giemsa, adecuada para la confirmación de casos agudos de anaplasmosis, es económica y accesible aunque depende de la experiencia del observador. La identificación de la proporción de eritrocitos jóvenes e inmaduros en los extendidos de sangre y el índice hematocrito, permiten emitir un pronóstico sobre el curso de la enfermedad para cada individuo.

Las técnicas para la amplificación del ADN (PCR), es útil para confirmar la presencia de *Anaplasma* spp, en portadores crónicos, cuando la serología no es concluyente, como se ha observado en la última etapa de erradicación de la enfermedad en rodeos situados en áreas no endémicas. También es útil para evaluar la eficacia del tratamiento esterilizante de *A. marginale*, antes de la desaparición de los anticuerpos. Sin embargo su uso está limitado a proyectos de investigación debido a su elevado costo.

La prueba conocida como "isotest", se basa en la inoculación de terneros esplenectomizados con sangre de potenciales portadores crónicos de *A. marginale*. Es el método más sensible que se haya descrito, reproduce la enfermedad y es usado principalmente para estudios experimentales. Similarmente a la técnica anterior, es costosa y lenta.

Con el desarrollo de PCR y sondas de ácidos nucleicos, quedó demostrado que algunos de los métodos serológicos que se utilizaron durante décadas para determinar los anticuerpos específicos contra *A. marginale*, tenían problemas de sensibilidad y especificidad. Por esta razón las pruebas de fijación del complemento e inmunofluorescencia, se están dejando de usar.

La prueba de aglutinación en placa o prueba de la tarjeta o "card test" (CT), fue desarrollada en 1972 y ha sido la de mayor difusión en el mundo. Es cualitativa y debe ser realizada bajo estrictas condiciones de laboratorio. Está basada en un antígeno de *A. marginale* crudo. En estudios experimentales controlados, tiene una sensibilidad del 98% y una especificidad del 94 %, pero su especificidad puede afectarse por diversos factores cuando se la usa rutinariamente.

Una prueba inmunoenzimática de competición (ELISA-c), fue desarrollada en 1996, está basada en una proteína de superficie de *A. marginale* obtenida por recombinación genética (rMSP5) y en un anticuerpo monoclonal. Se la está incorporando progresivamente en algunos países como complemento o reemplazo del CT. Tiene una sensibilidad del 96% y una especificidad del 95 %.

La prueba ELISA indirecto se desarrolló en 2001. Está basada en la misma proteína rMSP5, pero tiene utilidad para analizar muestras individuales de leche. Tiene una sensibilidad del 97 % y una especificidad del 95 %. Esta prueba usada con muestras obtenidas del total de un ordeño (pool), está siendo evaluada en Argentina.

La determinación de los anticuerpos específicos contra *Anaplasma* spp es la herramienta más útil para evaluar la situación epizootiológica de la anaplasmosis en áreas enzoóticas, la identificación de bovinos portadores crónicos en áreas no enzoóticas, y como método para el control de tratamientos esterilizantes de *A. marginale*. Puede ser usado también para evaluar la infectividad de la vacuna basada en *A. centrale* viable.

La prevención y el control de la anaplasmosis se basan en:

a) Impedimento de la transmisión mecánica.

Medidas higiénicas para evitar la transferencia de sangre infectada de un bovino portador crónico de *A. marginale* a un susceptible durante las prácticas quirúrgicas rurales. Cada instrumento que pueda vehicular sangre contaminada, deberá ser sumergido en una solución desinfectante (descornadoras, cuchillos de castración, mochetas, guantes de tacto, entre otros), y cuando sea posible deberá usarse materiales descartable (agujas, jeringas).

Para controlar los transmisores biológicos (Tabanidae, Muscidae), las medidas higiénicas incluyen la eliminación de depósitos de restos de alimentos en descomposición (balanceados, silos y heno), lugares particularmente aptos para el desarrollo de los distintos estadios de *Stomoxys calcitrans*, sumado a inhibidores del crecimiento. Pueden también aplicarse insecticidas con poder residual en los sitios donde se posan estos insectos entre períodos de alimentación.

b) Tratamiento quimioterápico de los enfermos agudos y los portadores crónicos.

Para los casos de infección aguda, se aplican de 10 mg/kpv de oxitetraciclina por vía intramuscular ó, de 20 mg/kpv de oxitetraciclina de acción prolongada por la misma vía (presentaciones al 10% y 20% respectivamente). La leche de las vacas tratadas no puede ser destinada a consumo humano. En los casos de infección crónica por *Anaplasma* spp, se puede realizar un tratamiento esterilizante, eficaz en la mayoría de los casos. Este se basa en la aplicación de oxitetraciclina de acción prolongada (20 mg/kpv) en tres ocasiones con una semana de intervalo entre cada una. Este tratamiento debe aplicarse en bovinos después de la

convalecencia y en los portadores crónicos identificados mediante serología. El control del tratamiento se basa en el análisis serológico realizado seis meses después de iniciado el mismo.

c) Prevención de la enfermedad mediante vacunación.

La vacuna de mayor difusión en el mundo, incluida la Argentina, se basa en eritrocitos parasitados con *A. centrale* viables. Su aplicación sólo se recomienda en bovinos jóvenes y en rodeos con riesgo de brotes situados en áreas enzoóticas de *Anaplasma* spp. Esta vacuna produce infección persistente y la inmunidad es protectora durante la vida útil del animal.

Este tipo de vacuna conlleva el riesgo de transmisión de otros organismos patógenos conocidos u emergentes, y no es totalmente inocua particularmente en adultos. Además se recomienda su utilización dentro de los 7 días de producida. El estado inmune que genera, puede ser quebrado si los bovinos vacunados son sometidos a desafíos naturales intensos en condiciones de estrés, por ejemplo después de traslados o a falta de adaptación al nuevo ambiente.

Se destaca que esta vacuna no se recomienda para áreas no enzoóticas, debido a que no impide la infección con *A. marginale* y contribuiría a su dispersión. Para evaluar la infectividad de ésta, se utilizan pruebas serológicas a los 60 días posvacunación, momento en que los bovinos mantienen un elevado nivel de anticuerpos en el suero. Después de aproximadamente 6 meses de vacunación los títulos declinan y la prueba pierde eficiencia para detectar los portadores crónicos con *A. centrale*.

La aplicación de estas medidas de prevención y control debe ser evaluada para cada caso en particular, dependiendo del área geográfica donde se produzca la enfermedad. Se recomienda un estricto control de los bovinos que se introduzcan al establecimiento, los que deben provenir de rodeos sin antecedentes de anaplasmosis, o de lo contrario deberían ser serológicamente negativos.

En la actualidad se están evaluando en diferentes países, vacunas inactivadas basadas en proteínas recombinantes de moléculas conservadas de *A. marginale*. También están bajo consideración antígenos crudos obtenidos de *A. marginale* multiplicados en cultivo continuos *in vitro*, que puedan ser usadas sin restricciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdala, A. A., A. J. Mangold, and S. T. de Echaide. 1992. Transmisión experimental de *Anaplasma marginale* por palpación rectal. *Vet. Arg.* 9:683-685.
- Aguirre, D. H., A. B. Gaido, A. E. Viñabal, S. T. de Echaide, and A. A. Guglielmone. 1994. Transmission of *Anaplasma marginale* with adult *Boophilus microplus* ticks fed as nymphs or calves with different levels of rickettsaemia. *Parasite* 1:405-407.
- Guglielmone, A. A., A. A. Abdala, O. S. Anziani, A. J. Mangold, M. M. Volpogni, and V. R. Vanzini. 1997. Different seasonal occurrence of anaplasmosis outbreaks in beef and dairy cattle of an area of Argentina free of *Boophilus microplus*. *Vet. Q.* 19:32-33.
- Hawkins, J. A., J. N. Love, and J. R. Hidalgo. 1982. Mechanical transmission of anaplasmosis by tabanids (Diptera: Tabanidae). *Am. J. Vet. Res.* 43:732-735.
- Kocan, K.; de la Fuente, J.; Guglielmone, A.; and Meléndez, R. (2003). Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. *Clin. Microbiol. Rev.* 16:698-712
- Losos, G. J. 1986. Anaplasmosis, p. 742-795. In G. J. Losos (ed.), *Infectious Tropical diseases of Domestic Animals*. Longman Press, Essex, United Kingdom.
- Torioni de Echaide, S., D. P. Knowles, T. C. McGuire, G. H. Palmer, C. E. Suarez, and 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.