

ESTUDIO SEROLOGICO PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA *Anaplasma marginale* EN GANADO DE LIDIA MEDIANTE LA PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO EN MICROPLACA

RAMON ABOYTES TORRES

MANUEL FERNANDEZ RUVALCABA

LUIS C. REZA GUEVARA

JAVIER GARCIA DE LA PEÑA

GERMINAL JORGE CANTO ALARCON

La anaplasmosis bovina es una enfermedad hemoparasitaria transmitida por garrapatas del género *Boophilus* spp., moscas, mosquitos hematófagos y *Tabanus* spp. (Smith, 1980; Hawkins y col., 1982), ampliamente difundida en las zonas tropicales y subtropicales, así como en la altiplanicie de México. El efecto detrimental que ésta infringe sobre la ganadería nacional, considera bajas severas en la producción de carne y leche, los incrementos destacan de los porcentajes de abortos y de mortalidad (5-50%) en animales susceptibles (Blood y col., 1979; Gillespie y Timoney, 1981; Lapage, 1971; McDiarmid, 1962; Osorno y Ristic., 1977; Ristic, 1968; Ristic, 1981; Ristic y Kreier, 1974; Rodríguez y col., 1978).

Osorno y Ristic, (1977) estudiaron en este país las áreas con riesgo a la enfermedad mediante el auxilio de la prueba de aglutinación capilar, señalan como de mayor importancia a la zona costera del golfo y a la zona del altiplano, ya que presentaron prevalencia del 51.4% y 25.9% respectivamente, mientras que la zona costera del Pacífico experimentó una prevalencia del 14.6%, corresponde a la zona norte el menor porcentaje de prevalencias observado, que es del 7.9%. Los autores mencionados dividieron al país en cuatro zonas al considerar el tipo de climatología predominante y la distribución de los principales vectores biológicos o mecánicos interrelacionados en la transmisión de la enfermedad.

1 Departamento de Hemoprotozoarios. Centro de Investigaciones en Medicina Veterinaria. Sector Pecuario. INIFAP-SARH. Km. 15.5 Carr. México-Toluca, D. F., C.P. 05110.

2 Departamento de Producción Animal, Rumiantes, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México, D. F., C.P. 04510.

3 Departamento de Fisiopatología y Farmacología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México, D. F., C.P. 04510.

Téc. Pec. Méx. 52 (1986)

Para el diagnóstico de la anaplasmosis existen ciertas limitantes en el campo, pues mientras que el diagnóstico de la presentación aguda puede realizarse mediante la observación directa del *Anaplasma marginale* en frotis sanguíneos teñidos con GIEMSA, el diagnóstico de la forma crónica requiere del apoyo de las pruebas de

laboratorio. Para ello la prueba serológica de mayor uso es la de Fijación de Complemento (FC), cuyo valor diagnóstico es ampliamente reconocido por un sinnúmero de investigadores especializados en hemoparasitosis, quienes la han utilizado en la detección de hatos infectados (Amerault y Roby, 1971; Blood y col., 1979; Gillespie y Timoney, 1981; Lepage, 1971; McDiarmid, 1962; Ristic, 1968; Ristic, 1981; Ristic y Kreier, 1974; Rivas y col., 1977; Rodríguez y col., 1977a; Sweet y Stauber, 1978). Stauber, 1978).

Amerault y Roby (1971), Howart y col., (1969), Preece y col., (1952), Rivas y col., (1977) y Rodríguez y col., (1978), aplican la técnica de FC en estudios sobre la enfermedad y obtienen una sensibilidad sobre reactivos positivos del 90-100%. Así Rodríguez y col., (1977a), introduce la técnica de FC en microplaca como elemento de diagnóstico básico en los programas de control y erradicación de la anaplasmosis bovina en Cuba; López y col., (1982), confirman la sensibilidad de la prueba en microplaca al obtener una prevalencia del 33.60% en una zona endémica del territorio mexicano.

Las ventajas que ofrece la prueba de FC en microplaca son múltiples, de mayor importancia son su alta sensibilidad sobre portadores crónicos de *A. marginale* (90-100%) y su bajo porcentaje de falsos positivos (<2%) en animales que tuvieron contacto reciente con la enfermedad (Amerault y Roby, 1971; Howart y col., 1969; Preece y col., 1952; Ristic y Kreier, 1974; Rivas y col., 1977; Rodríguez y col., 1978; Rodríguez y col., 1977; Sweet y Stauber, 1978).

Con base en lo anterior, al extrapolar los conocimientos existentes sobre la enfermedad, al problema que

C U A D R O 1
PORCENTAJE DE TOROS DE LIDIA POSITIVOS A *Anaplasma marginale* POR MEDIO DE LA PRUEBA DE FIJACION DEL COMPLEMENTO.

REACTORES	Nº DE ANIMALES	(%)
Positivos	14	11.66
Sospechosos	8	6.66
Negativos	97	80.83
Anticomplementarios	1	0.83
T O T A L	120	99.98

podiera representar a las ganaderías especializadas en la cría de toros de lidia, se planteó la hipótesis que sugiere que el ganado de lidia es susceptible a la infección por *A. marginale*, aún cuando el 90% de las explotaciones de reses bravas se ubican en zonas libres de garrapatas del género *Boophilus*, por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de anticuerpos contra el parásito en animales procedentes de diferentes zonas geográficas mediante el auxilio diagnóstico de la prueba de Fijación de Complemento.

El material biológico utilizado en el presente estudio consistió en 120 muestras de suero, que se obtuvieron de toros lidiados en la plaza de toros "México" durante 20 corridas de la temporada 1983; el rango de la edad de los animales fue de 3 a 5 años. La procedencia del ganado muestreado correspondió a diferentes regiones del país, como se observa en el Cuadro 2, las que fueron agrupadas en 4 zonas (Cuadro 3) con base en anteriores estudios epidemiológicos de la Anaplasmosis (Osorno y Ristic, 1977).

La rutina empleada en la colección de muestras se inició con el muestreo individual de los animales en recipientes limpios y estériles durante el desangrado en el rastro de la plaza de toros; cada muestra fue identificada y

CUADRO 2.

DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTI-*Anaplasma marginale* EN TOROS DE LIDIA POR MEDIO DE LA PRUEBA DE FIJACION DEL COMPLEMENTO POR LUGAR DE PROCEDENCIA.

LOCALIZACION DE LAS GANADERIAS.	(+)	(S)	(-)	(A)
Amealco, Querétaro	1/6	0/6	5/6	0/6
Apizaco, Tlaxcala	0/12	0/12	12/12	0/12
Cd. Reynosa, Tamaulipas	1/6	0/6	5/6	0/6
Cd. Victoria, Tamaulipas	3/6	2/6	1/6	0/6
Coroneo, Guanajuato	1/6	1/6	4/6	0/6
Huanamta, Tlaxcala	0/6	0/6	6/6	0/6
Huichapan, Hidalgo	0/6	0/6	6/6	0/6
Jerécuaro, Guanajuato	1/6	0/6	5/6	0/6
Lagunillas, Michoacán	1/6	0/6	5/6	0/6
Lampazos, Nuevo León	0/6	0/6	6/6	0/6
Querétaro, Querétaro	0/6	1/6	5/6	0/6
Tecozautla, Hidalgo	1/6	1/6	4/6	0/6
Tepeji del Río, Hidalgo	3/18	2/18	13/18	0/18
Tequisquiapan, Querétaro	0/6	1/6	5/6	0/6
Tlaxco, Tlaxcala	0/6	0/6	6/6	0/6
Zinapécuaro, Michoacán	2/12	0/12	9/12	1/12
T O T A L E S	14/120	8/120	97/120	1/120

(+) Positivo (S) Sospechoso (-) Negativo (A) Anticomplementario

refrigerada a 4°C para su traslado al laboratorio, en donde se le centrifugó a 1,000 g durante 15 minutos, con lo que se obtuvo el suero problema para posteriormente conservarlo en congelación a una temperatura de -20°C, hasta su uso en la prueba de Fijación de Complemento en microplaca.

CUADRO 3.

PORCENTAJE DE BOVINOS DE LIDIA REACTORES POSITIVOS A *Anaplasma marginale* POR MEDIO DE LA PRUEBA DE FIJACION DEL COMPLEMENTO DE LAS ZONAS GEOGRAFICAS: NORTE, COSTERA DEL PACIFICO, ALTIPLANO Y COSTERA DEL GOLFO DE LA REPUBLICA MEXICANA.

ZONA	Nº REACTORES (+)	%
Zona Norte	0/6	0
Zona Costera del Pacífico	0/12	0
Zona del Altiplano	10/90	9.0
Zona Costera del Golfo	4/12	33.33

La prueba de Fijación de Complemento en microplaca empleada es una modificación de la prueba usada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica; el antígeno de uso común es un extracto

crudo del soma de la rickettsia el cual es producido por la institución anteriormente citada. En México dicha prueba es utilizada en el Departamento de Hemoprotozoarios del Centro de Investigaciones en Medicina Veterinaria del Sector Pecuario del INIFAP--SARH.

Los resultados obtenidos en el presente estudio serológico se expresan en porcentajes (Cuadro 1).

Las especificaciones de lectura de la prueba permiten la clasificación de cada uno de los sueros problema, así en este cuadro se expresa la existencia de reactores positivos, hasta la consideración de sueros anticomplementarios, estos últimos fueron los testigos de reacciones ajenas a las interacciones antígeno-anticuerpo de la prueba. En la columna de porcentajes aparece como dato relevante el 11.66% correspondiente al tipo de reactores positivos.

La distribución de reactores positivos por ganadería es considerada en el Cuadro 2. En éste se precisa la ubicación geográfica de las ganaderías muestreadas, corresponden 6 animales a cada población con excepción del Zinapécuaro, Mich., y Apizaco, Tlax., con 12 animales respectivamente y Tepeji del Río, Hgo., con 18 animales.

De los 7 estados de la República considerados en el muestreo se registraron reactores positivos en Guanajuato, Hidalgo, Michoacán, Querétaro y Tamaulipas.

La cuantificación de reactores positivos en relación con las zonas afectadas se observa en el Cuadro 3.

En este cuadro se muestra que el número de reactores expuesto en la columna central, representa el total de animales infectados por zona en relación con la cantidad de animales muestreados con la misma procedencia; los porcentajes correspondientes

son expresados en la última columna, se observa que las zonas del Altiplano y Costera del Golfo, presentan el 9.0 y 33.33% de animales positivos respectivamente.

Los datos obtenidos en el presente estudio son de importancia epidemiológica en el campo de las parasitosis sanguíneas más comunes en México, pues mientras por un lado el valor que representa a los productores y profesionales relacionados con la cría de reses bravas es abierto, por el otro en el área epidemiológica de la Anaplasmosis en México el antecedente de la existencia de animales de lidia en los que se detectaron anticuerpos séricos específicos contra *A. marginale* dentro de una población tan heterogénea como se logró formar, aumentan las probabilidades de conocer las dimensiones epidemiológicas de la enfermedad en este tipo de ganado. La distribución geográfica de las ganaderías de lidia establecidas en México, se ubican en zonas con climas que fluctúan del seco templado al seco extremo según la clasificación climática de Köppen modificado por García (1973), Alvarez (1968), González (1964) y Guarner (1981), que contrastan con las condiciones climáticas que observan los nichos ecológicos idóneos para el desarrollo del principal vector biológico en la transmisión de la anaplasmosis bovina (*Boophilus* spp), pero no así con el de otros artrópodos hematófagos como lo es el *Tabanus* spp. Con base en los conceptos descritos se estima que el porcentaje de reactores positivos expresados en el Cuadro 1, es indicativo de la existencia de factores epidemiológicos que culminan con el ciclo biológico de *A. marginale* y que bien pueden estar dirigidos a la presencia de insectos hematófagos.

Las zonas del altiplano y costera del Golfo que han sido expuestas en

el Cuadro 3 y que indican porcentajes individuales por número de animales muestreados por zona, correspondientes al 9% y 33% respectivamente, conforman el 100% de los animales infectados por *A. marginale* crónicamente, que concluyen en observaciones similares a las de Osorno y Ristic (1977), quienes determinaron una prevalencia del 25.9% para la zona del Altiplano y 51.4% para la Zona Costera del Golfo, mediante el uso de la prueba de aglutinación capilar.

Los resultados obtenidos certifican las ventajas que proporciona la prueba de Fijación del Complemento al ser una técnica específica que permite detectar portadores crónicos de *A. marginale* y la cual debe de ser considerada como un recurso diagnóstico en este tipo de ganado con la finalidad de eliminar pérdidas de animales valiosos a consecuencia de la enfermedad, así como para establecer los parámetros epidemiológicos de la distribución del parásito en zonas con climatología similar a las analizadas en este estudio.

SUMMARY

Working with the National Serologic Program against Bovine Anaplasmosis in Mexico, blood samples were taken from 120 fight bulls that belonged to 16 farms which are located in four different geographic areas. The age range of the animals was from 3 to 5 years.

It was determined that 11.66% of the total population were positive reactors against *A. marginale* by the Complement Fixation Microtiter Test.

LITERATURA CITADA

- ALVAREZ, L.D., 1968. Algunos aspectos zootécnicos y económicos de la explotación del ganado de lidia en el Centro de la República Mexicana, Tesis de Licenciatura, **Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM**, México, D. F.
- AMERVAULT, T.E. and ROBY, T.O., 1971. Card agglutination and complement fixation reaction

- after vaccination of cattle against anaplasmosis. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 159:1749.
- BLOOD, D.C., HENDERSON, J.A. and RADOSTITIS, O.M., 1979. Veterinary medicine. 5th ed. *Lea and Febiger*. Philadelphia.
- GARCIA, M.E., 1973. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen, 2a. ed., *Instituto de Geografía, UNAM*, México., D. F.
- GILLESPIE, J.H. and TIMONEY, J.F., 1981. Hagan and Bruner's infectious diseases of domestic animals. 7th ed. *Cornell University Press*, Ithaca.
- GONZALEZ, J.A., 1964. Estudio zootécnico económico del ganado de lidia en el Estado de Tlaxcala, Tesis de Licenciatura. *Fac. de Med. Vet. y Zoot.*, **UNAM**, México, D. F.
- GUARNER, E., 1981. Tauromaquia, 3a. ed. **DIANA**, México.
- HAWKINS, J.A., LOVE, J.N. and HIDALGO, R.J., 1982: Mechanical transmission of anaplasmosis by tabanids (Diptera: Tabanidae). *Am. J. Vet. Res.* 43:732.
- HOWART, J.A., ROBY, T.O., AMERAULT, T.E. and McNEAL, D.M., 1969. Prevalence of *Anaplasma marginale* infection in California deer as measured by calf inoculation and serologic techniques. *Proc. Meet. U.S. Anim. Hlth Ass.*, 73:136.
- LAPAGE, G., 1971. Parasitología Veterinaria, 1a. ed., **Ed. Continental**, México.
- LOPEZ, F., FERNANDEZ, M. y CANTO, G.J., 1982. Prevalencia de anticuerpos contra *Anaplasma marginale* y *Babesia bigemina*, en el Municipio de Villa Comaltitlán, Chiapas. Resúmenes de Trabajos de la 3a. Reunión Anual de Parasitología Veterinaria, **Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria**, Vol. III (3):8.
- McDIARMID, A., 1962. Enfermedades de los animales salvajes en libertad, **Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación**, Roma, Italia.
- OSORNO, M.B. y RISTIC, M., 1977. Anaplasmosis bovina con énfasis en control diagnóstico, distribución de la enfermedad en México y uso de una vacuna atenuada de *Anaplasma marginale*. *Veterinaria, México*. 8:85.
- PRIECE, K.E., POELMA, S.J., and FABER, J.E. 1952. Preparation of an Improved Antigen for Anaplasmosis Complement-Fixation Tests. *Am. J. Vet. Res.*, 13:149.
- RISTIC, M., 1968. Anaplasmosis, Infectious blood diseases of man and animals V. II. Edited by: Weinman, D., Ristic, M. **Academic Press**. New York.
- RISTIC, M., 1981. Anaplasmosis, Diseases of cattle in the tropics. 1st. ed. Edited by: Ristic, M. McIntyre, I., Martinus Nijhoff Publishers. La Hague, 327.
- RISTIC, M. and KREIER, J.P. 1974. Family *Anaplasmataceae*, Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Edited by: Buchanan, R. E. Gibson, N.E., Williams and Wilkins. Baltimore, 906.
- RIVAS, A., RODRIGUEZ, O.N. y ESPAINE, L., 1977. Evaluación epizootiológica de los métodos serodiagnósticos de la babesiosis y anaplasmosis bovina. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, 8:13.
- RODRIGUEZ, O.M., ESPAINE, L., RIVAS, A., 1978. Nuevos aspectos de la investigación serológica de la babesiosis y anaplasmosis bovinas mediante microtécnicas de fijación de complemento y aglutinación capilar. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, 9:87.
- RODRIGUEZ, O.M., RODRIGUEZ, P. RIVAS, A. y ESPAINE, L., 1977. Experiencias y resultados en el diagnóstico de la Anaplasmosis bovina, mediante la utilización de la técnica de microfijación en placas perspex. *Rev. Cub. Cienc. Vet.*, 8:9.
- RODRIGUEZ, O.M., ESPAINE, L., RIVAS, A., MERINO, M. y CHAMIZO, E.G. 1977. Reproducción experimental del cuadro clínico y del laboratorio en la Anaplasmosis bovina. *Rev. Cub. Cienc. Vet.* 8:71.
- SMITH, R.D., 1980. Epidemiology of Bovine Anaplasmosis and Babesiosis. II Inter American Meeting of Directors of Animal Health, San José, Costa Rica, p.1.
- SWEET, V.H. and STAUBER, G.H., 1978. Anaplasmosis a regional serologic survey and oral antibiotic therapy in infected herds. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 172:1310.