

## SEROPREVALENCIA DE ANAPLASMOSIS EN EXPLOTACIONES BOVINAS DE 18 MUNICIPIOS DE LA ZONA NORTE DE VERACRUZ<sup>a</sup>

David García Tapia<sup>b</sup>

Martín López Rojas<sup>c</sup>

Raquel Cossio Bayúgar<sup>b</sup>

Zeferino García Vazquez<sup>b</sup>

Miguel A. García Ortíz<sup>b</sup>

Pedro Domínguez Jalil<sup>d</sup>

Ramón Aboytes Torres<sup>b</sup>

### RESUMEN

Con objeto de estimar la prevalencia de *Anaplasma marginale* en ganado bovino de la zona norte del estado de Veracruz, se analizaron 785 sueros por medio de la prueba de fijación de complemento. El tamaño de muestra se calculó en 37 bovinos por rancho. El total de muestras se obtuvo a partir de animales de diferentes edades y razas, de 21 ranchos localizados en 18 municipios. La seroprevalencia general fue del 56% con una variabilidad del 12 al 90%. Se observó que la seroprevalencia aumenta con la edad. Con respecto al tamaño de hato se encontró que en ranchos con más de 300 bovinos existe mayor porcentaje de seropositivos (72%). La anaplasmosis bovina es endémica en el norte del estado de Veracruz, debiéndose observar medidas preventivas previas a la introducción de animales susceptibles o procedentes de zonas libres de anaplasmosis.

PALABRAS CLAVE: *Anaplasma marginale*, Seroprevalencia, Fijación del complemento, Norte de Veracruz.

Tec. Pecu. Mex. Vol. 34 No. 1 (1996).

### INTRODUCCION

La anaplasmosis es una enfermedad hemoparasítica, infecciosa no contagiosa causada por la rickettsia *Anaplasma marginale*, que afecta bovinos y a otros rumiantes, provocando anemia progresiva, fiebre, ictericia, decaimiento general del animal, abortos e incluso la muerte. La anaplasmosis puede presentarse desde la forma hiperaguda, que causa la muerte casi inmediata a la infección, hasta la forma crónica, siendo la presentación aguda en la que se observan con mayor claridad los signos clínicos clásicos (1). El agente causal es transmitido por vía biológica o en forma mecánica por vectores como garrapatas, moscas, e incluso puede ser transmitida por material quirúrgico contaminado (2). Esta enfermedad es de

gran importancia económica en el mundo, representando uno de los mayores obstáculos para la producción de carne y leche en regiones tropicales y subtropicales. Una estimación conservadora de las pérdidas anuales debidas a anaplasmosis bovina en México es de 3,000 millones de pesos, este cálculo realizado en 1981, considera gastos por causa de la enfermedad y pérdidas por muertes de animales (3).

Se considera que la anaplasmosis en el ganado bovino de los estados del Golfo de México es endémica, causando severos problemas e impidiendo el mejoramiento de animales especializados en producción de leche y carne en la región. En el estado de Veracruz se han realizado varios estudios seroepidemiológicos en los municipios del centro y sur del estado, informando prevalencias del 35 al 86% (4,5), sin embargo no existe información sobre la prevalencia de anaplasmosis en la zona norte.

En el presente estudio realizado en 1994 se

<sup>a</sup> Recibido para su publicación el 6 de septiembre de 1995.

<sup>b</sup> CENID-Parasitología Veterinaria I.N.F.A.P. - S.A.G.A.R. Apdo. postal 205. CIVAC, Morelos C.P. 62500

<sup>c</sup> Centro Nacional de Servicios de Constatación en Sanidad Animal. D.G.S.A. - S.A.G.A.R.

<sup>d</sup> Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M.

hizo un muestreo serológico analizado por la prueba de fijación de complemento, considerando diferentes estratos de edad, sexo, raza y densidad de población, con el propósito de generar un cuadro representativo de la prevalencia de anaplasmosis en la zona norte de Veracruz.

## MATERIALES Y METODOS

### Sitio de estudio

El estudio se realizó en la zona norte del estado de Veracruz, conformada por 41 municipios, comprendidos desde el límite del municipio de Tecolutla con el de Martínez de la Torre en el sur, hasta el límite del estado de Veracruz con Tamaulipas en el norte, según información de la Unión Ganadera Regional del Norte de Veracruz. La región norte del estado de Veracruz se ubica en los 20°26" latitud Norte y 97°24" longitud Oeste; el clima según Koppen se divide en dos: 1) AF, que es cálido con selva alta perinifolia y temperatura media anual de 24.9 C, presentando una precipitación media anual de 2,929.4 mm, 2) AW', caracterizado por ser cálido húmedo con una selva baja caducifolia, posee una temperatura promedio anual de 25.9 C y una precipitación pluvial de 1,318 mm (6).

El censo de la población bovina de la zona de estudio ascendía en 1991 a 880,358 cabezas, cifra que representa el 35% del total de ganado existente en todo el Estado (7).

### Tamaño de muestra

Para determinar el tamaño de muestra por rancho se consideró el censo de la población de la zona de estudio (880,358 bovinos), y se aplicó una fórmula para poblaciones finitas asumiendo lo siguiente (8):

$$n = \frac{N z^2 pq}{d^2 (n-1) + z^2 pq}$$

En donde: N= tamaño de la población por municipio, z= 1.96 para una confiabilidad del

95%, d= error de la muestra 0.15, p= prevalencia 0.65, q= 1 - p 0.35, n= tamaño de muestra=  $\geq 37$ .

La prevalencia se obtuvo mediante el cálculo del promedio de las prevalencias observadas en otros estudios (4,5) realizados en el estado de Veracruz.

### Obtención de la muestra

La toma de muestra se realizó durante junio y julio de 1994, en explotaciones de ganado bovino de tipo extensivo. Para la obtención de muestras se invitó a los ganaderos de la región a participar, habiendo respondido positivamente 21 de ellos localizados en 18 municipios del norte de Veracruz. La toma de muestra fue de conveniencia tanto en la selección de ranchos como dentro de los animales muestreados en los ranchos.

Se obtuvieron 40 muestras por cada unidad productiva muestreada. En cada rancho se tomaron muestras de animales de distintas edades, divididos en los siguientes estratos: de 1 día a tres meses, de 4 a 11 meses, de 1 año, 2 años y  $\geq 3$  años de edad, hasta obtener las 40 muestras. La edad de los bovinos se determinó por la dentición de los animales, o del registro de nacimiento cuando éste existía. Se muestrearon cinco animales de cada uno de los dos primeros estratos, seis de los dos segundos y 18 del último, considerando que el número de animales correspondientes a los estratos de menor edad es inferior al número de animales mayores de 3 años.

Se aplicó un cuestionario por cada rancho muestreado y se colectó información concerniente a las características de la ganadería en la región, con base en el tamaño de hato por rancho, tipo de ganado, finalidad zootécnica y métodos de control de vectores en la zona.

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción en la vena caudal, utilizando tubos sellados al vacío sin anticoagulante, posteriormente se centrifugaron a 500 g por 10 min. para obtener el suero, el cual fue

mantenido en refrigeración para su traslado al laboratorio del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria (CENID-PAVET) y posteriormente congelado a -20 C hasta su utilización.

### **Prueba de fijación de complemento**

La prueba se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Vega y col. (9). El antígeno de *A. marginale* fue proporcionado por la FAO y diluido 1:40; los sueros se descomplementaron por calentamiento en baño maría a 56 C por 30 min. y se diluyeron 1:5 en solución amortiguadora de Veronal (SAV). Se incluyeron sueros controles positivo y negativo. El sistema hemolítico se conformó de 5 Unidades Hemolíticas de hemolisina anti-eritrocitos de carnero y complemento de cobayo diluido 1:30 en SAV. Como sistema indicador se utilizaron eritrocitos de carnero diluidos al 2% en SAV.

Los resultados se analizaron estadísticamente utilizando la prueba de Ji cuadrada para determinar la existencia de diferencia estadística entre los distintos grupos dependientes de la edad, sexo y raza.

### **RESULTADOS**

De los 785 bovinos muestreados, 442 fueron seropositivos a *A. marginale*, teniéndose una seroprevalencia general del 56% . En los 21 ranchos muestreados de los 18 municipios del norte de Veracruz, se encontraron animales seropositivos y la variabilidad de prevalencia fue del 12 al 90% (Cuadro 1).

En la Figura 1 se observa la distribución de la variación de seroprevalencia, notándose tres ranchos con una variabilidad del 10 al 25%, siete con una prevalencia de 26 a 50%, seis con 51 a 75% de animales seropositivos y cinco con un porcentaje de reactores positivos mayor al 76% .

La influencia de la edad se expresa en el

Cuadro 2, donde se observa que a mayor edad la seroprevalencia aumenta, en los animales de 1 a 3 meses fue de 37% y en los mayores de tres años del 61%, encontrándose diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

De acuerdo al sexo; de las 671 hembras muestreadas 382 fueron seropositivas (57%) y de los 114 machos 59 fueron seropositivos (52%). No teniendo diferencia estadísticamente significativa entre sexos ( $p > 0.05$ ).

Con respecto a la raza (Cuadro 3), se observó una prevalencia similar entre las razas suizo y cruzado de cebú x suizo 47% y 57% respectivamente; este valor, se vio aumentado en animales de raza cebú donde se registró un 90% de seropositividad, encontrándose una diferencia estadísticamente significativa respecto a las otras dos razas ( $p < 0.05$ ).

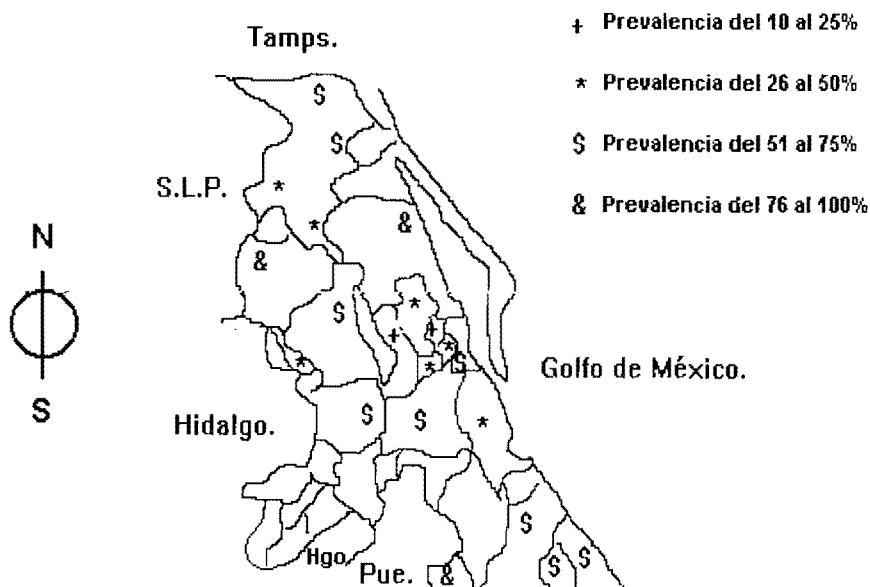
La seroprevalencia por tamaño de hato, mostró que a mayor tamaño la prevalencia es superior; pero hay que hacer notar que el número de estos hatos probados en el estrato de más de 300 cabezas fue de sólo dos y en los otros dos estratos, el número de hatos fue mayor, por lo cual existe un probable sesgo de la prevalencia en el muestreo por tamaño de hato (Cuadro 4), por lo que no es posible determinar si el efecto de tamaño de hato influye sobre la prevalencia de anaplasmosis.

No se encontró diferencia entre seroprevalencia en ranchos con programas continuos de control de garrapata y aquellos discontinuos o que no los realizan.

### **DISCUSION**

La anaplasmosis bovina en el norte del estado de Veracruz es endémica, la prevalencia general de anticuerpos en contra del agente causal es similar a las informadas en el centro y sur del Estado (4,5), así como en otros estados de la República con similares condiciones climatológicas, como Tamaulipas, Nayarit, Guerrero, Puebla y Chiapas (10,11,12,13,14). La seroprevalencia

**FIGURA 1. DISTRIBUCION DE VARIABILIDAD DE PREVALENCIA DE ANAPLASMOSIS EN LOS 21 RANCHOS MUESTREADOS EN EL NORTE DE VERACRUZ, 1994.**



varió considerablemente entre ranchos y municipios muestreados, esta diferencia puede ser debida a las prácticas de manejo empleadas que regularmente difieren entre los ranchos muestreados y al propio sesgo de muestreo, debido a que en este estudio únicamente se muestrearon animales de ranchos cuyos propietarios aceptaron colaborar.

En la región se ha señalado la presencia de moscas de la familia *Tabanidae*, pero no se conoce su distribución y abundancia relativa, la cual generalmente aumenta durante la época de lluvias. Esta falta de información hace necesario investigar si existe una correlación entre la presencia de casos clínicos de anaplasmosis y la abundancia de *Tabanus*, lo que es muy probable que ocurra en esta región. La toma de sangre de los Tábanos sobre los bovinos

están prolongada que permite la interrupción de su alimentación por la reacción del hospedero. La interrupción de la alimentación con sangre, aumenta la posibilidad de transmisión de anaplasmosis cuando un segundo hospedero es buscado para la alimentación del tábano (15). Otros factores importantes a considerar en la transmisión son las prácticas de manejo, principalmente durante las vacunaciones o tratamientos parenterales masivos o castraciones, en los que se utiliza una misma aguja, o no se desinfecta el material quirúrgico después de ser utilizado (15). La presencia de garrapatas de los géneros *Amblyomma* y *Boophilus* en la región pudiera tener un papel importante en la transmisión de *A. marginale* (16). Una incidencia alta de reactores positivos ha sido informada en áreas donde el ganado estaba altamente

**CUADRO 1. SEROPREVALENCIA DE *A. marginale* POR RANCHO EN SEROPREVALENCIA DE ANAPLASMOSIS BOVINA POR RANCHO EN LA ZONA NORTE DEL ESTADO DE VERACRUZ**

RANCHO	MUNICIPIO	No. MUESTRAS	No. POSIT.	%POSIT.
1	AMATLAN - TUXPAN	40	13	33
2	CERRO AZUL	42	20	48
3	CHICONTEPEC	37	27	73
4	CHINAMPA	20	3	15
5	CHONTLA	34	4	12
6	COYUTLA	40	34	85
7	GUTIERREZ ZAMORA	34	29	85
8	OZULUAMA	40	33	90
9	PANUCO	13	9	69
10	PANUCO	43	18	42
11	PANUCO	40	18	45
12	PANUCO	40	26	65
13	PAPANTLA	40	23	57
14	PLATON SANCHEZ	41	6	15
15	TAMIAHUA	45	34	76
16	TANCOCO	42	20	48
17	TANTOYUCA	40	26	65
18	TECOLUTLA	40	30	75
19	TEMPOAL	40	35	87
20	TIHUATLAN	45	20	44
21	TUXPAN	29	11	38
TOTAL		785	442	56

infestado con garrapatas, en el presente estudio estos datos no fueron obtenidos, lo que hace necesario mantener actualizada la información sobre la dinámica poblacional de los vectores en esta región. Un factor que contribuye a una amplia distribución de la anaplasmosis es la persistencia prolongada del estado de portador de los bovinos que se han recuperado de una anaplasmosis clínica (16). En situaciones endémicas, la mayoría de los bovinos son portadores y por lo tanto las tasas de infección en los vectores deben ser altas.

No se observó diferencia entre ranchos que tienen establecido un calendario continuo para combatir a los vectores de la

enfermedad y los que no lo tienen, posiblemente debido a que los vectores voladores existentes en predios sin control pueden afectar a ranchos circunvecinos, transmitiendo la enfermedad a pesar de que se lleve un programa de control de ectoparásitos. Esto basado en la existencia de insectos como *Haematobia irritans* y *Tabanus sp.* en la región (15,18).

Los animales silvestres como el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) han sido señalados como reservorios de la infección y éstos se encuentran en el área de estudio, siendo probable que tengan un papel importante en la epidemiología de la anaplasmosis en el estado de Veracruz (17).

**CUADRO 2. SEROPREVALENCIA A ANAPLASMOSIS BOVINA POR EDAD EN LA ZONA NORTE DE VERACRUZ. 1994.**

EDAD	No. MUESTRAS	No POSIT	% POSIT
1- 3 MESES	94	35	37
4 - 11 MESES	128	67	52
1 AÑO	108	61	57
2 AÑOS	111	69	62
> 3 AÑOS	344	209	61
TOTAL	785	441	56

**CUADRO 3. SEROPREVALENCIA A *Anaplasma marginale* POR SEXO EN LA ZONA NORTE DE VERACRUZ. 1994.**

SEXO	POS (%)	NEG (%)	TOTAL
HEMBRAS	382 (57)	289 (43)	671
MACHOS	59 (52)	55 (48)	114
TOTAL	441 (56)	344 (44)	785

**CUADRO 4. SEROPREVALENCIA DE ANAPLASMOSIS BOVINA POR TAMAÑO DE HATO. NORTE DE VERACRUZ. 1994**

TAMAÑO HATO	No. HATÓS	No. MUESTRAS	No. POSIT.	% POSIT.
100 - 200	13	436	225	52
201 - 300	6	269	159	60
> 300	2	80	58	72
TOTAL	21	785	442	56

Todas las edades de bovinos son susceptibles a la infección con *A. marginale*, la severidad y la tasa de mortalidad aumenta con la edad del animal (19). La presencia de anticuerpos en animales de 1 a 3 meses, puede ser debida a la transferencia pasiva de anticuerpos calostrales a partir de madres inmunes, o a la respuesta provocada por una infección; es interesante observar que hubo un aumento de la seroprevalencia en el grupo de animales de 4 a 11 meses, que significa que la transmisión está ocurriendo. Esto se puede explicar por las prácticas de manejo,

en las que los animales muy jóvenes se alojan todo el día en el corral y a los de mayor edad se les permite pastar en los potreros, aumentando la probabilidad de exposición a los vectores de *A. marginale*. La detección de anticuerpos en animales menores de 3 meses de edad, tiene la desventaja de que no se diferencian los anticuerpos calostrales de los producidos por una infección natural, generando falsos positivos, por lo cual sería conveniente, principalmente en este estrato de edad, determinar la presencia de *A. marginale* a partir de su ADN mediante la prueba de

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), que tiene una alta sensibilidad y especificidad en anaplasmosis bovina (20). Aún cuando existen informes de una relativa mayor susceptibilidad a *A. marginale* en animales *Bos taurus* que en *Bos indicus*, éstos son muy contradictorios; en forma experimental, se ha demostrado que becerras *Bos taurus* son más susceptibles a *A. marginale* que razas puras de becerras Brahman, corroborado por la baja de hematocrito y la parasitemia (21). En el presente estudio se encontró una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) de seroprevalencias entre razas *Bos taurus* y *Bos indicus*, pero probablemente sea debido a factores confundidos, ya que no puede ser explicado biológicamente, pues los animales cebuinos provenían todos de un mismo rancho.

Debido a la situación endémica de la anaplasmosis en el norte del estado de Veracruz, es recomendable que los animales de zonas libres introducidos a esta región o seronegativos a *A. marginale* sean inmunizados o expuestos a los vectores de la rickettsia bajo supervisión de un veterinario, conduciendo un monitoreo serológico para determinar el estado de la inmunidad de hato. Además se debe observar que los becerros nacidos en zonas endémicas, ingieran calostro que les permita tener protección inmune durante los primeros tres a cuatro meses de edad; así mismo, la existencia de pruebas diagnósticas que detectan la presencia del agente causal, mediante el uso de sondas de ácidos nucleicos, hacen posible la detección de la presencia del microorganismo y poder así establecer con mayor claridad a los portadores sanos, que pueden fungir como reservorios y, en el caso de animales menores de tres meses, establecer más claramente el papel de la respuesta inmune humoral, ya sea pasiva o inducida por alguna infección.

## SEROPREVALENCE OF ANAPLASMOSIS IN BOVINE HERDS FROM 18 MUNICIPALITIES IN NORTHERN VERACRUZ STATE

### SUMMARY

The seroprevalence to *Anaplasma marginale* was determined in the northern part of Veracruz State by the Complement Fixation test. The sample size was estimated in 37 cattle per herd. Seven hundred and eighty five serum samples were collected from different ages and breeds from 21 herds located in 18 municipalities. The overall prevalence was 56% and the prevalence range was 12 - 90 %. The seroprevalence was higher as the age of the animals increased. The herd size also influenced seroprevalence as it was higher in herds with more than 300 leads. Bovine anaplasmosis is endemic in northern Veracruz state and preventive measures should be taken when susceptible animals are introduced to endemic anaplasmosis regions.

KEYWORDS: *Anaplasma marginale*, Seroprevalence, Northern Veracruz, Complement fixation.

### REFERENCIAS

1. Ristic M. Anaplasmosis. In: Amstutz H I. (ed.) Bovine Medicine and Surgery. Am. Veterinary Publications, Inc. 2nd Ed. Vol. 1 Sta Barbara, Cal. 1980; 324-348.
2. Osorno S M, Ristic M. Anaplasmosis bovina con énfasis en control, diagnóstico, distribución de la enfermedad en México y uso de la vacuna atenuada de *Anaplasma marginale*. Vet. Méx. 1977; 8: 85.
3. Delegación Mexicana. Estimación de pérdidas económicas por enfermedades en la ganadería mexicana durante el año de 1980. Bull. Off. Int. Epiz. 1981; 93: 903.
4. López S F, Fajardo J, Cantó A G J. Prevalencia de anticuerpos contra anaplasmosis y babesiosis e incidencia de infección diaria de babesiosis en bovinos del municipio de Playa Vicente, Veracruz. Téc. Pecu. Méx. 1983; 44: 82.
5. Ramírez D J, López F, Soffer I. Porcentaje de bovinos positivos a anticuerpos contra *Anaplasma marginale* y *Babesia* spp, en los municipios de Martínez de la Torre, Vega de Alatorre, Atzacán y Tlapacoya, Veracruz. Memorias del X Congreso Nacional de Buiatría. Acapulco, Guerrero. 1984: 557.
6. García E. Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen. 4ª ed. México 1987. 72, 73, 189.
7. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 1994. Censo Agropecuario 1990. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. México. 105.
8. Farver B T, Chester T, Edson R K. Application of sampling theory in animal disease prevalence. Survey desing. Prevent. Vet Med. 1985; 3: 463.
9. Vega C A, López F, Fernández M, González I, Rodríguez S, Juárez J, Cantó A G. Fijación del Complemento. En: Morilla, A. y Bautista, G. C. R. (Eds.) Manual de Inmunología. Editorial DIANA, México 1986: 37 - 42.
10. López S F, Ambia L D, Fernández R M, Cantó A G. Prevalencia de anticuerpos contra *Anaplasma marginale* y *Babesia* spp en bovinos del Centro Experimental Pecuaria Gilberto Flores Muñoz. Reunión de Investigación Pecuaria en México. México, D.F. 1983: 204.

11. Fragoso S G, Milian F. Prevalencia de anticuerpos contra *Anaplasma marginale* y *Babesia* spp. en la zona centro del Estado de Guerrero. Reunión Anual de Investigación Pecuaria en México. México, D.F. 1983: 199.
12. Paniagua Z M J, Sánchez M J B. Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Anaplasma marginale* en bovinos del municipio de Berriozabal, Chiapas. XVII Congreso Nacional de Buiatría . Villahermosa, Tabasco. 1992: 219.
13. López S F, Fernández R M, Cantó A G. Prevalencia de anticuerpos contra *Anaplasma marginale* y *Babesia* spp en el municipio de Villa Comaltitlán , Chiapas. XV Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. S.A.R.H. México, D.F. 1981: 457 .
14. López S F, Cantó A G J, Falcón N A, Aboytes T R. Prevalencia de anaplasmosis y babesiosis en el Centro Experimental Pecuário de Aldama, Tamaulipas. Téc. Pecu. Méx. 1984. 46, 82.
15. Hugh-Jones ME, Busch D, Raby C, Jones F. Seroprevalence survey for *Anaplasma card* - test reactors in Louisiana, U.S.A., cattle. Prevent. Vet. Med. 1988. 6: 143.
16. Morley R S, Hugh-Jones ME. The effect of managment and serological factors on the epidemiology of anaplasmosis in the Red river plains and South-East areas of Louisiana. Vet. Res. Comm. 1989. 13: 359.
17. Howarth J A, Roby T O, Amerault T E, Mc Neal D W. Prevalence of *Anaplasma marginale* infection in California deer as measured by calf inoculation and serologic techniques. Proceedings of 73rd Annual Meeting of U.S. Animal Health Association. 1969: 136
18. Santamaria V M, Ortiz E M, Franco B R, Fragoso S H, Osorio M J. Evaluación biológica de mosquicidas para el control de *Haematobia irritans* en México y situación actual de la resistencia. Seminario Internacional de Parasitología Animal. México. 1995: 119.
19. Rodgers J S, Welsh D R, Stebbins E M. Seroprevalence of bovine anaplasmosis Oklahoma from 1977 to 1991. J. Vet. Diag. Invest. 1994. 6: 200.
20. Figueroa V J, Alvarez A J, Ramos J A, Vega C A, Buening G M. Use of a multiplex polymerase chain reaction- based assay to conduct epidemiological studies on bovine hemoparasites in Mexico. Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop. 1993. 46: 71.
21. Parker R J, Shepherd R K, Trueman K F, Jones G W, Kent A S, Polkinghorne I G. Susceptibility of *Bos indicus* and *Bos taurus* to *Anaplasma marginale* and *Babesia bigemina* infections. Vet. Parasitol. 1985. 17: 205.