

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

Seroprevalencia de *Babesia bigemina* en los cantones Río Verde, Quinindé y Eloy Alfaro de la provincia de Esmeraldas
Trabajo de Investigación

Ginger Pamela Aguayo Albán

Medicina Veterinaria

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 21 de mayo de 2018

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO CIENCIAS DE LA SALUD

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Seroprevalencia de *Babesia bigemina* en los cantones Río Verde, Quinindé
y Eloy Alfaro de la provincia de Esmeraldas**

Ginger Pamela Aguayo Albán

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Rommel L. Vinuesa S., Dr. MSc

Firma del profesor

Quito, 21 de mayo de 2018

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

Nombres y apellidos:

Ginger Pamela Aguayo Albán

Código:

00111882

Cédula de Identidad:

1721362836

Lugar y fecha:

Quito, 21 de mayo de 2018

RESUMEN

La babesiosis bovina es una enfermedad protozoaria de declaración obligatoria que causa altas pérdidas económicas a productores en todo el mundo y afecta especialmente a los países tropicales y subtropicales como Ecuador. Los principales protozoarios son *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, los cuales son transmitidos a través de la garrapata *Rhipicephalus microplus* (*Boophilus microplus*). Los animales afectados presentan signos clínicos como fiebre, anemia, hemoglobinuria, ictericia y reducción de la producción. La prevalencia de babesiosis bovina es variable en diferentes sectores del país. Un sistema de control efectivo de esta enfermedad demanda el conocimiento del estatus (i.e. prevalencia) de la enfermedad. El objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia de *Babesia bigemina* en los cantones Río Verde, Quinindé y Eloy Alfaro de la provincia de Esmeraldas mediante la técnica de ELISA indirecto. Fueron tomadas 181 muestras de suero de bovinos de 22 fincas de los tres cantones. La seroprevalencia obtenida fue de 21.55%. La variabilidad de los resultados está relacionada a varios factores como metodología para análisis, manejo de los predios, características del protozoario y del vector. El manejo preventivo es importante, ya que no existen vacunas eficaces contra esta enfermedad.

Palabras clave: *Babesiosis bovina*, *babesia*, *bovinos*, *Babesia bigemina*, *Rhipicephalus microplus*, *seroprevalencia*, *Esmeraldas*.

ABSTRACT

Bovine babesiosis is a protozoan notifiable disease that causes high economic losses to producers throughout the world and especially affects tropical and subtropical countries like Ecuador. The main protozoa are *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*, which are transmitted through the tick *Rhipicephalus microplus* (*Boophilus microplus*). Affected animals show clinical signs such as fever, anemia, haemoglobinuria, jaundice and reduced production. The prevalence of bovine babesiosis is variable in different sectors of the country. A system of effective control of this disease requires knowledge of the status (i.e. prevalence) of the disease. The objective of this study was to determine the seroprevalence of *Babesia bigemina* in the cantons Río Verde, Quinindé and Eloy Alfaro of the province of Esmeraldas using the indirect ELISA technique. A total of 181 serum samples were taken from cattle from 22 farms in the three cantons. The seroprevalence obtained was 21.55%. The variability of the results is related to several factors such as methodology for analysis, management of the properties, characteristics of the protozoan and the vector. Preventive management is important, as there are no effective vaccines against this disease.

Key words: Bovine babesia, babesia, bovinos, Babesia bigemina, Rhipicephalus microplus, seroprevalencia, Esmeraldas.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS	18
RESULTADOS.....	21
DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES.....	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de estudios realizados en el periodo 2012-2017 en Ecuador referentes a Babesiosis bovina.....	15
--	----

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Distribución porcentual de los resultados de test de ELISA indirecto de Babesia bigemina en bovinos, en el cantón Quinindé provincia de Esmeraldas (n=181).	21
--	----

INTRODUCCIÓN

Los países tropicales y subtropicales proveen el ambiente ideal para la presencia de ectoparásitos que actúan como vectores de varias enfermedades, como es el caso de las garrapatas *Rhipicephalus spp.* Las poblaciones de esta especie aseguran su sobrevivencia en base a varios factores como el microclima de los pastos, densidad poblacional, resistencia del hospedador y efecto de los acaricidas. La temperatura y la humedad son los principales factores que intervienen en su desarrollo, tal es así que incrementa el número de garrapatas cuando las condiciones climáticas son de alrededor de 28°C y 80%, respectivamente. El Ecuador se encuentra situado en la costa noroccidental de América del Sur, en la zona tropical del continente americano, esto lo convierte en un lugar perfecto para la presencia de garrapatas, en especial *Rhipicephalus microplus* (antes *Boophilus microplus*), las cuales participan como vectores para la babesiosis bovina (INOCAR, 2012; Vasco, 2013). Bustillo y colaboradores (2015), determinaron que existe una mayor carga parasitaria, en época de lluvia, registrándose infestaciones en vacas lecheras con 70, bovinos de carne con 30 y los terneros con 26 garrapatas por animal. La babesiosis bovina se produce por los protozoarios del género *Babesia spp.* siendo las especies más prevalentes *B. bovis* y *B. bigemina* y de gran importancia para Asia, África, América Central, América del Sur, Sur de Europa y Australia (The Center for Food Security & Public Health, 2008; Smith, 2010; OIE, 2013 a; Bustillos *et al.*, 2015).

Más de 1-2 billones de bovinos a nivel mundial están expuestos a babesiosis. Esta enfermedad implica un alto costo en medidas de control, detección, prevención y tratamiento. Se ha calculado que en Australia el gasto por pérdidas y control tanto de anaplasma como de babesia es de 16,9 millones de dólares anuales (Bock *et al.*, 2004; Vasco, 2013). De igual manera, el gasto por pérdidas de estas enfermedades en varios países de África y Asia llega hasta los 57,2 millones de dólares anuales (Bock *et al.*, 2004). En cuanto a países de Latinoamérica, como Brasil, los problemas con garrapatas han significado el gasto de \$2

billones de dólares anuales, en Argentina \$100 millones de dólares anuales, en Uruguay se estiman pérdidas por \$ 32.7 millones de dólares anuales y en Colombia las pérdidas son de aproximadamente \$6,95 millones de dólares anuales. En México la pérdida por *Rhipicephalus microplus* ha representado más de \$573,6 millones de dólares anuales (Rodríguez *et al.*, 2017).

En nuestro país se desconoce las pérdidas específicas por babesiosis bovina porque no existen suficientes fuentes de información que permitan conocer el estatus real de la enfermedad. Además, los estudios son escasos para establecer un dato específico de pérdida económica por babesiosis bovina (Vasco, 2013).

La OIE ha clasificado a esta enfermedad de declaración obligatoria y de vigilancia general, por las altas pérdidas económicas que causa. Esta misma institución reporta que la última recurrencia de la enfermedad en el país fue en el 2010 (OIE, 2016 c). En los datos reportados actualmente por la OIE (2016 c) para el semestre de julio a diciembre de 2016 la babesiosis bovina se encuentra ausente, sin embargo, todos los países vecinos presentaban la enfermedad o esta se limitaba a ciertos sectores.

Los protozoarios *Babesia spp.* actúan como hemoparásitos y atacan obligatoriamente a los glóbulos rojos de los bovinos debido a que poseen receptores específicos a estos en su membrana. Cuando ingresan al eritrocito se produce una fisión binaria y empiezan a desarrollarse. A su salida rompen la membrana externa y ocasionan lisis celular de tal forma que liberan la hemoglobina al plasma, siendo esta una de las principales causas de la aparición de la anemia y la hemoglobinuria. También generan destrucción inmuno-mediada y daño oxidativo (Zachary & McGavin, 2012; Medina *et al.*, 2017).

La morbilidad y mortalidad en los bovinos es variable, ya que depende de los tratamientos predominantes empleados en el área, exposición previa a una especie/cepa del parásito y estado de vacunación. Autores como Seifert (1999) consideran una mortalidad del 50% cuando no se ha presentado una exposición previa. En áreas endémicas el ganado

autóctono tiene un grado de resistencia natural a estas enfermedades, por lo que muchas veces los animales pueden presentar signos clínicos leves en comparación con razas exóticas (Bock *et al.*, 2004; Smith, 2010).

De manera general, todas las razas de bovinos son sensibles, sin embargo, las razas *Bos indicus* muestran un grado definitivo de resistencia a las dos especies de *Babesia* y a las garrapatas (Bock *et al.*, 2004; Smith, 2010). En las áreas tropicales que poseen una alta población de vectores, la exposición natural ocurre en edad temprana. Los terneros de 9 y 12 meses adquieren una inmunidad de acción prolongada debido a la resistencia inversa de la edad (Bock *et al.*, 2004; OIE, 2013 a). Los brotes pueden ocurrir si se introduce animales que no se han adaptado, con baja inmunidad o si el predio ha sido declarado libre y se presenta una infestación con garrapatas nuevamente (Bock *et al.*, 2004; OIE, 2013 a; Bal *et al.*, 2016).

La transmisión se produce por la picadura de las garrapatas que han ingerido el protozoario de la sangre de bovinos infectados. Existe una forma iatrogénica de transmisión a través de fómites contaminados por sangre como, por ejemplo, el uso de la jeringa para varios animales. La babesiosis tiene un periodo de incubación de 5 días a 3 semanas. Los signos clínicos se presentan 2 a 3 semanas después de una infestación con garrapatas. Se evidencia fiebre de 40-42°C, depresión, ictericia, anorexia, taquicardia, taquipnea, anemia, hemoglobinemia, hemoglobinuria, aborto y muerte. La mayoría de las infecciones dan lugar a una hemólisis intravascular y extravascular acompañada de una insuficiencia renal y hepática. Existe una forma cerebral de babesiosis en el ganado bovino infectado con *B. bigemina* o *B. bovis*, pero especialmente por este último caracterizada por hiperexcitabilidad, convulsiones, opistótonos, coma y muerte. Los signos nerviosos se deben a una anoxia encefálica resultado de una anemia intensa y de un bloqueo eritrocitario de los capilares cerebrales. Estos signos clínicos nerviosos deben diferenciarse de otros problemas de alto impacto económico y de salud pública como son encefalopatía esponjiforme bovina y rabia. En terneros recién nacidos

la enfermedad se presenta con incapacidad de amamantar, la fiebre alta, la orina de color café, la ictericia y la respiración superficial es profunda (The Center for Food Security & Public Health, 2008; Smith, 2010; MAGAP, 2016; Bal *et al.*, 2016).

Los métodos de diagnóstico van desde lo más simple como la observación directa al microscopio de frotis sanguíneos teñidos con Giemsa de baja sensibilidad, a métodos más complejos como los ensayos inmunoenzimáticos para estudios epidemiológicos; las sondas de ácidos nucleicos, hasta la introducción de nuevas tecnologías como PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), con gran sensibilidad y especificidad (Muñoz, 2016; AL-Hosary, 2017). La prueba de ELISA (inmunoensayo) se ha colocado como prueba de diagnóstico epidemiológico de elección para *Babesia spp.* debido a la objetividad en la interpretación de los resultados y a la capacidad de procesar grandes cantidades de muestra por día. El test de ELISA para el diagnóstico de la infección por *B. bovis* ha sido evaluado y este utiliza un antígeno del merozoíto. Recientemente, se ha desarrollado un ELISA indirecto y de competición utilizando antígenos recombinantes de la superficie del merozoíto de *B. bovis* (Muñoz, 2016). El kit de *Babesia bigemina* (*B. bigemina*-Ab) de SVANOVIR® trabaja como un ELISA-indirecto utiliza suero para evaluar la presencia de anticuerpos contra *B. bigemina*. Sus pocillos contienen el antígeno recombinante que se unirá a los anticuerpos que presente el animal formando así un complejo antígeno-anticuerpo. Luego se añade el HRP conjugado para formar un complejo con los anticuerpos de *Babesia bigemina*. Hay que realizar un lavado para obtener solo el material consolidado, se coloca un sustrato para que se dé una coloración en caso de ser positivo. Utilizar un fotómetro donde la densidad óptica será de 405 nm (Tebele *et al.*, 2000; SVANOVIR, s/d).

El control y la prevención de la babesiosis bovina se basa principalmente en la acción sobre la garrapata. Muchos países a nivel mundial buscan eliminar la presencia del vector, en algunos lugares ha tenido éxito, como es el caso de Estados Unidos, en donde se utilizaron

acaricidas para erradicar a las garrapatas a inicios del siglo XX. Hoy en día los productores procuran que deben reducir el uso de estos productos y para ello deben participar en la búsqueda de otras alternativas. Otro punto importante radica en la vigilancia en fronteras donde puede existir paso de varias enfermedades. Periodos de cuarentena adecuados, elección correcta de genética y exposición del ganado para generar defensas son métodos de manejo para prevenir la enfermedad. Existen vacunas que se basan en parásitos vivos atenuados, pero estas no ofrecen una solución completa al problema, por lo tanto, se está estudiando a fondo cómo actúan los antígenos del parásito con el hospedador. Imidocarb dipirona y aceturato de diaminazeno son las drogas más comunes como tratamiento y agentes profilácticos (Gohil *et al.*, 2012; Florin-Christensen *et al.*, 2014). En el Ecuador para el control de la enfermedad, en base a la Resolución DAJ-2013461-0201.0214 de AGROCALIDAD (2013) si se sospecha de la presencia de babesiosis bovina en los animales propios, ajenos, vivos o muertos se debe notificar a la autoridad para que esta cumpla con la aplicación de las medidas sanitarias correspondientes.

En el periodo de 2012-2017 fueron elaborados alrededor de 12 estudios de prevalencia de la enfermedad en las provincias de Santo Domingo de los Tsachilas, Chimborazo, Pichincha, Loja, Napo, Pastaza y Zamora Chinchipe. Los resultados obtenidos son muy variables y van desde el 0 al 87% de prevalencia como se puede apreciar en la Tabla 1. Los métodos diagnósticos utilizados fueron frotis sanguíneo, tinción de Giemsa, ELISA y PCR, además el número de animales muestreados ha sido variable. No existe una actualización de información sobre babesiosis bovina el resto de las provincias de la región costa en los últimos años (Hernández, 2012; Celi, 2013; Yáñez, 2013; Vasco, 2013; Vargas, 2014; Oñate, 2015; Pazmiño *et al.*, 2016; Benítez, 2017; Correa, 2017; Espinoza, 2017; León, 2017; Medina *et al.*, 2017). La provincia de Esmeraldas, en base a los datos de la OIE (2016 b), cuenta con cerca de 352.525 bovinos, es decir, un 8% de la población total de animales en el Ecuador. Tal es así que el

59.2% de los pobladores de uno de sus cantones, Quinindé, se dedica a la agricultura y ganadería, convirtiendo estas actividades en ejes principales de su economía (SENPLADES, 2014). Quinindé posee un ambiente favorable para la proliferación de *Rhipicephalus spp.* y por ende de babesiosis bovina, sin embargo, no existen estudios que indiquen la presencia o ausencia de la enfermedad en esta zona. De igual manera ocurre con los cantones Eloy Alfaro y Río Verde. Como se ha mencionado, de estar presente la enfermedad en estos cantones ganaderos, se reflejarían altas pérdidas económicas para los productores. Por consiguiente, esta investigación busca determinar la seroprevalencia de babesiosis bovina los cantones Río Verde, Quinindé y Eloy Alfaro de la provincia de Esmeraldas, mediante el método de ELISA indirecto. Este estudio servirá a las autoridades y los ganaderos como punto de partida que permita aplicar un plan preventivo, mantener una adecuada vigilancia y evaluar el avance en un futuro.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la seroprevalencia de babesiosis bovina (*Babesia bigemina*) en los cantones Río Verde, Quinindé y Eloy Alfaro de la provincia de Esmeraldas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar las 181 muestras obtenidas del ganado bovino proveniente de 22 fincas con el kit de ELISA indirecto para detectar la presencia o ausencia de anticuerpos contra *Babesia bigemina*.
- Calcular la seroprevalencia de la enfermedad en una muestra de fincas de los cantones Río Verde, Quinindé y Eloy Alfaro de la provincia de Esmeraldas.

Tabla 1. Resumen de estudios realizados en el periodo 2012-2017 en Ecuador referentes a Babesiosis bovina.

N°	Autor	Tema	Institución	Año	Área	N° de animales/ muestras	Técnica	Resultados
1	Hernández, Andrea	Estimación de la prevalencia de babesiosis bovina en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas mediante microscopía de frotis sanguíneo y reacción en cadena de la polimerasa (PCR).	ESPE	2012	Santo Domingo de los Tsáchilas	350 animales	PCR	<i>Babesia bovis</i> 0%
2	Vargas, Oscar.	Prevalencia de hemoparásitos (<i>Trypanosoma spp</i> , <i>Anaplasma spp</i> , <i>Babesia spp.</i>) en tres núcleos productores bovinos, de parroquia Santa Rosa, Cantón El Chaco, Provincia de Napo.	UDLA	2014	El Chaco	55 animales	Frotis sanguíneo	<i>Babesia bigemina</i> 43,6%
3	Pazmiño, Mauro. Soto, Karla. Romero, Pedro. & Chávez, Ma. Augusta.	Determinación de la prevalencia de <i>Babesia bovis</i> en el ganado bovino faenado en la Empresa Metropolitana de rastro de Quito	ESPE	2016	Quito	140 animales	Frotis sanguíneo y kit VMRD	Microscopía: 0,71% Anticuerpos : 29.29%
4	Vasco, Karla.	Estandarización de la técnica de análisis de fusión de alta resolución para la detección de <i>Babesia</i> en garrapatas utilizando	UCE	2013	Varias provincias	100 muestras	PCR	Garrapatas con <i>Babesia spp.</i> 100%

		polimorfismos de nucleótidos.						
5	Oñate, Andrea.	Determinación de la prevalencia de anaplasmosis, babesiosis y tripanosomiasis en el hato lechero de la hacienda Jhomar, cantón Pedro Vicente Maldonado, enero y febrero, 2015.	UDLA	2015	Hacienda JHOMAR, Pedro Vicente Maldonado	65 animales 130 muestras de sangre	Frotis sanguíneo	Prevalencia de babesiosis bovina 6,7%
6	Yáñez, Cristian.	Determinación de la Incidencia de Anaplasmosis y Babesiosis en el ganado bovino sometido a explotación en la parroquia Huigra, cantón Alausí, provincia de Chimborazo	UTA	2013	Huigra, Chimborazo	190 animales 50 muestras	Frotis sanguíneo	Incidencia de <i>Babesia bigemina</i> 2%
7	Espinoza, Diego.	Prevalencia de <i>Babesia bovis</i> y <i>Babesia bigemina</i> en explotaciones ganaderas del sector este de la provincia Zamora Chinchipe, Ecuador	UNL	2017	Zamora Chinchipe	165 animales	Giemsa y PCR	Giemsa 29% y PCR 87%
8	León, Diego.	Prevalencia de <i>Babesia bovis</i> y <i>babesia bigemina</i> en explotaciones ganaderas del sector sur de la provincia Zamora Chinchipe, Ecuador	UNL	2017	Zamora Chinchipe	165 animales	Giemsa y PCR	Giemsa 32,29% y PCR 71,43%

9	Medina, Viviana. Reyna, Armando. Tavares, Lucinda. <i>Et al.</i>	Diagnóstico de los hemotrópicos <i>anaplasma marginale</i> , <i>trypanosoma spp.</i> y <i>babesia spp.</i> mediante las técnicas de ELISA-I y PCR en tres fincas ganaderas de la provincia de Pastaza, Ecuador	Revista científica Universidad de Zulia	2017	Pastaza	58 animales	PCR	Prevalencia de 0%
10	Ayora, Patricia. & Celi, María.	Diagnóstico de <i>Anaplasma spp.</i> Y <i>Babesia spp.</i> en el ganado bovino que se faena en el camal frigorífico “Cafrilosa” de Loja mediante la técnica de Giemsa	UNL	2013	Loja	238 muestras	Tinción de Giemsa	Hemoparásitos 19,3% Babesia y Anaplasma 71%
11	Benítez, Daniel	Diagnóstico de <i>Babesia bovis</i> y <i>Babesia bigemina</i> en las ganaderías del sector oeste de la provincia de Zamora Chinchipe, mediante los métodos de Giemsa y Reacción en Cadena de la Polimerasa	UNL	2017	Zamora Chinchipe	96 muestras	Tinción de Giemsa y PCR	Tinción de Giemsa 36,4% y PCR 81,7%
12	Correa, Henry.	Prevalencia de <i>Babesia bovis</i> y <i>Babesia bigemina</i> en explotaciones ganaderas del sector norte de la provincia de Zamora Chinchipe, Ecuador	UNL	2017	Zamora Chinchipe	170 muestras	Tinción de Giemsa y PCR	Tinción de Giemsa 26% y PCR 69,4%

MATERIALES Y MÉTODOS

Para esta investigación fueron seleccionadas 22 fincas de pequeños productores que manejan alrededor de 40 a 60 animales y pertenecen a los cantones de Río Verde, Quinindé y Eloy Alfaro de la provincia de Esmeraldas, estas participan en el proyecto Planes de fincas que impulsa el Gobierno Autónomo Descentralizado de la Provincia de Esmeraldas (GADPE) en conjunto con el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).

El proceso se llevó a cabo a finales del mes de septiembre. Los animales seleccionados eran mayores de 6 meses, de diferentes razas y presentaban un alto grado de infestación con garrapatas y signología como pigmenturia, emaciación y disminución de la producción.

Para el cálculo de la muestra se asume una población referencial de $n=1100$ animales que pertenecen al proyecto antes mencionado. El estudio realizado por Escobar y colaboradores (2015) que reflejó una prevalencia de 88% a *Anaplasma* en Santo Domingo de los Tsáchilas fue utilizado de referente puesto que cuenta con características climatológicas similares a la provincia de Esmeraldas. La siguiente fórmula indica la cantidad de muestras requeridas:

$$n = \frac{Z_a^2 \times p \times q}{d^2}$$

Donde:

n = tamaño de la población

Z =nivel de confianza

p =probabilidad de éxito, o proporción esperada

q =probabilidad de fracaso

d =precisión (Error máximo admisible en términos de proporción)

El resultado de la muestra requerida considerando una distribución normal asimétrica con un nivel de confianza del 95% y asumiendo un error del 5% es de 163 animales. Estas

muestras fueron utilizadas para el análisis de *Babesia bigemina* y de *Anaplasma marginale* en otro estudio.

Para este trabajo de investigación se consideró el bienestar animal proporcionando supervisión por profesionales del área de veterinaria. El nivel invasivo fue bajo y poco traumático, no fue requerido el sacrificio y mantenimiento de animales. Además, en el manejo se utilizaron bretes y medidas de sujeción adecuadas para seguridad de los operadores y los animales.

En total fueron tomadas 181 muestras de manera aleatoria, obteniéndose al menos 5ml de sangre de vena coccígea o yugular para ser colocadas en tubos sin anticoagulante (tapa roja). Las muestras fueron mantenidas bajo refrigeración a 4-5°C hasta llegar al laboratorio del Hospital Veterinario Docente de la Universidad San Francisco de Quito para su procesamiento. La formación del coagulo toma entre 15 y 20 minutos, posterior a esto se procede con la centrifugación por 3 minutos a 2500 rpm. Una vez terminado se obtuvo el suero y se colocó tubos de Eppendorf de 1,5 ml con ayuda de pipetas para facilitar su manejo. Los sueros fueron congelados a -20°C hasta realizar la prueba de diagnóstico de babesiosis bovina en el laboratorio de Entomología Médica y Medicina Tropical de la Universidad San Francisco de Quito. La prueba fue realizada con el kit de *Babesia bigemina* (*B. bigemina*-Ab) de SVANOVIR®. La preparación de los reactivos fue en base a los procedimientos establecidos por el manual, así como la validación de los controles. Los datos de densidad óptica fueron obtenidos a partir del procesamiento de las muestras en el kit a través de un espectrofotómetro y se calcularon con ayuda de Microsoft® Office Excel® 2016.

En base a los criterios de interpretación de las muestras hay que considerar el porcentaje de positividad (PP) que es obtenido en base a la densidad óptica (OD) del control positivo, el control negativo y las muestras. Se utiliza la siguiente fórmula:

$$PP = \frac{OD_{muestra\ o\ control\ negativo}}{OD_{control\ positivo}} \times 100$$

Una vez que es obtenido el PP de las muestras se realiza la clasificación en base a los siguientes criterios:

- PP: ≤ 25 negativo
- PP: 26- 29 sospechoso
- PP: ≥ 40 positivo

De acuerdo con las recomendaciones del test, los resultados que sean considerados sospechoso no deben ser tomados como conclusivos y son candidatos para una reevaluación.

RESULTADOS

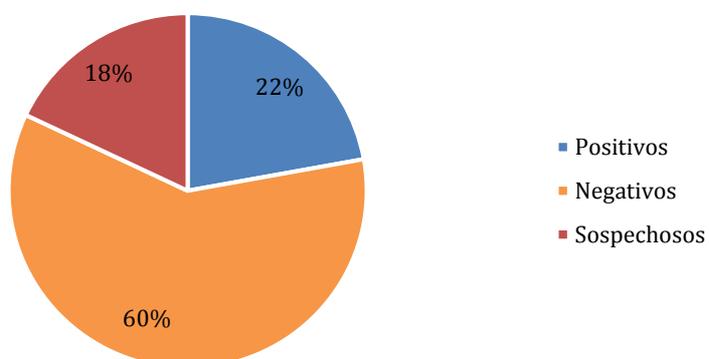


Gráfico 1: Distribución porcentual de los resultados de test de ELISA indirecto de *Babesia bigemina* en bovinos, en el cantón Quinindé provincia de Esmeraldas (n=181).

Mediante la técnica de ELISA indirecto se determinó que de las 181 muestras evaluadas 39 fueron positivas lo que representa el 21,55% de los animales analizados, 109 muestras negativas que equivale al 60,22% y 33 muestras sospechosas a la presencia de anticuerpos contra *Babesia bigemina* indicando un 18,23% (Gráfico 1). Por lo tanto, la seroprevalencia de 22 fincas de los cantones Río Verde, Quinindé y Eloy Alfaro en la provincia de Esmeraldas es de 21.55%.

DISCUSIÓN

La seroprevalencia de 22 fincas de los cantones Río Verde, Quinindé y Eloy Alfaro en la provincia de Esmeraldas es de 21.55%. En comparación con los países vecinos la prevalencia obtenida se encuentra en un punto medio. Por ejemplo, se reporta una prevalencia de 3.05% de *Babesia spp.* en Córdoba, Colombia en bovinos Gyr puros (Blanco, Cardona y Vargas, 2015), 3.3% de *Babesia spp.* en ganado Cebú en Bolivia (Mercado, Loza, Aliaga y Cahuana, 2011) 98.56% a *Babesia bigemina* en la región amazónica de Brasil (Barbosa *et al.*, 2015), y 53.9% de *Babesia bigemina* en el Municipio de Mara en Venezuela (Simoës, Chirinos, Martínez, Castejón y Ávila, 1995).

En estudios previos en zonas cercanas y de condiciones climáticas similares como Santo Domingo de los Tsachilas fue reportada una prevalencia de 0% a *Babesia bovis* mediante PCR (Hernández, 2012), de igual manera en el cantón Pedro Vicente Maldonado de la provincia de Pichincha se determinó una prevalencia de babesiosis bovina de 6,7% a través de frotis sanguíneo (Oñate, 2015). Todos estos resultados contrastan con estudios de prevalencia realizados con PCR en diferentes sectores de la provincia de Zamora Chinchipe, los cuales se encuentran entre el 69,4% y 87% (Benítez, 2017; Correa, 2017; Espinoza, 2017; León, 2017). Es así como la seroprevalencia obtenida en estos cantones de la provincia de Esmeraldas se considera moderada comparada con diferentes zonas del Ecuador. Las diferencias entre las cifras obtenidas a nivel nacional pueden ser a causa de varios factores como son la metodología para el análisis, manejo de los predios, características del protozoario y del vector.

Los estudios científicos llevados a cabo para conseguir la prevalencia en las diferentes zonas del país son tesis de pregrado y solo el estudio de Medina *et al.* (2017) fue revisado y publicado en la Revista Científica de la Universidad de Zulia. Los métodos diagnósticos de estos estudios van desde una técnica poco sensible como es el frotis sanguíneo a una mucho más sensibles y específica como es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La selección

del tamaño de la muestra para análisis varía desde 55 hasta 350 animales/muestras, esto se debe a la elección del área a estudiar.

El kit de ELISA indirecto utilizado en este estudio busca anticuerpos específicos a *Babesia bigemina* en suero. Es un ensayo robusto con alta especificidad y sensibilidad, generalmente se utiliza para determinar la presencia/ausencia de la enfermedad en ganado que va a ser enviado a otro lugar. Esta prueba trabaja bien para determinar infecciones subclínicas o latentes, a diferencia de la tinción de Giemsa que va a ser más específica en infecciones agudas (Tebel, 2000). De acuerdo con el estudio realizado por AL-Hosary (2017) la tinción de Giemsa tiene un 30% de especificidad, mientras que el PCR tiene una sensibilidad aún más alta con el 65% y nPCR llega hasta un 100%. La alta cantidad de sospechosos en conjunto con la sensibilidad de la prueba sugiere una infección cruzada. Seifert (1999) menciona que después de haber superado la infección los animales permanecen resistentes por 2-3 años al desafío con *B. bigemina* e incluso se puede generar una inmunidad cruzada a *B. bovis*. Entre otra de las posibilidades para la presencia de sospechosos se maneja que el periodo de incubación de la enfermedad es de 1-2 semanas, por lo tanto, estos animales debieron estar en una etapa subaguda de la enfermedad en donde no se formaron suficientes anticuerpos para expresar un porcentaje de positividad alto. Pese a esto, los anticuerpos aparecen al poco tiempo de los signos clínicos. Por ello, es recomendado realizar un nuevo análisis de las muestras para esclarecer la situación de las muestras sospechosas. El fabricante del kit, utilizado en este estudio, recomienda repetir la prueba en el periodo de 3 semanas (Seifert, 1999; Madruga, 2001).

Los animales presentaban garrapatas y signología que preocupaba a los ganaderos del sector, con esta prueba, se buscó confirmar la presencia de babesia bovina o descartarla. Con un 21.43% de positivos y 59.83% de negativos se puede decir que esta enfermedad es una de las causantes de la signología, pero no es la única. De acuerdo con Fernández (2018), en el

mismo sector existe una prevalencia de 86% *Anaplasma marginale*. En este caso los animales presentarían depresión, anorexia, pérdida de peso e ictericia por una anemia hemolítica marcada (Corona, Rodríguez y Martínez, 2004). Estudios realizados por Bolívar y Pérez (2017) mencionan una asociación mixta de *Anaplasma marginale* y *Babesia spp.* esto quiere decir que el animal puede presentar ambas infecciones y el signo clínico más evidente será la anemia.

El estudio realizado por Vasco (2013) menciona que el 91% de las garrapatas encontradas en diferentes provincias del Ecuador son *Rhipicephalus microplus* y que de estas un alto porcentaje posee los protozoarios causantes de la babesiosis bovina como *B. bovis* y *B. bigemina*. Bustillos y colaboradores (2015) indican que la época de lluvia es cuando el medio se vuelve apropiado para la presencia de garrapatas. Las muestras fueron tomadas en el mes de septiembre, en esta época el cantón Quinindé ha reportado temperaturas mínimas de 21.5°C y máximas de 29.8°C, una humedad relativa del 86%, por su parte las precipitaciones se presentaron con 25.5mm. Sin embargo, este mes se considera una época fría y de bajas precipitaciones en comparación con los meses de enero a mayo donde en el mismo cantón existen reportes de 265.4mm de precipitaciones, temperaturas hasta 32.40°C y humedad relativa de 92%. Por lo tanto, el realizar un estudio en época invernal sería factible para tener un dato real y que aporte en manera conjunta a la mejorar de las técnicas preventivas por época (INAMI, 2014).

Existen diferentes tipos de ganadería en el país siendo una de las más comunes la familiar, en donde cada uno de los miembros son los encargados del manejo y producción del predio (Requelme y Bonifaz, 2012). Estas poblaciones no poseen especialistas que dirijan sus actividades, aunque pertenecen a asociaciones que los capacitan constantemente, el desconocimiento de muchas enfermedades afecta su capacidad productiva. Realizan desparasitaciones dos veces al año, sin embargo, en los cantones estudiados se suma la aspersión con organofosforados como el Neguvon para evitar la presencia de ectoparásitos

como las garrapatas (Requelme y Bonifaz, 2012). De acuerdo con las recomendaciones del fabricante, el tratamiento debe repetirse con 35 días de diferencia, sin embargo, se acostumbra a colocar el tratamiento de manera continua, lo que podría generar una resistencia de la garrapata al organofosforado. Esto influiría en el aumento de casos positivos a babesia bovina u otras enfermedades transmitidas por este vector (Bustillos *et al.*, 2015).

Existen vacunas para esta enfermedad, sin embargo, no proveen de una adecuada protección. En áreas donde la infección es producida a edad temprana (hasta 10-12 meses) los animales van a ser portadores, pero no van a presentar signología clínica. Un manejo ideal de estabilidad enzootica busca que el 75% de los animales sea infectado durante los primeros meses de vida para que expresen una protección a la enfermedad (Mahoney, 1974). No obstante, es poco probable que esta condición se dé, puesto que siempre se requiere el ingreso de nuevos animales al predio y muchos de los cuales no han tenido una exposición previa al agente, volviéndolos un blanco fácil para adquirir la enfermedad. Es aquí donde las vacunas son la herramienta preventiva adecuada. Los últimos 30 años las vacunas contra babesiosis bovina se han desarrollado en base a parásitos vivos atenuados, aún no se consigue una que logre mantener una inmunidad prolongada y que sea segura para el animal; no obstante, la nueva generación de vacunas en base a conocimientos específicos del genoma promete dar resultados más eficientes (Florin *et al.*, 2014). Mientras tanto debe existir un adecuado control y vigilancia para evitar futuros brotes.

Finalmente, con base en los resultados obtenidos se recomendaría a los ganaderos implementar medidas preventivas como establecer periodos de cuarentena adecuados, elegir correctamente la genética y exponer al ganado para generar defensas.

CONCLUSIONES

La seroprevalencia de babesiosis bovina en las muestras los tres cantones de la provincia de Esmeraldas alcanzarían el 21,55%. Este valor es moderado en comparación con el resto de los estudios realizados a nivel nacional.

La variabilidad de los resultados está relacionada a varios factores como metodología para análisis, manejo de los predios, características del protozoario y del vector.

Para futuros estudios se debe considerar la época del año que facilita el crecimiento del vector, de esta manera, se logrará obtener resultados que faciliten crear medidas de control adecuadas a la realidad climática de los tres cantones.

Al momento no existen vacunas que ofrezcan una protección duradera y totalmente segura, por lo tanto, es importante trabajar en medidas de manejo preventivo.

El presente trabajo servirá como línea base para futuros estudios y programas de capacitación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROCALIDAD (2013). Resolución DAJ-2013461-0201.0214. Extraída desde:
<http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/pdf/sanidad-animal/01-vigilancia-zoosanitaria/DAJ-2013461-0201.0214.pdf>
- AL-Hosary, A. (2017). Comparison between conventional and molecular methods for diagnosis of bovine babesiosis (*Babesia bovis* infection) in tick infested cattle in upper Egypt. *J Parasit Dis.* 41(1):243–246
- Bal, M. Mahajan, V. Folia, G. Kaur, P. & Singh, A. (2016). Diagnosis and management of bovine babesiosis outbreaks in cattle in Punjab state. *Vet World.* 9(12): 1370-1374. doi: 10.14202/vetworld.2016.1370-1374
- Barbosa, J. Dias, M. Sampaio, B. Rodrigues, J. Dos Anjos, H. Da Fonseca, A. *et al.*, (2015). Serological detection of *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in beef cattle of the northern and central-western regions of Brazil. *Semina: Ciências Agrárias.* 36(3): 1431-1436. Doi: 10.5433/1679-0359.2015v36n3p1431.
- Blanco, R. Cardona, J. & Vargas, M. (2015). Prevalencia de parásitos hematópicos endoglobulares en bovinos Gyr puros en Córdoba, Colombia. *Rev Med Vet.* (31): 67-74.
- Benítez, D. (2017). *Diagnóstico de Babesia bovis y Babesia bigemina en las ganaderías del sector oeste de la provincia de Zamora Chinchipe, mediante los métodos de Giemsa y reacción en cadena de la polimerasa.* (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Loja). Recuperado de <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/18457/1/Daniel%20Alberto%20Benítez%20Miranda.pdf>
- Bock, R. Jackson, L. De Vos, A. & Jorgensen, W. (2004). Babesiosis of cattle. *Parasitology.* (129): S247–S269.

- Bolívar, A. y Pérez, C. (2017). Confirmación microbiológica y evaluación hematológica para *Anaplasma marginale* y *Babesia spp.* en ganadería bovina de altura en los andes venezolanos. *Rev Med Vet.* 34(1): 45-53.
- Bustillos, R. Carrillo, J. Jacho, G. Enríquez, S. & Rodríguez, R. (2015). Comportamiento Poblacional de la Garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos en dos áreas geográficas del Ecuador. *RTE.* 28 (4): 68-77. Extraído desde: <http://learningobjects2006.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/403/283>
- Celi, M. (2013). *Diagnóstico de Anaplasma spp. y Babesia spp. en el ganado bovino que se faena en el camal frigorífico "Cafrilosa" de Loja mediante la técnica de Giemsa.* (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Loja). Recuperado de <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5378/1/DIAGNÓSTICO%20DE%20ANAPLASMA%20spp.%20Y.pdf>
- Madruga, C., Marques, A., Araújo, F., Miguita, M., Carvalho, C., Araújo, F., *et al.*, (2001). Avaliação de um ELISA para detecção de anticorpos contra *Babesia bigemina* em bovinos e sua aplicação em um inquérito sorológico no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 21(2), 72-76. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2001000200005>
- Corona, B. Rodríguez, M. y Martínez, S. (2004). Anaplasmosis Bovina. *Red Vet.* Extraído desde: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040405/040511.pdf>
- Correa, H. (2017). *Prevalencia de Babesia bovis y Babesia bigemina en explotaciones ganaderas del sector norte de la provincia de Zamora Chinchipe, Ecuador.* (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Loja). Recuperado de <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/18427/1/HENRY%20PA%C3%9AL%20CORREA%20ESCUADERO.pdf>
- Escobar, A. Cevallos, O. Villareal, P. Carranza, M. Carranza, H. & Pinargote, E. (2015). Prevalencia y detección por PCR anidada de *Anaplasma marginale* en bovinos y

- garrapatas en la zona central del Litoral ecuatoriano. *Ciencia y Tecnología*. 8(1):11-17.
- Espinoza, D. (2017). *Prevalencia de babesia bovis y babesia bigemina en explotaciones ganaderas del sector este de la provincia Zamora Chinchipe, Ecuador*. (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Loja). Recuperado de <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/17651/1/Diego%20Enrique%20Espinoza%20Espinoza.pdf>
- Florin-Christensen, M. Suarez, C. Rodríguez, A. Flores, D. & Schnittger, L. (2014). Vaccines against bovine babesiosis: Where we are now and possible roads ahead. *Parasitology*.141(12): 1563-1592.
- Gohil, S. Herrmann, S. Günther, S. & Cooke, B. (2012). Bovine babesiosis in the 21st century: Advances in biology and functional genomics. *Int J Parasitol*. 43(2):125-132. doi: 10.1016/j.ijpara.2012.09.008
- Hernández, A. (2012). Estimación de la prevalencia de babesiosis bovina en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas mediante microscopía de frotis sanguíneo y reacción en cadena de la polimerasa (PCR). *ESPE*. Recuperado de <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/5898>
- INAMI. (2014). Anuario Meterológico. *Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología*. Extraído desde <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/wp-content/uploads/anuarios/meteorologicos/Am%202011.pdf>
- INOCAR. (2012). Información general de la República del Ecuador. *Fuerza Naval*. Extraído desde: https://www.inocar.mil.ec/docs/derrotero/derrotero_cap_I.pdf
- León, D. (2017). *Prevalencia de babesia bovis y babesia bigemina en explotaciones ganaderas del sector sur de la provincia Zamora Chinchipe, Ecuador*. (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Loja). Recuperado de <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/18460/1/Diego%20Fabricio%20L>

eón%20Jaramillo%20%20.pdf

MAGAP. (2016). Resolución 0036. *Agrocalidad*. Extraído desde:

<http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2016/07/daj-2016144-0201.0036.pdf>

Mahoney, D. F. (1974). The application of epizootiological principals in the control of babesiosis in cattle. *Bulletin-Office International des épizooties* 81: 123–138.

Medina, V. Reyna, A. Tavares, L. Campos A, Ron, J. Moyano, J., ... Chávez, M. (2017).

Diagnóstico de los hemotrópicos *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma spp.* y *Babesia spp.* mediante las técnicas de ELISAI y PCR en tres fincas ganaderas de la provincia de Pastaza, Ecuador. *FCV-LUZ*. 27(3): 162-171.

Mercado, A. Loza, M. Aliaga, R. y Cahuana, J. (2011). Frecuencia de *Anaplasma marginale* (Theiler 1910) y *Babesia spp.* en bovinos mestizo Cebú, en el Municipio de Ixiamas provincia Abel Iturralde Departamento de La Paz, Bolivia. *J Selva Andina Res Soc*. 1(2):13-23.

Muñoz, T. (2016). Babesiosis bovina (*Babesia bovis* y *Babesia bigemina*), una enfermedad hematozoárica de importancia económica en el mundo. *Centro de Biotecnología*. 5(1): 21-30. Extraído desde:

<https://revistas.unl.edu.ec/index.php/biotecnologia/article/view/74/72>

OIE. (2013) a. *Bovine babesiosis*. Disease cards. Extraído desde:

http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/BOVINE_BABESIOSIS.pdf

OIE. (2016) b. *Animales terrestres Ecuador*. Población animal. Extraído desde:

http://www.oie.int/wahis_2/wah/action7_es.php

OIE. (2016) c. *Situación zoonositaria: Ecuador*. Extraído desde:

https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Animalsituation

- Oñate, A. (2015). *Determinación de la prevalencia de anaplasmosis, babesiosis y tripanosomiasis en el hato lechero de la hacienda Jhomar, cantón Pedro Vicente Maldonado, enero y febrero, 2015*. (Tesis de pregrado, Universidad de Las Américas). Recuperado de <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/4643/5/UDLA-EC-TMVZ-2015-16.pdf>
- Pazmiño, M. Soto, K. Romero, P. y Chávez, M. (2016). *Determinación de la prevalencia de Babesia bovis en el ganado bovino faenado en la Empresa Metropolitana de Rastro de Quito, mediante la utilización de técnicas microscópicas y serológicas*. (Tesis de pregrado, Escuela Politécnica del Ejército). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/305387447_DETERMINACION_DE_LA_PREVALENCIA_DE_BABESIA_BOVIS_EN_EL_GANADO_BOVINO_FAENADO_EN_LA_EMPRESA_METROPOLITANA_DE_RASTRO_DE_QUITO_MEDIANTE_LA_UTILIZACION_DE_TECNICAS_MICROSCOPICAS_Y_SEROLOGICAS
- Requelme, N. y Bonifaz, N. (2012). Caracterización de sistemas de producción lechera de Ecuador. *La Granja*. 15(1): 56-69.
- Rodríguez, R. Grisi, L. Pérez de León, A. Silva, H. Torres, J. Fragoso, H. Romero Salas, D. Rosario, R. Saldierna, F. & García, D. (2017). Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(1), 61-74. doi:<http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i1.4305>
- Sampieri, R., Fernández, C. y Baptista, M. (2010). *Metodología de la Investigación*. México: McGraw-Hill.
- Seifert, H. (1999). *Sanidad animal en los trópicos*. Argentina: Hemisferio Sur Editorial.

- SENPLADES (2014). Ficha de cifras generales. *Sistema Nacional de Información*. Recuperado de http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/Portal%20SNI%202014/FICHAS%20F/0804_QUININDE_ESMERALDAS.pdf
- Simoës, D. Chirinos, A. Martínez, N. Castejón, O. y Ávila, S. (1995). Prevalence of bovine babesiosis in Sector Cuatro (Playa Bonita), Mara County. *FCV-LUZ*. 5(1): 5-10.
- Smith, B. (2010). *Medicina Interna de Grandes Animales*. Barcelona: Elsevier.
- SVANOVIR. (s/d). Babesia bigemina (B. bigemina-Ab): ELISA test for the detection of Babesia bigemina antibodies in serum. Extraído desde: http://www.veritastk.co.jp/attached/848/Insert_B_bigemina_19-2970-00-03.pdf
- Tebele, N. Skilton, R. Katende, J. Wells, C. Nene, V. McElwain, T., ... Musoke, A. J. (2000). Cloning, Characterization, and Expression of a 200-Kilodalton Diagnostic Antigen of Babesia bigemina. *J Clin Microbiol*. 38(6): 2240–2247.
- The Center for Food Security & Public Health (2008). Babesiosis bovina. Diseases and Resources by Species. Extraído desde: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/babesiosis_bovina.pdf
- Vargas, O. (2014). *Prevalencia de hemoparásitos (Trypanosoma spp, Anaplasma spp, Babesia spp.) en tres núcleos productores bovinos, de parroquia Santa Rosa, Cantón El Chaco, Provincia de Napo*. (Tesis de pregrado, Universidad de Las Américas). Recuperado de <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/2959/8/UDLA-EC-TMVZ-2014-15.pdf>
- Vasco, A. (2013). *Estandarización de la técnica de análisis de fusión de alta resolución para la detección de Babesia en garrapatas utilizando polimorfismos de nucleótidos*. (Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador). Recuperado de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/975/1/T-UCE-0014-28.pdf>

Yáñez, C. (2013). *Determinación de la Incidencia de Anaplasmosis y Babesiosis en el ganado bovino sometido a explotación en la parroquia Huigra, cantón Alausí, provincia de Chimborazo*. (Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato).

Recuperado

de

<http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3793/1/Tesis02Vet..pdf>

Zachary, J. & McGavin, M. (2012). *Pathologic basis of veterinary disease*. Elsevier: China.