

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio Ciencias de la Salud

**Determinación de los valores predictivos de ELISA en el diagnóstico de
Anaplasma spp. y *Babesia* spp. en una población de bovinos en la provincia de
Esmeraldas-Ecuador en 2017**

Isael María Guerra Freire

Medicina Veterinaria

**Trabajo de fin de carrera presentado como requisito para la obtención del título de
Médico Veterinario**

Quito, 22 de mayo de 2023

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Determinación de los valores predictivos de ELISA en el diagnóstico de
Anaplasma spp. y *Babesia* spp. en una población de bovinos en la provincia de
Esmeraldas-Ecuador en 2017**

Isael María Guerra Freire

Nombre del profesor:

Lenin Vinueza

Título académico:

M.Sc, DMVZ

Quito, 22 de mayo de 2023

© 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 la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Isael María Guerra Freire

Código: 215020

Cédula de identidad: 1719637637

Lugar y fecha: Quito, 22 de mayo de 2023

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Documento de discusión de buenas prácticas para publicación de tesis, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

La anaplasmosis y la babesiosis son enfermedades de distribución mundial que afectan a los bovinos y son transmitidas principalmente por garrapatas. Debido al rol de estos animales en la industria pecuaria, estas patologías tienen un gran impacto económico. Las dos son enfermedades transmitidas por vectores, especialmente garrapatas o iatrogénicamente durante procedimientos veterinarios. Para su diagnóstico existe métodos serológicos como ELISA o moleculares como la PCR. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de *Babesia bovis* y *Anaplasma marginale* en una muestra de 182 bovinos mestizos de *Bos indicus* y determinar los valores predictivos del test ELISA realizado con anterioridad. La prevalencia por PCR en los cantones muestreados de *B. bigemina* fue de 21,97%, de *A. marginale* 77,10% y de coinfección 21,4%. Existe prevalencia en todas las regiones del país, pero siempre hay mayor prevalencia de *B. bigemina*. En cuanto a los valores predictivos indican que el test ELISA tuvo 100% especificidad y sensibilidad para *B. bigemina*, pero menor especificidad para *A. marginale*.

Palabras clave: ELISA, PCR, *Babesia*, *Anaplasma*, bovinos, valores predictivos, prevalencia, Esmeraldas

ABSTRACT

Anaplasmosis and babesiosis are diseases of worldwide distribution that affect cattle and are mainly transmitted by ticks. Due to the role of these animals in the livestock industry, these pathologies have a great economic impact. Both of these diseases are transmitted by vectors, especially ticks or iatrogenically during veterinary procedures. For its diagnosis, there are serological methods such as ELISA or molecular methods such as PCR. The objective of this study was to determine the prevalence of *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in a sample of 182 *Bos indicus* crossbred cattle and to determine the predictive values of a previously performed ELISA test. The prevalence by PCR in the sampled cantons of *B. bigemina* was 21.97%, of *A. marginale* 77.10% and of co-infection 21.4%. There is a prevalence in all the regions of the country, but there is always a higher prevalence of *B. bigemina*. Regarding the predictive values, they indicate that the ELISA test had 100% specificity and sensitivity for *B. bigemina*, but less specificity for *A. marginale*.

Keywords: ELISA, PCR, *Babesia*, *Anaplasma*, bovines, predictive values, prevalencia, Esmeraldas

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
INTRODUCCIÓN	10
OBJETIVOS	14
METODOLOGÍA	15
<i>Base de datos</i>	15
<i>Análisis y procesamiento de datos</i>	15
<i>Fórmulas valores predictivos y prevalencia:</i>	15
<i>Toma de muestras y extracción de ADN</i>	16
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tabla de contingencia para la evaluación de una prueba diagnóstica.....	15
Tabla 2. Valores predictivos para el test ELISA de <i>A. marginale</i> y <i>B. bigemina</i>	21

ÍNDICE DE FIGURAS

Gráfico 1. Número de bovinos de cada parroquia donde se obtuvo la muestra.....	17
Gráfico 2. Distribución de edad en meses de los bovinos muestreados.....	17
Gráfico 3. Distribución de la condición corporal de la muestra.....	18
Gráfico 4. Nivel de infestación parasitaria en la muestra.....	18
Gráfico 5. Prevalencia de <i>Babesia bigemina</i> en la muestra (N: negativo, P:positivo).....	18
Gráfico 6. Prevalencia de <i>Anaplasma marginale</i> en la muestra (N: negativo, P:positivo).....	19
Gráfico 7. Prevalencia de <i>Babesia bigemina</i> en la muestra por ELISA (N: negativo, P:positivo, S:sospechoso).....	19
Gráfico 8. Prevalencia de <i>Anaplasma marginale</i> por ELISA (N: negativo, P:positivo, S:sospechoso).....	20

INTRODUCCIÓN

La anaplasmosis y la babesiosis son enfermedades de distribución mundial que afectan a los bovinos las cuales son transmitidas principalmente por garrapatas. Debido al rol de estos animales en la industria pecuaria, estas patologías tienen un gran impacto económico. La anaplasmosis es una enfermedad endémica de áreas tropicales y subtropicales, en donde se favorece la supervivencia de ectoparásitos debido a las condiciones climáticas tanto de temperatura como de humedad (Gante, 2022). El agente etiológico principal de esta infección en bovinos es *Anaplasma marginale* y la mayoría de los brotes son producidos por este patógeno. Otras especies como *A. centrale*, que generan cuadros subclínicos y poco frecuentes (Gante, 2022). En general, *A. marginale* es una bacteria gram negativa intraeritrocítica obligada de la familia *Anaplasmataceae* y perteneciente al orden *Rickettsiales* (Das et al., 2022). Esta bacteria se transmite por garrapatas de los siguientes géneros *Rhipicephalus*, *Dermacentor* e *Ixodes*, dependiendo de la región geográfica (Das et al., 2022). Además, existe una posible transmisión mecánica por moscas o fómites que hayan tenido contacto con sangre infectada o de forma iatrogénica por medio de agujas o diversos procedimientos veterinarios. De igual manera, algunos dípteros; por ejemplo, tábanos, pueden transmitirla por medio de picaduras (Das et al., 2022).

Los terneros menores a un año pueden no presentar signos clínicos y ser portadores asintomáticos durante toda su vida. Conforme incrementa la edad en que se infecta el animal la signología clínica es más grave, sobre todo por encima de los dos años. Los principales signos de esta enfermedad son anemia, fiebre e ictericia. Esta patología no cursa con hemoglobinemia ni hemoglobinuria, permitiendo diferenciarla así de la babesiosis. Como efecto secundario, los bovinos pueden presentar disminución en la producción de leche, abortos y en algunos casos la muerte.

Por otra parte, la babesiosis es una enfermedad causada por un protozooario intraeritrocítico del género *Babesia*, orden *Piroplasmida* y filo *Apicomplexa*. Al igual que *Anaplasma* spp. se distribuye mundialmente en zonas tropicales y subtropicales donde haya presencia de garrapatas. Las principales especies que causan esta patología son *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Babesia divergens*. Específicamente, *B. bovis* y *B. bigemina* son las que más afectan al ganado bovino (OIE, 2016). La transmisión de esta enfermedad se da por las garrapatas *Rhipicephalus*, *Dermacentor* e *Ixodes*; así como, fómites y vectores mecánicos que hayan tenido contacto con sangre infectada. En cuanto a la signología, los animales

jóvenes son menos susceptibles y el cuadro clínico en adultos es más severo. Entre los signos más comunes esta anorexia, fiebre, y anemia (Parodi et al., 2021)

Existen diferentes métodos de diagnóstico para estos dos agentes infecciosos. En primera instancia, hay métodos directos como frotis y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Medina-Naranjo et al., 2017). Para la observación en frotis se utiliza una tinción Giemsa para demostrar la presencia de los parásitos y asociarlos a la signología clínica. Es una forma sencilla y fácil de detectar estas enfermedades rutinariamente, pero tiene una baja sensibilidad y por ende los falsos negativos son comunes. No obstante, esta prueba es considerada el Gold standard de diagnóstico durante fases agudas de la enfermedad. La PCR es altamente sensible y específica y permite detectar infecciones asintomáticas porque detecta el material genético del microorganismo (Parodi et al., 2021). Sin embargo, es una prueba costosa y que requiere destrezas técnicas avanzadas, lo cual presenta una limitación para su uso masivo. Los métodos de diagnóstico serológicos indirectos son el enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA) y la inmunofluorescencia indirecta. Los métodos serológicos son inconsistentes para identificar a animales infectados y tienen la desventaja de presentar reacciones cruzadas. Es así, que muchas veces no pueden distinguir si el animal está o estuvo infectado, ya que se basan principalmente en la detección de anticuerpos y estos están presentes en diferentes fases de la enfermedad (Medina-Naranjo et al., 2017). Por último, los diagnósticos diferenciales para la Babesiosis y Anaplasmosis son eperythrozoonosis, leptospirosis, hemoglobinuria bacilar, theileriosis, intoxicación por plantas y ántrax (OIE, 2016; OIE, 2015).

La ganadería es un componente importante de la economía mundial. Estas dos enfermedades representan una carga porque generan pérdidas económicas debido a costos de tratamiento, muerte, abortos y pérdida de peso. Las pérdidas anuales asociadas a enfermedades hemotrópicas en el mundo es de 14 a 19 millones de dólares americanos (USD). Por ejemplo, en Estados Unidos representa un costo de 400 USD por animal. En Brazil se estima que la garrapata *Rhiphicephalus microplus* representa un impacto económico de 7,11USD (Grisi et al., 2014). Según, el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC), en 2020 en Ecuador había 4,3 millones de cabezas de ganado bovinos. Además, entre 2014 a 2019 los bovinos abarcaban un 66% de la producción ganadera total; indicando, la importancia para el país de este tipo de explotación.

Los hemoparásitos son endémicos en las regiones tropicales como es el caso de Esmeraldas y muchas otras provincias ganaderas del país como Manabí, Guayas y Morona Santiago (Johnson Plúa & Zambrano Suárez, 2022). Debido al cambio climático los patrones de temperatura y humedad han fluctuado; por lo que, tanto garrapatas como patógenos se están desplazando (Osbrink et al., 2022). No se conoce los costos que estas dos enfermedades representan en el país.

La babesiosis y la anaplasmosis son enfermedades de distribución mundial y se encuentran dentro de los principales hemotrópicos que afectan a bovinos (OIE, 2015). Según Jacob et al., mundialmente existe una prevalencia global de 28% de babesiosis bovina. Específicamente, *B. bigemina* y *B. bovis* se encuentran en Africa, Australia, América central y del Sur. Por otra parte, la Anaplasmosis es la enfermedad bovina de transmisión por garrapatas más prevalente en el mundo (2020). De acuerdo a la OIE, la Anaplasmosis y babesiosis bovina se encuentran presentes en Ecuador, pero no hay registro de datos en cuanto a su extensión o invasividad (2016). Existen varios estudios acerca de la prevalencia de hemoparásitos en Ecuador. Estos establecen que hay presencia de *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en todas las regiones del país, que son Sierra, Costa, Oriente e Insular (Johnson Plúa & Zambrano Suárez, 2022). Por ejemplo, en Pichincha, Chimborazo, Zamora Chinchipe, Pastaza y los Ríos, entre otros (Muñoz-Guarnizo et al., 2017; Ariel et al., 2014). Una revisión sistemática en Ecuador menciona, una prevalencia promedio de anaplasmosis en bovinos de 55,98% y de babesiosis de 36,05% en base a todos los estudios realizados entre 2012-2022 en la Costa, Sierra, Oriente y región insular (Johnson Plúa & Zambrano Suárez, 2022).

Existen dos tipos de prueba, aquellas que son diagnósticas y las que son de tamizaje. Las segundas tienen ventajas porque son menos invasivas, costosas y laboriosas. Por esa razón, se usan con más frecuencia, pero desafortunadamente tienen imperfecciones al momento del diagnóstico. Por esta razón, los valores predictivos de una prueba son de gran utilidad y estos se obtienen al compararlos con una prueba considerada como Gold standard (Trevethan, 2017). Dentro de estos valores la sensibilidad y la especificidad son los que más se utilizan para valorar una prueba. La sensibilidad es la proporción de los individuos que tendrán un resultado positivo para el evento de interés. Es así, que una prueba altamente sensible es aquella que identifica correctamente a los pacientes con la enfermedad. Es útil para descartar la enfermedad en paciente con sospecha que haya obtenido un valor negativo en otra prueba. La especificidad es la proporción de personas sin la enfermedad que tendrán un verdadero resultado negativo. En general, las pruebas con alta sensibilidad tienen una baja

especificidad. El valor predictivo positivo (VPP) se refiere a la probabilidad de que los pacientes con un resultado positivo sean verdaderamente positivos. A su vez el valor predictivo negativo (VPP) es la probabilidad de que un individuo con un resultado negativo verdaderamente no tenga el evento de interés (Jaramillo y Maya, 2010).

La presente investigación tiene como objetivo definir la prevalencia obtenida mediante PCR y ELISA de Anaplasmosis y babesiosis en una población de bovinos en Esmeraldas. Con los resultados de la PCR datos se establecerán los valores predictivos del test ELISA realizado anteriormente como prueba tamiz. Esta información podrá guiar varias investigaciones a futuro sobre el tema. Por último, al conocer los valores predictivos del test ELISA guiará a un mejor diagnóstico para estas dos enfermedades y su utilidad como prueba tamiz.

OBJETIVOS

A continuación, se describen los objetivos del presente estudio:

- a. General
 - i. Definir si la prevalencia obtenida mediante PCR de Anaplasmosis y babesiosis en bovinos mestizos *Bos taurus* en cantones de la provincia de Esmeraldas difiere de la obtenida previamente por ELISA
- b. Especificos
 - i. Estructurar y limpiar una base datos binomial a partir de un archivo excel pre-existente
 - ii. Describir la muestra a través de valores estadísticos de variables cualitativas y cuantitativas
 - iii. Establecer valores predictivos del test ELISA previamente realizado
 - iv. Describir la metodología utilizada para obtener la muestra de sangre de los bovinos y realizar el PCR para *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp.

METODOLOGÍA

Revisión de la base de datos

En 2017 se obtuvieron los datos de esta investigación y fueron tabulados en ficheros de Excel. A partir de estos se realizó una limpieza y homologación de datos. Se generó una base de datos binomial y trinomial dependiendo de la variable. En el caso de las variables binomiales, el valor uno representaba un resultado positivo para la prueba diagnóstica y el cero un resultado negativo. Posteriormente, se identificaron las variables descriptivas relevantes del estudio, donde se incluyeron: edad del animal, propietario, nivel de infestación parasitaria, condición corporal y localidad. El nivel de infestación parasitaria se clasificó en tres niveles: alto (densidad de parásitos en 3 o más zonas del cuerpo), medio (densidad de parásitos en una o dos zonas del cuerpo) y bajo (densidad de parásitos en solo una zona del cuerpo). La condición corporal se clasificó en baja (menor a 3), media (igual a 3) y alta (mayor a 3), basándose en una escala del 1 al 5.

Análisis y procesamiento de datos

Se estableció una base de datos y se guardó como un archivo csv (Comma separated values) para su posterior procesamiento en el programa Rstudio. Por medio del programa se establecieron los estadísticos descriptivos de la muestra para tener una caracterización de esta. A continuación, se calculó la prevalencia de babesiosis y anaplasmosis tanto en el examen ELISA como en la PCR. Con esta información se procedió a calcular los valores predictivos de la prueba ELISA confirmada por PCR utilizando el programa Microsoft Excel

Fórmulas valores predictivos y prevalencia:

Tabla 1. Tabla de contingencia para la evaluación de una prueba diagnóstica

	Enfermo	Sano
Positivo	Verdadero positivo	Falso positivo
Negativo	Falso negativo	Verdadero negativo

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{verdaderos positivos}}{(\text{verdaderos positivos} + \text{falsos negativos})} \times 100$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{verdaderos negativos}}{\text{verdaderos negativos} + \text{falsos positivos}} \times 100$$

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Número de casos}}{\text{muestra}} \times 100$$

$$\textit{Exactitud} = \frac{\textit{Verdaderos positivos} + \textit{verdaderos negativos}}{\textit{muestra (N)}}$$

$$\textit{VPP} = \frac{\textit{Verdaderos positivos}}{\textit{Verdaderos positivos} + \textit{falsos positivos}}$$

$$\textit{VPN} = \frac{\textit{Verdaderos negativos}}{\textit{Falsos negativos} + \textit{verdaderos negativos}}$$

$$\textit{Índice de Youen} = \textit{sensibilidad} + \textit{especificidad} - 1$$

$$\textit{Razón de probabilidad positiva} = \frac{\textit{Sensibilidad}}{1 - \textit{Especificidad}}$$

$$\textit{Razón de probabilidad negativa} = \frac{1 - \textit{Sensibilidad}}{\textit{Especificidad}}$$

(Chu, 1999; Jaramillo y Maya, 2010)

Descripción de la toma de muestras y extracción de ADN

En septiembre de 2017 se extrajeron muestras de sangre de 184 bovinos en siete cantones de la provincia de Esmeraldas. Se extrajo 5ml de sangre completa de la vena coccígea o yugular. Se almacenó la sangre en tubo sin anticoagulante en refrigeración (4-5°C) hasta llegar al laboratorio de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ) donde fueron congeladas hasta realizar las pruebas diagnósticas correspondientes (2021). Se realizaron pruebas ELISA para cada enfermedad separando el suero de la muestra por medio de uso de una centrífuga. Para *Anaplasma marginale* se empleó el kit comercial de ELISA competitivo (Anaplasma antibody test kit, cELISA v2; VMRD Inc., Pullman, WA) y para *Babesia bigemina* el kit de *Babesia bigemina* (B. bigemina-Ab) de SVANOVIR®. Se siguió la metodología especificada por el fabricante. Posteriormente, con estas mismas muestra de sangre se efectuó la PCR. Con este fin se realizó una extracción de ADN siguiendo el protocolo de chelex modificado de Singh (Landázuri Rafael et al., 2021). El protocolo completo para extracción de ADN se detalla en otro estudio (Landázuri et al., 2021) Una vez extraído el ADN se procedió a realizar la PCR en estas muestras. Se utilizó el kit AccuPower para *Babesia* y cuatro tipos de cebadores para *Anaplasma* spp.

RESULTADOS

Gráfico 1. Número de bovinos de cada parroquia donde se obtuvo la muestra

De los 182 bovinos muestreados en la provincia de Esmeraldas. La mayoría de los bovinos provenían de la parroquia Rocafuerte, Rosa Zárate y la Tola. Los principales cantones fueron Rioverde, Eloy Alfaro y Esmeraldas (Gráfico 1).

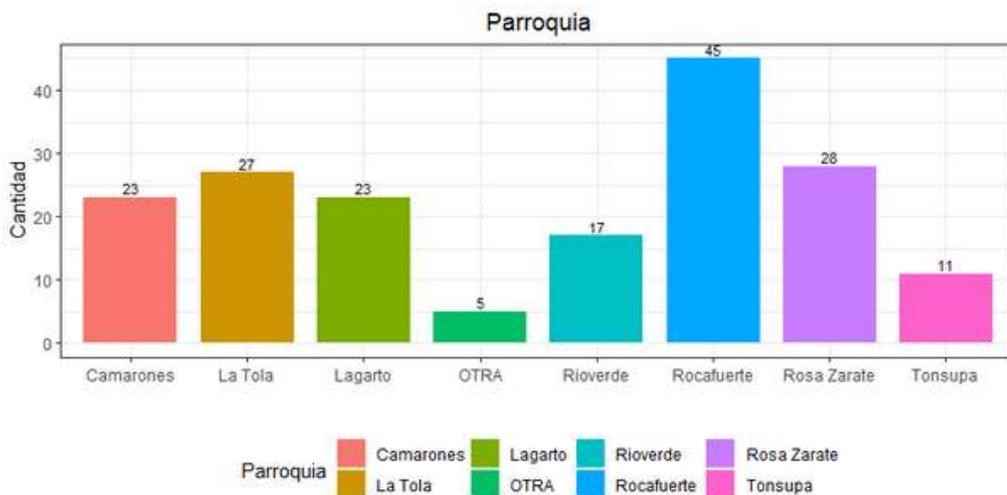
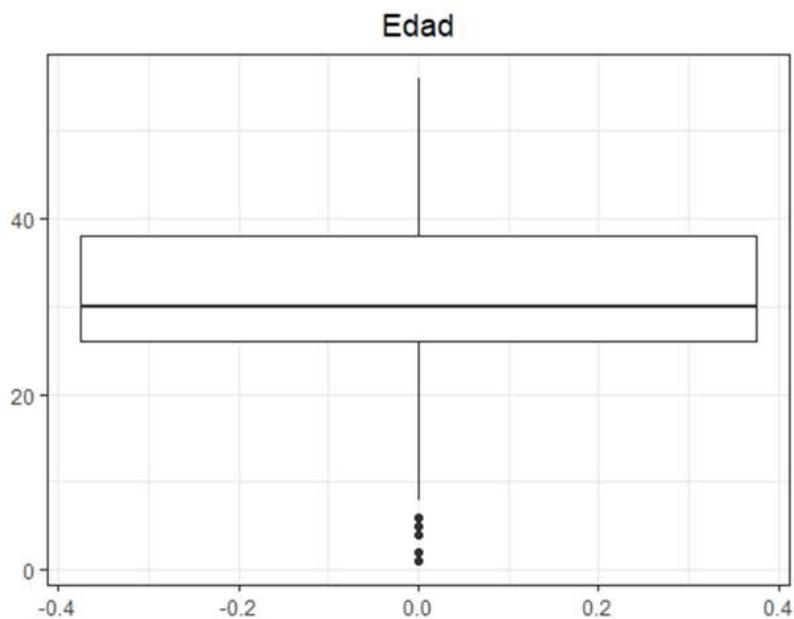
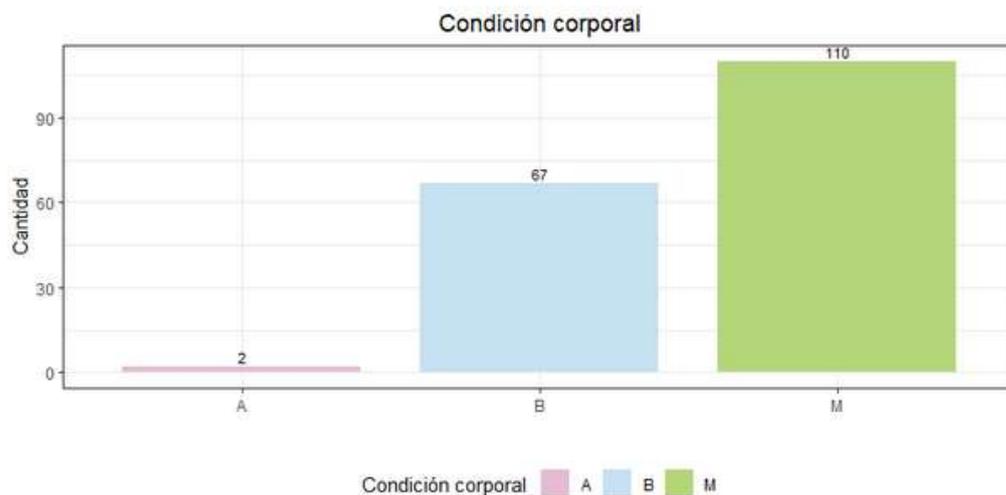


Gráfico 2. Distribución de edad en meses de los bovinos muestreados.



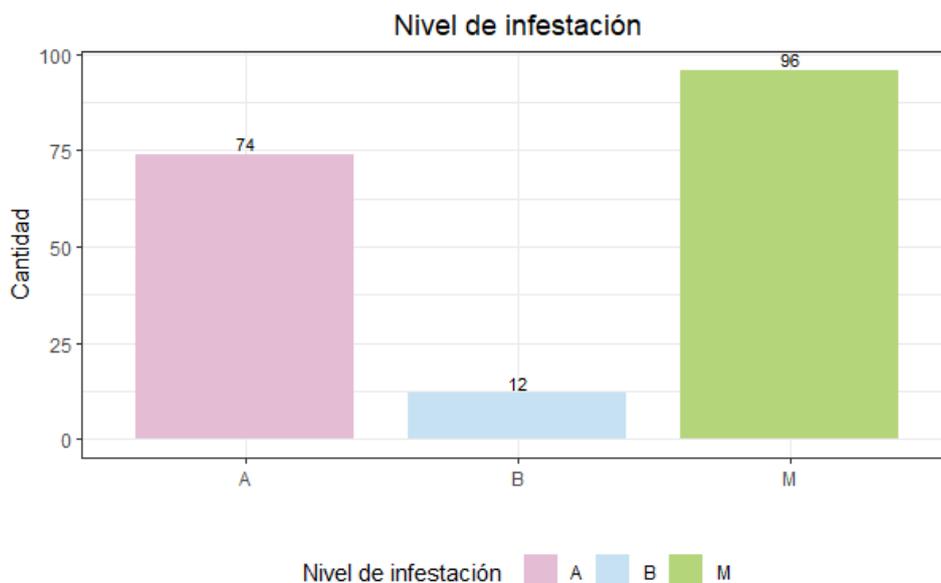
Todos los animales fueron mestizos de *Bos Taurus* y pertenecían a 25 propietarios. En la muestra se observó machos y hembras de diversas edades, siendo el menor de 1 mes y el mayor de 56 meses, la media fue de 30 meses (Gráfico 2).

Gráfico 3. Distribución de la condición corporal de la muestra



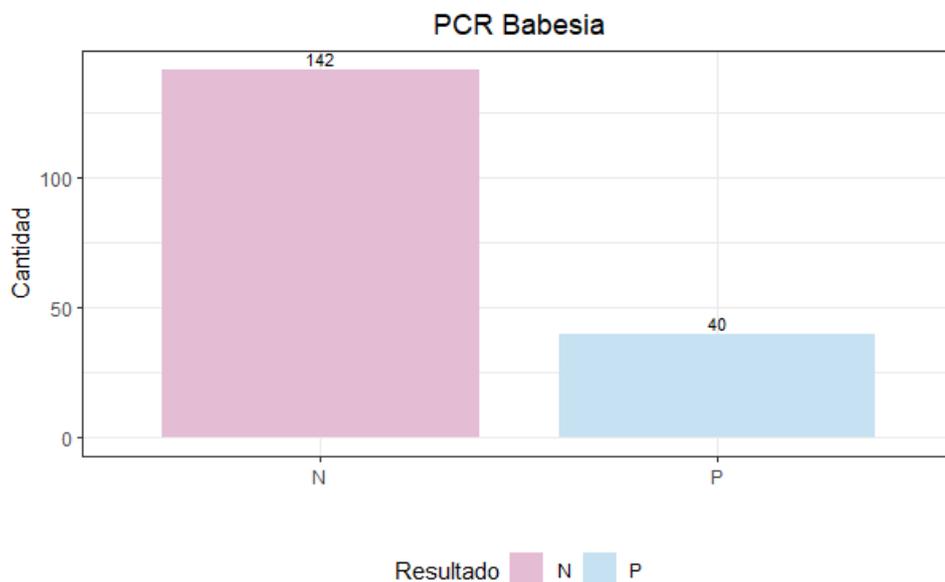
En cuanto a la condición corporal predominaron los animales con una condición media y baja (Gráfico 3).

Gráfico 4. Nivel de infestación parasitaria en la muestra



En cuanto al nivel de infestación de los bovinos, aquellos con niveles medio y bajo predominaron, tomando en cuenta que todos tenían algún tipo de infestación (Gráfico 4).

Gráfico 5. Prevalencia de *Babesia bigemina* en la muestra (N: negativo, P:positivo)



Según la PCR, la prevalencia de *B. bigemina* fue de (40/182)21,97%, de *A.marginale* (138/179)77,10% y de coinfección (38/182)21,4% (Gráfico 5 y 6).

Gráfico 6. Prevalencia de *Anaplasma marginale* en la muestra (N: negativo, P:positivo)

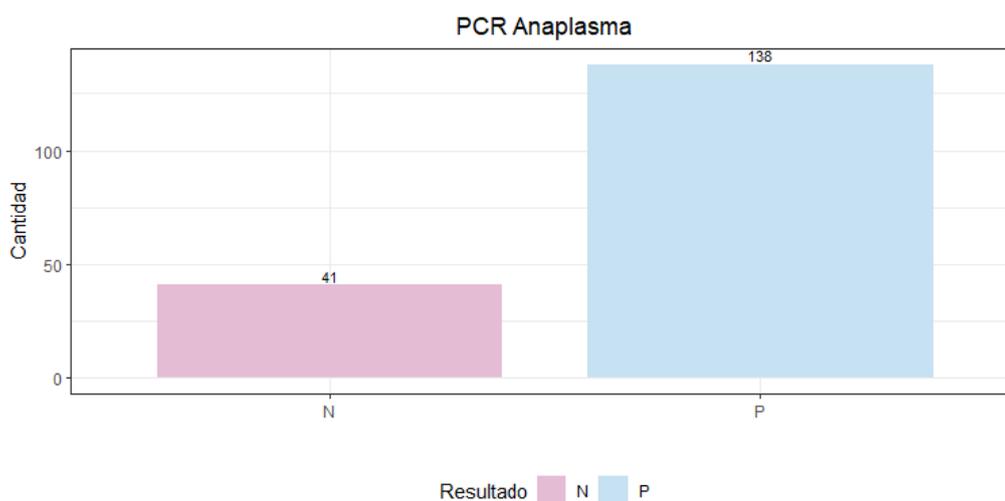


Gráfico 7. Prevalencia de *Babesia bigemina* en la muestra por ELISA (N: negativo, P:positivo, S:sospechoso)

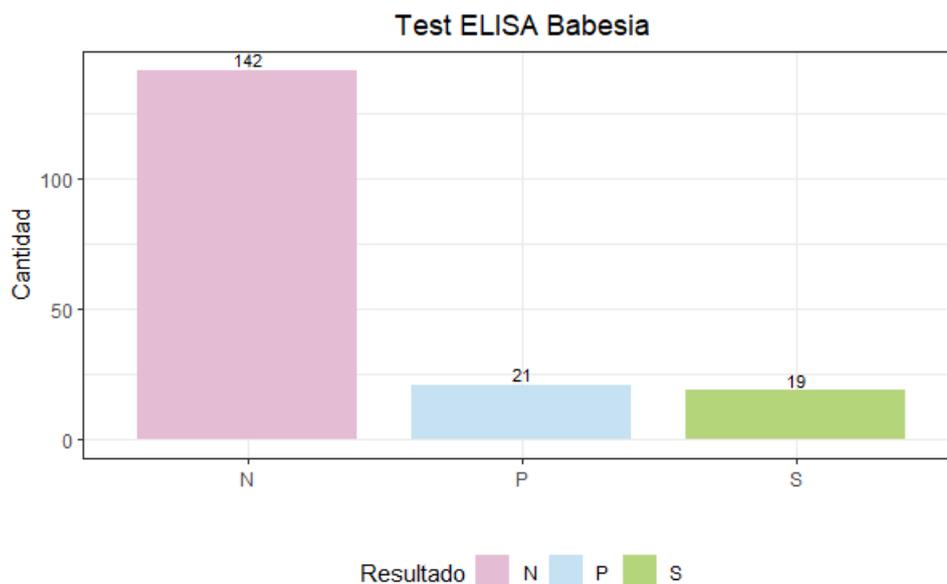
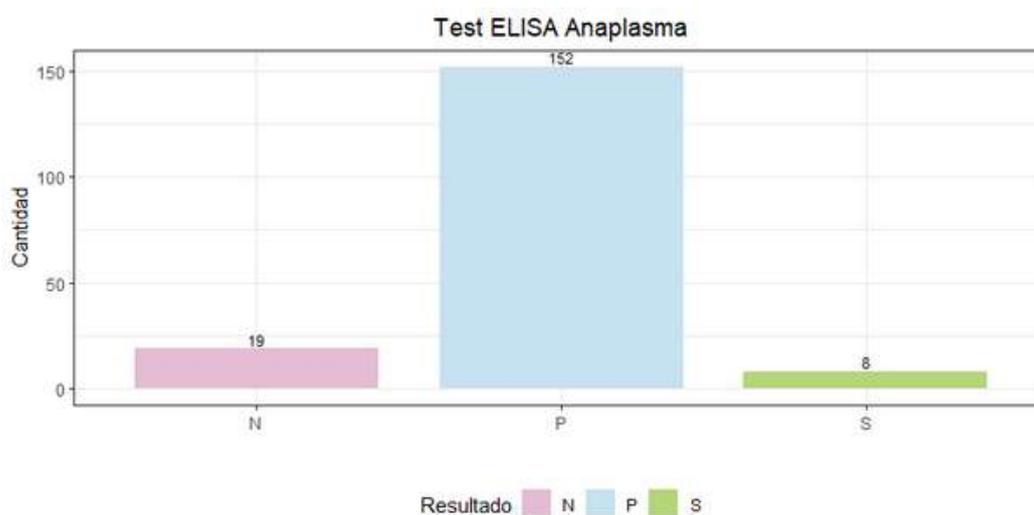


Gráfico 8. Prevalencia de *Anaplasma marginale* por ELISA (N: negativo, P:positivo, S:sospechoso)



Según el test ELISA, la prevalencia de *B. bigemina* fue de (40/182) 21,97% y de *A.marginale* de (160/179) 89,38% (Gráfico 7 y 8)

Tabla 2. Valores predictivos para el test ELISA de *A. marginale* y *B. bigemina*

	<i>B. bigemina</i>		Total	<i>A.marginale</i>		Total
	Enfermo	No enfermo		Enfermo	No enfermo	
Positivo	40	0	40	138	22	160
Negativo	0	142	142	0	19	19

Total	40	142	182	138	41	179
Sensibilidad	100%			100%		
Especificidad	100%			46%		
Valor predictivo positivo	100			86%		
Valor predictivo negativo	100			100		
Exactitud	100%			87%		
Razón de probabilidad positiva	-			1,86		
Razón de probabilidad negativa	0			0		
Índice de Youden	1			0.46		

En cuanto a los valores predictivos del test ELISA para *B. bigemina*. La sensibilidad y especificidad que presentó el test fue de 100%. EL valor predictivo positivo fue de 100% y el negativo de 100%. La Razón de probabilidad negativa (RPN) no se pudo calcular y la razón de probabilidad positiva (RPP) fue de 0 (Tabla 2).

Los valores predictivos del test ELISA para *A.marginale*, la sensibilidad de 100% y especificidad de 46,02%. EL valor predictivo positivo fue de 86,25% y el negativo de 100%. La RPN fue de 0 y la RPP fue de 1.86 (Tabla 2).

DISCUSIÓN

En Ecuador la actividad bovina se distribuye a través de todas las regiones, Sierra, Costa, Oriente y región insular (Muñoz-Guarnizo et al., 2017). Especialmente, en la Costa y Oriente, debido al clima tropical, las enfermedades parasitarias en bovinos son prevalentes (Pacheco-Merelo et al., 2023). Esto se debe a la presencia de ectoparásitos como las garrapatas que actúan como vectores. En particular, la garrapata *Rhiphicephalus microplus*, se encuentra en Ecuador y Colombia y es el vector que se asocia con la Babesiosis y es uno de los principales de la Anaplasmosis (Muñoz-Guarnizo et al., 2017). Consecuentemente, en este estudio toda la muestra presentaba un nivel de infestación por garrapatas. La mayoría poseía un nivel medio o alto de infestación, indicando un posible control poco óptimo de ectoparásitos y sugiriendo la necesidad de investigar el manejo del ganado. Asimismo, la condición corporal fue predominantemente media, esto podría asociarse a varios factores por lo cual habría que investigar si su origen es nutricional, patológico o asociado al manejo.

Este estudio se realizó en septiembre que es una época invernal con menos precipitaciones, humedad y temperatura, la cual se asocia con menor prevalencia de ectoparásitos (Aguayo, 2018). No obstante, el ingreso de animales nuevos a los predios sin haberlos testeado previamente puede favorecer a la prevalencia de estas patologías. Asimismo, los animales que no presentan signología clínica pueden ser un reservorio para la enfermedad y así propagarla ya sea por medio de vectores o iatrogénicamente durante prácticas veterinarias. En este sector debido a falta de educación y acceso a servicios veterinarios muchas veces las prácticas de los ganaderos favorecen la propagación.

La prevalencia por PCR en los cantones muestreados de *B. bigemina* fue de 21,97%, de *A. marginale* 77,10% y de coinfección 21,4%. En Ecuador estas enfermedades han sido reportadas por varios autores. Estos establecen que hay presencia de *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en todas las regiones del país (Johnson Plúa & Zambrano Suárez, 2022).

En base a una revisión sistemática (Johnson Plúa & Zambrano Suárez, 2022), la prevalencia promedio en Ecuador para anaplasmosis en bovinos fue de 55,98% y para babesiosis de 36,05%. Los datos obtenidos fueron concordantes en que la prevalencia de Anaplasmosis es mayor que la de babesiosis en bovinos. Sería importante establecer por medio de una investigación la razón de esta diferencia en la prevalencia.

Un estudio reportó que puede deberse a una competencia entre los dos hemotrópicos por el huésped. Asimismo, la transmisión iatrogénica podría ser un posible factor contribuyente

(Rahman, 2015) En general, Esmeraldas es una región tropical y por ende un área enzoonótica de hemoparásitos. No obstante, no existen datos en la provincia sobre los hemotrópicos en cuestión (Johnson Plúa & Zambrano Suárez, 2022).

En Córdoba, Colombia en cuatro explotaciones ganaderas de bovinos Gyr se determinó una prevalencia de *Anaplasma* spp. de 3,05% y de 0,76% de *Babesia* spp (Martinez et al, 2016). En otros países vecinos, como Perú y Bolivia hay igual prevalencia de estas enfermedades con la anaplasmosis siendo igual más elevada (Ruiz y Fonseca, 2017; Mercado et al., 2011). En general, existen variaciones en la prevalencia entre países debido a manejo y condiciones climáticas, pero son dos enfermedades que se mantienen prevalentes en la región Suramericana.

Muchas veces cuando los animales padecen enfermedades hemotrópicas crónicas o son portadores, estas pueden no ser detectadas por frotis o métodos serológicos; ya que estos son inconsistentes para identificar a animales infectados y tienen la desventaja de presentar reacciones cruzadas (Das et al., 2022).

El ELISA al basarse en la detección de anticuerpos no tienen la capacidad de discernir si el animal está o estuvo infectado. Por eso su uso como prueba tamiz es amplio (Medina-Naranjo et al., 2017).

La PCR es considerada como Gold Standard porque permite confirmar la presencia de la presencia del parásito debido a que detecta material genético del organismo (Medina-Naranjo et al., 2017). De igual manera, la PCR permite obtener los valores predictivos de la prueba de tamizaje que es el ELISA.

Dependiendo de la metodología la sensibilidad de la PCR para *Babesia* spp. fue de 94,2% hasta 100% y la especificidad fue de 97,1% hasta 100%. Para la detección de *A.marginale* la sensibilidad fue de 95,2% hasta 100% y la especificidad de 92,7 hasta 100%(Parodi et al, 2020; Nitture et al., 2021).

La sensibilidad y la especificidad de una prueba se consideran generalmente pre-establecidas y generan valores predictivos distintos dependiendo de la prevalencia de la enfermedad en la muestra que se está examinando(Al-Hosari et al., 2020; Fuente-Alba et al., 2017). Conforme la prevalencia de la enfermedad incrementa también lo hace el VPP y viceversa conforme la prevalencia disminuye el VPN incrementa. Mientras que las razones de probabilidad no dependen de la prevalencia (Al-Hosari et al., 2020; Fuente-Alba et al., 2017). Esta

información es importante para aplicar pruebas diagnósticas tanto en los individuos como en poblaciones más grandes. En este estudio el test ELISA para babesiosis brindó un 100% de especificidad y sensibilidad, siendo comparable con la PCR. Por otra parte, para anaplasmosis la sensibilidad fue del 100% y la especificidad del 46% siendo así inferior que la PCR para detectar individuos verdaderamente enfermos. Además, en las dos patologías la razón de probabilidad negativa fue altamente relevante, ya que fue menor a 0,1. Indicando que es más probable que ante un resultado negativo de la prueba, el paciente no tenga la enfermedad (Fuente-Alba et al., 2017).

Se recomendaría que el test ELISA es útil apropiado para utilizar en campo y guiar la práctica clínica, sobre todo en animales con signología. Cabe recalcar que para el diagnóstico de anaplasmosis puede requerirse confirmar con la PCR sobre todo para animales verdaderamente enfermos.

Finalmente, estas dos son enfermedades de notificación obligatoria en el país y existe tratamiento y medidas preventivas para su control. Para la prevención de esta enfermedad es importante tener un control o eliminación de vectores (garrapatas) y regímenes quimioterapéuticos. Es posible, que erradicar la garrapata no sea factible; en este caso, hay que utilizar repelentes o acaricidas. Otra opción es que los animales adquieran inmunidad a largo plazo permitiendo que se infecten a temprana edad (OIE, 2015; OIE, 2016). En áreas endémicas debe haber un monitoreo constante y un control del ingreso de nuevos animales. Existen vacunas vivas para la prevención de estas enfermedades, pero no están disponibles ni son parte del esquema básico de vacunación en Ecuador. Además, existe el riesgo de que sean virulentas en animales adultos. Por eso aún faltan más estudios para establecer la vacunación como una medida de control clave (Suárez y Noh, 2011). Existe la posibilidad de tratar a los animales clínicamente afectados con antiparasitarios como imidocarb, pero su eficacia depende de una detección temprana de la enfermedad (OIE, 2016).

CONCLUSIONES

Existe una prevalencia en los cantones muestreados de *B. bigemina* de 21,97%, de *A.marginale* 77,10% y de coinfección 21,4%

Concordantemente con el resto de estudios a nivel nacional la prevalencia de *A.marginale* es mayor a la de *B.bigemina*

Entre los estudios de prevalencia hay variabilidad por el tamaño de la muestra, época estacional y prueba diagnóstica.

Según los valores predictivos obtenido el test ELISA para diagnosticar babesiosis tiene mayor especificidad que para el diagnóstico de anaplasmosis.

Este trabajo brinda información acerca de la situación en Esmeraldas y una base para futuras investigaciones y toma de medidas de prevención y control.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguayo Albán, G. P. (2018). Seroprevalencia de *Babesia bigemina* en los cantones Río Verde, Quinindé y Eloy Alfaro de la provincia de Esmeraldas (Bachelor's thesis, Quito).
- Al-Hosary, A., Răileanu, C., Tauchmann, O., Fischer, S., Nijhof, A. M., & Silaghi, C. (2020). Epidemiology and genotyping of *Anaplasma marginale* and co-infection with piroplasms and other Anaplasmataceae in cattle and buffaloes from Egypt. *Parasites & Vectors*, *13*(1), 1-11.
- Ariel, E., Cevallos, O., Villareal, P., Zambrano, S., Nieto, H., Carranza, M., & Pinargote, E. (2014). Prevalencia de anaplasmosis en bovinos de la zona central del Litoral Ecuatoriano. *Spanish Journal of Rural Development*, *5*(2).
- Chu, K. (1999). An introduction to sensitivity, specificity, predictive values and likelihood ratios. *Emergency Medicine*, *11*(3), 175-181.
- Das, D., Sarma, K., Eregowda, C. G., Roychoudhury, P., Rajesh, J. B., Behera, P., Prasad, H., Lalrinkima, H., Aktar, F., & Bora, N. (2022). Naturally occurring *Anaplasma marginale* infection in cattle: Molecular prevalence and associated risk factors, haemato-biochemical alterations, oxidant/antioxidant status and serum trace mineral levels. *Microbial Pathogenesis*, *167*, 105575.
- Ganta, R. R. (2022). Anaplasmataceae: *Anaplasma*. *Veterinary Microbiology*, 381-385.
- Grisi, L., Leite, R. C., Martins, J. R. de S., Barros, A. T. M. de, Andreotti, R., Cançado, P. H. D., León, A. A. P. de, Pereira, J. B., & Villela, H. S. (2014). Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria = Brazilian Journal of Veterinary Parasitology: Orgao Oficial Do Colegio Brasileiro De Parasitologia Veterinaria*, *23*(2), 150-156. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612014042>
- INEC. (2020). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC-2021.
- Jacob, S. S., Sengupta, P. P., Paramanandham, K., Suresh, K. P., Chamuah, J. K., Rudramurthy, G. R., & Roy, P. (2020). Bovine babesiosis: An insight into the global perspective on the disease distribution by systematic review and meta-analysis. *Veterinary parasitology*, *283*, 109136.
- Jaramillo Arango, C. J., & Martínez Maya, J. (2010). *Epidemiología veterinaria*. Editorial El Manual Moderno.
- Johnson Plúa, M. B., & Zambrano Suárez, A. V. (2022). Prevalencia de hemotrópicos en ganado bovino del Ecuador: Revisión sistemática. [B.S. thesis]. Universidad de Guayaquil-Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Landázuri Rafael, T. H., Carrasco, A., León, R., Vinuesa, L., & Barragán, V. (2021). Optimización de un protocolo de extracción de ADN a partir de sangre bovina hemolizada y coagulada para la detección molecular de *Anaplasma* spp. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, *12*(2), 653-664.

- Martínez, Rafael, Cardona Álvarez, José, & Vargas Vilorio, Marlene. (2016). Prevalencia de parásitos hematópicos endoglobulares en bovinos gyr puros en Córdoba, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, (31), 67-74. Retrieved May 17, 2023, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-93542016000100007&lng=en&tlng=es.
- Medina-Naranjo, V. L., Reyna-Bello, A., Tavares-Marques, L. M., Campos, A. M., Ron-Román, J. W., Moyano, J. C., Jarrín-Porras, E. C., Sandoval-Morejón, E. D., & Chávez-Larrea, M. A. (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. *Revista Científica*, 27(3), 162-171.
- Mercado, A., Loza-Murguía, M., Aliaga, R., & Cahuana, J. (2011). Frecuencia de *Anaplasma marginale* (Theiler 1910) y *Babesia* sp en bovino mestizo Cebú, en el Municipio de Ixiamas provincia Abel Iturralde departamento de La Paz, Bolivia. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 2(2), 13-23.
- Muñoz-Guarnizo, T. R., Ayora-Fernández, P., Luzuriaga-Neira, A., Corona-González, B., & Martínez-Marrero, S. (2017). *Prevalencia de Anaplasma marginale en bovinos de la provincia Zamora Chinchipe, Ecuador*. 39(1).
- Nitture, B., Kasaralika, V. R., Sharma, P., Halmandge, S. C., Kulkarni, S., & Patil, N. A. (2021). Molecular diagnosis of anaplasmosis in Cattle in and around Bidar (Karnataka).
- OIE. (2015). *Anaplasmosis bovina*. Extraído desde: https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.04.01_Anaplasmosis_bovina.pdf
- OIE. (2016). *Bovine Babesiosis*. Extraído desde: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/BOVINE_BABESIOSIS.pdf
- Ortiz Ruiz, Y. F., & Hernández Fonseca, Y. A. (2017). Prevalencia de hemoparásitos (*Anaplasma*, *Babesia* y *Tripanosoma*) en bovinos, equinos, caprinos y ovinos en seis fincas del municipio de León, La Paz Centro y Nagarote-Nicaragua en el periodo agosto-noviembre de 2015.
- Osbrink, W. L., Thomas, D. B., Lohmeyer, K. H., & Temeyer, K. B. (2022). Climate change and alternative hosts complicate the eradication of cattle fever ticks (Acari: Ixodidae) in the southern United States, a review. *Annals of the Entomological Society of America*, 115(1), 39-55.
- Pacheco-Merelo, G., Montes, V., Alvarado-Álvarez, H., Angulo-Cubillán, F., & Fonseca-Restrepo, C. (2023). Eficacia de tratamientos homeopáticos frente a nematodos gastrointestinales en bovinos del trópico bajo ecuatoriano. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, XXXIII, 1-5. <https://doi.org/10.52973/rcfcv-e33205>
- Parodi, P., Corbellini, L. G., Leotti, V. B., Rivero, R., Miraballes, C., Riet-Correa, F., Venzal, J. M., & Armúa-Fernández, M. T. (2021). Validation of a multiplex PCR assay to

- detect *Babesia* spp. And *Anaplasma marginale* in cattle in Uruguay in the absence of a gold standard test. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 33(1), 73-79.
- Rahman, A. S. M. S., Sumon, S. M. M. R., Khan, M. A. H. N. A., & Islam, M. T. (2015). Current status of subclinical form of babesiosis and anaplasmosis in cattle at Rangpur district in Bangladesh. *Progressive Agriculture*, 26(1), 51-59.
- Silva Fuente-Alba, C., & Molina Villagra, M. (2017). Likelihood ratio (razón de verosimilitud): definición y aplicación en Radiología. *Revista argentina de radiología*, 81(3), 204-208.
- Trevethan, R. (2017). Sensitivity, specificity, and predictive values: foundations, pliabilities, and pitfalls in research and practice. *Frontiers in public health*, 5, 307.