

## E10-ANAPLASMOSIS EN LA CUENCA LECHERA DE VILLA MARÍA, CÓRDOBA

Echaide, I.<sup>1</sup>, Martínez Peria, M., F. <sup>2</sup>, Torioni de Echaide, S.<sup>1</sup>, Amherd, P.<sup>1</sup>, Moretto, M.<sup>3</sup> y Primo, E.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología y Parasitología, INTA Rafaela - INTA. <sup>2</sup>Lab. Nuevo Laver, V. María, Córdoba. <sup>3</sup>Agencia de Extensión Rural de Villa María. Córdoba. echaide.ignacio@inta.gob.ar

**Introducción.** La anaplasmosis bovina es una enfermedad infecciosa producida por la bacteria intraeritrocítica *Anaplasma marginale*. Se manifiesta por anemia severa y elevadas tasas de mortalidad de bovinos adultos. En Argentina es enzoótica tanto en áreas infestadas por uno de sus transmisores, la garrapata *Rhipicephalus microplus* (norte del paralelo 31°S) y en la zona libre de este ácaro (paralelos 31°S y 33°S), con una distribución no uniforme. Al sur del paralelo 33°S ocurren esporádicamente brotes de la enfermedad, por la introducción de bovinos portadores asintomáticos desde zonas endémicas. Eritrocitos infectados de esos animales también se transmiten a los bovinos susceptibles a través de insectos hematófagos y agujas hipodérmicas (iatrogenia). La muerte de bovinos con anaplasmosis aguda puede evitarse por el tratamiento oportuno con antibióticos y puede prevenirse mediante la vacunación con *A. centrale* viable, especie de menor patogenicidad. El diagnóstico de los casos agudos se confirma mediante microscopía óptica de frotis de sangre. La detección de portadores asintomáticos se realiza mediante pruebas serológicas (Ej. ELISA) y eventualmente técnicas moleculares para diferenciar especies de *Anaplasma* (Ej. PCR). El objetivo de este estudio fue establecer la difusión de la anaplasmosis en rodeos lecheros del área de influencia de Villa María, Córdoba.

**Materiales y métodos.** El estudio incluyó áreas de los departamentos San Martín, Juárez Celman, Río Segundo, San Justo, Tercero Arriba y Unión de la provincia de Córdoba, donde existen aproximadamente unos 1500 establecimientos lecheros (Dpto. Lechería, Min. Agric. Córdoba, 2019). Con el apoyo de Médicos Veterinarios de la zona, se realizó un muestreo aleatorio simple transversal (95% IC, 7% E) para una prevalencia predial esperada del 20% e intrapredial promedio esperada del 4% (Thrusfield, 2005), mediante el programa Win Episcope 2.0. Éste incluyó una encuesta epidemiológica *ad hoc* (conformación del rodeo, manejo), factores de riesgo (reposición externa de reproductores, rodeos vecinos con anaplasmosis endémica) y antecedentes clínico-patológicos compatibles con la enfermedad. Se analizaron 114 rodeos lecheros y 29-30 bovinos por rodeo que incluyeron vacas, vaquillonas y toros (n=3411). De cada bovino se obtuvieron 5 ml de sangre y los coágulos y sueros y se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento. Para la detección de anticuerpos contra *Anaplasma* spp se utilizó como prueba tamiz un ELISA *sandwich* (ELISAs) según Primo *et al.* (2019) y como confirmatoria, un ELISA de competición (ELISAc) producido en el LIPVet-EEA Rafaela según Torioni de Echaide *et al.* (1998), ambos basados en la proteína recombinante MSP5 de *Anaplasma* spp. Los resultados de ELISAs se expresaron en % de positividad (%P) y se usó un punto de corte  $\geq 50\%P$ ; los de ELISAc se expresaron en % de inhibición (%I) y se usó con un punto de corte  $\geq 30\%I$ . Para diferenciar las infecciones causadas por *A. marginale* o *A. centrale*, se extrajo ADN de los coágulos de sangre de los bovinos ELISAs positivos y se analizaron mediante la prueba de PCR anidada (nPCR) según Molad *et al.*, (2006). El rodeo se consideró infectado cuando al menos había un bovino positivo por ELISAs y ELISAc o mediante ELISAs y nPCR. Cuando no fue posible identificar la especie actuante, el rodeo se categorizó como infectado por *Anaplasma* spp.

**Resultados.** El 91 % de los rodeos muestreados tenía una población promedio de  $280 \pm 98$  vacas >3 años de edad. En el 49% de los rodeos se hacía reposición externa de toros, en el 30% de vacas o vaquillonas y en el 30% había interacción con rodeos vecinos. En el 25% de los rodeos se identificaron bovinos con anemia, ictericia, depresión y caída de la producción láctea. La prevalencia poblacional de anaplasmosis fue del 3% (101/3411). La prevalencia predial fue del 19% (22/114) y la intrapredial varió entre 3 y 27% (n=19). No se incluyeron 3 rodeos vacunados con *A. centrale*. El 55% de los rodeos positivos tuvo una prevalencia  $\leq 10\%$ . Dos rodeos vacunados con *A. centrale* después de un brote por anaplasmosis tuvieron una prevalencia

de 50% y 63%. La PCR identificó *A. marginale* en 7 de los 22 rodeos positivos y *A. centrale* en tres de ellos. Ésta última especie también fue identificada en otros 6 rodeos. En el 70% de los rodeos positivos se registraron signos clínicos compatibles con anaplasmosis, o antecedentes de la enfermedad en rodeos vecinos. En el 59% de los rodeos positivos se identificó la especie de *Anaplasma* actuante. *Anaplasma centrale* fue la especie más frecuente y se observó coinfección entre *A. marginale* y *A. centrale*. La asociación entre rodeos con *Anaplasma* spp y el atributo "presencia de signos clínicos en el rodeo propio o vecino", tuvo un OR= 14,2418 (IC95% 4,9150, 41,2667) y la asociación con "Rodeos con reposición externa de reproductores", tuvo un OR= 4,000 (IC95% 1,042, 14,4902). Ambas asociaciones son significativas y se consideran factores de riesgo.

**Discusión.** Este relevamiento confirma la expansión de la anaplasmosis causada por *A. marginale* en la Cuenca lechera de Villa María, aunque aún con bajo nivel de endemidad. También se verificó la utilización incipiente de *A. centrale*, como inmunógeno vivo para su prevención. La expansión es consecuencia de la introducción de bovinos portadores a rodeos susceptibles. Esto incluye a los bovinos vacunados como potencial fuente de infección por *A. marginale* porque algunos podrían estar coinfectados. Esto soporta la importancia de los períodos de cuarentena y análisis serológicos en simultáneo, antes del ingreso de bovinos con estado sanitario desconocido. El uso de tres pruebas de diagnóstico incrementó la precisión para identificar el estatus de la mayoría de los rodeos. Sin embargo, en 9 rodeos con serología positiva, no se pudo identificar *A. marginale* y/o *A. centrale* mediante nPCR. Se deberían profundizar los estudios para descartar la presencia de otras especies de *Anaplasma* que podrían ser detectadas sólo por las pruebas serológicas.

**Conclusiones.** El uso estratégico de las pruebas serológicas y su interpretación en el contexto epidemiológico de cada rodeo permite definir la presencia de portadores de *Anaplasma* spp. La bacteriemia parasitemia de *A. marginale* observada en frotis, junto a los datos clínicos y epidemiológicos son factores determinantes para confirmar brotes de anaplasmosis. El uso racional de la vacuna basada en *A. centrale* en esta región, permitirá evitar severas pérdidas económicas por mortalidad de bovinos adultos.

### Bibliografía

- Molad, T., Mazuz, M., Fleiderovitz, L., Fish, L., Savitsky, I., Krigel, Y., Leibovitz, B., Molloy, J., Jongejan, F., Shkap, V. (2006). Molecular and serological detection of *A. centrale* and *A. marginale*-infected cattle grazing within an endemic area. *Vet. Microbiol.* 113:55-62.
- Primo, M., Thompson, C., Valentini, B., Sarli, M., Novoa, B., Mangold, A., de Echaide, ST. (2019). Development of a novel fusion protein with *Anaplasma marginale* and *A. centrale* MSP5 improved performance of *Anaplasma* antibody detection by cELISA in infected and vaccinated cattle. *PLoS One*;14 (1):e0211149.
- Thrusfield, M. (2005). *Veterinary epidemiology*. 2nd Edition, Blackwell Science, Oxford, 117-198.
- Torioni de Echaide, S., Knowles, D.P., McGuire, T.C. Palmer, G.H., Suarez, C.A., and McElwain, T.F. (1998). Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in a region of endemicity by nested PCR and a competitive ELISA using recombinant MSP-5. *J. Clin. Microbiol.* 36: 777-782.