

## Monitoreo serológico de anticuerpos (IgG e IgM) contra *Babesia bigemina* (Haemosporidia: Babesiidae) en becerros del trópico mexicano

J. J. Solís-Calderón<sup>1</sup>, R.I. Rodríguez-Vivas<sup>2</sup> y A. Dajer-Abimerhi<sup>2</sup>

- 1 Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. Centro de Investigaciones Regionales del Sureste. Campo Experimental Tizimín. Tizimín, Yucatán, México. Teléfono: (86) 3 43 06
- 2 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil. Apartado Postal 116-D. Mérida, Yucatán, México. Teléfono: (99) 42 42 00, Fax (99) 42 32 05, Internet: rvivas@tunku.uady.mx

**Abstract:** Antibody dynamics (IgG and IgM) against *Babesia bigemina* was studied on 41 under 15 days of age from three ranches (R1, R2 and R3) in Yucatan, Mexico. Blood samples were collected every 30 days, for eight months. Sera were tested by the indirect fluorescent antibody method to detect IgG and IgM. Overall IgM seroprevalence during the calves first eight months of life was 17.1% without relation to age. Overall IgG seroprevalence was 66.8%, increasing with age. Seroprevalence in R1, R2 and R3 were 87.5%, 77.1% and 31.8% respectively. Ranches 1 and 2 were in enzootic stability. In Yucatan, the modification of management factors in ranches with enzootic instability, could increase the risk of clinical babesiosis. Cattle mobilization from ranches with enzootic instability must be strictly controlled.

**Key words:** *Babesia bigemina*, IgG, IgM, cattle, tropics.

La babesiosis bovina es una enfermedad producida por protozoarios intracelulares del género *Babesia*, Starcovici, 1893 y transmitida por garrapatas del género *Boophilus*. La enfermedad se caracteriza por fiebre, anemia hemolítica y en casos severos produce la muerte (Alonso *et al.* 1992).

La presentación de la babesiosis en hatos bovinos está determinada entre otros factores a la edad y raza de los animales, al ambiente y a la fluctuación estacional de la población de las garrapatas del género *Boophilus* en una región (Spath 1986).

En México, *B. bovis* y *B. bigemina* se reportan como los causantes de casos clínicos de babesiosis en bovinos (Solorio y Rodríguez 1997a). Los bovinos jóvenes son más resistentes a la babesiosis clínica que los animales adultos (Taylor *et al.* 1983, Latif 1979, Alonso *et al.* 1992, Fatimah *et al.* 1993). Esto es debi-

do a la transmisión de anticuerpos pasivos de las madres infectadas a los becerros (Hopps 1977, Berry *et al.* 1981). Los anticuerpos castrales en bovinos son transferidos a través del consumo de calostro y consiste en anticuerpos de la clase IgG (Buttler 1974). La presencia de anticuerpos clase IgM en el suero permite diferenciar los anticuerpos pasivos de los anticuerpos inducidos activamente mediante la infección por *Babesia* sp (Chistensson 1987a).

En el estado de Yucatán, México existen reportes sobre respuesta inmunológica de los bovinos a *B. bigemina* a diferentes edades (Rodríguez *et al.* 1992, Ramos *et al.* 1992, Ramírez *et al.* 1998); sin embargo, se desconoce la dinámica de anticuerpos IgG e IgM durante los primeros meses de vida. El objetivo del presente estudio fue conocer la reactividad serológica de anticuerpos IgG e IgM a *B. bigemina*, en becerros del oriente del estado de Yucatán, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se realizó de marzo a noviembre de 1995, en tres explotaciones bovinas del estado de Yucatán, México. El clima de la región es Aw (caliente sub-húmedo con lluvias en verano) con las variantes Aw0 (800-900 mm) y Aw1 (1200 mm) con precipitación anual entre 415 y 1200 mm, distribuida entre los meses de mayo a octubre, con temperatura promedio anual entre 24.6 y 27.7 °C (García 1973).

Los ranchos seleccionados se denominaron R1, R2 y R3. Todos los ranchos presentaron las siguientes características: a) Tipo de explotación: pie de cría-carne, b) cría de ganado cebú (*B. indicus*), y c) manejo de un programa de vacunación contra Rabia Paralítica Bovina (virus rábico), Carbón Sintomático (*Clostridium chauveii*) y Pasteurelisis (*Pasteurella multocida*). Solo en el R2 se aplicaron baños con ixodicidas por inmersión (deltametrina) a los becerros con intervalo de aplicación de 30 a 90 días.

En cada rancho se seleccionaron de 13 a 15 becerros menores de 15 días de edad (todos los animales habían ingerido calostro) y monitoreados cada 30 días durante un período de 8 meses. De cada becerro se obtuvo una muestra de sangre (10ml) mediante la punción de la vena yugular con equipo vacutainer. Las muestras se mantuvieron en reposo durante 2 a 3 horas y fueron centrifugadas a 2000 g para la obtención de los sueros. Los sueros fueron almacenados en alícuotas de 2ml y almacenados a -20 °C hasta su procesamiento.

Los sueros fueron evaluados mediante la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) descrita por Rodríguez *et al.* (1994), para la detección de IgG e IgM contra *B. bigemina*. Se usaron los conjugados anti-IgG y anti-IgM bovina producida en cabra con isotiocinato de fluoresceína (Kirkegaard and Perry, INC) en diluciones 1:60 con buffer de fosfatos (PBS). Se usaron antígenos procedentes de cultivo *in vitro* (con un 7% de eritrocitos parasitados), donados por el CENID-Parasitología/SAGAR de Jiutepec, Morelos, México. Los controles

positivos para la detección de IgG y controles negativos fueron donados por la Red de Hemoparásitos de la FAO. El control positivo para detectar IgM se obtuvo de un becerro inoculado experimentalmente con *B. bigemina* y obtenido el suero a los 18 días postinoculación. Los sueros controles y de prueba fueron diluidos 1:80 en PBS (pH 7.2). La lectura de las muestras se realizó a través de un microscopio de fluorescencia y los resultados se interpretaron de la siguiente manera: 1) Positivo, observación de parásitos con una coloración fluorescente y 2) Negativo, no observación de fluorescencia.

Durante el monitoreo se realizó el examen físico de los becerros con relación a las enfermedades provocadas por hemoparásitos.

Se obtuvo la seroprevalencia de *B. bigemina* (IgG e IgM) global y con relación a la edad. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó la prueba de ji-cuadrada, formándose 3 grupos de edades de los becerros: grupo A de < 1 a 3 meses de edad, grupo B de 4 a 6 y grupo C de 7 a 8. Al mismo tiempo, se obtuvo la tasa de inoculación al mes 8 de edad de los becerros, de acuerdo a la fórmula descrita por Mahoney y Ross (1972).

## RESULTADOS

Mediante la prueba de IFI se analizaron 369 sueros de 41 becerros estudiados. La seroprevalencia general de anticuerpos IgM fue de 17.1%. La seroprevalencia de los grupos de edad A, B y C fue de 13.4%, 19.2% y 22.2% respectivamente. No se encontró diferencia significativa al comparar los grupos A, B y C (ji cuadrada  $P > 0.05$ ). La seroprevalencia de anticuerpos IgM por edad de los becerros se presenta en la fig. 1a.

La seroprevalencia de anticuerpos IgM en el R1, R2 y R3 fue de 18.7%, 16.5% y 18.5% respectivamente (fig. 1b). No se encontró diferencia significativa al comparar los ranchos (ji-cuadrada  $P > 0.05$ ).

La seroprevalencia general de anticuerpos IgG fue de 66.8%. La seroprevalencia de los

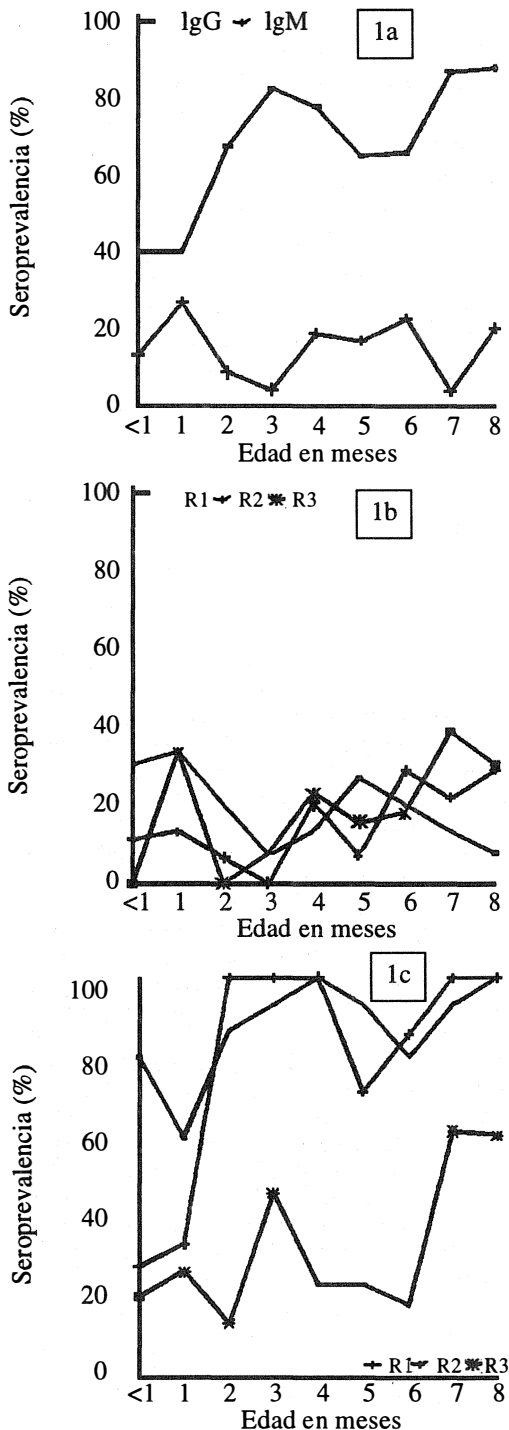


Fig. 1. Seroprevalencia de anticuerpos a *Babesia bigemina* en becerros del trópico mexicano a) prevalencia general de IgG e IgM, b) prevalencia de IgM en cada rancho y c) prevalencia de IgG en cada rancho.

grupos de edad A, B y C fue de 57.3%, 68.8% y 86.1% respectivamente. No se encontró diferencia significativa al comparar los grupos A y B, pero se encontró diferencia significativa al comparar estos con el grupo C (ji-cuadrada  $P < 0.05$ ). La seroprevalencia de anticuerpos IgG por edad de los becerros se presenta en la fig. 1a.

La seroprevalencia de anticuerpos IgG en el R1, R2 y R3 fue de 87.5%, 77.1% y 31.8% respectivamente (fig. c). No se encontró diferencia significativa al comparar el R1 con el R2, pero se encontró diferencia significativa al comparar estos con el R3 (ji-cuadrada  $P < 0.05$ ).

La tasa de inoculación a los 8 meses de edad de los becerros en el R1, R2 y R3 fue de 0.0191, 0.0191 y 0.0038 respectivamente.

## DISCUSIÓN

La IgM se produce en mayor cantidad en una respuesta inmunitaria primaria, presentándose también en una respuesta secundaria, pero este fenómeno se hace evidente por la predominancia de IgG (Tizard 1989). La seroprevalencia global a *B. bigemina* (IgM) fue baja (17.1%) y la reactividad de anticuerpos de acuerdo a la edad no presentó una tendencia. O'donoghue *et al.* (1985) mencionan que los anticuerpos IgM aparecen en la respuesta primaria a *Babesia* por un período corto. La respuesta transitoria de IgM a *Babesia* coincide con el máximo nivel de parasitemia en los becerros. La ocurrencia de estas respuestas transitorias de IgM en los becerros de estudio es indicativo que los animales han producido anticuerpos activos debido a la infección por *Babesia* (O'donoghue *et al.* 1985, Christensson 1987a,b). El nivel máximo detectable de IgM a *B. bovis* se presenta a los 18 días postinoculación y permanece detectable a los 35 días (Goff *et al.* 1982). Esta producción de anticuerpos activos se presentó en los tres ranchos estudiados.

La seroprevalencia general observada de *B. bigemina* (IgG) fue de 66.8%. Esta seropositividad es similar a la reportada por Ramos *et*

al. (1992) donde observaron una seroprevalencia a *B. bigemina* de 68.0% en la zona ganadera del estado de Yucatán. Ramírez *et al.* (1998) monitoreando becerros del nacimiento a los 12 meses de edad, observaron una seroprevalencia de 75.4% bajo las mismas condiciones geográficas del presente estudio.

Un hallazgo difícil de explicar es la diferencia en la seroprevalencia de IgG entre animales del R3 y los otros dos ranchos, a pesar de que existen niveles similares de IgM. Payne y Osorio (1990) encontraron que bajas prevalencias de IgG a *Babesia* están asociadas con ausencia o bajo número de garrapatas del género *Boophilus* en los bovinos. Sin embargo, se necesita realizar estudios más precisos para conocer la relación de IgM e IgG en la babesiosis bovina.

La seroprevalencia de IgG aumentó de acuerdo a la edad de los becerros. Las bajas seroprevalencias observadas durante los primeros 3 meses de edad de los becerros, pudo deberse a los siguientes factores: 1) baja concentración de inmunoglobulinas calostrales, 2) inadecuada ingestión de calostro, 3) disminución de la capacidad de absorción de la mucosa intestinal y 4) baja concentración de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo (González 1987). Este aumento de la seroprevalencia de *B. bigemina* con relación a la edad de los becerros, fue detectado previamente en el estado de Yucatán, México (Ramos *et al.* 1992, Ramírez *et al.* 1998), y en las zonas de Paraguari y Carapegua, Paraguay (Payne y Osorio 1990).

Para estimar la probabilidad diaria de infección a babesiosis (tasa de inoculación) se debe conocer la seroprevalencia a *Babesia* a edades tempranas (8-9 meses de edad) (Mahoney y Ross 1972, Alonso *et al.* 1992, Guglielmo 1995, Solorio y Rodríguez, 1997b). Ramos *et al.* (1992) encontraron que en el estado de Yucatán los becerros entre 3 y 9 meses de edad presentan seroprevalencias de 61%, lo cual coincide con lo encontrado en el presente estudio; sin embargo, Ramírez *et al.* (1998) encontraron en el estado de Yucatán seroprevalencias del 100% a partir del sexto mes de edad de los becerros.

De acuerdo con Mahoney y Ross (1972) el R1 (0.0191) y R2 (0.0191) se encuentran en una situación de estabilidad enzoótica y el R3 (0.0038) en una situación de inestabilidad enzoótica. La poca frecuencia de casos clínicos en los 3 ranchos puede deberse a la resistencia innata de las cruas *Bos indicus* (Rogers *et al.* 1978, Parker *et al.* 1985). Sin embargo, la modificación de los factores de manejo en los ranchos, principalmente en el R3, podrían favorecer en la presentación de brotes clínicos de babesiosis (Perez *et al.* 1994a, 1994b). Este hallazgo pone de manifiesto la importancia en el estado de Yucatán, de controlar la movilización de animales de zonas con inestabilidad enzoótica a zonas con estabilidad enzoótica.

## RESUMEN

Se estudió la dinámica de anticuerpos (IgG e IgM) contra *Babesia bigemina* en becerros explotados en condiciones del trópico mexicano. Se monitorearon 41 becerros menores de 15 días de edad de tres ranchos del estado de Yucatán, México (R1, R2 y R3). Los becerros fueron muestreados cada 30 días durante un período de 8 meses, para la obtención de 369 sueros. Los sueros fueron evaluados mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos de la clase IgG e IgM contra *Babesia bigemina*. La seroprevalencia general de IgM en los primeros 8 meses de edad de los becerros fue de 17.1%, no presentándose un comportamiento definido con relación a la edad. La seroprevalencia general de IgG fue de 66.8%, incrementándose con relación a la edad. La seroprevalencia para los animales del R1, R2 y R3 fue de 87.5%, 77.1% y 31.8% respectivamente. El R1 y R2 se ubicaron en una situación de estabilidad enzoótica y R3 en inestabilidad enzoótica. Se concluye que en el estado de Yucatán, México, la modificación de factores de manejo en los ranchos con inestabilidad enzoótica, podría favorecer la presentación de brotes clínicos de babesiosis. Se pone de manifiesto la importancia de controlar la movilización de animales de ranchos con inestabilidad enzoótica a ranchos con estabilidad enzoótica.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a Carlos Vega y Murguía y a Julio Figueroa Millán del CENID-PAVET de Jiutepec, Morelos, por la donación de los antígenos.

## REFERENCIAS

- Alonso, M., S.C. Arellano, V.H. Ceresér, O. Cordoves, A. Guglielmo, R. Kessler, A.J. Mangold, A. Nari, J.H. Pararroyo, M.A. Solari, C.A. Vega, O. Viscaño & E. Camus. 1992. Epidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Latin America and the Caribbean. *Rev. Sci. Tech. Of. Int. Epizoo.* 11: 713-733.
- Berry, S., G. Ibata & S. Edwards. 1981. Antibody formation to *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in calves in Bolivia. *Trop. Anim. Hlth Prod.* 13: 240-241.
- Büttler, J.E. 1974. Immunoglobulins of the mammary secretions, p. 213-255. *In* L. Larsson; V. Smith (ed). *Lactation a Comprehensive Treatise Vol. III.* Academic, Londres.
- Christensson, A. 1987a. A modified IF-test to demonstrate IgM antibodies to *Babesia divergens* of cattle. *Acta Vet. Scand.* 28: 361-371.
- Christensson, A. 1987b. Clinical and serological response after experimental inoculation with *Babesia divergens* of newborn calves with and without maternal antibodies. *Acta. Vet. Scand.* 28: 381-392.
- Fatimah, I., K. Ragavan, R. Sheikh-Omar, V. Chulan & A. Bashir. 1993. Prenatal and postnatal babesiosis in calves. *Kajian Veterinar.* 16: 62-65.
- García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen (para adaptarlos a las condiciones de la República Mexicana). Instituto de Geografía, UNAM, México.
- Goff, W., G. Wagner, T. Craig & R. Long. 1982. The bovine immune response to tick-derived *Babesia bovis* infection: serological studies of isolated immunoglobulins. *Vet. Parasitol.* 11: 109-120.
- González, L. 1987. Inmunidad pasiva y activa contra *Babesia bovis* en terneros de un área enzoótica del noroeste argentino. *Rev. Ibér. Parasitol.* 47: 237-245.
- Guglielmo, A.A. 1995. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. *Vet. Parasitol.* 57: 109-119.
- Hopps, D.C. 1977. An evaluation of calostrual immunity and the acquired immune response to bovine babesiosis using the complement fixation and the indirect fluorescent antibody test. *Diss. Abstr. Inst.* 37: 3806-3807.
- Latif, B., M. Said & S. Ali. 1979. Effect of age on the immune response of cattle experimentally infected with *Babesia bigemina*. *Vet. Parasitol.* J. 5: 307-314.
- Mahoney, D. & D. Ross. 1972. Epizootiological factor in the control of bovine babesiosis. *Aust. Vet. J.* 48: 292-298.
- O'donoghue, P., K. Friedhoff, O. Vizcaino & H. Weyreter. 1985. The detection of IgM and IgG antibodies against *Babesia bigemina* in bovine sera using semi-defined antigens in enzyme immunoassay. *Vet. Parasitol.* 18: 1-12.
- Payne, R. & O. Osorio. 1990. Tick-borne diseases of cattle in Paraguay. I. Seroepidemiological studies on anaplasmosis and babesiosis. *Trop. Anim. Hlth Prod.* 22: 53-60.
- Parker, R.J., R.K. Shepherd, K.F. Trueman, G.W. Jones, A.S. Kent & I.G. Polkinghorne. 1984. Susceptibility of *Bos Indicus* and *Bos taurus* to *A. marginale* and *B. bigemina* infections. *Vet. Parasitol.* 17: 205-213.
- Perez, E., M.V. Herrero, C. Jiménez, D. Hird & G. Buening. 1994a. Effect of management and host factors on seroprevalence of bovine anaplasmosis and babesiosis in Costa Rica. *Prev. Vet. Med.* 20: 33-46.
- Perez, E., M.V. Herrero, C. Jiménez, T.E. Carpenter & G. Buening. 1994b. Epidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Costa Rica. *Prev. Vet. Med.* 20: 23-31.
- Ramírez, C.T., T.W. Jones, D.G.D. Brown, J.L. Domínguez & N. Honhold. 1998. Bovine babesiosis in dual purpose calves of the state of Yucatan, Mexico. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 30:45-52.
- Ramos, A., M. Alvarez, J. Figueroa, J. Solís, R.I. Rodríguez, R. Hernández, G. Buening & C. Vega. 1992. Evaluation of a colorimetric *Babesia bigemina*-DNA probe within an epidemiological survey. *Mem. Ins. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, Brazil.* 87 Suppl. 3: 213-217.
- Rodríguez, VR., A. Ramos, A. Alvarez, O. Hernández & C. Vega. 1992. anaplasmosis y babesiosis bovina en la región centro-sur del estado de Yucatán. II Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria. Veracruz, México. 7 P.
- Rodríguez, VR., J.L. Domínguez & L.A. Cob. 1994. Técnicas diagnósticas de parasitología veterinaria. Ed. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, México. 236 p.
- Rogers, R.J., G.W. Blight & S.G. Knott. 1978. A study of the epidemiology of *A. marginale* infections of cattle in southern Queensland: Clinical disease and the prevalence of complement fixing antibodies. *Aust. Vet. J.* 54: 115-120.

- Solorio, R.J. & R.I. Rodríguez. 1997a. Epidemiología de la babesiosis bovina. I. Componentes epidemiológicos. Rev. Bioméd. 8: 37-47.
- Solorio, R.J. & R.I. Rodríguez. 1997b. Epidemiología de la babesiosis bovina. II. Indicadores epidemiológicos y elementos para el diseño de estrategias de control. Rev. Bioméd. 8: 95-105.
- Spath, A. 1986. Un estudio epidemiológico de babesiosis y anaplasmosis bovina en el Valle de Lerma, provincia de Salta. Rev. Med. Vet. 67: 274-281.
- Taylor, S.M., J. Kenny & T. Mallon. 1983. The effect of multiple passage on strain of *Babesia divergen*. A comparison of the clinical effects on juvenile and adult cattle of passaged and irradiated parasites. J. Comp. Pathol. 93: 391-396.
- Tizar, I. 1989. Inmunología Veterinaria. Interamericana. México, D.F. 42 p.