

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

"DIAGNOSTICO DE BABESIOSIS MEDIANTE EL METODO DE ELISA
EN HATOS DE ALGUNOS PRODUCTORES USUARIOS DE DIGESEPE EN LOS
DEPARTAMENTOS DE ESCUINTLA Y DE QUETZALTENANGO"

TESIS

PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE
LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

DENISE ELIANE CAHEN AVILA

AL CONFERIRSELE EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO

Guatemala, octubre de 1996

10
T(681)
C.4

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO:	DR. JOSE PEREZCANTO F.
SECRETARIO:	DR. HUMBERTO MALDONADO C.
VOCAL PRIMERO:	LIC. ROMULO GRAMAJO
VOCAL SEGUNDO:	DR. OTTO LIMA LUCERO
VOCAL TERCERO:	DR. MARIO MOTTA
VOCAL CUARTO:	BR. HANNIA RUIZ B.
VOCAL QUINTO:	BR. LUIS ESTUARDO SANDOVAL

ASESORES

DR. JORGE A. MIRANDA H.
DRA. GRIZELDA ARIZANDIETA
DR. JAIME ROLANDO MENDEZ

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

EN CUMPLIMIENTO CON LO ESTABLECIDO POR LOS ESTATUTOS
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
PRESENTO A CONSIDERACION DE USTEDES
EL TRABAJO DE TESIS TITULADO

DIAGNOSTICO DE BABESIOSIS MEDIANTE EL METODO DE ELISA
EN HATOS DE ALGUNOS PRODUCTORES USUARIOS DE DIGESEPE
EN LOS DEPARTAMENTOS DE ESCUINTLA Y DE QUETZALTENANGO

QUE ME FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
PREVIO A OPTAR AL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

A MIS PADRES:

PIERRE CAHEN
LORENA AVILA DE CAHEN

A MIS HERMANOS:

DAVID Y DANIEL

A MIS ABUELITOS:

MAMI YVONNE Y PAPI ARMAND
Que en Paz Descansan.
PAPA DOMINGO Y MAMA MECHES

A MI NANITA.

FLORENCIA MENDOZA
Quien desde el cielo siem-
pre ha velado por toda la
familia.

TESIS QUE DEDICO

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

A MIS CATEDRATICOS

A MIS AMIGOS, EN ESPECIAL A: ALVARO CASTEJON
CARLOS GARCIA
DANILO ALVAREZ
NIDIA SANDOVAL

A MI PATRIA: EL SALVADOR

AGRADECIMIENTO

DESEO EXPRESAR MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO A TODAS LAS PERSONAS Y ENTIDADES QUE COLABORARON DESINTERESADAMENTE EN LA REALIZACION DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS, EN ESPECIAL A LA AYUDA BRINDADA POR:

MIS ASESORES: DR. JORGE MIRANDA H.
 DRA. GRISELDA ARIZANDIETA
 DR. JAIME MENDEZ S.

QUIMICA HOECHST DE GUATEMALA QUE DONO AMABLEMENTE EL AGUA DESTILADA DE EXCELENTE CALIDAD, NECESARIA PARA EL DESARROLLO DEL PRESENTE TRABAJO.

AL PERSONAL DE DIGESEPE DE ESCUINTLA Y DE QUETZALTENANGO

A LA AGENCIA INTERNACIONAL DE ENERGIA ATOMICA (IAEA), QUIEN POR MEDIO DE SU DIVISION DE SALUD Y PRODUCCION ANIMAL (VIENA, AUSTRIA), PROPORCIONO TODO LO REFERENTE A MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO NECESARIOS EN EL DESARROLLO DE ESTE TRABAJO.

A ALVARO CASTEJON, POR SU AYUDA Y APOYO INCONDICIONAL EN LA REALIZACION DEL PRESENTE TRABAJO.

A DANILO ALVAREZ Y CARLOS GARCIA POR SU AYUDA Y AMISTAD.

INDICE.

	Página
I.- INTRODUCCION	1
II.- HIPOTESIS	2
III.- OBJETIVOS	3
IV.- REVISION DE LITERATURA	
A.- Sinónimos	4
B.- Definición	4
C.- Etiología	4
D.- Epidemiología	6
E.- Patogenia	10
F.- Período de incubación	11
G.- Sintomatología	11
H.- Lesiones	12
I.- Diagnóstico	13
J.- Tratamiento	16
K.- Prevención	18
L.- Control	19
V.- MATERIALES Y METODOS	
A.- Materiales	20
B.- Area de Estudio	22
C.- Métodos	23
D.- Análisis estadístico	26
VI.- RESULTADOS Y DISCUSION	28
VII.- CONCLUSIONES	30
VIII.- RECOMENDACIONES	31

IX.-	RESUMEN	32
X.-	INDICE DE ANEXOS	33
XI.-	BIBLIOGRAFIA	51

I.- INTRODUCCION

En Guatemala, la explotación del ganado bovino ha ocupado, tradicionalmente, un lugar importante dentro de las actividades agropecuarias del país. Sin embargo, de un tiempo a la fecha, ha entrado a competir principalmente con crianzas tecnificadas de aves y cerdos. Para poder subsistir las explotaciones ganaderas, deben producir al más alto nivel de eficiencia, implicando esto un estricto control de salud de hato, evitando así, entre otras cosas, pérdidas económicas por tratamientos innecesarios o poco acertados.

La Babesiosis es una enfermedad que se considera endémica en nuestro país, así pues, los animales nativos están usualmente protegidos por las reinfecciones naturales que ocurren desde los primeros períodos de vida. No obstante los niveles y frecuencia de inoculación, así como el tipo de ganado y ubicación del mismo, pueden favorecer la aparición de una sintomatología clínica e inclusive ocasionar la muerte.

El método de ELISA, el cual se caracteriza por su alta especificidad y sensibilidad, es el adecuado para un diagnóstico serológico certero de la babesiosis.

Este trabajo pretende establecer la existencia de anticuerpos contra el hemoparásito en bovinos en dos regiones diferentes del país cuyas características climatológicas son diametralmente opuestas.

II.- HIPOTESIS

Existe asociación entre la positividad a Babesiosis bovina diagnosticada mediante el método de ELISA y la región del país de donde proceden los animales muestreados.

III.- OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Contribuir al conocimiento de la Babesiosis en Guatemala.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

* Diagnosticar la presencia de Babesiosis bovina, mediante el método de ELISA, en dos regiones climatológicamente distintas de Guatemala.

* Establecer si existe asociación entre la procedencia de los animales, y la aparición de anticuerpos circulantes contra Babesia sp. diagnosticados mediante el método de ELISA.

IV.- REVISION DE LITERATURA

A.- SINONIMOS.

Piroplasmosis, Fiebre de Texas, Fiebre del agua roja o fiebre bovina transmitida por garrapatas (3,12,32,37).

B.- DEFINICION.

Se define como Babesiosis a la parasitosis transmitida por garrapatas y causada por hematozoarios del género *Babesia*; los cuales se multiplican dentro de los eritrocitos, destruyéndolos y favoreciendo la presentación de un cuadro clínico de curso variable. Por lo general, la enfermedad se caracteriza por la presencia de fiebre, anemia, ictericia, hemoglobinuria, hemoglobinemia y muerte en los casos desprovistos de tratamiento (1,3).

Cabe diferenciar los términos babesiosis y babesiasis. Este último es el que se aplica a la infección inaparente, asintomática o subclínica, característica de aquellos animales recuperados de la fase aguda y que en condiciones naturales se comportan como portadores aparentemente sanos (1,4)

C.- ETIOLOGIA.

Los parásitos del género *Babesia* fueron observados por primera vez por Babes (1888); y Smith y Kilborne (1893) los identifican como el agente causal de lo que se denominaba "Fiebre de Texas" (3,4,36).

Los parásitos correspondientes a este género pertenecen

a la sub-clase Piroplasmia (Levine), orden Piroplasmida (Wenyon) y a la familia Babesiidae (Poche). Son organismos redondos, piriformes o ameboides que parasitan los eritrocitos; y se multiplican por fisión binaria y ezquizogonia en los hematíes. Hasta ahora se han identificado más de 70 especies de babesias que afectan a varios tipos de hospederos, siendo solo 6 los que parasitan específicamente a los bovinos: B. bovis (Starcovici, 1893), conocida también como B. argentina o B. berbera según Goldman y Rosenberg (1974); B. bigemina (Smith and Kilburn, 1893); B. divergens (M' Fadyean y Stockman, 1911); B. major (Sergen et al, 1926); B. ovata y B. beliceri (14,35,36) El cultivo de Babesias en eritrocitos y el desarrollo "in vitro" de los parásitos en órganos y tejidos de garrapatas son sistemas difíciles de realizar; sin embargo se ha logrado la crioconservación del hematozoario utilizando ninfas de ácaro como fuente de babesia (20).

Erp y Cols (1980) proponen un medio a base de suspensión de eritrocitos bovinos incubados a 37 grados centígrados en lo que se conoce como medio 199, con 50% de suero bovino; éste debe de agitarse, observándose la replicación del parásito 24 horas después, sin embargo consideran que las variaciones de pH pueden afectar los resultados (41).

Ronald N y Cruz D, utilizan células embrionarias indiferenciadas de huevecillos de Boophilus microplus para la replicación y cultivo del hematozoario, logrando causar la infección por B. bovis en terneros inoculados con dicho medio (17).

D.- EPIDEMIOLOGIA.

1.- Distribución Geográfica:

La distribución del protozoario es a su vez regida por la ocurrencia de sus garrapatas vectores; estando ampliamente distribuidos en los países tropicales y sub-tropicales. A grandes rasgos, podemos afirmar que B. bigemina reside en Sudamérica, Antillas, Australia y Africa; B. bovis en Centro y Sudamérica, Australia, Asia y Europa del sur; B. bigemina en Europa noroccidental, España, Irlanda y el Reino Unido; y B. major en el Reino Unido y Europa continental. (3,33)

Todorovic R (1976), reporta que según estudios morfológicos e inmunoserológicos B. bigemina y B. bovis son los principales causantes de la enfermedad en Colombia. Corrier y Cols (1978) determinan serológicamente el porcentaje de reactores positivos, en Colombia, a B. bigemina (93%) y a B. bovis (12-14%) (30).

En Heredia, Costa Rica, Monge R (1982), mediante la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes, determinó que 79.06% de reactores a B. bigemina y 80.3% a B. bovis (28). Esta misma prueba fué utilizada en El Salvador por Payne R. y Scott JM. (1982), reportando 70.5% de reactores para B. bigemina y 73.5% para B. bovis (28).

A nivel nacional, la información con la que se cuenta es muy escasa y dispersa. Por un lado, se tiene como fuente de información a la Universidad de San Carlos De Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, la cual presenta una mayor recopilación de datos con respecto a Anaplasmosis;

por otro lado, se cuenta con el sistema de vigilancia epidemiológica a cargo de la Dirección Técnica de Sanidad Animal y de la Dirección General de Servicios Pecuarios (DIGESEPE). Desafortunadamente, los reportes de esta última fuente de información se basan principalmente en un diagnóstico clínico que rara vez es confirmado por el laboratorio (35).

Según estudios realizados por el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA, 1987-1988), se ha observado un incremento de casos clínicos en los meses de junio a noviembre; y la mayoría de dichos casos se concentran en regiones cuyas altitudes son superiores a los 1000 msnm, principalmente en el oriente, occidente y centro del país. Esto nos indica que además de ser áreas marginales para el desarrollo de B. microplus, son regiones con mayor dedicación a la producción de leche y con ganado tipo Bos taurus. Esta situación es particularmente importante con relación a la preinmunidad de los animales, por lo que se considera las zonas restantes como enzoóticas (35).

Según el programa computacional CLIMEX, realizado en Australia, las regiones menos favorables para el desarrollo de B. microplus, y por lo tanto de mayor riesgo son: Chimaltenango, Huehuetenango, Jalapa, Jutiapa, Quetzaltenango y Sololá. Las de mayor estabilidad enzoótica serían las regiones de Escuintla, Chiquimula, Alta Verapaz y Petén (27,35).

2.- Estabilidad e inestabilidad endémica.

La estabilidad endémica usualmente impera en las regiones donde la gran mayoría de los bovinos han sido sometidos a

una inmunización activa precoz durante sus primeros nueve meses de vida, hasta cierto punto interferida por inmunidad pasiva. Así pues, el número de garrapatas infectadas debe de ser correspondientemente alto, y su presencia constante durante todo el año (4,32).

En regiones endémicamente estables, aunque los casos agudos de babesiosis pueden ser ocasionales, la prevalencia de parasitemias latentes es alta, constituyéndose así la fuente más importante de infección para las garrapatas (Joyner y Denelly 1979). Friedhoff y Smith (1981) afirman que existen tasas altas de infección con garrapatas cuando los bovinos se encuentran con una baja hemoparasitemia. Además mencionan que la temperatura afecta el desarrollo de la Babesia en la garrapata, no efectuándose la infección transovárica a temperaturas ambientales menores a 20 grados centígrados (4,32).

Mahoney y Ross indican que la prevalencia de parasitemias en las poblaciones bovinas en regiones endémicas es más alta a la edad de 6 a 24 meses. Después, cuando los animales han sido expuestos a un gran número de variantes del antígeno, el estado inmune correspondiente impide el desarrollo de parasitemias patentes (26,34).

3.- Susceptibilidad.

La severidad y susceptibilidad de la enfermedad se ve influenciada por la presencia de anticuerpos y vectores, edad y propósito del hato, factores ambientales, y raza.

Según Nowak (1990), en Córdoba Colombia, el 16% de la

mortalidad de terneros es causada por hemoparásitos. Stephan G. (1989) indica que los animales predominantemente Bos taurus se encontraron infectados con mayor frecuencia que los Bos indicus (30,36).

Zuerner (1983) afirma que los terneros reaccionan a títulos promedios más altos que los animales de un año de edad o mayores (4,35).

4.- Transmisión.

Las garrapatas son los vectores naturales de la babesiosis y los hemoparásitos causales pasan parte de su ciclo vital en el invertebrado. La babesiosis se transmite por picaduras de garrapatas duras de la familia Ixodidae, siendo Boophilus microplus el principal hospedero intermediario de B. bigemina y B. bovis en nuestro medio (1,3,14,16).

En forma mecánica, puede transmitirse por insectos hematófagos, en especial los dípteros. Los contactos por descuido en prácticas de campo como castraciones, inoculaciones, agujas contaminadas e instrumentos quirúrgicos, pueden constituir una fuente iatrogénica de contagio. Sin embargo esta propagación depende en gran medida del grado de parasitemia que exista en cada especie. Así pues, las posibilidades de transmisión física son escasas para B. bovis y numerosas para B. bigemina (2,3).

Klinger y Benyossef (1972), describen un caso de infección por B. bovis en un feto bovino. La transmisión intrauterina de B. bovis se observa en terneros nacidos normalmente pero que desarrollan hemólisis intravascular y compromiso

neurológico 24 horas post-nacimiento (8).

5.- Importancia Económica.

La babesiosis bovina es de gran importancia; no solo por las pérdidas directas que causa, sino también por la restricción de movimientos que imponen las leyes de cuarentena. Muchos animales mueren, y los que sobreviven experimentan un largo período de convalecencia que se traduce en baja producción de leche y en un descenso de la ganancia de peso(3,4)

Es preciso añadir que además de la carga económica creada por la enfermedad en sí, los costos de inmunización y tratamiento son considerables.

E.- PATOGENIA.

La patogenia de esta enfermedad está determinada por dos mecanismos principalmente: la liberación de sustancias farmacológicamente activas y la destrucción de eritrocitos.

Algunos estudios sugieren que en las infecciones causadas por hematozoarios del género Babesia, hay una movilización y activación masiva de la calicreína, la cual produce un incremento en la permeabilidad vascular y una vasodilatación que ocasiona éstasis circulatoria y shock. El descenso inicial en el hematocrito se atribuye más a este hecho que a la destrucción de eritrocitos. La anemia se asocia a la salida del parásito del glóbulo rojo, produciéndose lisis del mismo. En algunas infecciones se observan alteraciones del sistema nervioso, las cuales se atribuyen a una obstrucción del flujo sanguíneo causada por la concentración de células parasita-

das, ocasionada por una enzima del parásito, que confiere esta adherencia (2-4,20,21,36).

F.- PERIODO DE INCUBACION.

Se considera que en babesiosis bovina el período de incubación en infecciones naturales oscila entre 8 y 25 días o de 2 a 3 semanas, y con bastante frecuencia se presentan infecciones subclínicas principalmente en animales jóvenes (3, 4,28,32,37).

G.- SINTOMATOLOGIA.

La enfermedad puede variar de un curso agudo a un curso crónico, dependiendo de la patogenicidad y variación antigénica de la cepa parasitaria y de la edad del hospedero.

La forma aguda se caracteriza por fiebre alta (41 grados centígrados), anorexia, depresión, debilidad, afagia, deshidratación, cese de los movimientos ruminales, caída de la producción de leche, aumento de las frecuencias cardíaca y respiratoria, palidez de las mucosas; en etapas terminales hay ictericia intensa y hemoglobinuria. Los animales en gestación abortan. Los gravemente afectados mueren a las 24 horas; y en aquellos que sobreviven la etapa febril se mantienen por una semana. En general el curso de la enfermedad es de 4 a 5 días (3-5,8,15,19,37).

Se observa a veces un síndrome subagudo, principalmente en animales jóvenes, que se caracteriza por fiebre inaparente, anemia y decaimiento. En estos casos no hay hemoglobinu-

ria (3,4,36).

En la forma crónica se presenta anemia ligera, y los animales pasan por períodos de inapetencia alternados con días de apetito normal. El desarrollo de portadores en esta forma, es el resultado del contacto parásito-hospedero que alcanza un grado de equilibrio relacionado con el estado de premunición (4,36)

En zonas endémicas, y en animales infectados por B. bigemina, se pueden desarrollar incoordinación, parálisis de los miembros, irritabilidad y coma. Siendo la mortalidad en estos casos muy elevada a pesar del tratamiento (3,25,33).

H.- LESIONES.

1.- Lesiones macroscópicas.

En los casos agudos se puede observar congestión de varios órganos y tejidos. Existe esplenomegalia, el bazo está blando, esponjoso, friable y de consistencia pulposa. Hay hepatomegalia, el hígado es de color pardo; la vesícula biliar se encuentra distendida con bilis granulosa y espesa. Se observa también aumento del volumen de los riñones los cuales tienen una coloración oscura, y la vejiga contiene orina de color vino tinto. Es factible observar hemorragias equimóticas subepicárdicas y subendocárdicas y una gran cantidad de líquido sanguinolento en el saco pericárdico. En los casos menos graves existe ictericia ligera, diversos grados de palidez de los tejidos; la congestión es variable y no se observa hemoglobinuria (3,10,19,31).

2.- Lesiones microscópicas.

La lesión característica que se observa en esta parasitosis en su forma aguda es la presentación de una lesión intravascular grave. Existe disminución en los niveles de volumen corpuscular medio, de recuento de glóbulos rojos y del valor de hemoglobina. El recuento de glóbulos blancos nos demuestra la presencia de una linfocitosis evidente. Hay elevación de las transaminasas séricas, así como también de la Fosfatasa Alcalina y del Nitrógeno Uréico Sanguíneo (3-5,8, 10).

En casos de babesiosis cerebral, es posible establecer cambios en el sistema nervioso central existiendo evidencia de edema intersticial, perivascular y perineuronal (5,8).

I.- DIAGNOSTICO.

Existen diversas formas de diagnosticar la enfermedad, siendo la más común la basada en la sintomatología que presenta el animal, así como la subsecuente necropsia. Sin embargo hoy en día se cuenta con pruebas más específicas tales como: frote sanguíneo periférico y pruebas serológicas.

1.- Frotis de sangre periférica.

En estos casos lo que se busca es la observación del hemoparásito. La sangre se obtiene de la oreja o bien de las primeras gotas yugulares. En algunos casos es recomendable la centrifugación de dicha sangre a efecto de que exista una mayor concentración de eritrocitos parasitados por encima de los sanos (28).

2.- Técnicas seriológicas.

Entre éstas podemos citar: fijación de complemento, inmunofluorescencia, hemoaglutinación, difusión en agar, prueba de la tarjeta y el método de ensayo inmuno enzimático (ELISA, por sus siglas en inglés) (7,9,11,13,20,39).

La ventaja de esta última prueba es que es altamente sensible y específica, basándose en la medición del nivel de anticuerpos en el suero problema (18,23,24,29,38).

a.- Prueba de ELISA indirecta.

En la prueba indirecta de ELISA para anticuerpos, se llenan pozos en placas de poliestireno con solución de antígeno. Los antígenos proteínicos se unen firmemente al poliestireno, pudiendo así extraerse el antígeno no unido, lavando de manera enérgica la placa. El suero que se desea trabajar se coloca dentro de los pozos, de manera que los anticuerpos específicos puedan unirse al antígeno pegado en las paredes de los pozos. Después de la incubación y de un lavado para extraer el anticuerpo no unido, la presencia de la unión antígeno-anticuerpo puede detectarse agregando una antiglobulina unida químicamente a una enzima. Este complejo se une a los anticuerpos y, después de la incubación y el lavado, se detecta y mide con solo agregar el sustrato para la correspondiente enzima. Tanto el sustrato como la enzima se seleccionan de tal manera que en cada pozo se obtenga un producto que posea color. La intensidad del color será proporcional a la cantidad de antiglobulina unida a la enzima que se haya captado, la cual, a su vez, es proporcional a la cantidad de

anticuerpos presentes en el suero que se está ensayando.

A la fecha se conoce que la adherencia de proteína al poliestireno es muy buena; sin embargo, pese a que las moléculas pequeñas poseen un índice de inmovilización mayor en comparación a las grandes, el riesgo de que las fuerzas inmovilizadoras desaparezcan al mismo tiempo, es mayor. Esto se debe a que la fuerza inmovilizadora no es más que la suma de muchas adherencias débiles, y en el caso de las moléculas pequeñas podemos observar que estas adherencias se presentan en menor número debido a que poseen una superficie de contacto menor. De existir, al término de la inmovilización, espacios libres dentro de la placa, esto nos puede conducir a la aparición de resultados falsos, puesto que dichos espacios podrán ser ocupados por proteínas en cualquier paso del ensayo. Para evitar este riesgo, la superficie puede ser bloqueada con moléculas que no intervengan con el ensayo. Usualmente se usa albúmina, y se recomienda el buffer PBS (Buffer Fosfato Salino) con 0.5 % de BSA (Albúmina Sérica Bovina). Luego de la inmovilización y del bloqueo, la superficie está lista para los distintos procedimientos (23,29).

Como ya se mencionó anteriormente, luego de colocar el antígeno, se utiliza una antiglobulina unida químicamente a una enzima para detectar la unión. Cabe mencionar que dichas enzimas no se adhieren a la superficie de la microplaca, por lo que pueden ser utilizadas en dosis considerables. Las tres enzimas más comunmente utilizadas en ELISA son: la HRP (Peroxidasa de rábano de caballo), la Fosfatasa Alcalina y la

B-D-galactosidasa. Para la elección de la enzima a utilizar se debe de considerar: el costo, los resultados obtenidos y la rapidez en cuanto a formación de color. La Peroxidasa digiere mucho más rápidamente el sustrato que las otras dos enzimas, y es la menos costosa (23,29).

b.- Prueba de ELISA competitiva.

En la prueba de ELISA competitiva, se observan prácticamente los mismos pasos y reacciones que en la prueba indirecta. Sin embargo, en este caso, se colocan suero y antiglobulina al mismo tiempo y en cantidades iguales, siendo estas la mitad del volumen del antígeno usado para la cobertura de la placa. En esta prueba, la intensidad de la reacción de color se relaciona inversamente con la cantidad de anticuerpo captado (38).

c.- Prueba de ELISA de captura.

Para detectar antígenos, se utiliza una modificación de la técnica de ELISA indirecta: primero se cubren los pozos de la placa de poliestireno con anticuerpos específicos. Luego se agrega la solución de antígenos, seguida, después del lavado, por la antiglobulina marcada con enzimas, el anticuerpo específico y el sustrato, tal y como se describió en la técnica indirecta. En esta prueba, la intensidad de la reacción de color se relaciona directamente con la cantidad de antígeno captado (38).

J.- **TRATAMIENTO.**

Anteriormente se trataba la babesiosis con tripán azul y

acriflavina, sin embargo, en la actualidad, estos compuestos han sido sustituidos por el sulfato de quinuronio y las diamidinas (3,6,22).

1.- Sulfato de quinuronio.

Este fármaco se emplea por vía subcutánea, en una dosis de 1 ml. de una solución al 5% por cada 50 kg. de peso corporal. Cabe mencionar que este químico no elimina la infección y puede producir reacciones adversas caracterizadas por: vasodilatación con sudoración, salivación, diarrea, poliuria, colapso y muerte. El antídoto recomendado es la adrenalina más gluconato de calcio (3).

Entre los productos comerciales a base de este compuesto podemos citar: Pirevan, Piroparv, Acaprina, Babesan y Piroplasmín (3).

2.- Derivados aromáticos de las Diamidinas.

Fenamidina. La dosis recomendada es de 12 mg/kg de peso corporal en solución acuosa al 40% vía subcutánea. Este fármaco elimina todos los parásitos, y en algunos casos pueden producirse reacciones tóxicas de tipo anafiláctico (3)

Berenil. Su aplicación es intramuscular, utilizándose una dosis de 2 a 3.5 mg/kg de peso corporal. Este fármaco produce un incremento en los valores de hemoglobina y hematocrito (3,25).

3.- Derivados de la Carbanilida.

Diamprón. Su dosis es de 5 a 10 mg/kg de peso corporal, vía intramuscular de una solución al 20-50%, siendo un fármaco de elección para la babesiosis bovina (25).

Imidocarb. Este es el fármaco de elección para el tratamiento de la babesiosis bovina, y se aplica subcutánea o intramuscularmente en una dosis de 2.5 a 5 mg/kg de peso corporal, repitiendo a los 14 días. Este químico ha sido utilizado igualmente como profiláctico de la infección puesto que su acción residual proporciona una protección a corto plazo (4).

K.- PREVENCIÓN.

1.- Premunición.

Para este efecto, se utiliza la sangre de animales portadores para inducir la inmunidad coinfecciosa. Se inocular sangre infectada, y de ser necesario se procede a efectuar el tratamiento con drogas babesidas para prevenir el desarrollo de síntomas severos o la muerte (3,4,28).

2.- Exposición deliberada a larvas de garrapata.

Este método conlleva un cierto factor de riesgo por la dificultad de estimar los niveles de injuria que causan los hemoparásitos. El uso de las larvas de garrapata requiere de un tratamiento con fármacos en forma profiláctica (26).

Mahoney y Cols señalan que puede existir protección del animal hasta por 4 años (26).

3.- Utilización de formas evolutivas de Babesia.

Este método se basa en la utilización de las formas vermiculadas procedentes del tubo digestivo de la garrapata. Tiene el inconveniente de requerir aislamientos dificultosos y la posibilidad de no obtener cantidades deseables del pará-

sito (4,36).

4.- Inmunización estéril.

En este caso se utilizan vacunas a base de Babesia muerta, obteniéndose buenos resultados en las regiones enzoóticas de la enfermedad (36).

La protección conferida se atribuye principalmente al efecto inmunomodulador del Levamisol que se utiliza como coadyuvante de la vacuna. Los bovinos inoculados con este tipo de vacuna llegan a sufrir infecciones de moderada intensidad que les proveen de una protección duradera (36).

L.- CONTROL.

Puesto que la transmisión natural de la Babesia depende de la garrapata, la infección puede prevenirse mediante medidas adecuadas para el control de dicho vector. Esto puede conseguirse con la ayuda periódica de baños anti-parasitarios cuya frecuencia y método dependerán de la incidencia de la enfermedad (26,37).

Otras prácticas de control incluyen: manejo adecuado de programas de tratamiento y quimioterapia, premunición y vacunación (26,35).

V.- MATERIALES Y METODOS.

A.- MATERIALES.

- 1.- RECURSOS HUMANOS:
 - a.- 4 Médicos Veterinarios.
 - b.- Personal técnico de DIGESEPE Escuintla y DIGESEPE de Quetzaltenango.
 - c.- La autora del presente trabajo.

- 2.- DE LABORATORIO:
 - a.- Cristalería: 6 beackers de 100 ml, 6 pipetas serológicas de 10 ml, 6 erlenmeyers de 100 ml, 6 balones de 500 cc, 3 probetas de 100 y 1 000 ml.
 - b.- Equipo eléctrico: 1 refrigeradora, 1 incubadora, 1 agitador de placas, 1 espectrofotómetro para ELISA, 1 computadora con programa BAELISA, 1 impresora, 1 equipo de lavado, 1 horno, 1 congelador de -20 °C, 1 vortex, 1 balanza digital analítica.
 - c.- Para correr la prueba: placas de poliestireno para la realización de la prueba, para predilución y blanqueo, 3 micropipetas unicanal de 5 a 50 , 50 a 200 y 200 a 1000 microlitros, 3 micropi-

50 a 300 microlitros, y 5 canoas plásticas de 20 cc.

d.- Reactivos: solución bloqueadora, solución buffer carbonado, solución buffer fosfato, conjugado, sustrato enzimático, solución de lavado y solución de parado, agua tridestilada, glicerol-agua, tabletas carbonato-bicarbonato, tabletas buffer PBS (buffer fosfato salino), tabletas de agua oxigenada, tabletas de citrato, tabletas de OPD (orto-fenil-diamino), ácido sulfúrico, Tween 20. (Anexo H)

e.- Miscélanes: Jabón en polvo, 1 par de guantes plásticos, 2 bandejas plásticas, viales de vidrio y plásticos de 2 ml., papel absorbente, marcadores, papel cera, masking tape, vacutainers de 10 cc., tubos de ensayo de 10 cc., leche descremada, tiras de pH.

- 3.- DE CAMPO:
- a.- 2 hieleras.
 - b.- 1 automóvil.
 - c.- combustible.

- 4.- DE TIPO BIOLÓGICO:
- a.- 164 Sueros de bovinos provenientes de la región de Quetzaltenango.
 - b.- 410 Sueros de bovinos provenientes de la región de Escuintla.
 - c.- Antígeno específico para Babesia: lisado en agua destilada de eritrocitos infectados con Babesia bovis, libres de oxihemoglobina, y congelados en seco.
 - d.- Sueros controles positivo fuerte, positivo débil, y negativo.

B.- AREA DE ESTUDIO.

Para la presente investigación se seleccionaron dos áreas de trabajo, el departamento de Escuintla y el departamento de Quetzaltenango.

El departamento de Escuintla está al sur de Guatemala; colinda al sur con el océano Pacífico, al oeste con el departamento de Suchitepéquez, al norte con los departamentos de Chimaltenango y Sacatepéquez, y al este con el departamento de Santa Rosa. La elevación varía desde el nivel del mar hasta 3650 metros de altitud en el Volcan de Agua, siendo la altitud más frecuente 150 metros sobre el nivel del mar. El clima de Escuintla está caracterizado por dos estaciones: severamente seca y muy húme-

da; la época seca se extiende desde noviembre a abril, y la época lluviosa de junio a octubre. La humedad relativa en esta zona es del 85%. La temperatura promedio oscila entre 18 y 35 grados centígrados, dependiendo de la época del año. Es el área agropecuaria más importante del país.

El departamento de Quetzaltenango está localizado en la parte sur-oeste de Guatemala. Está rodeado al oeste por el departamento de San Marcos, al sur y al este por los departamentos de Retalhuleu, Suchitepéquez y Totonicapán, y al norte por Huehuetenango. Su altitud va desde los 350 hasta 2800 metros sobre el nivel del mar, siendo la altitud más frecuente 2500 msnm. La altiplanicie central cuenta con un clima húmedo seco y la temperatura oscila desde los -5 a 19 grados centígrados. La población bovina es bastante reducida en esta región del país. (Anexos A y B)

C.- MÉTODOS.

- 1.- MÉTODO DE ESTUDIO: Se utilizó un muestreo por conveniencia, entre los productores de ambas regiones que cumplían con los siguientes criterios de inclusión:
- * Productor pecuario usuario de DIGESEPE.
 - * Anuencia del productor a participar en el estudio.

* En la región de Escuintla, se incluyeron aquellos hatos que se encuentran ubicados a menos de 150 metros sobre el nivel del mar. (Anexo B)

* En la región de Quetzaltenango, se incluyeron aquellos hatos que se encuentran ubicados a más de 2500 metros sobre el nivel del mar. (Anexo B)

2.- METODO DE CAMPO: Para la obtención de las muestras se procedió a extraer 5cc de sangre de la vena yugular mediante vacutainers. La sangre se colocó en tubos de ensayo estériles y al vacío. Dichos tubos se colocaron inclinados a 45 grados dejando que se forme el coágulo y así separar el suero, el cual se trasvasó a viales estériles plenamente identificados, y se almacenó a - 20 °C. Los datos pertinentes se recabaron en una ficha elaborada para el efecto. (Anexo C)

3.- METODO DE LABORATORIO: Para la realización del presente trabajo se utilizó la prueba de ELISA indirecta, para detectar la presencia de anticuerpos contra el hemoparásito causal de la babesiosis bovina.

(Anexos D, E, F, G, H, I y J).

a.- Pegado de las placas.

En una placa de poliestireno para microtitulación se colocaron 100 microlitros de antígeno inactivado (diluir 110 microlitros de antígeno en 11 ml.

de buffer carbonado para pegar el antígeno, dilución 1 : 200, en una placa), en cada pozo y se procedió a incubar a 4 °C toda la noche.

b.- Bloqueo.

Luego de descartar abruptamente en el lavamanos el contenido de la placa, se agregaron 150 microlitros de solución bloqueadora y se incubó una hora a 37 grados centígrados, con homogenización continua.

c.- Preparación de los sueros diluidos.

Luego de llevar a temperatura ambiente los sueros problema, se procedió a agregar 10 microlitros del suero y 190 microlitros de buffer de dilución en los pozos de una placa para pre-dilución. El mismo procedimiento se utilizó para los controles.

d.- Lavado.

Transcurrida la hora, se procedió a lavar la placa de poliestireno que contiene la solución bloqueadora. Este procedimiento se efectuó 3 veces con una solución de buffer fosfato a un pH de 7.4.

e.- Adición de los sueros control y problema.

Se adicionaron 10 microlitros de los controles y de los sueros problema previamente diluidos en 1:200 y 90 microlitros de buffer de dilución; se incubó una hora a 37 °C.

f.- Lavado.

Se utilizó el mismo procedimiento que en el inciso d.

g.- Adición del conjugado.

Justo antes de terminar el tiempo de incubación, se preparó una dilución del conjugado, siendo esta de 1:22 000.

Posteriormente se adicionaron 100 microlitros del conjugado (ya diluido) en cada uno de los pozos y se incubó una hora a 37 °C.

h.- Lavado.

Transcurrida la hora se utilizó el mismo procedimiento ya descrito en el inciso d.

i.- Adición del sustrato enzimático o cromógeno.

Se adicionaron 100 microlitros de cromógeno en cada pozo, y se incubó a 37 °C por 10 minutos.

j.- Adición de la solución de parado y lectura.

Transcurridos los 10 minutos se agregaron 100 microlitros de solución de parado a cada pozo y se leyó la placa en un espectrofotómetro para ELISA a 492 nanómetros. Los resultados se anotaron en una hoja de trabajo especial. (Anexos I y J).

D.- ANALISIS ESTADISTICO: En este estudio, las variables a considerar son: número de animales positivos y número de animales negativos. Para evaluar la existencia de una asociación entre la región que se muestrea y la positividad a la prueba, se utilizó

la prueba del Chi cuadrado, cuya fórmula es:

$$\chi^2 = \sum \frac{(x_o - x_e)^2}{x_e}$$

En donde: x_o = valor observado.

x_e = valor esperado.

Y : GL (grado de libertad) = 1

α (significancia) = 0.05

VII.- RESULTADOS Y DISCUSION.

En la presente investigación sobre la babesiosis bovina o piroplasmosis, se muestrearon dos áreas climatológicamente diferentes como lo son Escuintla, cuya temperatura oscila entre los 18 y 35 grados centígrados y con una altitud promedio de 150 msnm, y Quetzaltenango, cuya temperatura oscila entre los -5 a 19 grados centígrados y con una altitud promedio de 2 000 msnm. Dichas muestras fueron proporcionadas por DIGESEPE de ambas regiones, obteniendose un total de 410 sueros para Escuintla y 164 sueros para Quetzaltenango. En ambos casos se utilizó la prueba de ELISA para detectar anticuerpos circulantes contra la enfermedad en los bovinos.

De los 410 sueros provenientes de DIGESEPE Escuintla, 300 reaccionaron positivamente, lo cual refleja una prevalencia del 73.17 % de los sueros analizados (Anexos K y M). Estos resultados se encuentran relacionados con la distribución del vector de la Babesiosis. Se sabe que el área de dominancia del Boophilus microplus comprende la Costa Sur, las tierras bajas de Occidente, Centro y el Oriente del país. Es decir, regiones cuyas altitudes oscilan entre los 0 msnm. y 1 500 msnm.

De los 164 sueros provenientes de DIGESEPE Quetzaltenango, 37 reaccionaron positivamente, lo que da una prevalencia

del 22.56 %, la cual es relativamente baja comparada con la prevalencia reportada en Escuintla (Anexos K y M). Cabe mencionar que son consideradas áreas libres de Boophilus microplus aquellas ubicadas a altitudes superiores a los 1 800 msnm., siendo este el caso de algunas regiones de los departamentos de Huehuetenango, Quiché, Quetzaltenango, Totonicapán, San Marcos, Sololá y Sacatepéquez. El hecho de que algunos de los sueros provenientes de regiones ubicadas por arriba de los 2 500 msnm. presenten anticuerpos circulantes contra la babesiosis bovina, puede conducirnos a afirmar que de alguna manera existió contacto con el vector. Esto encuentra su justificación en base al intercambio ganadero que se efectúa entre las diferentes regiones del territorio nacional, y al traslado de animales de zonas endémicas de la enfermedad a lugares donde el vector no se encuentra.

Al realizar el análisis estadístico correspondiente, se estableció que existe asociación entre la positividad a babesiosis bovina y la región del país de donde provienen los animales muestreados (Anexo L); lo cual se explica por el hecho de que el protozoo causal no puede diseminarse sin la presencia de la garrapata, vector imprescindible para completar su ciclo biológico.

VIII.- CONCLUSIONES.

- 1.- De acuerdo a los resultados obtenidos, la prevalencia a babesiosis bovina en los sueros provenientes de DIGESEPE Escuintla fué del 73.17 %. (Anexos K y M).
- 2.- La prevalencia a babesiosis bovina en los sueros provenientes de DIGESEPE Quetzaltenango fué del 22.56 %. (Anexos K y M).
- 3.- Se estableció la existencia de una asociación entre el área muestreada y la aparición de anticuerpos circulantes contra Babesia sp. (Anexo L).

IX.- RECOMENDACIONES.

- 1.- Continuar con los estudios sobre babesiosis bovina en el país, para establecer el comportamiento epidemiológico de la enfermedad.
- 2.- Dada su alta especificidad y confiabilidad, se recomienda el uso de la prueba de ELISA para el diagnóstico de babesiosis bovina en el país.
- 3.- Se recomienda la realización rutinaria de esta prueba en todas las explotaciones ganaderas del país para contribuir con programas de vigilancia epidemiológica que permitan establecer un control eficaz de la enfermedad.

X.- RESUMEN.

La presente investigación se efectuó en dos regiones diferentes del país, utilizando sueros bovinos procedentes de DIGESEPE Escuintla y DIGESEPE Quetzaltenango. Se incluyeron únicamente muestras representativas, siendo éstas obtenidas a menos de 150 msnm en el caso de Escuintla, y a más de 2500 msnm en el caso de Quetzaltenango.

Se utilizó la prueba de ELISA indirecta para la determinación de anticuerpos circulantes contra la babesiosis bovina. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: en el caso de los sueros provenientes de DIGESEPE Escuintla, 73.17 % reaccionaron positivamente a la prueba; mientras que en el caso de los sueros provenientes de DIGESEPE Quetzaltenango, se obtuvo un 22.56 % de positividad.

Para establecer la relación entre el área de donde provienen las muestras y la existencia de babesiosis, se procedió a realizar la prueba del χ^2 , concluyéndose de que sí existe diferencia significativa entre la presencia de anticuerpos circulantes contra *Babesia* sp. y la región del país de donde provienen los animales muestreados.

X.- INDICE DE ANEXOS.

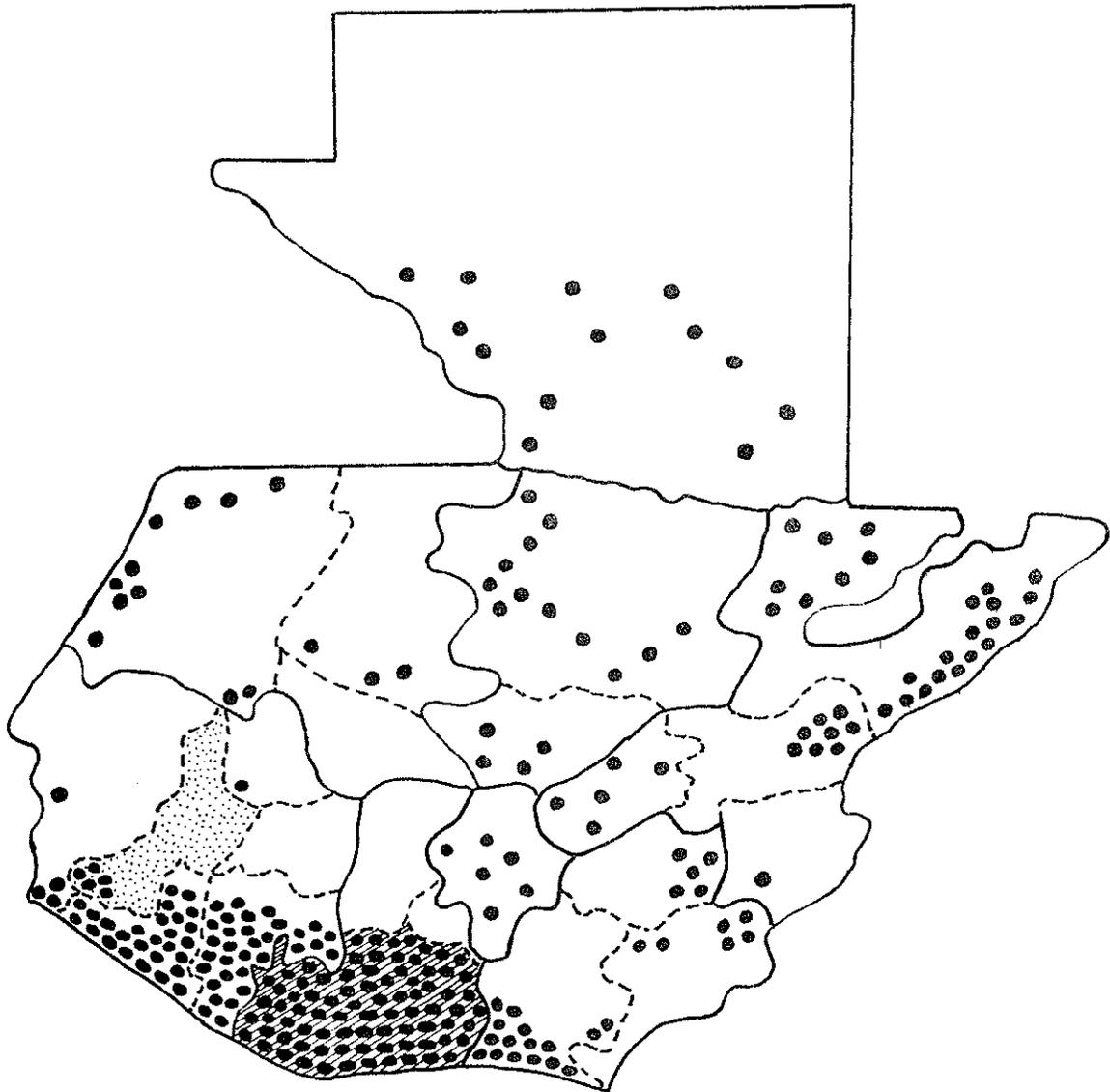
	Página
A.- Distribución geográfica del vector de la babesiosis bovina: <u>Boophilus microplus</u>	36
B.- Indices ecoclimáticos de algunas regiones de Guatemala	37
C.- Ficha para envío de muestras	38
D.- Bases inmunológicas de la prueba de ELISA	39
E.- Representación esquemática de los pasos a seguir en la prueba de ELISA indirecta	40
F.- Prueba de ELISA para la detección de anticuerpos anti-babesia	41
G.- Prueba de ELISA para la detección de anticuerpos anti-babesia, procedimiento e interpretación	42
H.- Composición y preparación de reactivos	43
I.- Hoja de trabajo ELISA indirecta	45
J.- Ejemplo de una hoja de resultados para la prueba de ELISA indirecta	46

K.- Resultados obtenidos al realizar la prueba de ELISA indirecta en sueros de bovino provenientes de Escuintla y Quetzaltenango	47
L.- Prueba del chi cuadrado para la determinación de independencia de variables	48
M.- Prevalencia de babesiosis bovina mediante el método de ELISA, gráficas	49

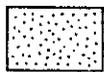
X I .- A N E X O S

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

A.- DISTRIBUCION GEOGRAFICA DEL VECTOR DE LA BABESIOSIS
BOVINA: BOOPHILUS MICROPLUS.

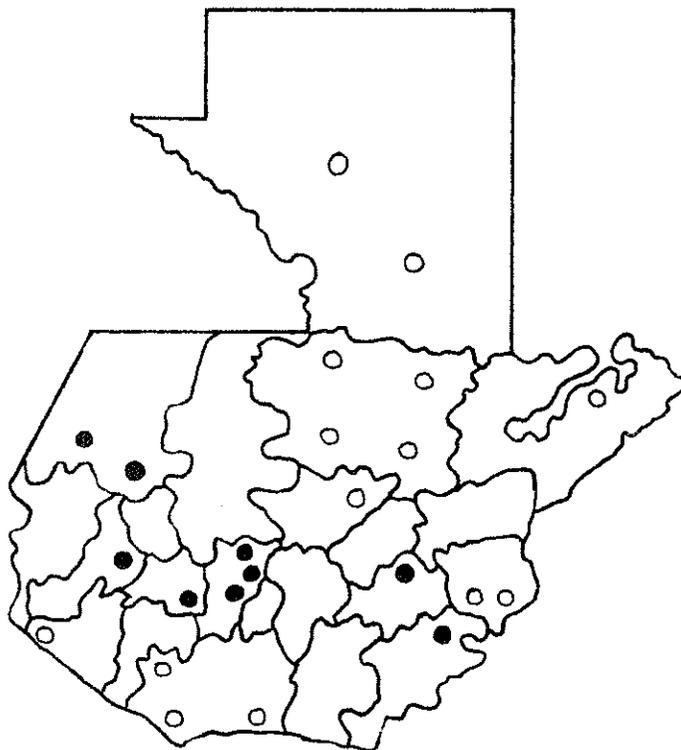


ESCUINTLA



QUETZALTENANGO

B.- INDICES ECOCLIMATICOS DE ALGUNAS REGIONES DE GUATEMALA.



- IE < 20 (La garrapata no se encuentra en un ambiente apropiado para expresar su máximo desarrollo)
- IE > 20 (La garrapata se encuentra en un ambiente óptimo para su desarrollo)

C.- FICHA PARA EL ENVIO DE MUESTRAS.

L A B O R A T O R I O C L I N I C O
V E T E R I N A R I O

Fecha:

Nombre:

Nº de Registro:

Especie:

Raza:

Sexo:

Edad:

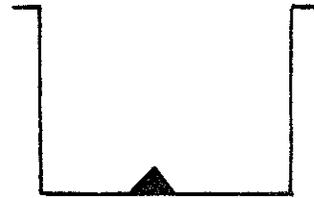
Procedencia:

Historia de desparasitación:

Historia de vacunación:

Observaciones:

D.- BASES INMUNOLOGICAS DE LA PRUEBA DE ELISA.



Antígeno absorbido al pozo

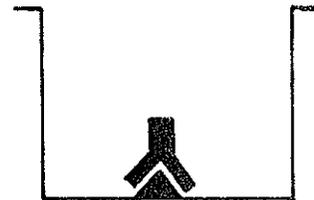
Antígeno ▲

Anticuerpo 

Antiglobulina 

Sustrato de la enzima ○

Producto de la enzima ●



Unión antígeno-anticuerpo

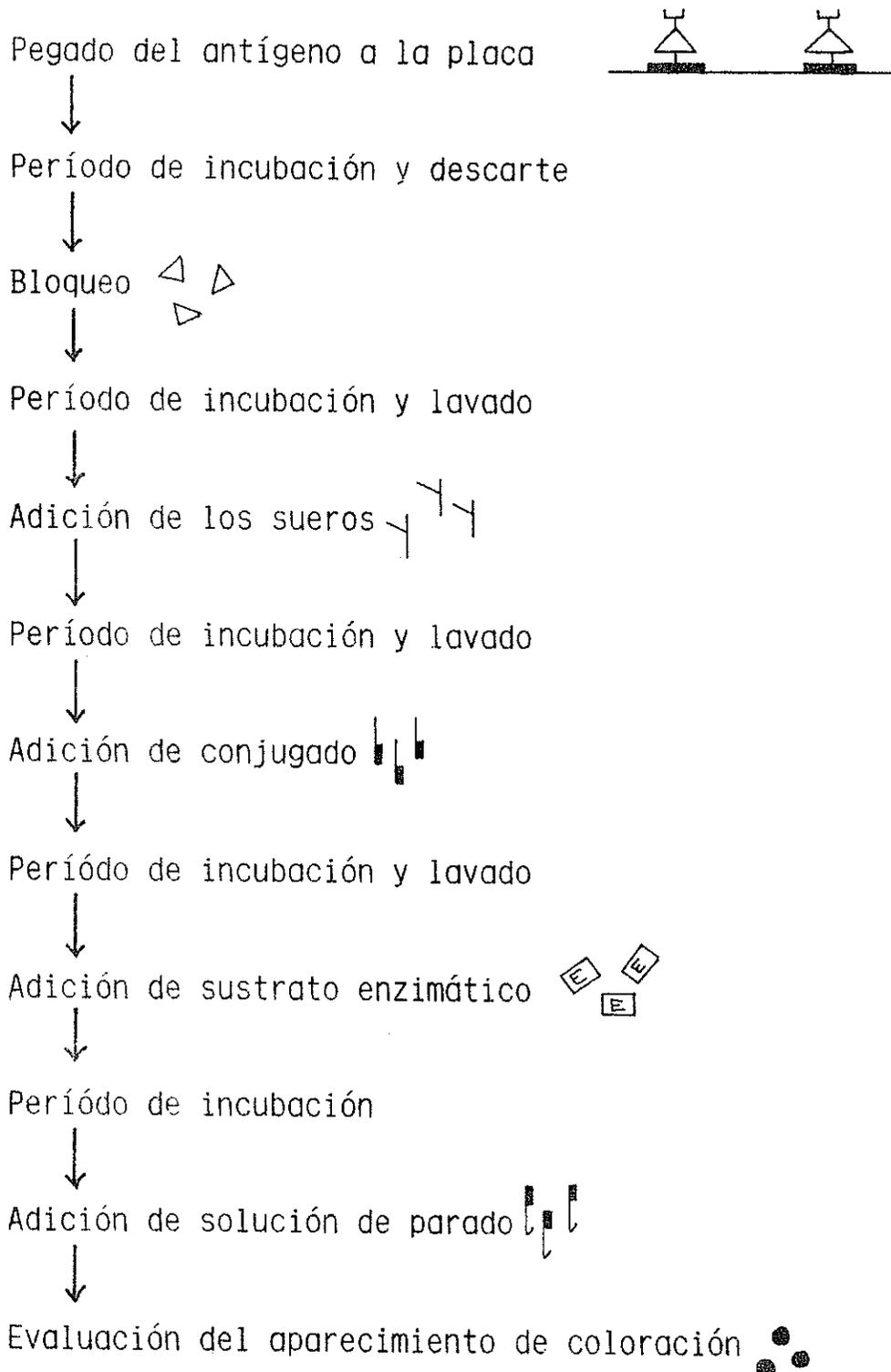


Unión antiglobulina-anticuerpo



Adición de sustrato y formación de producto

E.- REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LOS PASOS A SEGUIR EN LA PRUEBA DE ELISA INDIRECTA.

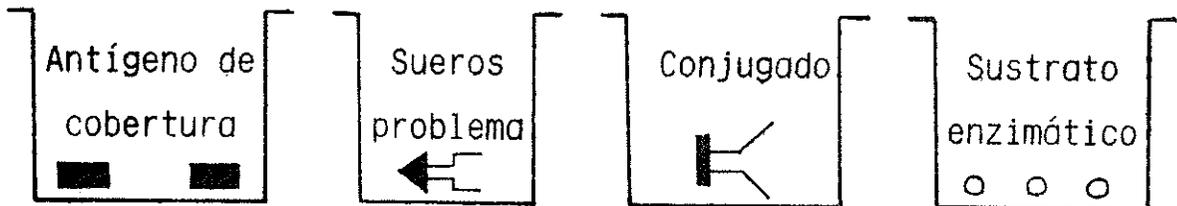


F.- PRUEBA DE ELISA PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS
ANTI-BABESIA.

PROCEDIMIENTO	CONDICIONES DEL ENSAYO			
	Tiempo y Temperatura de incubación		Agitar	Lavado
1) Antígeno de cobertura	Toda la noche	4 °C	No	No
2) Bloqueo	1 hora	37 °C	Si	Si
3) Sueros	1 hora	37 °C	Si	Si
4) Conjugado	1 hora	37 °C	Si	Si
5) Cromógeno	10 min.	37 °C	Si	No
6) Parado	No	Temp. amb.	Si	No
7) Lectura	Blanquear primero			

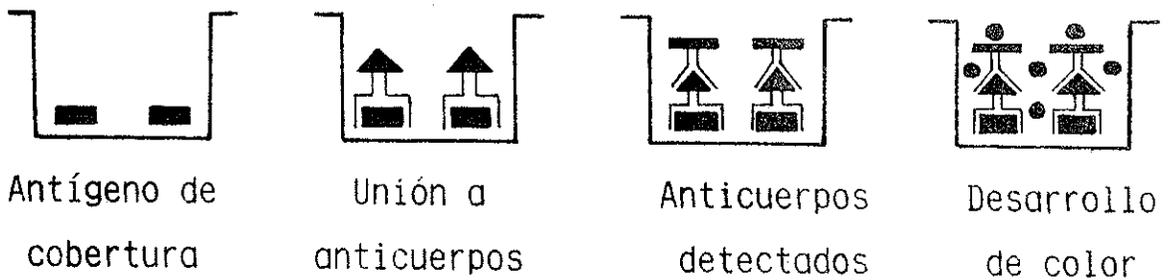
G.- PRUEBA DE ELISA PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS ANTI-BABESIA, PROCEDIMIENTO E INTERPRETACION.

PROCEDIMIENTO

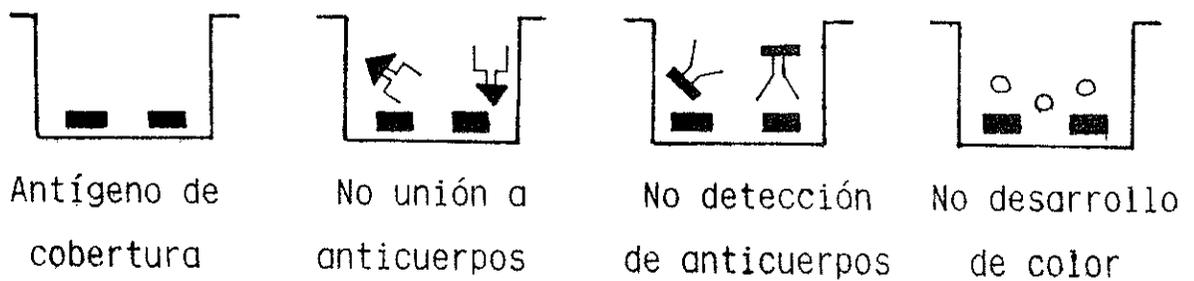


INTERPRETACION DE LA PRUEBA

PRUEBA POSITIVA



PRUEBA NEGATIVA



H.- COMPOSICION Y PREPARACION DE REACTIVOS.

1.- BUFFER CARBONADO.

Para su preparación se disuelve una tableta de carbonato bicarbonato en 100 ml. de agua destilada.

2.- SOLUCION BLOQUEADORA.

Para la preparación de la solución bloqueadora se utilizan 100 ml de buffer carbonado, al cual se le agregan 5 gramos de leche descremada.

3.- BUFFER DE DILUCION.

El buffer de dilución se obtiene disolviendo 2 tabletas de buffer fosfato en 1 litro de agua destilada más 500 microlitros de Tween 20.

4.- SOLUCION DE LAVADO.

Para la preparación de la solución de lavado se disuelven 2 tabletas de buffer fosfato en 5 litros de agua trides-tilada y se agregan 2.5 ml. de Tween 20,

5.- CONJUGADO ENZIMATICO.

El conjugado está constituido por 20 ml. de buffer de dilución y 10 microlitros de conjugado.

5.- CROMOGENO.

El sustrato cromógeno se obtiene diluyendo 1 tableta de

citrate en 100 ml. de agua destilada, de esta solución se toman 75 ml. a los cuales se les adiciona 1 tableta de OPD. De esta última dilución se toman 12 ml. y se les adiciona 48 microlitros de agua oxigenada.

6.- SOLUCION DE PARADO.

La solución de parado no es más que 105 ml. de ácido sulfúrico y 895 ml. de agua

I.- HOJA DE TRABAJO ELISA INDIRECTA.

Fecha: _____

Nombre: _____

Enfermedad: _____

Placa: _____

Lote: _____

Antígeno: _____

Temp: _____ Tiempo: _____

Bloqueo: _____

Temp: _____ Tiempo: _____

Suero: _____

Temp: _____ Tiempo: _____

Conjugado: _____

Temp: _____ Tiempo: _____

Substrato: _____

Temp: _____ Tiempo: _____

CONTROLES SUEROS DE LAS MUESTRAS (En duplicado)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

A	CC	CC											
B	CC	CC											
C	C++	C++											
D	C++	C++											
E	C+	C+											
F	C+	C+											
G	C-	C-											
H	C-	C-											

OBSERVACIONES : _____

**J.- EJEMPLO DE UNA HOJA DE RESULTADOS PARA LA PRUEBA
DE ELISA INDIRECTA.**

BABIA 1.01 BABESIOSIS Plate Status: ACCEPT
 Filename: 95112301 Test Date: 11-23-1995
 Plate#: 1 Test Time: 10:20:46
 Threshold: PP = 20 % Technician: GA
 OD = 0.273 Kit Batch#: 94-02-011880

CONTROLS: [outside control limits: OD(*), PP(*)]

ID	STATUS	LCL--UCL	PP1	PP2	PP3	PP4	%Vod	OD	PP	--- MEAN ---
C+		84 115	101	102	98	98	1.9	1.390	100	
C+		40 67	47	48	47	47	1.2	0.655	47	
C-		-2 7	5	4	6	4	13.5	0.066	5	
C-		-2 3	0	0	0	0	30.8	0.002	0	

TEST SAMPLES:

ID	WELLS	DESCRIPTION	STATUS	OD-1	OD-2	%Vod	OD	PP	--- MEAN ---
1	B3/B3	71 <i>Dea Jod¹²⁵</i>	POS	1.046	1.070	1.6	1.059	76	
2	B3/D3	72	N	0.248	0.244	0.6	0.246	19	
3	F3/F3	73	POS	0.666	0.659	0.7	0.663	48	
4	B3/H3	74	POS	0.365	0.336	5.4	0.352	25	
5	A4/B4	75	POS	0.325	0.318	1.5	0.322	23	
6	C4/D4	76	POS	0.669	0.635	3.7	0.653	47	
7	F4/F4	77	POS	1.157	1.122	2.2	1.140	62	
8	G4/H4	78	POS	0.360	0.361	0.2	0.361	26	
9	A5/B5	79	POS	0.337	0.308	6.3	0.323	23	
10	C5/D5	710	POS	0.336	0.331	1.1	0.334	24	
11	A5/F5	81	N	0.210	0.198	4.9	0.204	15	
12	G5/H5	82	POS	0.519	0.507	1.7	0.514	37	
13	A6/B6	83	POS	0.741	0.710	3.0	0.726	52	
14	C6/D6	84	POS	0.583	0.569	1.7	0.577	41	
15	F6/F6	85	POS	0.988	0.980	0.6	0.985	71	
16	G6/H6	86	POS	0.839	0.858	1.6	0.849	61	
17	A7/B7	87	POS	0.435	0.425	1.6	0.431	31	
18	C7/D7	91	POS	1.068	1.083	1.0	1.076	77	
19	E7/F7	92	N	0.188	0.170	7.1	0.180	13	
20	G7/H7	93	POS	0.758	0.665	9.2	0.712	51	
21	A8/B8	94	POS	0.300	0.298	0.5	0.300	22	
22	C8/D8	95	N	0.267	0.261	1.6	0.265	19	
23	E8/F8	96	POS	0.422	0.437	2.5	0.430	31	
24	G8/H8	97	POS	0.766	0.702	6.2	0.735	53	
25	A9/B9	98	POS	0.337	0.325	2.6	0.332	24	
26	C9/D9	99	N	0.223	0.226	0.9	0.225	16	
27	E9/F9	910	POS	0.293	0.290	1.7	0.287	21	
28	G9/H9	101	N	0.183	0.159	5.6	0.177	13	
29	A10/B10	102	POS	0.432	0.409	3.9	0.421	30	
30	C10/D10	103	POS	0.724	0.741	1.6	0.733	53	
31	E10/F10	104	POS	0.744	0.715	2.8	0.730	53	
32	G10/H10	105	POS	0.970	0.948	1.6	0.960	69	
33	A11/B11	106	POS	0.896	0.905	0.7	0.901	65	
34	C11/D11	107	POS	0.466	0.456	1.5	0.462	33	
35	E11/F11	111	POS	1.117	1.104	0.9	1.111	80	
36	G11/H11	112	N	0.261	0.234	7.7	0.248	18	
37	A12/B12	113	POS	0.741	0.713	2.7	0.728	52	
38	C12/D12	114	POS	0.493	0.401	0.3	0.403	29	
39	E12/F12	115	POS	0.415	0.425	1.7	0.421	30	
40	G12/H12	116	POS	0.690	0.544	15.7	0.614	44	

K.- RESULTADOS OBTENIDOS AL REALIZAR LA PRUEBA DE ELISA
INDIRECTA EN SUEROS DE BOVINO, PROVENIENTES
DE ESCUINTLA Y QUETZALTENANGO.

	Positivos	Negativos	TOTAL
ESCUINTLA			
Valor observado	300	110	410
Prevalencia (%)	73.17	26.83	100
QUETZALTENANGO			
Valor observado	37	127	164
Prevalencia (%)	22.56	77.44	100
TOTAL	337	237	574

L.- PRUEBA DEL CHI CUADRADO PARA LA DETERMINACION DE
INDEPENDENCIA DE VARIABLES.

		P	N	T
ESCUINTLA	valor observado	300	110	410
	valor esperado	214.29	78.57	
	chi cuadrado	34.28	12.57	
QUETZAL- TENANGO	valor observado	37	127	164
	valor esperado	10.57	36.29	
	chi cuadrado	66.09	226.74	
TOTAL		337	237	574

Ho: No existe asociación entre la positividad a babesiosis y la región de donde provienen las muestras.

Ha: Existe asociación entre la positividad a babesiosis y la región de donde provienen las muestras.

Sumatoria de los chi cuadrados 339.68

Significancia 0.05

Grados de Libertad 1

Casos incluidos 2 Casos perdidos 0

Chi cuadrado de la tabla 3.84

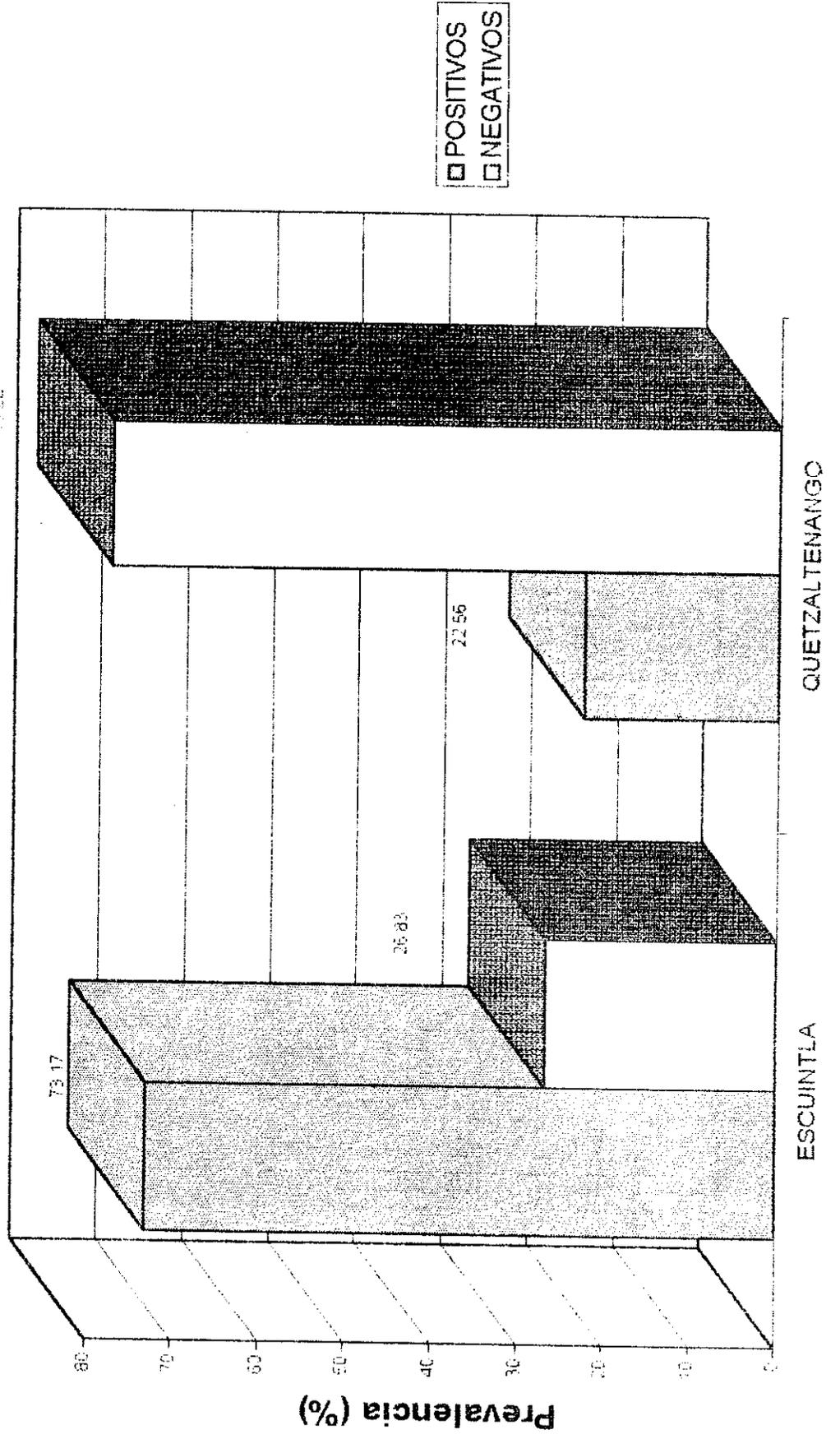
Decisión: Se rechaza Ho.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

M.- PREVALENCIA DE BABESIOSIS BOVINA MEDIANTE
EL METODO DE ELISA, GRAFICAS.

Grafico No.1

Prevalencia de Babesiosis Bovina diagnosticada mediante el Método de ELISA en los departamentos de Escuintla y Quetzaltenango



VII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- ACHA, P.N.; SEYFRIS, B. 1977. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Estados Unidos, Organización Panamericana de la Salud. 371 p.
- 2.- BABES, V. 1968. Sur l'hémoglobinurie bactérienne des boeufs. Compte rendu de l'Académie des Ciencias. France. 107: 692-698.
- 3.- BLOOD, D.C. et al. 1988. Medicina Veterinaria. Trad. por Fernando Colchero. 6 ed. México D.F. Interamericana. 1441 p.
- 4.- CAJAS, J.V. 1988. Anaplasmosis y babesiosis. Guatemala, IICA. p. 59-124.
- 5.- CALLOW, L.; Mc.GAVIN, M. 1963. Cerebral babesiosis due to Babesia argentina. Austral Veterinary Journal. (Australia). 30:15-21.
- 6.- CORRIER, D.E. et al. 1980. Comparison of three methods of immunisation against bovine anaplasmosis: an examination of post-vaccinal effects. American Journal of Veterinary Research. (USA). 41(7):1062-1066.
- 7.- COX, F.R.; DIMOPOULLUS, G. 1972. Demonstration of an autoantibody associated with anaplasmosis. American Journal of Veterinary Research. (USA). 33(1):73-76.
- 8.- DE VOSS, J. et al. 1976. Cerebral babesiosis in a new born calf. American Journal of Veterinary Research. (USA). 43:75-78.
- 9.- DOHERR, M.G. 1991. Técnica del ensayo inmunoenzimático (ELISA) para demostrar infecciones por B. bovis en un antígeno de cultivo de B. bovis. Estados Unidos, s.n. p. 195-220
- 10.- DOS SANTOS, J.A. 1982. Patología especial de los animales domesticos. Trad. por Gladis da Fontoura. 2 ed. México D.F, Interamericana. 743 p.

- 11.- DUZGUN, A. et al. 1988. A sensitive ELISA technique for the diagnosis of Anaplasma marginale infections. Veterinary Parasitology. (USA). 29:1-6.
- 12.- GIBBSONS, L. 1967. Diagnóstico químico de las enfermedades del ganado. México D.F., Interamericana. 195 p.
- 13.- GODGER, B. et al. 1985. Bovine babesiosis: the effect of acute inflammation and isoantibody production in the detection of babesial antigens. Experientia. (USA). 41:1577-1579.
- 14.- HAGAN, W.A.; BRUNNER, B.W. 1961. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Trad. por J. Santibáñez. 5 ed. México D.F., Interamericana. p. 644-649.
- 15.- HEALY, G.R. et al. 1976. A case of asymptomatic babesiosis in Georgia. American Journal of Tropical Medicine. (USA). 25:376-378.
- 16.- HOWARTH, J.A.; HOKAMA, Y. 1973. Ticks transmission of babesiosis under laboratory conditions. 6th National Anaplasmosis and Babesiosis Conference, Proceedings. p. 117-120.
- 17.- JOHNSTON, L.; TAMMEMAGI, L. 1970. Bovine babesiosis: duration of latent infection and immunity to Babesia argentina. Austral Veterinary Journal. (Australia). 45:445-449.
- 18.- KEMENY, D.M. 1991. A practical guide to ELISA. London, Pergamon Press. p. 115.
- 19.- KNOWLES, R.; MONTROSE, M. 1982. Clinical and serological evidence of bovine babesiosis and anaplasmosis in Sta. Lucía. Veterinary Parasitology. (USA). 10:307-311.
- 20.- KREIER, J.; RISTIC, M. 1968. Immunoserologic characteristics of the parasites present in the blood of calves. American Journal of Veterinary Research. (USA). 24:697-702.
- 21.- KUTTLER, K.; ZAUGG, J. 1988. The pathogenicity and immunologic relationship of a virulent and a tissue-culture-adapted Babesia bovis. Veterinary Parasitology. (USA). 27:239-244.

- 22.- LINCOLN, S. et al. 1982. Bovine anaplasmosis: clinical, hematologic and serologic manifestations in cows given a long acting oxytetracycline formulation in the prepatent period. American Journal of Veterinary Research. (USA). 43:1360-1362.
- 23.- LOUBORG, U. 1984. Guide to solid phase immunoassays. Denmark, Ed. A/S Nunc. p. 35.
- 24.- -----, 1991. Blocking agent and detergent in ELISA. Denmark, Ed. A/S Nunc. Nunc Bulletin p. 20. (no.9).
- 25.- MAHONEY, D. 1972. Babesiosis of cattle. Research Review. (USA). No.12:1521-1526.
- 26.- -----.; ROSS, D. 1972. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. Austral Veterinary Journal. (Australia). 48:292-298.
- 27.- MAYWALD, G.F.; SUTHERST, R.W. 1985. Users guide to CLIMEX. A computer program for comparing climates in ecology. CSIRD Division of Entomology. p. 40. (no.35).
- 28.- MONGE, C.A. 1982. Determinación de la prevalencia de anaplasmosis y piroplasmosis bovina utilizando el método de inmunofluorescencia indirecta, en el cantón de Sarapiquí, Heredia, Costa Rica. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 65.
- 29.- NIELSEN, K. 1991. Enzyme immunoassay development. Canada, Animal Diseases Research Institute. 84 p.
- 30.- NOWAC, F. 1990. Investigaciones epidemiológicas en fincas ganaderas en el valle del Sinu medio, Cordova, Colombia. Epidemiologische Untersuchungen in rinderbeständen unitleren sinutal. Hannover. Alemania, s.n. p. 84-115.
- 31.- OTLE, E. 1992. Anaplasma y babesiosis bovina en Colombia. Proyecto para la introducción de un sistema de asistencia técnica integral pecuaria ICA/ GTZ llamado intensificación del control de las enfermedades animales en Colombia. Colombia, s.n. p. 7-23.

- 32.- PATARROYO, J.; VARGAS, M. 1982. Description of lesions in cattle in a natural outbreak of babesia bovine infection in Brazil. Veterinary Parasitology. (USA). 11:301-308.
- 33.- RISTIC, M.; SMITH, R.D. 1974. Zoonoses caused by hemoprotozoa. Parasitic Zoonosis. New York, Academic Press. p. 120.
- 34.- ROSS, J.; LOHR, K. 1968. Serologic diagnosis of Babesia bigemina infection in cattle by the indirect antibody test. Research veterinary Science. (USA). 9:557-562.
- 35.- SOLIS, S. 1988. Babesiosis y anaplasmosis bovina: estudio ecológico y epidemiológico de garrapatas en Guatemala. Guatemala, IICA. p. 44-48.
- 36.- SOULSBY, E.J. 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Trad. por Antonio Martínez y Francisco Vazquez. 7 ed. México D.F., Interamericana. p. 823.
- 37.- THE MERCK veterinary manual. 1991. Merck and Co. Inc. 7 ed. New Jersey, USA, Rahway. p. 68-71.
- 38.- TIZARD, I. 1989. Inmunología veterinaria. Trad. por Carlos E. Casacuberta. 3 ed. Mexico D.F., Interamericana. p. 414.
- 39.- TODOROVIC, R.A.; KUTTLER, K.L. 1974. A babesiasis card agglutination test. American Journal of Veterinary Research. (USA). 35(10):1347-1350.
- 40.- -----.; et al. 1975. Babesia bigemina, Babesia argentina and Anaplasma marginale: coinfectious immunity in bovines. Exp. Parasitology. (USA). 37:179-192.
- 41.- TROPBEUGER, G. 1987. Seroepidemiología de las infecciones por babesia y anaplasma bovina en Colombia. Verlauf suntersuchungen an juntievem eineger selektierts. Hannover, Alemania, s.n. p. 63-81.



Denise

Br. Denise E. Cahen A.

Jorge A. Miranda H.

Dr. Jorge A. Miranda H.
ASESOR PRINCIPAL

Griselda Arizandieta

Dra. Griselda Arizandieta
ASESOR

Jaime R. Mendez S.
Dr. Jaime R. Mendez S.
ASESOR



Imprímase:

José Guillermo Perezcanto Fernández

Dr. José Guillermo Perezcanto Fernández
DECANO