

89 *Ziguer*

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**ADAPTACION DE BABESIA BOVIS EN HUESPEDES  
ATIPICOS Y LA REACCION INMUNOLOGICA DEL  
GANADO BOVINO INOCULADO CON ANTIGENO  
PROVENIENTE DE ESOS HUESPEDES.**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A**

**HAYDEE JULIETA GONZALEZ MEDRANO**

**ASESOR: DR. MIGUEL OSORNO ESCAREÑO**

**México, D. F.**

**1981**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# C O N T E N I D O

	PÁGINA
I.- RESUMEN	1
II.- INTRODUCCION	3
III.-MATERIAL Y METODOS	9
IV.- RESULTADOS	15
V.- DISCUSION	18
VI.- CONCLUSIONES	21
VII.-BIBLIOGRAFIA	28

I.

R E S U M E N

ADAPTACIÓN DE BABESIA BOVIS EN HUESPEDES ATÍPICOS Y LA REACCIÓN INMUNOLÓGICA DEL GANADO BOVINO INOCULADO CON ANTÍGENO PROVENIENTE DE ESOS HUESPEDES.

HAYDEE JULIETA GONZÁLEZ MEDRANO  
ASESOR: MVZ., Ms. Ph. D. MIGUEL OSORNO ESCAREÑO

DIFERENTES ESPECIES ANIMALES FUERON EXPUESTAS CON LARVAS DE BOOPHILUS MICROPLUS INFECTADAS CON BABESIA BOVIS, CON EL FÍN DE OBSERVAR LA ADAPTACIÓN DEL HEMOPROTOZOA--RIO. LOS ANIMALES UTILIZADOS FUERON; BORREGOS, PERROS, CONEJOS, GALLINAS, HAMSTERS, RATONES Y TERNERAS. A EXCEPCIÓN DEL BOVINO, EN DONDE SE PRESENTÓ UNA PARASITEMIA DE 2% POR BABESIA BOVIS, NO SE OBSERVARON PARÁSITOS EN LOS EXÁMENES MICROSCÓPICOS DE LA SANGRE DE LOS ANIMALES EXPUESTOS. A PARTIR DE LOS ANIMALES ANTERIORMENTE--SEÑALADOS, SE OBTUVIERON SANGRE Y ÓRGANOS VISCERALES, --DE ÉSTOS SE HIZO UN MACERADO QUE SE INOCULÓ, EN FORMA --INDIVIDUAL, A BOVINOS SIN ESPLENECTOMIZAR Y SUSCEPTI---BLES A BABESIASIS.

LOS BOVINOS QUE RECIBIERON EL INÓCULO COMBINADO DE SANGRE Y ÓRGANOS OBTENIDOS DE HAMSTER, GALLINA Y RATÓN - PRESENTARON DESCENSO DE MÁS DEL 10% DEL HEMATOCRITO.- ÚNICAMENTE LOS ANIMALES QUE RECIBIERON EL INÓCULO DE - HAMSTER Y RATÓN DESARROLLARON TÍTULOS SEROLÓGICOS EN - LA PRUEBA INDIRECTA DE INMUNOFLUORESCENCIA. AL SER - DESAFIADOS ESTOS ANIMALES CON 1000 LARVAS DE BOOPHILUS MICROPLUS INFECTADAS CON B. BOVIS PRODUJERON LA ENFERMEDAD EN UN PERÍODO DE 30 DÍAS.

## II. I N T R O D U C C I O N

LA BABESIASIS O PIROPLASMOSIS ES UNA ENFERMEDAD INFECCIOSA QUE SE ENCUENTRA DISTRIBUÍDA MUNDIALMENTE AFECTANDO A DIVERSOS ANIMALES DOMÉSTICOS, SALVAJES Y ALHOMBRE (LEVINE, 1973).<sup>(1)</sup>

EL PRIMERO EN OBSERVAR Y DESCRIBIR ESTE ORGANISMO EN LA SANGRE DEL GANADO BOVINO Y OVINO FUÉ BABES EN 1888,<sup>(2)</sup> EN RUMANIA. RAZÓN POR LA CUAL MÁS TARDE SE LE DENOMINÓ A ESTE PARÁSITO, BABESIA.

SIN EMBARGO FUÉ HASTA 1893 EN QUE SMITH Y KILBORNE -<sup>(3)</sup> ASOCIARON ESTE HEMOPARÁSITO CON LA LLAMADA "FIEBRE-DE TEXAS" DÁNDOLE PRIMERO EL NOMBRE DE PYROSOMA BIGEMINA Y MÁS TARDE EL DE PIROPLASMA. EN SUS PUBLICACIONES AFIRMAN TAMBIÉN HABER REPRODUCIDO EL PROCESO-INFECTIVO MEDIANTE LA INOCULACIÓN EN BOVINOS CON SANGRE OBTENIDA DE ANIMALES INFECTADOS. ASÍ MISMO DESCRIBEN QUE LA INFECCIÓN PUEDE SER TRANSMITIDA POR VECTORES ARTRÓPODOS.

POSTERIORMENTE PIANA Y GALLI VALERIO EN 1895<sup>(4)</sup> INFORMAN DE BABESIA EN PERROS. LAVERAN EN 1901,<sup>(5)</sup> NUTTAL Y

(6)

STRICKLAND EN 1910 INFORMAN DEL HALLAZGO DE BABESIA CA  
BALLÍ Y BABESIA EQUÍ .

(7)

EN MÉXICO M. TUSSAINT EN 1905 DESCRIBE LA PRESENCIA DE  
BABESIA BIGEMINA Y CONFIRMA LAS ASEVERACIONES HECHAS -  
POR SMITH Y KILBORNE EN 1893<sup>(3)</sup>, ACERCA DE LA TRANSMISIÓN  
DE ESTE PROTOZOARIO POR VECTORES ARTRÓPODOS, MÁS ADE--  
LANTE KNUT Y DU TOIT EN 1921<sup>(8)</sup> EN ALEMANIA, ENCUENTRAN -  
BABESIA EN CERDOS.

EN LOS HUMANOS LA BABESIA HA SIDO REPORTADA POR SKRABA  
LO Y DEANOVIC EN EL AÑO DE 1967<sup>(9)</sup>, RISTIC ET. AL EN 1971<sup>(10)</sup>  
Y OSORNO ET AL. EN 1976<sup>(11)</sup>.

EL PARÁSITO PERTENECE A LA FAMILIA BABESIDAE Y AL SUB-  
ÓRDEN PIROPLASMIDEA, QUE INCLUYE PARÁSITOS INTRA--  
ERITROCÍTICOS DE MAMÍFEROS LOS CUALES NO PRODUCEN HEMO-  
ZOINA (LEVINE 1973)<sup>(1)</sup>.

ESTE PROTOZOARIO SE REPRODUCE ASEXUALMENTE POR DIVISIÓN  
BINARIA O EZQUISOGÓNICA DENTRO DE LOS GLÓBULOS ROJOS -  
DEL HUÉSPED (HOYTE, 1961<sup>(12)</sup>; 1976<sup>(13)</sup> Y WOLF, 1974)<sup>(14)</sup>.

LA ENFERMEDAD ESTÁ CARACTERIZADA POR PRODUCIR FIEBRE, -

ANEMIA, HEMOGLOBINURIA Y MORTALIDAD ELEVADA (MAHONEY,  
1977)<sup>(15)</sup>.

LAS ESPECIES DE BABESIA QUE AFECTAN AL GANADO BOVINO SON: BABESIA BOVIS, BABESIA BIGEMINA, BABESIA MAJOR-  
Y BABESIA DIVERGENS. SIN EMBARGO EN MÉXICO SOLO SE-  
HAN ENCONTRADO BABESIA BOVIS Y BABESIA BIGEMINA.

LA BABESIÁSIS ES MUY COMÚN EN LAS ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES DE LA REPÚBLICA MEXICANA, EN DONDE LAS CONDICIONES ECOLÓGICAS FAVORECEN LA PROLIFERACIÓN DE LAS ESPECIES DE GARRAPATA BOOPHILUS ANNULATUS Y BOOPHILUS MICROPLUS, QUE SIRVEN COMO VECTORES BIOLÓGI-  
COS, ADEMÁS DE OTROS VECTORES MECÁNICOS<sup>(16)</sup> QUE SON ABUN-  
DANTES EN ESAS ÁREAS (CASAS, R. 1973; OSORNO Y VEGA-  
1975)<sup>(17)</sup>.

LA TRANSMISIÓN DE LA BABESIA DENTRO DE LA GARRAPATA-  
SE LLEVA A CABO DE DOS FORMAS: TRANSOVÁRICA Y TRANS-  
ESTADIO; EN LA PRIMERA LA GARRAPATA ADULTA TRANSMITE  
LA INFECCIÓN POR VÍA OVÁRICA A SU DESCENDENCIA DE -  
TAL MANERA QUE LOS HUEVECILLOS SALEN YA INFECTADOS. -  
EN LA SEGUNDA FORMA, LA TRANSMISIÓN SE REALIZA DE -  
LARVA A NINFA Y DE NINFA A GARRAPATA ADULTA (SMITH -  
ET. AL 1978)<sup>(18)</sup>.

EN MÉXICO LAS MEDIDAS DE CONTROL DE LA ENFERMEDAD EMPLEADAS HASTA LA FECHA HAN SIDO: CAMPAÑAS DE CONTROL DE LA GARRAPATA Y PREMUNICIÓN DE LOS ANIMALES. LA PRIMERA SE HA LLEVADO A CABO POR MEDIO DE BAÑOS DE ASPERSIÓN E INMERSIÓN. EN CUANTO A LA PREMUNICIÓN ÉSTA SE HA REALIZADO DE TRES FORMAS: INOCULANDO A LOS ANIMALES CON SANGRE INFECTADA CON BABESIA Y TRATANDO A ÉSTOS CUANDO APARECEN LOS PRIMEROS SIGNOS Y SÍNTOMAS DE LA ENFERMEDAD. EL SEGUNDO MÉTODO CONSISTE EN INTRODUCIR ANIMALES SUSCEPTIBLES A ZONAS ENZOOTICAS, APLICANDO EL TRATAMIENTO CUANDO SE PRESENTA LA ENFERMEDAD. EL TERCER MÉTODO SE HACE INDUCIENDO LA PREMUNICIÓN CON LA INFESTACIÓN CONTROLADA DE LARVAS INFECTADAS AL GANADO QUE VA A SER TRASLADADO A ZONAS ENZOOTICAS (QUIROZ ET. AL 1972;<sup>(19)</sup> OSORNO 1978<sup>(20)</sup>).

LOS TRES MÉTODOS DE PREMUNICIÓN HAN TRAÍDO COMO CONSECUENCIA LA DISEMINACIÓN DE CEPAS PATÓGENAS Y EL AUMENTO EN EL NÚMERO DE ANIMALES PORTADORES, AUNQUE HASTA LA FECHA HAN SIDO CONSIDERADOS LOS MÉTODOS QUE RINDEN MEJORES RESULTADOS YA QUE LA INDUCCIÓN DE INMUNIDAD POR MEDIO DE VACUNAS INACTIVADAS ELABORADAS CON SANGRE DE BOVINO, SÓLO HAN DEMOSTRADO BAJO GRADO DE PROTECCIÓN E INDUCCIÓN DE LA ISOERITROLISIS DE LOS RECIÉN NACIDOS POR PROVENIR LA SANGRE DE ANIMALES HOMÓ-

(15)  
LOGOS (MAHONEY 1977),

EN OTROS PAÍSES <sup>(21)</sup> CALLOW ET. AL <sup>(22)</sup> (1966; 1967); MAHONEY Y <sup>(23)</sup> WRIGHT (1976), <sup>(24)</sup> EMMERSON ET. AL (1976) EN SUS INVESTIGACIONES PARA OBTENER VACUNAS INACTIVADAS Y ATENUADAS PRODUCIDAS A PARTIR DE SANGRE INFECTADA DE BOVINO, HAN INFORMADO DE LA BAJA ANTIGENICIDAD DEL MATERIAL UTILIZADO. EN LA ÚLTIMA DÉCADA LOS INVESTIGADORES EN ÉSTA ÁREA HAN TRABAJADO INTENSAMENTE CON EL PROPÓSITO DE BUSCAR NUEVAS Y MEJORES SOLUCIONES AL PROBLEMA, REDUCIENDO POR UNA PARTE EL NÚMERO DE VECTORES EN FORMA DE CONTROL Ó ERRADICACIÓN Y POR LA OTRA BUSCANDO NUEVOS INMUNÓGENOS INACTIVADOS Ó ATENUADOS.

CABRERA . . EN 1978, <sup>(25)</sup> REALIZÓ . . DIVERSOS ESTUDIOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA GARRAPATA, UTILIZANDO - IRRADIACIONES GAMMA CON  $Co^{60}$ , CONCLUYENDO QUE DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN A 2,000 RADS LA CAPACIDAD REPRODUCTIVA DE ESTOS ARTRÓPODOS DISMINUÍA EN UN 100%.

EN ESTUDIOS RECIENTES REALIZADOS EN MÉXICO POR ERP ET. AL. (1978) <sup>(26)</sup> SE LOGRÓ ESTABLECER CULTIVOS IN VITRO DE BABESIA BOVIS. A PARTIR DE ESTOS CULTIVOS SE HA AISLADO UN ANTÍGENO SOLUBLE PARA SER UTILIZADO COMO AGENTE INMUNIZANTE. ESTE ANTÍGENO FUÉ PROBADO EN EL CAMPO CON

UN LOTE DE 60 ANIMALES VACUNADOS CON EL ANTÍGENO DE BABESIA BOVIS CULTIVADA IN VITRO . EL GANADO VACUNADO - FUÉ TRASLADADO DEL ESTADO DE COAHUILA A LA ZONA DE SOTTO LA MARINA, TAMAULIPAS. DESPUÉS DE UN AÑO DE EXPOSICIÓN NATURAL SE OBTUVO UN 80% DE PROTECCIÓN A MORTALIDAD (OSORNO ET. AL 1981)<sup>(27)</sup>.

## O B J E T I V O S

ADAPTAR UNA CEPA DE BABESIA BOVIS EN HUESPEDES ATÍPICOS AL BOVINO CON EL PROPÓSITO DE ATENUAR LA CEPA Y UTILIZARLA COMO ANTÍGENO CAPAZ DE ESTIMULAR LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA EN BOVINOS SUSCEPTIBLES.

### III.- M A T E R I A L Y M E T O D O S

#### 1. LOCALIZACION

ESTE TRABAJO SE REALIZÓ EN LA UNIDAD CENTRAL DEL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES PECUARIAS, S.A.R.H. SITUADO EN EL KM. 15 1/2 DE LA CARRETERA FEDERAL MÉXICO-TOLUCA EN EL VALLE DE MÉXICO.- LA INVESTIGACIÓN FORMÓ PARTE DEL PROYECTO INTERNACIONAL DE HEMOPROTOZOARIOS FINANCIADO POR LA UNIVERSIDAD DE ILLINOIS, Y EL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES PECUARIAS.

#### 2. ANIMALES DE EXPERIMENTACION

- A. SE UTILIZARON 9 BOVINOS HEREFORD HEMBRAS DE 18 MESES DE EDAD PROVENIENTES DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES PECUARIAS DEL ESTADO DE SONORA.
- B. DOS BORREGOS MERINO MACHOS DE 8 MESES DE EDAD - PROPORCIONADOS POR EL CENTRO DE RECRÍA DE OVINOS DE SAN LUIS POTOSÍ.
- C. DOS PERROS BEAGLE MACHOS DE 2 AÑOS DE EDAD.
- D. CUATRO GALLINAS RHODE ISLAND, ADULTAS.
- E. DOS CONEJOS NUEVA ZELANDIA HEMBRAS DE 3 KGS. DE PESO.
- F. VEINTE HAMSTERS SIRIO DORADO MACHOS ADULTOS DE 50 GRS. DE PESO.
- G. CUARENTA RATONES SUIZO BLANCO MACHOS LACTANTES, TODOS ELLOS OBTENIDOS DEL BIOTERIO DEL I.N.I.P.

LOS ANIMALES FUERON ARETADOS O TATUADOS PARA SU IDENTIFICACIÓN. TODOS LOS ANIMALES FUERON COLOCADOS EN LAS UNIDADES DE AISLAMIENTO EN DONDE FUERON ALOJADOS EN LOCALES INDIVIDUALES. DURANTE EL TRANCURSO DEL EXPERIMENTO SE LES PROPORCIONÓ AGUA Y ALIMENTO AT LIBITUM. DE LOS ANIMALES EN EXPERIMENTACIÓN SE ESPLENECTOMIZARON TODOS LOS OVINOS, PERROS, HAMSTERS Y UN BOVINO, QUE SIRVIÓ COMO TESTIGO. EL RESTO DE LOS BOVINOS, GALLINAS, CONEJOS Y RATONES SE MANTUVIERON INTACTOS.

TODOS ESTOS ANIMALES SE ENCONTRARON CLÍNICAMENTE SANOS Y EN EL EXÁMEN SANGUÍNEO Y DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA, SE DETERMINÓ QUE NO PRESENTARON HEMOPARÁSITOS NI ANTICUERPOS EN CONTRA DE LA BABESIA BOVIS, ANTES DE LA EXPOSICIÓN.

### 3. EXPOSICION DE ANIMALES ATIPICOS

SE UTILIZARON LARVAS DE UNA COLONIA DE LA GARRAPATA-BOOPHILUS MICROPLUS INFECTADA CON B. BOVIS QUE HA SIDO MANTENIDA DURANTE 8 AÑOS EN EL DEPARTAMENTO DE HEMOPROTOZOARIOS DEL I.N.I.P.

EL CONTEO DE LARVAS SE HIZO EN UNA CÁMARA FRÍA A 4°C, DE TEMPERATURA QUE LES REDUCE LA MOVILIDAD. CADA BARRERGO, PERRO Y CONEJO SE EXPUSO CON 2500 LARVAS, CADA GALLINA CON 1250 LARVAS, CADA HAMSTER CON 250 LARVAS Y CADA RATÓN CON 125 LARVAS. EL BOVINO ESPLENECTOMIZADO SE EXPUSO CON 2500 LARVAS INFECTADAS, - ESTE BOVINO SIRVIÓ COMO TESTIGO PARA CERTIFICAR LA - TRANSMISIÓN DE B. BOVIS (FOTO 1, CUADRO A). DE CADA UNO DE ESTOS ANIMALES SE OBTUVIERON MUESTRAS DE SANGRE PERIFÉRICA PARA HEMATOCRITO Y OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DEL FROTIS SANGUÍNEO. ESTAS MUESTRAS FUERON ANALIZADAS CADA 4 DÍAS. PARA LA PRUEBA DE INMUNOFLOURESCENCIA INDIRECTA, EL SUERO SANGUÍNEO FUÉ OBTENIDO ANTES DE LA EXPOSICIÓN Y AL MOMENTO DEL SACRIFICIO - ( 16 DÍAS DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN).

#### 4. INOCULACION DE BOVINOS

CON OBJETO DE DETERMINAR SI LA INFECCIÓN SE REPRODUCE A PARTIR DE LOS ANIMALES ATÍPICOS, SE SACRIFICARON ÉSTOS, 16 DÍAS DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN CON LARVAS INFECTADAS. DE CADA UNA DE LAS ESPECIES UTILIZADAS SE FORMÓ UNA MEZCLA DE 40 ML. DE SANGRE CON 100-ML. DEL MACERADO DE CEREBRO, HÍGADO, RIÑONES Y DE - LOS NO ESPLENECTOMIZADOS SE INCLUYÓ EL BAZO. ESTE-MATERIAL SE INOCULÓ INMEDIATAMENTE POR VÍA INTRAVENOSO

SA UTILIZANDO 500 ML. DE SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA. DEL BOVINO TESTIGO ESPLENECTOMIZADO SE EXTRAJO UN VOLUMEN DE 40 ML. DE SANGRE, MISMA QUE SE INOCULÓ A UN BOVINO INTACTO PARA SER UTILIZADO COMO TESTIGO (CUADRO B). SE OBTUVO TEMPERATURA RECTAL DIARIA Y MUESTRAS DE SANGRE PARA HEMATOCRITO Y ANÁLISIS MICROSCÓPICO DEL FROTIS SANGUÍNEO. ANTES DE LA INOCULACIÓN Y DESPUÉS EN PERÍODOS SEMANALES SE OBTUVO SUERO SANGUÍNEO PARA LA PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA PARA DETECTAR ANTICUERPOS EN CONTRA DE B. BOVIS.

LOS ANIMALES QUE DESARROLLARON TÍTULOS SEROLÓGICOS EN CONTRA DE B. BOVIS FUERON DESAFIADOS CON 1000 LARVAS DE B. MICROPLUS INFECTADAS.

## 5. SEROLOGIA

### A, RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE SUERO.

EMPLEANDO EL SISTEMA "VACUTAINER" SE OBTUVIERON, DE CADA UNO DE LOS BOVINOS, BORREGOS Y PERROS, 10 ML. DE SANGRE DE LA VENA YUGULAR. DE LOS CONEJOS Y GALLINAS SE OBTUVO 10 ML. DE SANGRE CON JERINGA POR PUNCIÓN CARDÍACA. DE LOS HAMSTERS Y CONEJOS SE OBTUVO 1 ML. DE SANGRE DE LA ARTERIA OCULO-ORBITARIA. LA SANGRE

SE INCUBÓ A 21°C (TEMP. AMBIENTE) POR 4 HORAS - Y SE PROCEDIÓ A EXTRAER EL COÁGULO. EL SUERO- FUÉ CENTRIFUGADO A 2,000 RPM POR 10 MINUTOS A- TEMPERATURA AMBIENTE. EL SOBRENADANTE FUÉ EN- VASADO EN FRASCOS DE 5 ML. Y ETIQUETADO PARA SU IDENTIFICACIÓN, LAS MUESTRAS DE SUERO SE CONSER- VARON EN CONGELACIÓN A -20°C HASTA SU UTILIZA--- CIÓN.

B. PRUEBA INDIRECTA DE LOS ANTICUERPOS FLUORESCEN- TES (IAF).

EL MÉTODO IAF DE RISTIC ET. AL. (1957)<sup>(28)</sup> (1960)<sup>(29)</sup> - FUÉ UTILIZADO PARA SEGUIR LA RESPUESTA INMUNE - DE LOS BOVINOS Y HUESPEDES ATÍPICOS TANTO EXPUES- TOS CON LARVAS COMO INOCULADOS CON SANGRE Y MA- CERADO. LAS LAMINILLAS FUERON PREPARADAS CON ERI- TROCITOS LAVADOS DE BOVINO INFECTADO CON B. BO- VIS (8 A 10 POR CIENTO DE PARASITEMIA) Y MAN--- TENIDOS A -65°C.

LAS LAMINILLAS FUERON SACADAS DEL CONGELADOR - SEGÚN FUERON UTILIZADAS, ÉSTAS SE COLOCARON EN UNA JARRA DE DESECACIÓN Y SE DESHIDRATARON AL - VACÍO DURANTE UNA HORA. LAS LAMINILLAS DESPUÉS SE FIJARON EN ACETONA DURANTE 30 MINUTOS, Y - SE SECARON CON UN VENTILADOR DURANTE 10 MINU

TOS. SE MARCARON CÍRCULOS SOBRE LA LAMINILLA (1 CM. DE DIÁMETRO) LOS CUALES SE LLENARON CON UNA DILUCIÓN 1:80 DEL SUERO A ESTUDIAR. SE INCLUYERON EN CADA LA MINILLA LOS CONTROLES DE SUERO NEGATIVO Y POSITIVO. LAS LAMINILLAS FUERON COLOCADAS EN UNA CÁMARA HÚMEDA E INCUBADAS A 37°C DURANTE 30 MINUTOS. DESPUÉS DE LA INCUBACIÓN, LAS LAMINILLAS FUERON LAVADAS 2 VECES CON SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA pH 7.2 DURANTE 5 MINUTOS POR LAVADO, SE HIZO UN TERCER LAVADO CON AGUA-DESTILADA Y SE SECARON LAS LAMINILLAS CON VENTILADOR. UNA GOTTA DEL CONJUGADO ANTI-BOVINO Ig G (LABORATORIOS CAPPEL, LINCOLN, NEBRASKA, EUA) EN DILUCIÓN DE 1:40-SE DEPOSITÓ EN CADA CÍRCULO MARCADO. SE INCUBARON NUEVAMENTE A 37°C EN CÁMARA HÚMEDA Y EN COMPLETA OS- CURIDAD DURANTE 30 MINUTOS, Y SE LAVARON SIGUIENDO EL PROCEDIMIENTO ANTERIOR.

LA OBSERVACIÓN DE LA FLUORESCENCIA SE REALIZÓ EN UN MICROSCOPIO LEITZ CON UNA LÁMPARA DE MERCURIO DE 200 W. (HBO 200 W), CON FILTROS EXCITADORES B G 12 Y FILTROS DE BARRERA K-530, EMPLEANDO EL OBJETIVO DE INMERSIÓN 100 X.

#### IV.- RESULTADOS

##### 1. EXPOSICION CON LARVAS INFECTADAS

CON RESPECTO A LOS BORREGOS, PERROS Y CONEJOS NO MOSTRAN REDUCCIÓN DE HEMATOCRITO NI PRESENCIA DE ORGANISMOS BABESIALES EN EL EXÁMEN MICROSCÓPICO. LOS HAMSTERS MOSTRARON UNA REDUCCIÓN DEL HEMATOCRITO DEL 30%. LOS RATONES DE 14% Y LAS GALLINAS DE 24%, SIN EMBARGO NO SE OBSERVARON BABESIAS EN LOS EXÁMENES MICROSCÓPICOS DE SANGRE (GRÁFICA 1).

EL BOVINO PRESENTÓ ELEVACIÓN DE 41°C DE TEMPERATURA, A LOS 9 DÍAS DE LA EXPOSICIÓN CON LARVAS DE GARRAPATA INFECTADAS CON B. BOVIS. EL HEMATOCRITO SE REDUJO GRADUALMENTE A PARTIR DEL DÍA 9 ALCANZANDO SU NIVEL MÁS BAJO, EL DÍA 12 CON UNA REDUCCIÓN DEL 70% CON RESPECTO AL VALOR INICIAL. EN EL ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE SANGRE PERIFÉRICA SE OBSERVARON INICIALMENTE ORGANISMOS BABESIALES A PARTIR DEL DÍA 9, ALCANZANDO 2% DE PARASITEMIA EL DÍA 12 POSTERIOR A LA EXPOSICIÓN (GRÁFICA 1; FOTO 2). ESTE ANIMAL MURIÓ DE BABESIOSIS EL DÍA 13 DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN. EN EL ESTUDIO SEROLÓGICO ÚNICAMENTE EL BOVINO EXPUESTO MOSTRÓ LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS EN CONTRA DE BABESIA BOVIS A LOS 12 DÍAS DESPUÉS DE

LA EXPOSICIÓN CON UN TÍTULO DE 1:320.

## 2. INOCULACION CON SANGRE Y ORGANOS

LOS BOVINOS QUE RECIBIERON LA COMBINACIÓN DE SANGRE Y ÓRGANOS PRESENTARON ALGUNAS DIFERENCIAS EN CUANTO A LA DISMINUCIÓN DEL HEMATOCRITO. LOS BOVINOS INOCULADOS CON ANTÍGENOS PROVENIENTES DE OVINO, PERRO Y CONEJO NO MOSTRARON ALTERACIÓN DEL HEMATOCRITO. AL BOVINO QUE RECIBIÓ EL INÓCULO DE RATÓN LE DISMINUYÓ EL HEMATOCRITO EN 19%. EL BOVINO QUE RECIBIÓ EL INÓCULO DE GALLINA TUVO UNA DISMINUCIÓN DEL HEMATOCRITO EN 10%. EL BOVINO QUE RECIBIÓ EL INÓCULO DE HAMSTER EL HEMATOCRITO SE REDUJO EN 25%. NO SE OBSERVARON PARÁSITOS EN LOS ANÁLISIS MICROSCÓPICOS DE SANGRE. EL BOVINO TESTIGO QUE RECIBIÓ ÚNICAMENTE SANGRE DE LA TERNERA ENFERMA, REPRODUJO LA ENFERMEDAD EN UN LAPSO DE 8 DÍAS PRESENTANDO BABESIASIS AGUDA CON ELEVACIÓN DE TEMPERATURA ALCANZANDO 41°C, REDUCCIÓN DEL HEMATOCRITO DEL 70% EN RELACIÓN AL VALOR INICIAL Y PARASITEMIA DE 1.5%. ESTE ANIMAL MURIÓ EL DÍA 9 POST-INOCULACIÓN (GRÁFICA 2).

ÚNICAMENTE EL BOVINO QUE RECIBIÓ EL INÓCULO OBTENIDO DEL HAMSTER PRESENTÓ ELEVACIÓN DE LA TEMPERATURA ALCANZANDO 40.1°C EN EL 60. DÍA. LE TEMPERATURA SE NORMALIZÓ AL NOVENO DÍA DESPUÉS DE LA INOCULACIÓN (GRÁFICA 3). EL RESTO DE LOS BOVINOS INOCULADOS NO MOSTRÓ ALTERACIÓN DEL HEMATO-

CRITO O TEMPERATURA CORPORAL.

A PARTIR DE LA CUARTA SEMANA POST-INOCULACIÓN SE OBSERVÓ EN ESTE EXPERIMENTO QUE LOS BOVINOS INOCULADOS CON MATERIAL PROVENIENTE DE RATONES Y HAMSTERS PRESENTABAN TÍTULO SEROLÓGICO DE 1:40 Y 1:80 RESPECTIVAMENTE. ESTE TÍTULO DESAPARECIÓ EN LA OCTAVA SEMANA (CUADRO C).

LOS ANIMALES QUE MOSTRARON TÍTULO SEROLÓGICO SE DESAFIARON CON 1000 LARVAS INFECTADAS CON B. BOVIS DESARROLLANDO LA ENFERMEDAD EN UN PERÍODO DE 30 DÍAS, MOSTRANDO, ELEVACIÓN DE TEMPERATURA, BAJA DE HEMATOCRITO Y EN EL EXÁMEN MICROSCÓPICO SE OBSERVÓ PARASITEMIA. - ESTOS ANIMALES MURIERON DE BABESIASIS, EL DÍA 32 - POST DESAFÍO, MIENTRAS QUE EL ANIMAL TESTIGO SUSCEPTIBLE MURIÓ A LOS 14 DÍAS DESPUÉS DEL DESAFÍO (CUADRO D).

V.-

D I S C U S I O N

TODAS LAS ESPECIES DE BABESIA SON AGENTES ETIOLÓGICOS DE BABESIASIS EN SU RESPECTIVO HUÉSPED. NEITZ EN 1956<sup>(30)</sup> INDICA QUE EXISTE ESPECIFICIDAD DE ESPECIE, SIN EMBARGO, SKRABALO EN 1971,<sup>(31)</sup> RISTIC ET. AL<sup>(10)</sup> Y OSORNO ET. AL EN 1976<sup>(11)</sup> INFORMAN DEL HALLAZGO DE BABESIASIS EN HUMANOS, SIENDO ÉSTAS DE ORÍGEN BOVINO Y ROEDOR. ESTA INFORMACIÓN INDICA LA PRESENTACIÓN DE LA BABESIASIS SIN TOMAR EN CUENTA LA ESPECIFICIDAD DE ESPECIE. EN ESTE ESTUDIO SE COMPROBÓ QUE LAS LARVAS DE BOOPHILUS MICROPLUS INFECTADAS CON B. BOVIS PUEDEN REDUCIR LOS NIVELES NORMALES DEL HEMATOCRITO A PESAR DE NO OBSERVAR PARÁSITOS SANGUÍNEOS EN HUESPEDES ATÍPICOS. ESTOS HALLAZGOS SE ENCONTRARON ÚNICAMENTE EN GALLINAS, RATONES Y HAMSTERS.

LA OBSERVACIÓN DE QUE AL INOCULAR SANGRE Y MACERADO DE ÓRGANOS DE HAMSTER Y RATÓN EXPUESTOS CON LARVAS INFECTADAS DE B. BOVIS, PRODUCEN UNA RESPUESTA INMUNOLÓGICA EN BOVINOS, ES INDICIO DE LA TRANSMISIÓN Y ESTABLECIMIENTO DE ANTÍGENOS BABESIALES POR GARRAPATA A LOS TEJIDOS DE RATÓN Y HAMSTER.

LA RESPUESTA SEROLÓGICA EN LOS BOVINOS NO FUÉ MUY ALTA YA QUE LOS TÍTULOS SEROLÓGICOS ALCANZARON DILUCIONES - DE HASTA 1:160, SIN EMBARGO SE ESTABLECIÓ UNA MEMORIA- INMUNOLÓGICA, YA QUE AL DESAFIAR A ESTOS BOVINOS CON - LARVAS INFECTADAS CON B. BOVIS, EL TÍTULO SEROLÓGICO - SE PRESENTÓ EN UN PERÍODO DE UNA SEMANA ALCANZANDO UNA DILUCIÓN DE HASTA 1:640, TÍTULO QUE A LA TERCERA SEMANA LLEGÓ A SER DE 1:1250. ESTA RESPUESTA INMUNE AL - SER COMPARADA CON EL BOVINO TESTIGO QUE RESPONDIÓ EN - LA PRIMERA SEMANA CON 1:40 NOS INDICA EL DESARROLLO - DE DICHA MEMORIA INMUNOLÓGICA. EN CUANTO A LA PROTECCIÓN INDUCIDA EXISTE UNA GRAN DIFERENCIA ENTRE LOS BOVINOS- INMUNIZADOS Y EL TESTIGO. LOS BOVINOS INMUNIZADOS MURIERON HASTA LOS 32 DÍAS A DIFERENCIA DEL ANIMAL TESTI GO QUE MURIÓ A LOS 14 DÍAS DESPUÉS DEL DESAFÍO. LA - FALTA DE PROTECCIÓN ASÍ COMO LA PRESENTACIÓN DE BAJOS- TÍTULOS SEROLÓGICOS EN LOS BOVINOS INMUNIZADOS SUGIERE INSUFICIENCIA DE MATERIAL ANTIGÉNICO APLICADO A LOS BOVINOS.

## VI. CONCLUSIONES

1. BABESIA BOVIS NO PUDO SER OBSERVADA EN LOS FROTIS SANGUÍNEOS DE LOS HUÉSPEDES ATÍPICOS EXPUESTOS, A PESAR DE ENCONTRARSE UNA DISMINUCIÓN DEL 10% EN EL HEMATOCRITO DE TRES DE ELLOS (HAMSTER, RATÓN Y GALLINA). PROBABLEMENTE PORQUE B. BOVIS NO LOGRÓ ADAPTARSE EN SU SANGRE, PERO SI CAUSÓ DESTRUCCIÓN DE GLÓBULOS ROJOS. ESTO A DIFERENCIA DEL BOVINO-TESTIGO EN DONDE SI SE DETECTÓ EL PARÁSITO EN LAS OBSERVACIONES MICROSCÓPICAS.
2. SE ENCONTRÓ UNA RELACIÓN DIRECTA ENTRE EL DESCENSO DEL HEMATOCRITO DE HAMSTER Y RATÓN, Y LA DISMINUCIÓN DEL 25 Y 19% DEL HEMATOCRITO DE LOS BOVINOS INOCULADOS CON ANTÍGENO PROVENIENTE DE ESOS HUÉSPEDES, LO CUAL INDICA UNA TRANSMISIÓN ANTIGÉNICA DE LARVA DE GARRAPATA A HAMSTER Y RATÓN Y DE ÉSTOS A BOVINO.
3. TAMBIÉN HUBO CONFIRMACIÓN DE LA TRANSMISIÓN DE MATERIAL ANTIGÉNICO EN LOS BOVINOS INOCULADOS. POR EL DESARROLLO DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS EN CONTRA DE B. BOVIS.
4. LOS BOVINOS QUE DESARROLLARON ANTICUERPOS EN CONTRA DE B. BOVIS NO LOGRARON OBTENER SUFICIENTES DEFENSAS PARA RESISTIR EL DESAFÍO CON LARVAS INFECTADAS CON B. BOVIS.

S U G E R E N C I A S

SE SUGIERE CONTINUAR ESTA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN YA QUE, EN BASE A LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN ESTE TRABAJO, EXISTE LA POSIBILIDAD DE DESARROLLAR UN INMUNÓGENO QUE PROVENIENTE DE ANIMALES DE LABORATORIO PUEDA UTILIZARSE COMO AGENTE INMUNIZANTE PARA PREVENIR LA BABESIASIS.

SE SUGIERE HACER PASES CIEGOS DE HAMSTER A HAMSTER Y DE RATÓN A RATÓN PARA ADAPTAR LA CEPA DE B. BOVIS. EN CADA UNO DE ESTOS PASES DEBERÁ INOCULARSE A BOVINOS SUSCEPTIBLES Y MEDIR LA RESPUESTA INMUNE PARA CONFIRMAR LA PRESENCIA DEL ANTÍGENO.

SE SUGIERE ESTABLECER LA DÓISIS DE ANTÍGENO ORIGEN HAMSTER Y RATÓN QUE SEA CAPAZ DE INDUCIR RESPUESTA INMUNE Y QUE OFREZCA PROTECCIÓN EN CONTRA DEL DESAFÍO CON B. BOVIS.

CUADRO "A"

EXPOSICIÓN DE VARIOS HUÉSPEDES CON LARVAS  
BOOPHILUS MICROPLUS INFECTADAS CON B. BOVIS.

ANIMAL RECEPTOR	No. LARVAS
CONEJO	2500
GALLINA	1250
PERRO	2500
BORREGO	2500
RATÓN	125
HAMSTER	250
TERNERA (TESTIGO) 159	2500

## CUADRO ' B '

INOCULACIÓN DE BOVINOS CON SANGRE Y/O  
 ÓRGANOS DE ANIMALES EXPUESTOS CON LAS  
 VAS DE GARRAPATA INFECTADAS CON B. BOVIS.

BOVINO No.	ORÍGEN DE INÓCULO
160	MACERADO Y SANGRE DE CONEJO
161	" " GALLINA
162	" " RATÓN
163	" " HAMSTER
164	SANGRE DE PERRO
165	SANGRE DE BORREGO
166 TESTIGO	SANGRE DE TERNERA.

## CUADRO ' C '

RESPUESTA INMUNOLÓGICA DE BOVINOS  
 INOCULADOS ÚNICAMENTE CON SANGRE Ó-  
 CON SANGRE Y MACERADO DE ÓRGANOS.

ORÍGEN DEL INÓCULO	ANTES DE INOCULAR	TÍTULO SEROLÓGICO									
		S		E		M		A		N	
		1	2	3	4	5	6	7	8		
CONEJO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GALLINA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PERRO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BORREGO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RATÓN	-	-	-	-	1:40	1:40	1:40	-	-	-	-
HAMSTER	-	-	-	-	1:80	1:80	1:160	1:40	-	-	-
BOVINO TESTIGO	-	-	1:40	Miró							

-NEGATIVO EN LA PRUEBA SEROLÓGICA . . . . .

## CUADRO ' D '

DESAFÍO DE BOVINOS INMUNIZADOS CON  
SANGRE Y ÓRGANOS VISCERALES.

ORÍGEN DEL INÓCULO	TÍTULO ANTES DE DESAFIAR	S E R O L Ó G I C O DESPUÉS DEL DESAFÍO			
		1 S	2 E	3 M	4 N A S
HAMSTER	NEGATIVO*	1:640	1:640	1:1250	Murió
RATÓN	NEGATIVO*	1:80	1:320	1:640	Murió
BOVINO	NEGATIVO	1:40	1:80	Murió	

\* ESTOS ANIMALES MOSTRARON ANTICUERPOS CONTRA B. BOVIS EN EL EXPERIMENTO  
PREVIO.



FOTO 1.- HEMOLINFIA DE GARRAPATA ADULTA BOOPHILUS MICROPLUS INFECTADA CON E. BOVIS. GIEMSA ES LA TINCIÓN UTILIZADA PARA VERIR LOS VERTICGLAS DE E. BOVIS X 1000.

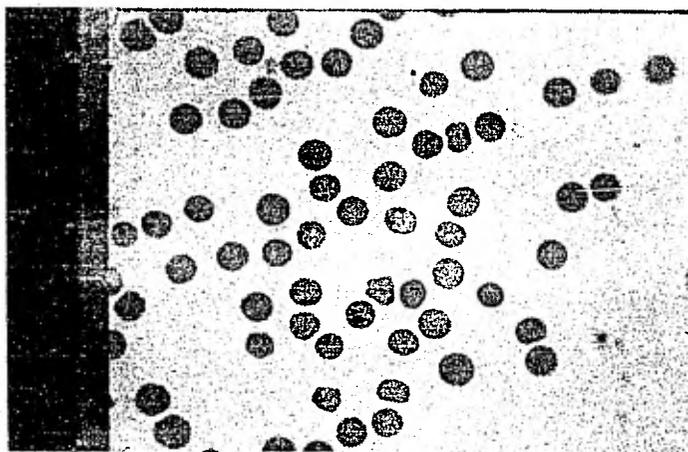
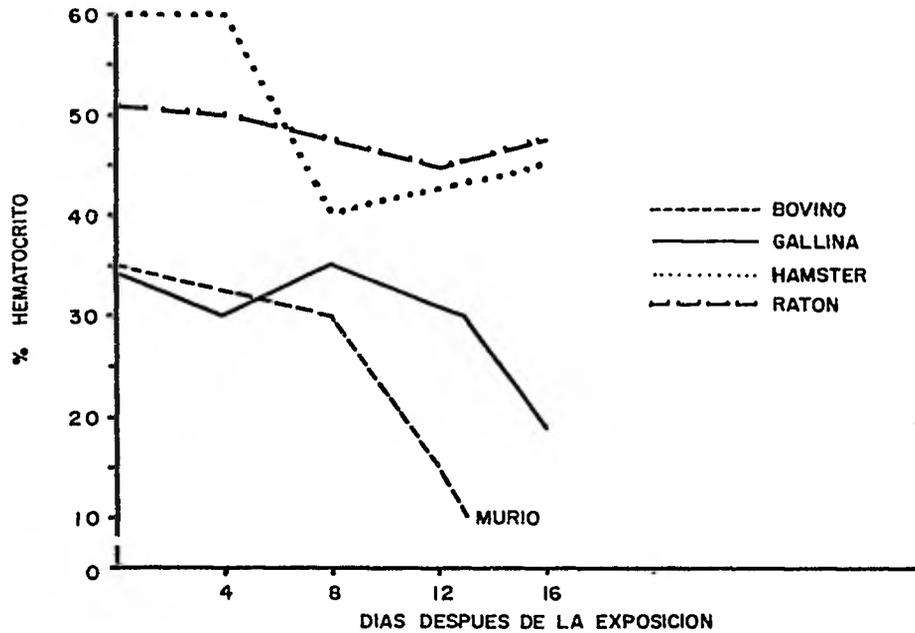


FOTO . SANGRE DE BOVINO INFECTADA CON BABESIA  
BOVIS, TEÑIDA CON GIEMSA Y OBSERVADOS A X 1000.

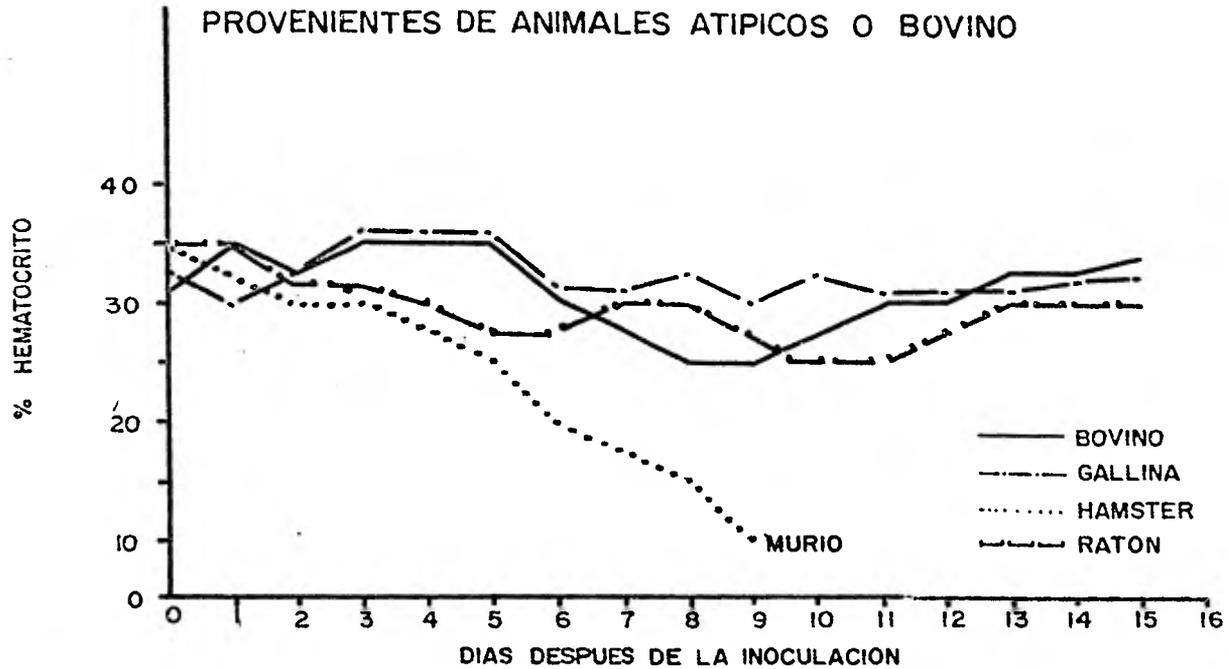
GRAFICA I

PROMEDIO DE HEMATOCRITO DE GALLINAS HAMSTERS Y RATONES EXPUESTOS CON LARVAS DE *Boophilus microplus* INFECTADAS CON *Babesia bovis*



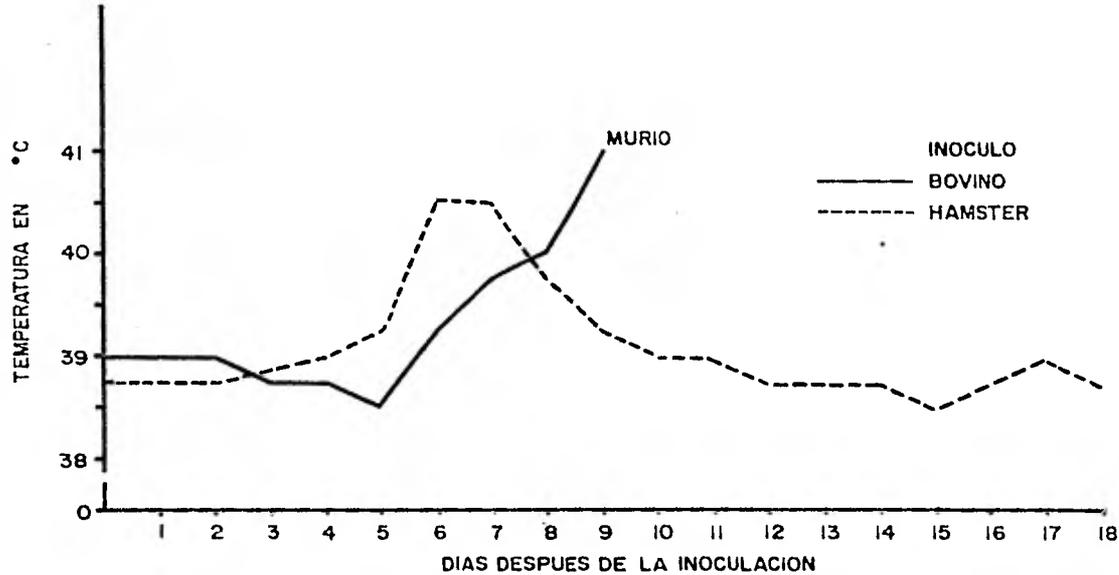
GRAFICA 2

HEMATOCRITO DE BOVINOS INOCULADOS CON ANTIGENOS  
PROVENIENTES DE ANIMALES ATIPICOS O BOVINO



GRAFICA 3

COMPARACION DE VALORES DE TEMPERATURA CORPORAL ENTRE EL BOVINO INOCULADO CON SANGRE Y MACERADO DE ORGANOS DE HAMSTER Y EL BOVINO TESTIGO INOCULADO CON SANGRE DE BOVINO INFECTADA CON *Babesia bovis*.



VII. B I B L I O G R A F I A

- (1) LEVINE, N.D. PROTOZOAN PARASITES OF DOMESTIC ANIMALS AND OF MAN, 2ND EDITION, BURGESS PUBLISHING COMPANY, - MINNEAPOLIS, MINNESOTA, 1973.
- (2) BABES U.: "SUR L'HEMOGLOBINURIA BACTERINNE DE BOEFS" - C.M. ACAD. SCI. 107: 692 - 694 (1888).
- (3) SMITH, T., AND KILBORNE, F.L: "INVESTIGATION INTO THE NATURE, CAUSATION AND PREVENTION OF TEXAS OF SOUTHERN CATTLE FEVER". BURN , ANIM. IND. BULL. No. 1, U.S. - DEPARTAMENT OF AGRICULTURE, WASHINGTON, D.C. (1893).
- (4) PIANA, G.P. AND GALLI-VALERIO, B.: MODERNO ZOOIATRO - (1895) CITADO EN : NUTTAL, G.H. CANINE PIROPLASMOSIS, INT. J. HYG., 4: 210 - 257 (1904).
- (5) LAYERAN, A.: "A CONTRIBUTION A L'ETUDE DE PIROPLASMA, Equi", C.M. Soc. Biol. 12: 385 - 388 (1901).
- (6) NUTTALL, G.H.F. AND STRICLAND, D.: DIE PARASITEN DER PFERDEPIROPLASMOSE RESPDER "BILLIAR FEVER" VOR LAUFIGE, MITTERILUNG ZENTRA EBL, BAKT I ABT., ORIG. 28: 524- - 525 (1910).
- (7) TUSSAINT M.: "PIROPLASMOSIS BIGEMINA EN MÉXICO" BOLETÍN DEL INSTITUTO PATOLÓGICO, DESCRITO POR EL M.V.Z. E. U. TIMINID: LÓPEZ VALLEJO EN 1910; ALGUNAS ENFERMEDADES MI

CROBIANAS Y PARASITARIAS, ESTACIÓN AGRÍCOLA CENTRAL -  
BOLETÍN No. 4 (1905).

- (8) KNUT, P. AND DU TOIT., P.J.: TROPEN KRANKHEITON DER -  
HAUSTEIN, MESSRS, 2ND. EDITION III, HANDB. Bd., TROP.-  
KRANKH GER. (1921).
- (9) SKRABALO, Z., AND DEANOVIC, Z.: "PIROPLASMOSIS IN MAN"  
REPORT OF CASE. AUST. VET. BULL, 28: 125 (1967).
- (10) RISTIC, M., CONROY, J.D. SIWE, S., HEALY, G.R. SMITH,-  
A.R. AND HUXSOLL, D.L. "BABESIA SPECIES FROM A WOMAN -  
WITH CLINICAL BABESIOSIS". AM. J. TROP. MED. HYG. 20:14  
22 (1971).
- (11) OSORNO M., VEGA, C., RISTIC, M., ROBLES, C., IBARRA, S.:  
"ISOLATION OF BABESIA SPP. FROM ASYMPTOMATIC HUMAN --  
BEINGS". VET. PARASITOL., 2: 111; 120 (1976).
- (12) HOYTE, H.M.D.: "INITIAL DEVELOPMENT OF INFECTIONS WITH-  
BABESIA BIGEMINA". J. PROTOZOOL 8, 462-466 (1961)"
- (13) HOYTE, H.M.D.: "THE TICK FEVER PARASITES OF CATTLE". -  
PROC. R. SOC. QUEENSL. 87, V-XIII (1976).
- (14) WOLF, R.E., "EFFECTS OF ANTILYMPHOCYTE, SERUM AND SPLE-  
NECTOMY ON RESISTANCE TO BABESIA MICROTI INFECTION IN -  
HAMSTERS". CLIN. IMMUNOL. IMMUNOPATHOL., 2:381-394 --  
(1974).
- (15) MAHONEY D.F.: "BABESIA OF DOMESTIC ANIMALS". EN: PARA-  
SITIC PROTOZOA, J.P. KRIER, ED., VOL. IV, ACADEMIC PRESS,

New York N. Y. (1977).

- (16) CASAS, R.J.: "CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LAS ESPECIES - DE BABESIA EN BOVINOS DE LA CHONTALPA, TABASCO, TESIS - F.M.V.Z. U.N.A.M. (1973).
- (17) OSORNO, B.M. Y VEGA, C.: "PRESENCIA DE BABESIOSIS EN VACUNOS, PERROS, BORREGOS, CABALLOS Y HUMANOS EN EL MUNICIPIO DE HUEYTAMALCO, PUEBLA, XII REUNIÓN ANUAL I.N.I.P. MÉXICO, D.F. MARZO 17-22, 1975.
- (18) SMITH R., OSORNO, M., BRENER, J., DE LA ROSA., RISTIC - M.: BOVINE BABESIOSIS: "SEVERITY AND REPRODUCTIBILITY - OF BABESIA BOVIS INFECTIONS INDUCED BY BOOPHILUS MICROPLUS UNDER LABORATORY CONDITIONS", RES. VET. SCI. 24:- 287- 292 (1978).
- (19) QUIROZ, H., CORREA, P., SÁNCHEZ, M., Y DOMÍNGUEZ, J.: - EFECTO DEL DIPROPIONATO DE IMIDOCARB EN BABESIA BOVIS". RESÚMENES DE LA IX REUNIÓN ANUAL DEL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES PECUARIAS, MÉXICO, D.F. (1972).
- (20) OSORNO M., "BABESIOSIS EN MÉXICO"., ESTUDIO RECAPITULATIVO VETERINARIA MÉX. IX A: 203 - 217 (1978).
- (21) CALLOW, L.L., AND MELLORS, L.T. "A NEW VACCINE FOR BABESIA ARGENTINA INFECTION PREPARED IN SPLENECTOMISED - CALVES". AUST. VET. J. VOL. 42, 464 - 465, DECEMBER - (1966).
- (22) CALLOW, LL., AND TAMMENAGI, L.: "VACCINATION AGAINST-

BOVINE BABESIOSIS" AUST. VET. J. VOL. 43, 249-256 JULIO (1967).

- (23) MAHONEY D.F. AND WRIGHT I.G.: BABESIA ARGENTINA: "IMMUNIZATION OF CATTLE WITH A KILLED ANTIGEN AGAINST INFECTION WITH A HETEROLOGOUS STRAIN". VET. PARASITOL. 2: 273- 282 (1976).
- (24) EMMERSON, Q.D. KNOTT., S.G. AND CALLOW, L.L.: "VACCINATION WITH BABESIA ARGENTINA IN 5 BEEF HERD IN SOUTH - EASTERN QUEENSLAND". AUST. VET. J. VOL. 52, 451- 454 OCTOBER (1976).
- (25) CABRERA A.: "ESTUDIO DEL EFECTO DE LA IRRADIACIÓN CON RAYOS GAMMA  $\text{Co}^{60}$  SOBRE LA GARRAPATA BOOPHILUS MICROPLUS. TESIS F.M.V.Z. U.N.A.M. (1978).
- (26) ERP, E., GRAVELY, S., SMITH R., RISTIC M., OSORNO, M., CARSON, C.A.: "GROWTH OF BABESIA BOVIS IN BOVINE -- ERYTHROCYTE CULTURES", AM. J. TROP. MED. AND HYG. 27 v. 1061 - 1064 (1978).
- (27) OSORNO M., VEGA C., GÓMEZ S., FERNÁNDEZ, M., GONZÁLEZ, I., GUZMÁN, R., Y RISTIC M., "PRUEBA DE CAMPO DE UNA - VACUNA INACTIVADA DE BABESIA BOVIS EN MÉXICO". EN IMPRESIÓN (1980).
- (28) RISTIC, M., WHITE, F.H., AND SANDERS, D.A.,: DETECTION OF ANAPLASMA MARGINALE BY MEANS OF FLUORESCENT - LABELED ANTIBODY. AM. J. VET. RES. 28: 924 - 928 (1957).

- (29) RISTIC, M., AND WHITE, F.H.: DETECTION OF AN ANAPLASMA MARGINALE ANTIBODY COMPLEX FORMED IN VIVO. SCIENCE, 131 : 897 - 988 (1960).
- (30) NEITZ W. O. "CLASSIFICACION, TRANSMISION AND BIOLOGY OF PIROPLASMA OF DOMESTIC ANIMALS. SOME PROTOZOAN - DISEASES OF MAN AND ANIMALS: ANAPLASMOSIS, BABESIOSIS AND TOXOPLASMOSIS II. BABESIOSIS. ANN N.Y. ACAD. Sci. 64, 56 - 111, (1956).
- (31) SKRABALO, Z., BABESIOSIS, IN: R.A. MARCIAL-ROJAS (EDITOR), PATHOLOGY OF PROTOZOAL AND HELMINTHIC DISEASES. WILLIAMS AND WILKINS, BALTEMORE, MD., PP 232 - 233 - (1971).