



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Prevalencia de Anticuerpos Séricos contra  
Anaplasma Marginale y Babesia spp en  
Bovinos del Municipio de Huixtla,  
Chiapas.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
Médico Veterinario Zootecnista  
P R E S E N T A :  
MARIA DE LOURDES RAMIREZ GOMEZ

MEXICO, D. F.

1 9 8 3



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**

**PAG.**

RESUMEN.....	2
INTRODUCCION.....	3
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	14
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	21
LITERATURA CITADA.....	24



## RESUMEN

Se determinó la prevalencia de anticuerpos contra Anaplasma marginale y Babesia spp. en el Municipio de Huixtla, Chiapas. Se san graron 291 animales de ganado cebuino al azar de diferentes ranchos.

Los animales se dividieron en 5 grupos con base a su edad:

- Grupo 1: 5 días a menores de 3 meses
- Grupo 2: 3 meses a menores de 9 meses
- Grupo 3: 9 meses a menores de 18 meses
- Grupo 4: 18 meses a menores de 27 meses
- Grupo 5: Mayores de 27 meses

Para el diagnóstico de Anaplasmosis se utilizó la prueba de Fijación de Complemento (F.C.) y para el de Babesiosis la prueba de In munofluoresoencia Indirecta (I.F.I.). En el caso de Babesiosis y con los datos obtenidos, se calculó la probabilidad diaria de infección con base a la fórmula descrita por Mahoney y Ross (14).

Se encontró un 70.10% de sueros positivos a Anaplasma margi-nale y un 77.66% de sueros positivos en Babesia spp. con las pruebas - utilizadas.

La probabilidad diaria de infección para Babesiosis fue de - 0.0034.

Los resultados muestran que la prevalencia de anticuerpos - contra Anaplasma marginale así como contra Babesia spp. es alta, notán dose que a medida que aumenta la edad, aumenta el porcentaje de anima- les positivos.

## INTRODUCCION

Entre las enfermedades transmitidas por garrapatas se encuentran la Anaplasmosis y la Piroplasmosis o Babesiosis que afectan considerablemente la ganadería (16). Además de que esta última es zoonosis (9).

La Anaplasmosis y Babesiosis producen pérdidas tanto en la producción de carne, como en la de leche en el trópico y subtrópico (3). Persistiendo como un problema grave para la ganadería nacional.

Para resolver este problema Osorno y Ristic en 1977 proponen que se debe acentuar el conocimiento sobre la distribución, diagnóstico y control de Anaplasma marginale y Babesia spp., iniciándose así en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarías el proyecto: "Encuesta Serológica Nacional para conocer la prevalencia de Anaplasma marginale y Babesia spp. en México" (18).

El diagnóstico de estas enfermedades es en base a los signos clínicos que presentan los animales afectados, pero se deben hacer pruebas hematológicas y serológicas para confirmarlo.

Durante la infección aguda los cuerpos de inclusión de Anaplasma pueden ser teñidos para su observación al microscopio por varios métodos, el de Giemsa es el más frecuentemente usado. En la tinción con azul de toluidina los eritrocitos pueden ser teñidos sólo 2 o 3 minutos (21), siendo este método útil para detectar Anaplasma.

La tinción de Anaranjado de Acridina (NA) incrementa las posibilidades de visualización de Anaplasma durante un período más prolongado (6).

## PRUEBAS SEROLOGICAS

Estas pruebas se utilizan para detectar animales portadores y son:

Fijación de Complemento (F.C.).

Esta prueba es muy precisa para detectar anticuerpos en contra de Anaplasma (2) (25) y se utiliza para estudios epizootiológicos y de control de Anaplasmosis (7) (10).

Prueba de Aglutinación en Placa.

En esta prueba el antígeno aglutinante de Anaplasma se le permite reaccionar con el anticuerpo del suero sobre la superficie de una placa.

Amerault y Roby en 1968 (1) indican que esta prueba es más aceptable para trabajos de campo que la prueba de F. C.

En el caso de Babesiosis el diagnóstico se basa desde el punto de vista clínico en los signos de la enfermedad, pero es esencial el examen de laboratorio mediante el estudio microscópico del frotis de sangre teñidos con Giemsa (8).

Las infecciones inaparentes o muy leves son muy difíciles de diagnosticar utilizando sangre periférica ya que el nivel de parasitemia es muy bajo y difícil de observar.

Existen dos tipos de muestras para examinar, las laminillas de capa delgada de sangre periférica e improntas de órganos viscerales cuando los animales han muerto.

En caso de *Babesia bovis* el cerebro es el órgano en donde se observa un mayor número de parásitos pues cuando en sangre periférica se encuentra una parasitemia menor de 1% en el cerebro se puede encontrar de 5 - 20% de eritrocitos parasitados (4) (23).

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de Babesiosis -  
son:

Prueba Directa de Inmunofluorescencia (PDI)

Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

Prueba Indirecta Hemoaglutinación (PIH)

Prueba de Fijación de Complemento (FC) (11).

#### Prueba Indirecta Hemoaglutinación (PIH)

Esta prueba se implantó a partir de 1970 con la que se determinó la prevalencia de Babesiosis en diferentes especies animales y en el hombre (17).

#### Prueba Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

Con esta prueba se puede titular la presencia de anticuerpos específicos y es la de mayor exactitud dentro del diagnóstico serológico de la facilidad que presenta de poder obtener el antisuero en forma comercial (17).

En esta prueba (IFI) hay reacciones cruzadas entre B. bigemina y B. bovis, pero sólo en diluciones bajas; con esta técnica se ha corroborado que puede haber animales con títulos bajos y ser resistentes a la infección (5).

#### Prueba Directa Inmunofluorescencia (PDI)

Esta prueba requiere de la preparación de anticuerpos contra babesia, marcados con isotiocionato de fluoresceína. Además, con antígeno que corresponde en este caso a la sangre de animales enfermos de babesiosis. La técnica es de fácil elaboración y el conjugado se vende en forma comercial\* (19).

#### Prueba de Fijación de Complemento (F.C.)

Ha sido utilizada por varios grupos de investigadores para detectar anticuerpos en contra de babesiosis en diferentes especies.

Tiene algunas ventajas, tales como su índice bajo de reacciones de falsos positivos entre 2 y 3% de los casos estudiados (11).

Otra ventaja es la poca purificación necesaria para la preparación de antígenos; sin embargo, se debe utilizar sangre infectada que contenga menos del 60% de parasitemia. En los estudios epizootiológicos se ha usado en México, sin embargo, se prefieren las pruebas descritas anteriormente por considerarse más prácticas y con bajo índice de reacciones falsos positivos (17).

\* Laboratorios Litton de México, S. A.

Aún cuando ambas enfermedades han sido estudiadas durante años, aún no se sabe la prevalencia que éstas tienen en las diferentes regiones del país. Para tal efecto se están realizando muestreos en zonas ganaderas de la República Mexicana.

Este trabajo, se ubico en el Municipio de Huixtla, Chiapas y - pretende determinar la prevalencia de anticuerpos séricos en contra de es tos dos agentes en la zona.

Una determinación del porcentaje de anticuerpos de Anaplasma - marginale y Babesia spp. permite establecer la siguiente relación hipotética a mayor número de anticuerpos mayor grado de protección, con lo que se podrán fijar diferentes niveles que ayudarán a prevenir y controlar am bas enfermedades y proponer las medidas requeridas al caso.

El objeto del presente trabajo es el de determinar la prevalencia de anticuerpos en contra de Anaplasma marginale y Babesia spp. en bovi nos del Municipio de Huixtla, Chiapas por medio de las pruebas serológicas de:

- Inmunofluorescencia Indirecta para diagnóstico de Babesiosis (IFI)
- Fijación de Complemento para diagnóstico de Anaplasmosis (F.C.).

## MATERIAL Y METODOS

Se colectaron sueros en 5 diferentes ranchos del Municipio de Huixtla, Chiapas. La edad fluctuó de 5 días a 8 años de edad y fueron distribuidos de la siguiente forma:

- Grupo 1 Becerros de 5 días a menores de 3 meses
- Grupo 2 Becerros y Novillas de 3 meses a menores de 9 meses
- Grupo 3 Toretas de 9 meses a menores de 18 meses
- Grupo 4 Novillas de 18 meses a menores de 27 meses
- Grupo 5 Vacas mayores de 27 meses de edad

Los animales fueron sangrados con agujas estériles obteniendo se 10 ml de sangre de la yugular por cada animal, la cual se colectó en tubos estériles, una vez separado el coágulo, el suero así obtenido se centrifugó a 1000 g durante 10 minutos. El suero obtenido se dividió - en dos partes y se mantuvo en congelación.

Las pruebas serológicas que se corrieron fueron las siguientes:

- 1.- Fijación de Complemento (F.C.) - Diagnóstico de anticuerpos - específicos en contra de A. marginale (26).

En esta prueba los pozos que presentan del 0 al 50% de hemólisis son considerados positivos.

- 2.- Inmunofluorescencia Indirecta (I.F.I.) - Para el diagnóstico de anticuerpos específicos en contra de Babesia spp.

la cual se realizó siguiendo la técnica descrita por Ponce (20) y modificada en el Departamento de Hemoprotozoarios del I.N.I.P. Es importante mencionar que para evitar inmunofluorescencia inespecífica los sueros se trabajan en una dilución de 1:80.

Para la obtención del número de animales a muestrear se obtuvo una prevalencia aproximada al sangrar 50 animales de la zona y realizar ambas pruebas para posteriormente aplicar la fórmula.

$$n = \frac{Z^2 p q}{D^2}$$

Donde:

Z = Valor de las tablas dado para la distancia de la media de la desviación estandar del area bajo la curva (1.96 para el 95%).

P = Prevalencia estimada

q = Aquellos no afectados

D = Porcentaje de desviación de p permitida (24).

Para determinar la probabilidad diaria de infección en contra de Babesia spp. en bovinos se utilizó la fórmula propuesta en 1972 por Mahoney y Ross (14).

$$I = 1 - e^{-ht}$$

Donde:

I = Incidencia, que equivale al porcentaje de animales infectados.

e = Base del logaritmo natural

h = Tasa de inoculación o probabilidad diaria.

t = Tiempo en días.

Despejando la fórmula para obtener h, tenemos:

$$h = \frac{(1 - I)}{t} e$$

## TECNICA PARA LA PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO\*

Con cada muestra de suero se hace una dilución de 1:5 con Solución Amortiguadora de Veronal (SAV) de pH 7.2 a 7.4, estando hecha la dilución 1:5 se incuba en baño María a 56°C con el fin de inactivar el complemento propio del suero, ya inactivado se pone .025 ml del suero - problema en los pozos de la caja de observación dos pozos por muestra, esta caja consta de pozos nones y pares, ya teniendo el suero se agregan .025 ml del antígeno únicamente en los pozos nones (antígeno proporcionado por el Departamento de Agricultura de los E.E.U.U.A.) posteriormente se agrega .025 ml de SAV a los pozos pares, se incuba en baño María a 37°C durante una hora, al término de esta incubación se agrega el sistema hemolítico a razón de .050 ml a todos los pozos y se vuelve a - incubar una hora a 37°C en baño María.

Se llevan los siguientes controles:

- 1.- Antígeno + Complemento + Sistema hemolítico.
- 2.- Sistema Hemolítico + Complemento.
- 3.- Solución Amortiguadora de Veronal (SAV) + Sistema hemolítico.
- 4.- Suero Positivo + Antígeno + Complemento + Sistema hemolítico.
- 5.- Suero Negativo + Antígeno.
- 6.- Suero Positivo + Complemento + Sistema hemolítico.
- 7.- Suero Negativo + Complemento + Sistema hemolítico.

Los sueros positivos presentan un botón (sedimento de eritrocitos) y los negativos presentan lisis de los eritrocitos.

\* Esta técnica se menciona debido a que se obtuvo de un manual proporcionado por el Departamento de Agricultura de los E.U.A. el cual es difícil de adquirir (26).

## TECNICA PARA LA PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (20)\*

- 1.- Descongelar el antígeno (frotis con parasitemia del 5%) en una cámara de desecación con sílica durante 15 minutos.
- 2.- Fijar el frotis del antígeno (Babesia) en acetona durante 5 minutos - dos veces.
- 3.- Hacer 4 círculos sobre el frotis (antígeno) con un lápiz de pintura - de aceite.
- 4.- Colocar los sueros testigos diluidos 1:80 (+) y (-) uno en cada círculo y el suero problema diluido 1:80 en solución amortiguadora de fosfato (PBS) pH 7.2 y con su debida identificación en uno de los círculos restantes; el cuarto círculo será el control del conjugado.
- 5.- Colocar el frotis en cámara húmeda e incubar a 37°C durante 20 minutos.
- 6.- Lavar en PBS pH 7.2 durante 5 minutos 2 veces.
- 7.- Lavar con agua destilada durante 5 minutos una vez.
- 8.- Dejar secar frente a una fuente de aire o a temperatura ambiente.
- 9.- Colocar en cada círculo suero conjugado de conejo antigamaglobulina - de bovino\* en los cuatro círculos.
- 10.- Colocar el frotis en cámara húmeda e incubar a 37°C durante 30 minutos en oscuridad.
- 11.- Lavar en PBS pH 7.2 durante 5 minutos dos veces.
- 12.- Lavar en agua destilada durante 5 minutos una vez.
- 13.- Dejar secar frente a una fuente de aire a temperatura ambiente.
- 14.- Colocar una gota de glicerina 1:10 diluida con PBS pH 7.2 en cada círculo (9 partes de glicerina + 1 parte PBS pH 7.2).
- 15.- Colocar un cubreobjeto cuidando que la glicerina se extienda uniformemente dentro de los círculos.

\* Cappel Laboratories. Cochranville, PA. 19330 U. S. A.

16.- Fijar el cubreobjeto con esmalte transparente.

17.- Observar al microscopio de luz ultravioleta utilizando el objetivo de inmersión.

NOTA: Diluciones menores a 1:80 pueden dar reacción falsa positiva.

## RESULTADOS

En el cuadro I se puede observar que a medida que aumenta la edad aumenta el porcentaje de animales positivos. En el grupo de animales de 5 días a menores de 3 meses el porcentaje es de 77.33% de reactores positivos; en los animales de 3 meses a menores de 9 meses se obtuvo un 63.49% de reactores positivos; en animales de 9 meses a menores de 18 meses es de 69.64%; en los de 18 meses a menores de 27 meses es de 58.96% y en los animales con una edad mayor de 27 meses el porcentaje de reactores positivos es de 69.11%, obteniendo un promedio de 70.10%.

De la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta en los 291 animales se obtuvieron los siguientes resultados que se pueden observar en el cuadro número 2. De los animales de 5 días a menores de 3 meses se obtuvo un 70.66%, en los de 3 meses a menores de 9 meses un 65.65%, el grupo de 9 meses a menores de 18 meses se obtuvo un 85.71%, de 18 meses a menores de 27 meses un 89.65%, y en los animales mayores de 27 meses 83.82%, siendo el promedio de 77.66%.

En la gráfica número 1 están los resultados de la prevalencia de anticuerpos específicos de Anaplasma marginale representados en porcentajes, se observa que la prevalencia general de anticuerpos específicos es de 70.10%.

En la gráfica número 2 se observa la prevalencia de anticuerpos específicos en contra de Babesia spp. que fue de 77.66%.

En el cuadro numero 3 se presentan los resultados obtenidos de la probabilidad diaria de infección en contra de Babasia spp. que fueron:

Animales de 5 días a menores de 3 meses	0.0258
Animales de 3 meses a menores de 9 meses	0.0061
Animales de 9 meses a menores de 18 meses	0.0048
Animales de 18 meses a menores de 27 meses	0.0035
Animales de más de 27 meses	0.0022

teniendo como promedio una probabilidad diaria de infección de 0.0034.

## C U A D R O I

PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO (F.C.) PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS  
EN CONTRA DE ANAPLASMOSIS BOVINA.

E D A D	No. de Animales	No. de Positivos	%
5 días a menores de 3 meses	75	58	77.33
3 meses a menores de 9 meses	63	40	63.49
9 meses a menores de 18 meses	56	39	69.64
18 meses a menores de 27 meses	29	20	68.96
Mayores de 27 meses	68	47	69.11
T O T A L	291	247	70.10

Prevalencia General de 70.10%.

## C U A D R O 2

PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI) PARA LA DETECCION DE ANTICUER-  
POS EN CONTRA DE BABESIOSIS BOVINA.

E D A D	No. DE ANIMALES	No. DE POSITIVOS	%
5 días a menores de 3 meses	75	53	70.66
3 meses a menores de 9 meses	63	42	66.66
9 meses a menores de 18 meses	56	48	85.71
18 meses a menores de 27 meses	29	26	89.65
Mayores de 27 meses	68	57	83.82
T O T A L	291	226	77.66

Prevalencia General de 77.66%.

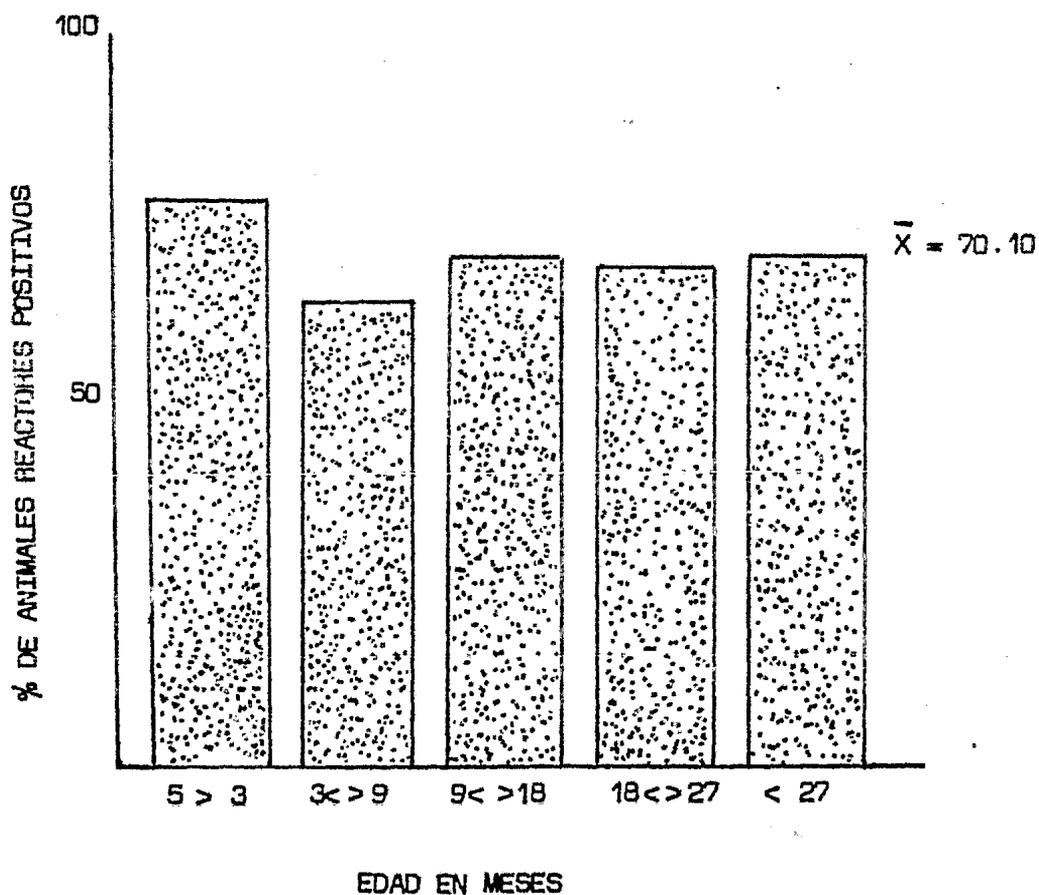
## C U A D R O 3

REACTORES POSITIVOS Y PROBABILIDAD DIARIA DE INFECCION EN CONTRA DE Babesia spp. EN ANIMALES DE RAZA CEBUINA.

E D A D	$\bar{X}$ EDAD DIAS	No. DE ANIMALES	No. DE POSITIVOS	% POSITIVOS	PROB. DIARIA
5 días a menores de 3 meses	47.5	75	53	70.66	0.0252
3 meses a menores de 9 meses	180	63	42	66.66	0.0061
9 meses a menores de 18 meses	405	56	48	85.71	0.0049
18 meses a menores de 27 meses	675	29	26	89.65	0.0023
Mayores de 27 meses	810	68	57	83.82	0.0022
T O T A L	428.7	291	226	77.66	0.0034

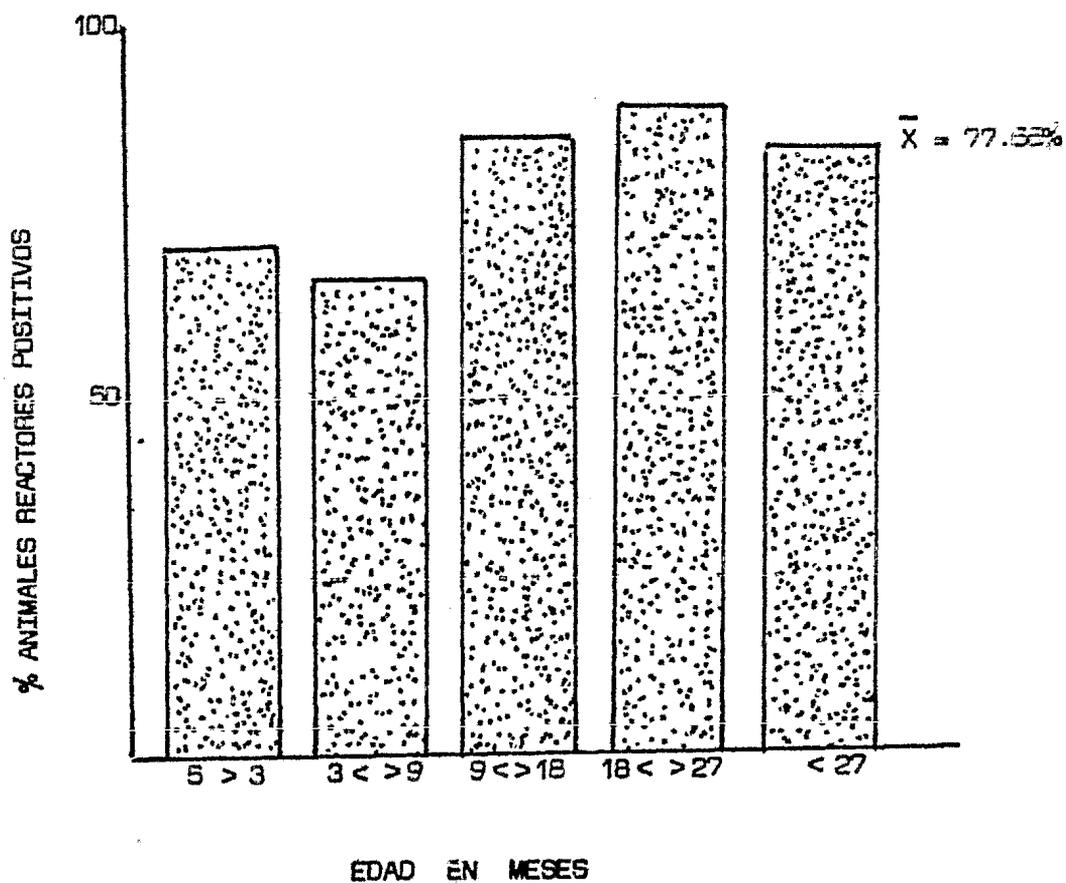
## G R A F I C A 1

PORCENTAJE DE ANIMALES CON ANTICUERPOS EN CONTRA DE Anaplasma marginale POR MEDIO DE LA PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO (F.C.).



## G R A F I C A 2

PORCENTAJE DE ANIMALES CON ANTICUERPOS EN CONTRA DE Babesia spp. POR MEDIO DE LA PRUEBA DE INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA (IFI).



## DISCUSION

En el presente estudio se observaron prevalencias de anticuerpos séricos en contra de Anaplasma marginale y Babesia spp. del 70.10% y 77.66% respectivamente.

Los valores aquí obtenidos en el caso de Anaplasmosis son mayores a los encontrados por López (12, 13) en los Municipios de Villa Comaltitlán, Chiapas (33.6%) y Playa Vicente, Veracruz (39.9%), así también como los encontrados por Ortega (15) en el Municipio de Hueytamalco, Puebla que fueron de 32.7% trabajando con animales de las mismas características.

En cuanto a babesiosis, los resultados de este trabajo también muestran una mayor incidencia comparando a los obtenidos en el Municipio de Playa Vicente, Ver. por López et al. en 1981 (13), en el que se obtuvo una prevalencia de 51.6% y en el Municipio de Villa Comaltitlán, Chiapas, donde encontró sólo un 12.4% de reactores positivos (12). Ortega (15) en el Municipio de Hueytamalco, Puebla obtuvo el 70.98% de animales con Acs. en contra de Babesia spp.

La Gráfica número 1 muestra los porcentajes de reactores positivos de Anaplasma marginale según la edad de los animales. Se puede observar que existe un decremento de los animales positivos en el segundo grupo para posteriormente incrementarse según la edad va avanzando. Esto es debido a que el primer grupo se detectan anticuerpos adquiridos a través del calostro (22).

En la gráfica número 2 se puede observar el porcentaje de re-actores positivos a Babesia spp. Se observa que en animales de 5 días a menores de 3 meses existe un alto porcentaje de animales positivos - (70.66%) disminuyendo en el segundo grupo posiblemente debido a la pérdida de inmunidad pasiva, en los siguientes grupos se observa un aumento paulatino conforme aumenta la edad, excepto en el grupo de animales mayores de 27 meses que disminuye.

Comparando los resultados del cuadro número 1 (porcentaje de reactores positivos en contra de Anaplasma marginale), se observa el aumento de animales positivos, de los 3 meses a menores de 9 meses, de 9 meses a menores de 18 meses, mayores de 18 meses a menores de 27 meses y mayores de 27 meses, siendo éstos de 63.49%, 69.64%, 68.96% y 69.11% respectivamente. En el grupo número uno el porcentaje de reactores positivos es mayor (77.33%), debido a la inmunidad pasiva adquirida por el calostro. El promedio de prevalencia obtenido es del 70.10%.

En un estudio hecho por Mahoney y Roos (14) se observó que si el porcentaje de animales infectados era del 100% al destete (9 meses - de edad) la Babesiosis era estable. Cuando la probabilidad de un hato se encontraba entre 0.0005 y 0.005, estos animales se situaban dentro del grupo de mayor riesgo asociado a un brote de la enfermedad como fue en este caso.

Los resultados de la tasa diaria de inoculación (h) de Babesiosis de 0.0034 en promedio de los 5 grupos, esto es, que la probabilidad de que un bovino sea infectado con Babesia en un día es de 3.4 en 1000 animales. Estos resultados podrían indicar el momento y el lugar

adecuado para llevar a cabo actividades relacionadas con el control de la Babesiosis bovina, después de haber realizado varias pruebas del mismo grupo de animales y en diferentes épocas del año. Se observó que la probabilidad diaria de infección disminuye conforme aumenta la edad y por lo tanto la susceptibilidad a padecer la enfermedad por los animales no infectados aumenta, si estos llegan a ser infestados por garrepatas infectadas.

Por lo tanto las recomendaciones para la zona fueron las siguientes:

- 1.- Premunizar el ganado que llegue de zonas libres debido a que es una zona con prevalencia alta a Babesiosis y Anaplasmosis.
- 2.- Bañar periódicamente al ganado con concentraciones adecuadas de garrepaticidas para controlar la incidencia de estos parásitos en el área.
- 3.- Evitar en el ganado situaciones que precipiten la presentación de casos agudos como:

Movimientos de ganado.

Cambios de temperatura.

Sequias prolongadas.

Procesos infecciosos virales o bacteriales agudos.

## LITERATURA CITADA

- 1.- Amerault, T. E. and Roby, T. O.: A rapid card agglutination test for bovine anaplasmosis. J. Am. vet. med. Ass., 153: 1828-1834 (1968).
- 2.- Angeloski, T. and Tomcova, O.: Bovine Anaplasmosis in Macedonia, - Vet. Glasnik, 17: 323-328 (1963).
- 3.- Beltrán, L. G.: Campaña Nacional contra la garrapata. Sumario sobre ectoparásitos en CIAT. Cali, Colombia, 1976.
- 4.- Callow, L. L and Mellors, L. T.: A new vaccine for Babesia argentina infections prepared in splenectomized calves. Aust. vet. J., 42: - 464 (1966).
- 5.- Callow, L. L., McGregor, W., Parker, R.J. and Dalgliesh, R. J.: The immunity of cattle to Babesia argentina after drug sterilization of infections of varying duration. Aust. vet. J. 50: 6 (1974).
- 6.- Gainer, J. H.: Demonstration of Anaplasma marginale with the fluorescent dye, acridine orange. Comparisons with the complement fixation test and Wright's Strain. Am. J. vet. Res. 22: 822-886 (1961).
- 7.- Heek, F. C., Huff, J. W. and Franklin, T.E.: Anaplasma marginale a parasite of bovine erythrocyte. Southwestern Vet., 14: 122-124 - (1961).
- 8.- Hoyte, H. M. D.: Differential diagnosis of Babesia argentina and Babesia bigemina infections in cattle using their blood Smears and - Brain Smears. Aust. vet. J., 47: 248 (1971).
- 9.- Kreier, J. P. and Ristic, M.: Anaplasmosis XII. The growth and survival in deer and sheep of the parasites present in the blood of - calves infected with the Oregon strain of Anaplasma marginale. Am. J. vet. Res., 24: 597-702 (1963).

- 10.- Kuttler, K. L.: Comparisons of Complement fixation and capillary tube agglutinations test for detection of bovine Anaplasmosis. J. Am. vet. med. Ass. 143: 729-733 (1963).
- 11.- Kuttler, K. L., Adams, L. G. and Todorovi, R. A.: Comparisons of the complement fixation and fluorescent antibody reactions in the detection of bovine babesiosis. Am. J. vet. Res., 38: 153 (1977).
- 12.- López, F. "Prevalencia de anticuerpos en contra de Anaplasmosis y Babesiosis en Villa Comaltitlán, Chiapas". Tesis Profesional UNAM (1982).
- 13.- López, F., Cantó, G. J. y Fajardo, J.: Prevalencia de anticuerpos séricos en contra de A. marginale y Babesia spp. y probabilidad diaria de infección de Babesia spp. en bovinos del Municipio de Playa Vicente, Veracruz, Tec. Pec. Mex., 44 (1983) (En prensa).
- 14.- Mahoney, D. F. and Roos, D. R.: Epizootiological factor in the control of bovine babesiosis. Aust. vet. J. 48: 292-298 (1972).
- 15.- Ortega, O. L. "Prevalencia de anticuerpos contra Anaplasma marginale y Babesia spp. en bovinos de la raza suizo pardo y cebú en clime A.F. (c). Tesis Profesional U.N.A.M. Cuautitlán, 1982.
- 16.- Osorno, M. y Solana, P.: Aislamiento e identificación de Babesia equi y Babesia caballi en caballos en México. Tec. Pec. Méx., 20: 41-44
- 17.- Osorno, M. y Vega, C.: Presencia de Babesiosis en vacunos, perros, - borregos, caballos y humanos en el Municipio de Hueytamalco, Puebla. Resúmenes XII Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarías. México, D. F. (1975).
- 18.- Osorno, M. y Ristic, M.: Anaplasmosis bovina con énfasis en control y diagnóstico, distribución de la enfermedad en México y uso de una vacuna atenuada de A. marginale. Veterinaria México. 8: 85-98 (1977).

- 19.- Osorno, M.: Babesiosis en México. Veterinaria-México. IX (4): 203-217 (1978).
- 20.- Ponce, L. I.: Determinación de la probabilidad diaria de infección Babesia spp. de un hato de bovinos en el Centro Experimental Pecuario de Tizimin, Yuc. Tesis Profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M. (1979).
- 21.- Rodgers, T. E. and Wallace, W. R.: A rapid staining Technique for - Anaplasma. Am. J. vet. Res. 27: 1127-1132 (1966).
- 22.- Roos, J. P. J. and Lohr, K. F.: Transfer and persistence of antibodies to Babesia bigemina and Anaplasma marginale via the calostrum. Z. tropenmed Parasitol., 21: 401 (1970).
- 23.- Smith, R., Osorno, M., Brener, J., De la Rosa, R. and Ristic, M.A.: Bovine babesiosis severity and reproductibility of Babesia bovis infections induced by Boophilus microplus under laboratory conditions. Res. Vet. Sci., 24: 287-292 (1978).
- 24.- Snedecar, W. G., and Cochran, G. W.: Statistical Methods. 5<sup>o</sup> Ed. The Iowa State University Press, 1967.
- 25.- Stepanova, N. I.: Experiment in the use of R. S. K. for diagnosis - of Anaplasmosis and Anaplasma. Tr. Uses Inst. Eskesperim. Vet. Uses. Akad. Sel Kokhos Nauk. 24: 153-159 (1961).
- 26.- U.S.D.A. s/a, A microtiter technique for the complement test for - anaplasmosis. U. S. Department of Agriculture, Beltsville, Maryland.