



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PREVALENCIA DE ANAPLASMOSIS Y BABESIOSIS
EN BOVINOS EN EL MUNICIPIO DE VILLA
COMALITLAN, CHIAPAS.

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

ASESOR:

M.V.Z. , M. Sc., Ph.D. MIGUEL B. OSORNO ESCAREÑO



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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

C O N T E N I D O .

- I. RESUMEN
- II. INTRODUCCION
- III. MATERIAL Y METODOS
- IV. RESULTADOS.
- V. DISCUSION
- VI. CONCLUSIONES
- VII. BIBLIOGRAFIA

RESUMEN .

Con el objeto de determinar la prevalencia de anticuerpos en contra de Anaplasma marginale y Babesia en el municipio de Tititlán Chiapas (Zona enzoótica) se realizó estudio: al azar 250 cabezas de ganado cebú (Indobrasil y edentes) de 5 ranchos distribuidos en el municipio; de estos hicieron grupos en base a su edad, (an de los 5 años a los 8 años de edad).

Las pruebas serológicas utilizaron fijación de Complemento (F.C.) para el de anticuerpos (A. - - marginale e Inmunofluorescencia I.F.) para el de anticuerpos en contra de Babesia sp.

Los resultados obtenidos que la presencia de anticuerpos en contra de Anaplasma marginale y de Babesia spp. Los porcentajes fueron de 33.60 % marginale y de Babesia spp. Esto indica que fácilmente se registró la presencia de anticuerpos en la mayoría de la zona.

Se comprobó la inmunidad a través de animales lactantes, así como en la misma en animales destetados.

INTRODUCCION.

Las enfermedades transmitidas por garrapatas y por otros artrópodos que afectan a las especies domésticas se consideran de gran importancia económica⁵⁸, y de importancia en zoonosis en el caso de babesiosis²⁴. En México las principales enfermedades transmitidas por garrapatas a los animales domésticos son la Anaplasmosis y Babesiosis. Estas dos enfermedades en la actualidad se encuentran difundidas en todo el territorio nacional, encontrándose una mayor incidencia en el trópic y subtropical del país. Estas enfermedades son poco conocidas en las áreas del país donde no existe el vector biológico.

Desde hace tiempo la Anaplasmosis y la Babesiosis han despertado gran interés por parte de los productores de carne y leche en los trópicos así como de los investigadores de los Centros de diagnóstico y de las autoridades correspondientes al sector agropecuario, ya que se considera que estas dos enfermedades son unas de las limitantes más importantes para la introducción de razas especializadas para la producción de carne y leche en zonas en donde se encuentra una gran cantidad de forraje, es decir, el trópic y subtropical del país, zonas donde encontramos el vector más importante de estas dos enfermedades. Se calcula que hay una pérdida anual de 3,687 millones de pesos anuales por causa de Babesia spp y Anaplasma marginale.⁶

ANAPLASMOSIS.

Definición.

La Anaplasmosis es una enfermedad infecciosa y transmisible en bovinos, se caracteriza por anemia progresiva asociada con la aparición de cuerpos de inclusión dentro de los eritrocitos, estos cuerpos fueron denominados como Anaplasma. El término Anaplasma fué usado para indicar que el agente estaba sin citoplasma, esto se había establecido con anterioridad por los investigadores que indicaron que el organismo consistía de un cuerpo compacto de cromatina^{82,73}. El término "marginale" se refiere a la localización periférica del organismo en los eritrocitos. La Anaplasmosis causada por A. marginale ha sido reconocida económicamente como una enfermedad importante por más de medio siglo, en las explotaciones bovinas de los climas tropicales y subtropicales del mundo^{74,1,23}.

Existen otros dos agentes causales de la Anaplasmosis bovina y son Anaplasma centrale y Paranaplasma caudata.

CLASIFICACION DEL ANAPLASMA⁶⁹.

ORDEN	
FAMILIA	Anaplasmatidae
GENERO	Anaplasma
ESPECIES	marginale centrale ovis.

HISTORIA.

Smith y Kilborne, 1893⁷⁸, estudiando eritrocitos de bovino infectado con babesia, observaron que dentro de éstos se encontraban cuerpos en forma cocoide, algunos en posición marginal y estos autores los consideraron como estadios del ciclo de vida del parásito.

Thailler demostró que la anaplasmosis era una enfermedad diferente y al agente causal lo denominó Anaplasma marginale. Sin tener el conocimiento preciso sobre la naturaleza de este organismo y en vista de que algunos signos clínicos eran iguales a los de la piroplasmosis, y se pensó que anaplasma también era un protozoa sanguíneo⁸². Un entendimiento más definitivo de su estructura se obtuvo con los estudios de Rig-
tic en 1930⁷⁰, los cuales revelan que las subunidades del cuerpo marginal son precisamente los agentes etiológicos de la anaplasmosis, y que la habilidad inicial de este cuerpo para invadir eritrocitos maduros y multiplicarse dentro de ellos por división binaria permite la formación de un cuerpo de inclusión marginal^{72, 73, 60}.

DISTRIBUCION.

La enfermedad es de distribución mundial y ha sido enzootica en gran parte de los Estados Unidos, México, Centro y Sudamérica⁷².

La enfermedad es más frecuente en los lugares donde abundan los vectores: moscas, moscos y garrapatas¹⁸.

A fin de valorar la importancia de esta enfermedad, se programó un estudio para determinar la incidencia de esta enfermedad en México⁵⁸; el país se dividió en cuatro zonas, dentro de las cuales la zona norte presentó la menor incidencia 7.9% de reactores positivos. La zona del altiplano presentó 25.9%. La zona costera del Golfo presentó 51.4% y la zona costera del Pacífico 14.6%, como se puede apreciar el mayor porcentaje proviene de la costa del Golfo. En las zonas donde no se ha controlado la presencia de la garrapata del género Boophilus, la incidencia es mayor. Es muy importante el saber o aclarar que aunque la erradicación de garrapatas fuese total, la incidencia de anaplasmosis persistiría, ya que existen otro tipo de vectores muy difíciles de controlar.

ASPECTOS EPIZOOTIOLÓGICOS.

Aspectos clínicos y patología de A. marginale.

Animales susceptibles.- La anaplasmosis ha sido observada frecuentemente en especies del género Bos taurus y Bos indicus. Además de los bovinos esta enfermedad se presenta en otros ruminantes como antílopes, búfalos, camellos, venados, ovejas, cabras, etc., aunque estos últimos casi nunca desarrollan la enfermedad de curso grave y fatal¹⁸.

El período de incubación oscila entre 20 y 40 días y hay cuatro formas de la enfermedad: leve, subaguda, aguda y crónica, recordando que estos términos sólo indican variaciones en severidad y duración de la misma. La transmisión es por garrapatas (Boophilus annulatus, B. microplus, Ixodes, Dermacentor, Amblyoma y Haemaphysalis, moscas de la familia tabanidae y la transmisión mecánica por instrumentos quirúrgicos

Forma leve o benigna.- Suele presentarse en becerros; la sintomatología general, poco intensa, consiste en: tristeza, ligero onflaquecimiento, pelo erizado, pulso ligeramente acelerado.

Forma sobreaguda.- Predomina sobre animales adultos presentando depresión física y fiebre elevada. El hato suele aparecer afectado del 50% al 75% de los animales, con mortalidad de más del 30%.

Forma aguda.- Se caracteriza por debilidad general, fiebre, ictericia, anoxia, anorexia, anemia, disnea, incoordinación, postración y muerte, en un brote el 50% del hato llega a morir.

Forma crónica.- Es simplemente la continuación de un ataque agudo en el que los eritrocitos descienden en un 40 al 80% del hematocrito normal, se caracteriza por poca fiebre, anorexia, sed intensa, emaciación, ictericia acentuada y el restablecimiento total requiere de por lo menos 2 a 4 meses.

En los bovinos de zonas libres llevadas a zonas infectadas, las pérdidas por muertes pueden llegar a ser del 50 al 80%, en cambio, - en los originarios de zonas endémicas la enfermedad sólo causa de 10 a - 20% de muertes debido a que generalmente los animales tienen inmunidad adquirida desde una temprana edad.

En la necropsia se observa edema gelatiniforme del pecho y cuello, debido a cambios en la permeabilidad vascular, ictericia intensa a causa de la disminución de eritrocitos y hemoglobina en circulación, el hazo puede aumentar hasta dos veces su tamaño normal por el excesivo trabajo hematopoyético, se distinguen pequeñas hemorragias subpericárdi-

cas debido a la ruptura de capilares y degeneración del miocardio; la vesícula biliar aparece dilatada y llena de bilis de color verde oscuro y espesa^{35,36},

DIAGNOSTICO.

El diagnóstico clínico se hace basándose en el estado general del animal y signos de la enfermedad, aunque todos estos datos son - bastante precisos para diagnosticar la anaplasmosis, esta debe confirmarse mediante el diagnóstico de laboratorio, por un frotis sanguíneo para su estudio microscópico con diferentes tinciones: Wright, Azul de Metileno, Giemsa⁷¹, Acridina²⁹.

Para estudios más detallados de la enfermedad se recomiendan pruebas serológicas tales como: Prueba de fijación de complemento³⁰, tubo capilar⁶⁸ y prueba de aglutinación en placa².

PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO (F.C.)

Desde que comenzó a usarse (hace aproximadamente 19 años), ha demostrado ser muy precisa para detectar portadores de Anaplasma³⁰. La prueba de F. C. ha sido utilizada en estudios epidemiológicos y control de Anaplasmosis^{4,69}, presentando rangos del 26 de falsos positivos,

PRUEBA CAPILAR DE AGLUTINACION (A.C.)

Esta prueba fue desarrollada por Bistric en 1962⁷², y se si-

Los resultados de las pruebas de F. C. y A. C. hechas en sueros de animales sospechosos de anaplasmosis se correlacionan de un 90 al 100%. En un estudio en donde pequeñas dosis del inóculo fueron - usados, la prueba de A. C. fué positiva a los 30 días después de la ingulación y de 2 a 5 días después de haber resultado positivas a las pruebas de F. C.⁸¹.

PRUEBA DE AGLUTINACION EN TARJETA.

Esta prueba es una modificación de la prueba de A. C. en la cual el antígeno aglutinante de *Anaplasma* reacciona con el anticuerpo específico del suero sobre una placa o tarjeta. Amerault y Roby² en 1960, indican que esta prueba es más aceptable para trabajos de campo - que la de F. C. y A. C.

PROFILAXIS.

Existen dos tipos de vacunas una inactivada y otra atenuada,

La vacuna inactivada fué desarrollada por Brock y Kliewer en 1960¹¹, se presenta liofilizada y es elaborada a partir de sangre de bovino infectada con organismos de *Anaplasma marginale* muertos. Esta vacuna se mezcla con una emulsión de aceite y agua antes de ser usada. Se recomienda la vacunación y revacunación teniendo por lo menos seis semanas de intervalo. De acuerdo a los que elaboraron la vacuna, ésta incrementa la resistencia de los animales en contra de la anaplasmosis en forma clínica y previene la muerte de éstos cuando se desafían con dosis de -

Esta vacuna fué estudiada por Fernández y Lora²⁵ en 1966, utilizando 15 bovinos de la raza Aberdeen Angus los cuales fueron vacunados dos veces con intervalo de seis semanas, usando 2 ml de vacuna por animal en cada vacunación, 68 días después los animales fueron desafiados con 4 ml de sangre de un bovino portador de Anaplasma marginale, - ocho de los animales murieron a consecuencia del desafío.

La eficacia de esta vacuna no ha sido confirmada por ningún investigador independiente. La vacuna se vende en U.S.A. con una Li cencia especial; sin embargo, algunos países no han autorizado su venta.

Además de la aparente baja protección que confiere este - producto se han reportado los riesgos que presenta el uso de la misma pa - ra los becerros nacidos de vacas vacunadas con este biológico. En 1973 Stormont⁸⁰ puso de manifiesto que esta vacuna produce una gran cantidad de anticuerpos en contra de la sangre y cuando estos anticuerpos son ingeridos por los becerros en el calostro, se puede presentar eritroblastosis de curso fatal. Informaron como evidenciación adicional la producción de isocitrolisis en becerros, cuando la vacuna inactivada (ANAPLAZ). Dicho investigador informa que más de 20,000 becerros se han perdido en U.S.A. por la vacunación.

VACUNA ATENUADA DE Anaplasma marginale.

En 1958 Ristic et al¹²⁴, desarrollaron una vacuna atenuada para prevenir la Anaplasmosis adaptando una cepa virulenta de anaplasma proveniente de Florida, U.S.A., a un hospedador diferente a los bovinos; más específicamente la vacuna consiste en la adaptación de una cepa de - Anaplasma a borregos y cabras,

En México se evaluó la inocuidad y potencia en experimentos controlados⁵⁷. Se usaron 42 animales de razas especializadas en producción de leche y carne, se desafió a los animales 6 meses después de la vacunación. La dosis de desafío se encontraba congelada en Nitrógeno líquido y tenía la potencia suficiente para matar por lo menos el 50% de bovinos adultos susceptibles.

En el experimento de campo el 30% de los animales testigos desarrollaron anaplasmosis y fué necesario administrarles tratamiento terapéutico. Los animales vacunados no enfermaron y mostraron un mayor incremento de peso corporal durante los 12 meses del experimento.

B A B E S I O S I S .

Definición.- La babesiosis es una enfermedad infecciosa de distribución mundial que afecta a diversos animales domésticos, salvajes y al hombre⁶⁴.

Sinonimias.- La babesiosis bovina o piroplasmosis antiguamente fué conocida como fiebre de Texas, aguas rojas, derrengadera, etc³⁵.

H I S T O R I A .

Este parásito fué observado y descrito por primera vez - en sangre de ganado bovino y ovino por Babes en 1888⁸ en Rumanía, por lo que se le denominó a este parásito Babesia bigémina y fue el primer protozoario en el que se observó transmisión por vectores artrópodos⁷⁰.

Posteriormente en 1695 Piana y Galli-Valerio⁵⁹ dieron a conocer las primeras informaciones de B. canis en perros. En 1910, - Nutall y Strickland⁵² observaron dos tipos de babesia en caballos a las que se les nombró Babesia caballi y Babesia equi o Nutalli equi.

Babesia en humanos ha sido reportada por varios investigadores^{79, 64, 53}.

AGENTES ETIOLOGICOS.

ticos de mamíferos, los cuales no producen hemosina siendo este género el más importante dentro de la familia Babesidae⁵⁶. Su reproducción es asexual por división binaria o esquizogonia dentro de los eritrocitos del huésped^{34, 85}.

Babesia bigemina es un parásito que mide aproximadamente de 4 a 5 μ de largo por 2 a 3 μ de ancho, este protozooario se encuentra dentro de los eritrocitos de bovinos infectados, teniendo forma muy variable se pueden observar redondos, ovales o de forma irregular, los pares unidos en ángulo agudo son típicos.

Babesia bovis es un parásito pequeño que mide aproximadamente de 2.4 μ de largo y 1.5 μ de ancho, encontrándose también dentro de los eritrocitos de la sangre de bovinos infectados, este protozooario tiene forma de pera y ocupa una situación submarginal en los eritrocitos⁷⁸.

ASPECTOS CLINICOS.-

La enfermedad tiene un periodo de incubación que oscila entre 7 y 10 días⁴⁷, y se caracteriza por presentar temperatura elevada (40°C a 42°C), anemia, ictericia, taquicardia, hemoglobinuria, el número de glóbulos rojos puede bajar hasta 1,5 millones por mililitro cúbico, la defecación al principio es retardada; más tarde sobreviene diarrea mucosa o sanguinolenta.

La transmisión de babesia dentro de las garrapatas se lleva a cabo de dos formas: Transovárica y Trans-estadio; en la primera la garrapata adulta transmite la infección a su descendencia por vía

ovárica, saliendo los huevecillos ya infectados. En la segunda forma, la transmisión se realiza de larva a ninfa y de ninfa a garrapata adulta.

La infección de los vertebrados se realiza por esporozoitos o formas infectantes procedentes de las glándulas salivales de las garrapatas, aparentemente los esporozoitos penetran directamente a los eritrocitos donde dan lugar al trofozoito el cual se multiplica (se desconoce la naturaleza exacta del proceso) dando lugar a dos merozoitos, los cuales abandonan el eritrocito y pasan al torrente sanguíneo donde infectan a otros eritrocitos.

Cuando la garrapata se alimenta con sangre infectada los eritrocitos son digeridos en el intestino y aparentemente sólo una parte de los parásitos presentes y liberados por la digestión están en disposición de continuar su ciclo. Se ha informado de formas de anillos - que invaden las células del epitelio intestinal y dan lugar a formas de cigarro a las que se ha atribuido constituir las formas que se reproducen sexualmente. Estos dan lugar a formas de masa (denominadas vermicúlos) los que aparecen en la hemolinfa de la garrapata de 3 a 5 días después de que la garrapata se ha desprendido del hospedador. Estos vermicúlos son capaces de infectar diferentes órganos de las garrapatas incluyendo los ovarios a donde pasan a infectar la siguiente generación - de larvas²⁰.

DIAGNOSTICO.-

Durante la fase aguda de la enfermedad, los organismos - pueden ser detectados por el examen al microscopio de un frotis sangui-

Los antígenos solubles derivados de la sangre de animales infectados ha sido usado en varias pruebas serológicas para el diagnóstico de babe. Estas pruebas incluyen fijación de complemento⁴⁸, hemoaglutinación directa²⁸, aglutinación en tubo capilar¹⁶, inmunofluorescencia^{38, 26} y precipitación en gel²⁷.

Basándose en estudios de campo y estudios de laboratorio, la prueba de inmunofluorescencia indirecta parece ser la de más amplia difusión en las pruebas serológicas. Una evaluación de precisión de la prueba de inmunofluorescencia indirecta para detectar anticuerpos contra B. argentina mostró un indicador confiable³⁹, esta prueba tiene un índice de seguridad de Durridge y Kimber⁵ en 1973 introdujo el método de frotis de parasitación con Babesia spp para la detección de anticuerpos mediante prueba de inmunofluorescencia indirecta. Ellos sugieren esta técnica para los estudios epizootiológicos sobre ganado infectado con B. big

INMUNIDAD .-

La persistencia de una inmunidad sólida en contra de babesiosis depende del mantenimiento del agente causal en la sangre. La presencia de organismos tejidos en un estado metabólicamente activo aparentemente proporciona estímulo antigénico necesario para el continuo mantenimiento de linfocitos humorales y celulares de defensas¹⁶. Los sueros de los animales convalescientes son activos en las pruebas de precipitación, aglutinación, fijación de complemento y anticuerpos fluorescentes. El papel de los anticuerpos séricos en la protección es indicada por siguientes observaciones:

- 1.- La concentración de anticuerpos específicos usualmente cae debajo de los niveles detectables antes de la enfermedad⁷⁵.
- 2.- La transferencia de inmunidad pasiva a partir de la madre a la cría toma lugar por la vía de anticuerpos calostrales⁷⁷.
- 3.- Un retardo en el impulso inicial de la parasitemia ocurre si al animal receptor se le administra antisuero específico al mismo tiempo de la infección⁴⁶.

De acuerdo con los autores estos hallazgos proporcionan una explicación de la resistencia natural de los becerros a la infección de Babesia como es observado en el campo. La edad de resistencia, sin embargo no puede ser excluida, no hay diferencia en susceptibilidad y la enfermedad que sigue a la inoculación con B. divergens se detectó entre los 2 meses y los 6 años de edad del ganado[?].

Una inmunidad protectora estéril seguida a la eliminación de B. bigemina y B. argentina por quimioterapia ha sido demostrada por varios investigadores^{44, 13}.

Lohr⁴⁴ en 1972 diseñó un experimento en el que 6 de los animales que fueron inicialmente positivos en la prueba de fluorescencia indirecta se hicieron negativos a la misma, 6 meses después del tratamiento. El decremento en los títulos de anticuerpos fluorescentes no fue asociado con la baja en la inmunidad protectora, esto puede ser debido a que tales animales poseían una habilidad para generar rápidamente una cantidad de anticuerpos protectores siguientes a la reinfección o que la protección depende más de inmunidad celular que de inmunidad -

La inmunidad adquirida por la infección durante el momento del nacimiento a los 8 meses de edad parece persistir por largos períodos en la ausencia de reinfección^{49, 75}.

Cambios antigénicos en B. argentina han sido demostrados - usando la prueba de aglutinación de eritrocitos parasitados¹⁴, con organismos colectados de animales que sufrieron recaídas¹⁵. Cuando estas recaídas parasitarias son transmitidas a través de la garrapata B. microplus, las babesias se convierten en un tipo antigénico común, el cual puede sin embargo, ser una cepa específica. Evidencias preliminares con otras babesias aportan la existencia de un fenómeno similar^{63, 61}. La prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes fué usada para analizar las relaciones antigénicas entre Babesia argentina y dos parásitos de malaria humana - Plasmodium falciparum o P. vivax⁴³, observándose reacciones cruzadas entre P. falciparum y Babesia argentina. En otro experimento algunas personas infectadas con P. falciparum o P. vivax se les encontró anticuerpos contra B. argentina. Varias explicaciones para estas reacciones cruzadas fueron consideradas por los autores⁴³.

El papel protector de los anticuerpos en babesiosis es probablemente similar a Plasmodium donde los parásitos invaden activamente - eritrocitos y la secuencia de esto esta sujeta a los efectos de los anticuerpos, mientras esten en el plasma^{32, 40}, bajo estas circunstancias los anticuerpos que recubren al parásito desuido pueden disminuir su habilidad para atacar y penetrar eritrocitos hospedadores. Estudios en Plasmodium indican que la participación del complemento no es necesaria para una actividad protectora por anticuerpos in vitro e in vivo^{12, 28}. Un decremento en el nivel de complemento sérico fué sin embargo observado en ratas - infectadas con B. rodhaini y depósitos de IgG y el tercer componente del

complemento^{3, 17}. Estudios de inmunidad celular en babesiosis son reducidos y elaborados principalmente en animales de laboratorio. La transferencia adoptiva de inmunidad a B. rodhaini fué hecha en ratas por el uso de homogeneizados esplénicos⁶³.

EPIZOOTIOLOGIA Y CONTROL DE VECTOR.

En Australia existen zonas típicamente enzoóticas que tienen una población de garrapatas estable y cuyos números son suficientes para asegurar una exposición del ganado a Babesia spp anterior a los nueve meses de edad, anticuerpos calostrales y/o resistencia por la edad protegen al ganado del desarrollo de reacciones severas. Los estudios de transmisión por garrapatas y datos serológicos indican que la infección entre ganado y posiblemente entre ganado y ruminantes salvajes son comunes en aquellas áreas marginales y enzoóticas^{42, 50, 21}. Infecciones mixtas por agentes hematótrópicos son frecuentemente observadas en zonas enzoóticas¹⁰.

Zonas marginales en contraste experimentan variaciones significantes en cuanto a números de vectores (garrapatas) por estaciones o años con el resultado de que algunos animales escapan a la exposición de garrapatas infectadas de babesia hasta después de los nueve meses y algunas veces hasta 2 o más años de edad. La infección a este tiempo, resulta en una reacción más severa y la muerte puede ocurrir. La severidad de las reacciones en los hatos está directamente relacionada a la proporción de animales susceptibles que son aquellos que no fueron expuestos a las garrapatas cuando éran jóvenes. Es importante notar que las regiones enzoóticas estables pueden convertirse en inestables ó áreas

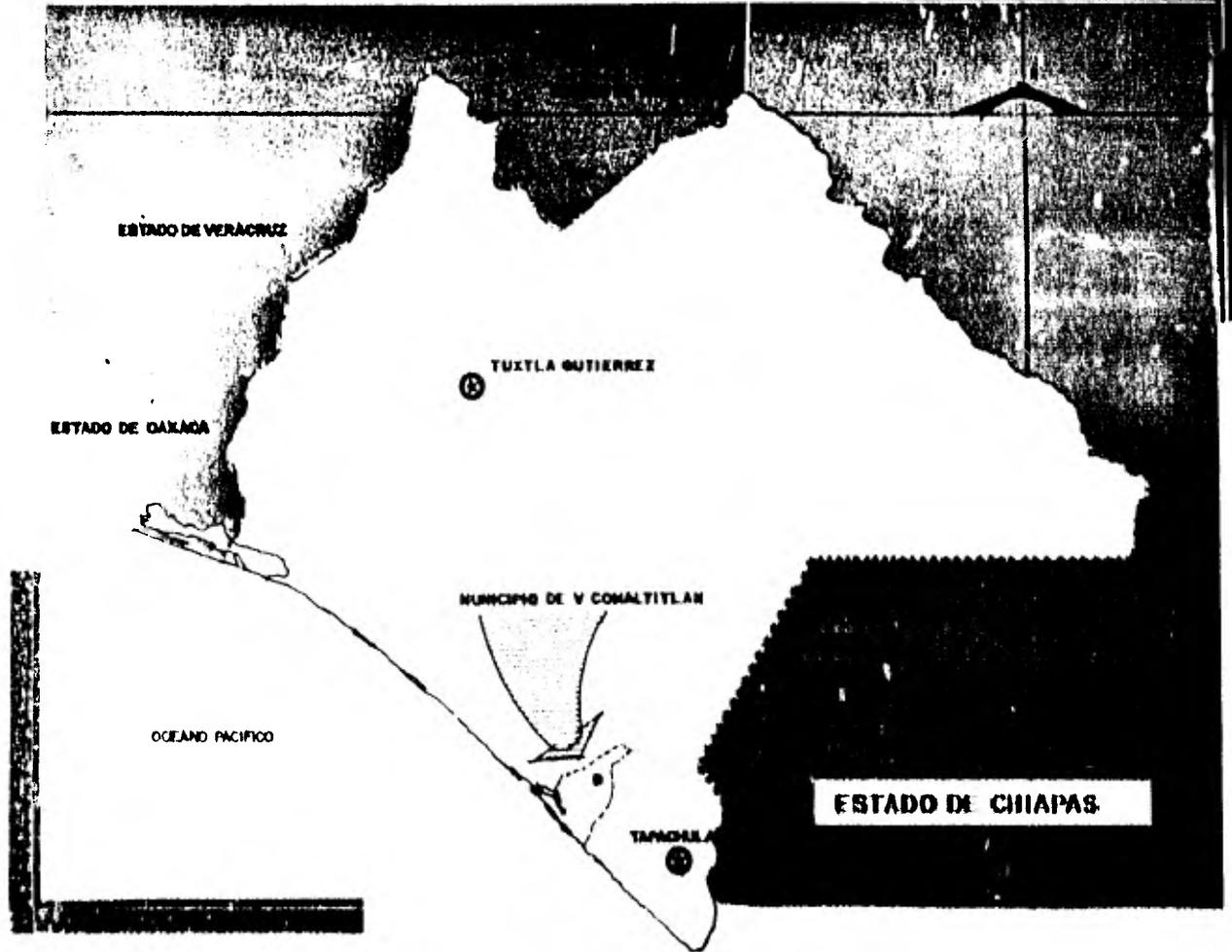
marginales por el uso de acaracidas. Si la población de garrapatas es artificialmente reducida por un número de meses o años y luego se le permite incrementar a los niveles anteriores la probabilidad de que se produzca una epidemia existe.

Modelos matemáticos útiles han sido realizados para describir el medio ambiente de Babesia spp y sus vectores en los campos de Australia^{51, 19, 37}.

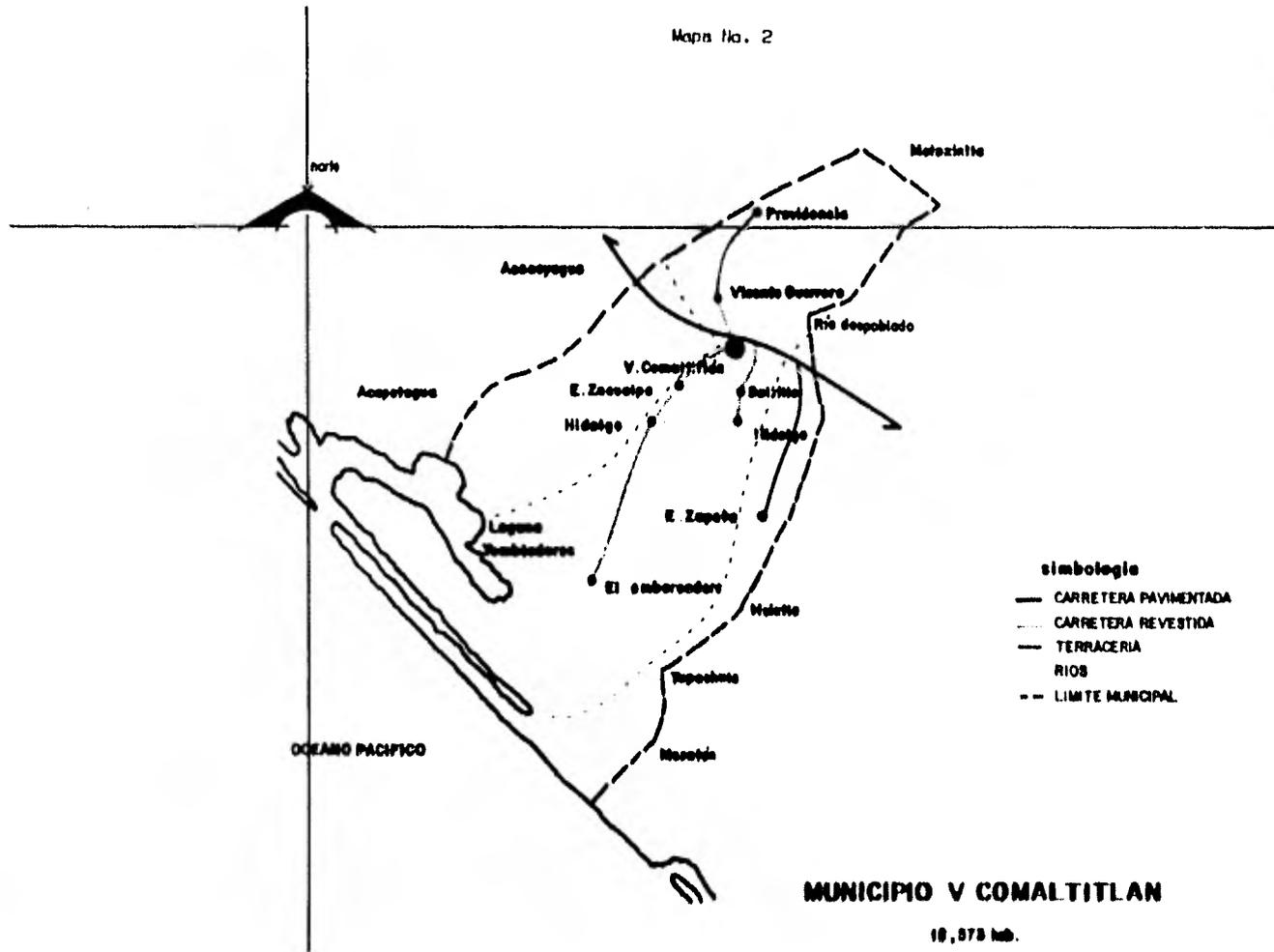
Estos conceptos son importantes en la predicción de cuando y donde puede ocurrir babesiosis y cuando esta indicada la inmunización del ganado susceptible. El estudio de susceptibilidad de varias cepas de B. annulatus y una cepa de B. microplus a la infección de Babesia bigemina indicaron que ciertas cepas de babesia se desarrollaron solamente en líneas genéticas específicas de garrapatas Boophilus³¹.

AISLAMIENTO DE BABESIA spp EN MEXICO

HUESPED	ESPECIE BABESIA	AISLAMIENTO
Bovino	<u>Piroplasmosis bigemina</u>	1915 ⁵⁴
Bovino	<u>Babesia bovis</u>	1922 ⁵²
Caballo	<u>Babesia equi</u>	1922 ⁵⁴
Caballo	<u>Babesia caballi</u>	1923 ⁵⁴
Perros	<u>Babesia canis</u>	1923 ⁵⁵
Humano	<u>Babesia spp</u>	1923 ⁵³



Mapa No. 2



O B J E T I V O S .-

La presencia de numerosos casos clínicos de Anaplasmosis en el Municipio de Villa Comaltitlan, Chiapas nos llevó a realizar un estudio en el cual se pudiera determinar el estado de prevalencia de Anticuerpos en contra de Anaplasma marginale; así como de Babesia spp.

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE VILLA COMALTITLAN, CHIAPAS.

Población Humana.- Según datos tomados del Censo de Población de 1980, la población humana existente es de 18,573 habitantes compuesto por pequeños agricultores y ganaderos en esta proporción:

AGRICULTORES.....80%
GANADEROS.....20%

Población Bovina.- Según datos proporcionados por la Asociación Ganadera Regional, la población bovina existente es de 10,000 cabezas de ganado, distribuida como sigue:

BOVINOS PRODUCTORES DE LECHE.....30%
BOVINOS PRODUCTORES DE CARNE.....60%

Localización.- Las tierras son en un 90% utilizadas para diferentes actividades económicas, para producción de plátano, cacao, caña de azúcar, huertas, etc. Los límites son al norte con el municipio de Escuintla y Motozintla, al sur con el Océano Pacífico, al oriente con el Municipio de Huxtla y Mazatán y al poniente con el municipio de Escuintla y Acapetahua.

Altitud.- 27 Metros sobre el nivel del mar.

Clima.- Tropical húmedo, clima de invierno seco no riguroso con lluvias todo el año, caluroso en tiempos de sequía y templado en tiempos de lluvia con una temperatura promedio de 33° Alta, 22° Media y 18° Baja.

Carreteras.- Se cuenta con la Carretera Costera que comunica hacia el sur con la frontera de Guatemala y hacia el norte con la Carretera Transístmica con comunicación hacia cualquier punto de la República Mexicana.

Escuelas.- El Municipio cuenta con cinco escuelas primarias y una secundaria localizadas en los siguientes puntos, dos escuelas primarias y la secundaria en el pueblo de Villa Comaltitlán, una escuela primaria en la Colonia Hidalgo, una escuela primaria en Zacoalpa y una última en la Colonia E. Zapata,

Hospitales.- El municipio cuenta con un hospital perteneciente a la Secretaría de Salubridad y Asistencia, localizado en la cabecera del municipio de Villa de Comaltitlán.

Industria.- El municipio cuenta con pequeñas industrias relacionadas con la Agricultura y Ganadería como son: Queerías y Tropicitos.

MATERIAL Y METODOS.-

Para la realización del presente estudio se recolectó suero de 250 animales cebú de las razas Brahman e Indobrasil, escogidos al azar en 5 diferentes ranchos, con una edad que varió entre los 5 días y los 8 - años de edad, distribuidos en la siguiente forma:

Becerras cebú de 5 días a menores de 3 meses de edad.

Becerras y novillonas cebú de 3 meses a menores de 9 meses.

Toreros cebú de 9 meses a menores de 18 meses.

Novillos cebú de 18 meses a menores de 27 meses de edad.

Vacas cebú de más de 27 meses de edad.

El material y equipo de laboratorio fué proporcionado por el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, Departamento de Hemoprotosoarios y constó de:

- Tubos o frascos de 10 ml.
- Tapones de hule.
- Aguja hipodérmica del número 14.
- Papel identificador.
- Recipientes de aluminio.
- Hielera.
- Hielo seco.
- Equipo y reactivos para las pruebas serológicas de inmunofluorescencia Indirecta y de Fijación de Complemento.

RANCHOS MUESTREADOS. -

RANCHO "LLANO DE ORO"

No. de Animales muestreados. - 49 distribuidos por edades en la siguiente manera:

E D A D	No. DE ANMALES
5 días - < 3 meses	6
3 meses - < 9 meses	4
9 meses - < 18 meses	15
18 meses - < 27 meses	7
> 27 meses	<u>17</u>
TOTAL :	49

RANCHO "SAN FRANCISCO CALIFORNIA"

No. de Animales muestreados.- 48 Distribu-
dos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No. DE ANMALES
5 días - < 3 meses	5
3 meses - < 9 meses	6
9 meses - < 18 meses	13
18 meses - < 27 meses	7
> 27 meses	<u>17</u>
TOTAL :	48

RANCHOS M.S"

No. de Animales en estrea 53 distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No. DE ANIMALES
5 días - < ses	7
3 meses - < ses	6
9 meses - < ses	16
18 meses - < ses	7
> 27 meses	<u>17</u>
T O T A	53

RANCHO " NOVILLERO "

No. de Animales muestreados 51.- Distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No. DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	8
3 meses - < 9 meses	4
9 meses - < 18 meses	13
18 meses - < 27 meses	9
> 27 meses	17
T O T A L:	51

RANCHO " LOS CARLOS "

No. de Animales muestreados 49.- Distribuidos por edades de la siguiente manera:

EDAD	No. DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	4
3 meses - < 9 meses	5
9 meses - < 18 meses	13
18 meses - < 27 meses	9
> 27 meses	18
TOTAL:	<hr/> 49

M E T O D O S , -

Se sangraron los animales con agujas estériles, extrayéndoles de la yugular aproximadamente 10 ml, una vez coagulada la sangre - se centrifugó a 2500 rpm, durante 10' con el fin de obtener el suero libre de eritrocitos, esta muestra se dividió en 2 partes para correr las pruebas de F. C. e I.F.I., ésto se hizo de igual manera con las 250 muestras. Se transportaron en hielo seco para mantenerlas congeladas hasta el momento de la realización del estudio.

Las pruebas serológicas que se corrieron fueron las siguientes:

- 1.- (F.C.) - Fijación de Complemento.- Diagnóstico de anticuerpos específicos en contra de Anaplasma marginale.
- 2.- (I.F.I.) - Inmunofluorescencia Indirecta para el diagnóstico de anticuerpos específicos en contra de Dabesia spp.

TECNICA PARA LA PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO.-

Con cada muestra de suero se hace una dilución de 1:5 con B.A.V. (Solución Amortiguadora de Veronal) de pH 7.2 a 7.4, estando hecha la dilución 1:5 se incuba en baño María a 55°C con el fin de inactivar el complemento propio del suero, ya inactivado se pone .025 de 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 de ml. del antígeno únicamente en los pozos nones, posteriormente se agrega .025 de ml. de complemento a todos los pozos y .025 de ml. de S.A.V. 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 de ml. a todos los pozos y se vuelve a incubar una hora a 37° C en baño María.

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

TECNICA PARA LA PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA.

- 1.- Descongelar el frotis (antígeno) 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 fosfatos (P.B.S.) 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 dos veces.

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

- 7.- Lavar en agua destilada durante 5 minutos una vez.
- 8.- Dejar secar frente a una fuente de aire (ventilador) 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 (ventilador) a temperatura ambiente.
- 14.- Colocar una gota de glicerina 1:10 diluida con PBS pH 7.2 en cada círculo (9 partes glicerina + 1 parte PBS pH 7.2).
- 15.- Colocar un cubreobjetos cuidando que la glicerina se extienda uniformemente dentro de los círculos.
- 16.- Fijar el cubreobjeto con esmalte transparente.
- 17.- Observar el microscopio de luz ultravioleta utilizando el objetivo de inmersión.

TITULACION DE SUEROS.-

Esta técnica es muy útil para titular sueros positivos. Para esto en el punto (3) se harán tantos círculos (hasta 10 máximo por laminita) como diluciones dobles del suero que se quiere titular. Continuar con el punto (4) colocando las gotas de los sueros controles positivo y negativo y una gota de cada dilución del suero a titular en cada círculo. Dejar un círculo sin suero (control del conjugado). Continuar con el punto (5) y así sucesivamente.

RESULTADOS.-

En el cuadro número 1 están los resultados representados en porcentaje (%) que se obtuvieron mediante la prueba de Fijación de Complemento (F.C.) para la detección de anticuerpos específicos en contra de Anaplasmosis bovina, se observó que en los 30 animales de 5 días de nacidos a menores de 3 meses de edad (lactantes) el número de positivos fué mayor que en los demás grupos, lo que indica que estos animales obtuvieron inmunidad pasiva a través del calostro. Se observó en los demás grupos que a mayor edad, mayor es el porcentaje de positivos, excepto en el último grupo de animales mayores de 27 meses de edad.

En el cuadro No. 2 están los resultados presentados en porcentaje (%) que se obtuvieron mediante la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (I.F.I.) para la detección de anticuerpos específicos en contra de Babesiosis bovina, se encontró que en el grupo de animales de 5 días de nacidos a menores de 3 meses de edad, el número de animales positivos fué mayor que el grupo de 3 meses a menores de 9 meses de edad, indicando inmunidad pasiva adquirida a través del calostro, en los grupos siguientes se observó que a mayor edad, mayor es el número de animales positivos.

En la gráfica número 1 están los resultados de la prevalencia de anticuerpos específicos de ambas enfermedades, representadas en porcentaje, se observó que la prevalencia general de anticuerpos específicos en contra de A. marginale es de 33,60%, en cambio la prevalencia de anticuerpos específicos en contra de Babesia spp fué de 12,4% - comparando los resultados se observó que la prevalencia de anticuerpos

en contra de A. marginale es tres veces mayor que la de Babesia spp.
En el grupo de animales de 5 días a menores de 3 meses el porcentaje
de positivos es mucho mayor, debido a la inmunidad pasiva calostrual
en ambas enfermedades.

CUADRO No. 1. 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. POSITIVOS	%
5 días - < 3 meses	30	15	50.0
3 meses - < 9 meses	25	5	20.0
9 meses - < 18 meses	70	20	28.57
18 meses - < 27 meses	39	16	41.0
> 27 meses	86	28	32.56
TOTAL:	250	84	33.60*

* Prevalencia general de 33.60%.

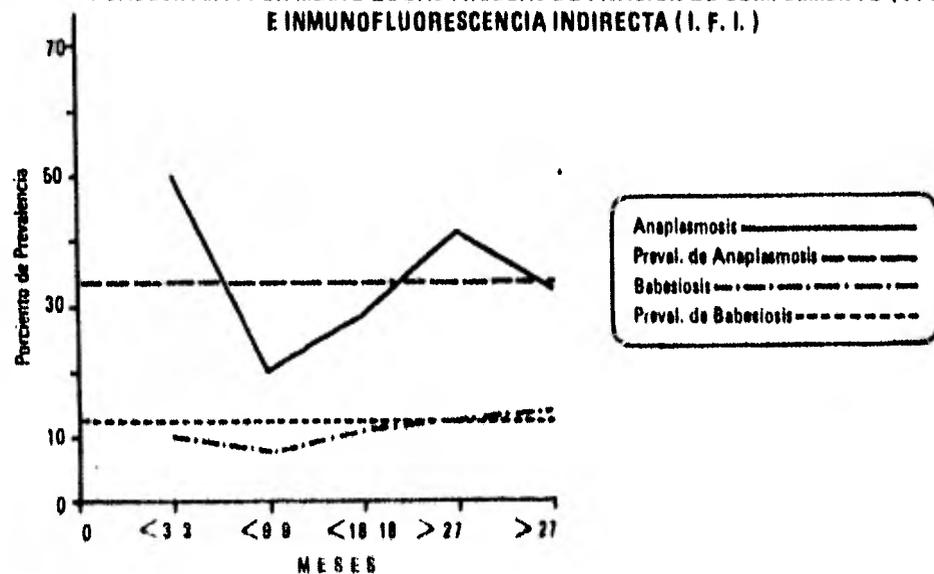
CUADRO No. 2. PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (I.F.I.)
 PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS EN CONTRA DE -
BABESIOSIS BOVINA.

E D A D	No. DE ANIMALES	No. POSITIVOS	%
5 días - < 3 meses	30	3	10.0
3 meses - < 9 meses	25	2	8.0
9 meses - < 18 meses	70	8	11.42
18 meses - < 27 meses	39	5	12.05
> - 27 meses	86	12	13.95
T O T A L :	250	31	12.40*

* Prevalencia general de 12.40%.

GRAFICA 1

PORCENTAJES DE ANTICUERPOS OBTENIDOS EN CONTRA DE *ANAPLASMA MARGINALE*
Y *BABESIA SPP.* POR MEDIO DE LAS PRUEBAS DE FIJACION DE COMPLEMENTO (F. C.)
E INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (I. F. I.)



D I S C U S I O N.-

En el presente estudio se observó que los resultados obtenidos mediante las pruebas de F.C. e I.F.I. nos indican que la prevalencia de anticuerpos específicos en contra de A. marginale es de 33.60% y Babesia spp de un 12.4%. Se puede notar que en ambas enfermedades hay un incremento de anticuerpos específicos en el grupo de animales de 5 días de nacidos a menores de 3 meses lo que nos indica que estos animales lactantes obtuvieron inmunidad pasiva a través del calostro, Ross y Lohr⁷⁷, en el siguiente grupo que es de 3 meses a menores de 9 meses de edad el porcentaje de positivos disminuye posiblemente debido a la pérdida de inmunidad pasiva, en los siguientes dos grupos el porcentaje se eleva debido a que a mayor edad mayor es la probabilidad de contacto con el parásito, en el caso del último grupo de animales mayores de 27 meses (vacas adultas) el porcentaje de anticuerpos en contra de A. marginale disminuyó debido a que la prueba de F. C. eleva el número de falsos negativos en sueros de animales portadores de tiempo atrás^{4,66}.

CONCLUSIONES.-

El hecho de que exista una baja prevalencia de anticuerpos es indicativo de una premunición mínima, lo que aunado a los factores predisponentes como son descuido en los baños de inmersión, en la frecuencia de bañado, condiciones climatológicas durante los meses lluviosos que incrementa el número de vectores biológicos, excesivo manejo, etc., explica los brotes presentados que dejaron como resultado un alto nivel de muertes.

Las recomendaciones para la zona fueron las siguientes: premunizar con cepas homólogas al ganado procedente de otro lugar, verificando la temperatura diariamente, cualquier cambio de temperatura que los animales sufran son indicios de la enfermedad, corroborándose con el estudio de un frotis directo teñido con Giemsa para descartar cualquier infección bacteriana, aplicar su tratamiento específico.

Una vez premunizado, se recomienda el buen manejo del baño garrapaticida (dilución, polución, recarga, agua, etc.) así como el constante bañado de los animales, un manejo mínimo del ganado premunizado, y por último proporcionar potreros de buena calidad en cuanto a forraje, sombra y agua,

B I B L I O G R A P H Y

- 1.- Anthony, D. W. *Wetlook. Veteri.* 37: 1 (1966).
- 2.- Amerault, T. L. A rapid agglutination test for bovine babesiosis. *Vet. Rec.* 1968.
- 3.- Annable C. R. Immunology of nasal complications. *J. Inq.* 112:1974).
- 4.- Angelouski, T. Bovine babesiosis. *Vet. Rec.* 61 (1963)
- 5.- Burrige, M. G.: Det of anis to Babesia blood causing direct fluores. *Ann. Med. Sci.*, 67- (1973).
- 6.- Beltrán, L. G. Contrarrepalmaria. *Directo California*, (
- 7.- Brockleby, D. and Selig, A. Effect of age on ty of Babesia. *Res. Vet.* 71).
- 8.- Babes, V.: "Babesia" *Sci.* 107
- 9.- Bishop, J. P. Combination of blood films for Babesia. *J. Vet. Res.*, 34
- 10.- Barnett, G. R., W.: Babesia blood test for fresh calf. *Vet. Rec.*

- 11.- Brock, W. E., Kliwer, I. O. and Pearson, C. C.: A vaccine for Anaplasmosis. 1 KLA. Agric. Exper. Sta. Tech. Bull. T. 116: 5-13 (June 1965).
- 12.- Cohen, S. and Bucher, G. A.: Properties of protective malaria. Antibody Immunology. 14: 127 (1970).
- 13.- 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).
- 14.- Cumow, J. A.: In vitro agglutination of bovine erythrocytes infected with Babesia argentina. Nature, 217: 267 (1968).
- 15.- Cumow, J. A.: Studies on antigenic changes and strain differences in Babesia argentina infections. Aust. Vet. J. 49: 279 (1973).
- 16.- Cumow, J. A.: The use of a slide agglutination test to demonstrate antigenic differences between Babesia bigemina parasites. Aust. Vet. J. 49: 290 (1973).
- 17.- Chapman, W. E. and Ward, P. A.: The complement profile in babesiosis. J. Immunol. 117: 935 (1976).
- 18.- Christensen, J. F., Douglas, J. R.: Bovine Anaplasmosis in the Coast Range Area of California. J.A.V.M.A. 141: 952-957, (1962).
- 19.- Donnelly, J.: Epidemiology of babesia infection in cattle, Proc. Royal Soc. Med, 66: 774 (1973).
- 20.- Dalgliesh, R. J., N.P. Stewart, L.L. Callow: Transmission of Babesia bigemina by transfer of adult male Boophilus microplus. Australian Veterinary Journal, Vol. 54. April 1978.
- 21.- Donnelly, J. and Peirce, M. A.: Experiments on the transmission of Babesia divergens to cattle by the tick Ixodes ricinus. Int. J. Parasit. 6: 363 (1974).

- 22.- Diggs, C. L., Shin, H., Briggs, N. T., Laudanalyzer, K. and Weber, R. M.: Antibody mediated immunity to Plasmodium berghei independent of the third component of complement. Proc. - Helminthol. Soc. Wash. 39: 456 (1972).
- 23.- Edwin, J. P. and Franklin, T. E.: Recent observations on Anaplasmosis. Southwestern Vet. 17: 35-38 (1963).
- 24.- Fitzpatrick, J. E. P., Kenedy, C. C., McGawn, M. G., Oreopouldous, D. G., Robertson, J. H. and Soyanno, M. A.: Human case of - piroplasmosis nature. 217: 861 (1968).
- 25.- Fernández, L. and Lora, C.D.: Comparative study between the Anaplasmosis centrale vaccine and the inactivated vaccine against Anaplasmosis. Proc. 5th Pan. Am. Congr. Vet. Med. - Zotech. Caracas, Venezuela. 1-21 (1966).
- 26.- Goldman, M. and Rosenberg, S. A.: Immunofluorescence studies of the small Babesia species of cattle from different geographical areas, Res. Vet. Sci. 16: 351 (1974).
- 27.- Goldman, M. and Bukousky, E.: Extraction and preliminary use for diagnosis of soluble precipitating antigen from Babesia bigémina. J. Protozool. 22: 262 (1975).
- 28.- Goodger, B. V. and Mahoney, D. F.: Evaluation of the passive hemagglutination test for diagnosis of Babesia argentina infection cattle. Aust. Vet. J., 50: 240 (1974).
- 29.- Gainer, J. H.: Demonstration of Anaplasma marginale with the fluorescent dye, acridine, orange. Comparisons with the complement fixation test and Wright's Stain, Am. J. Vet. Res. 22: 822-806. (1961).

- 30.- Gates, D. W., Mohler, W. M., Mott, L. D., Poelma, L. S., Price, K. E. and Mitchell, J.: A comparison of antigen production methods and complement fixation procedures for diagnosing bovine Anaplasmosis. Proc. 58 th Ann. Meeting U. S. Livestock Sanitan. Assoc. 105-114 (1954).
- 31.- Hoffman, G.: Intizierbarkeit verschiedener Boophilus stammmit Babesia bigemina sowie beeinflussung der Zecken durch wert oder parasit. Z.: Tropenmed. Parasit, 22: 270 (1971).
- 32.- Hamburger, J. and Kreier, J. P.: Antibody-Mediated elimination of malaria parasites (Plasmodium berghei) in vivo. Infect. Immun., 12: 339 (1975).
- 33.- Hoyte, H. M. D.: Differential diagnosis of Babesia argentina and Babesia bigemina infections in cattle using them blood smears and Brain Smears. Austr. Vet. J., 47: 248 (1971).
- 34.- Hoyte, H. M. D.: "The tick fever parasites of cattle. Proc. R. Soc. Queensl. 87, V-XII (1976).
- 35.- Hutyra, F., Mareck, Manninger Mocsy: Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos. 3a, Edición 1973, Labor,
- 36.- Idall, D. H.: Práctica de la clínica veterinaria. 3a, Edición en Español, Imprenta hispanoamericana, S. A. Barcelona (1962),
- 37.- Johnston, L. A.Y.: Epidemiology of bovine Babesiosis in Northern Queensland, Aust. Vet. J., 43: 427 (1967).
- 38.- Johnston, L. A.Y., Pearson, R. D. and Leatch, G.: A comparison of indirect, direct, Inhibitron and labelled anticomplement - fluorescent antibody tests in the detection of Babesia argentina infection in cattle. Aust. Vet. J, 49: 421 (1973).
- 39.- Joyner, L. P., Donnelly, J. and Payne, R.: The indirect fluorescent antibody test for the differentiation of infections with Babesia divergens or Babesia major. Res. Vet, Sci, 13: 515-518.

- 40.- Kreier, J. P.: Immunity of rodents to malaria. *Vet. Parasitol* 2: 121 (1976).
- 41.- Kuttler, K. L.: Comparisons of complement fixation and capillary tube agglutination tests for detection of bovine Anaplasmosis. *J. Am. Vet. Assoc.* 143: 729-733 (1963).
- 42.- Latif, B. M. and Adam, K. M. G.: Antibody to Babesia in Scottish Red Deer (*Cervus Elaphus*). 241: 476 (1973).
- 43.- Ludford, C. G., Hall, W. T.K., Sulzer, A. J. and Wilson, M.: Babesia argentina, Plasmodium vivax and P. falciparum: antigenic cross-reactions. *Exp. Parasitol.*, 32: 317 (1972).
- 44.- Lohr, K. F.: Immunity to Babesia bigemina in Experimentally infected cattle. *J. Protozool.*, 19: 658 (1972).
- 45.- Leeftang, P.: Diagnosis of Babesia argentina infections in cattle using brain smears. *Aust. Vet. J.*, 48: 72 (1972).
- 46.- Mahoney, D. F.: Immuneresponse to hemoprotozoa. II Babesia spp in Immunity to Animal Parasites. E. J. L. Soulsby, Ed. Academic Press, Inc. New York 301: (1972).
- 47.- Mahoney, D. F.: "Babesia of Domestic Animals". In: Parasitic Protozoa, J. P. Kreier, Ed., Vol. IV, Academic Press, New York, N. Y. (1977).
- 48.- Mahoney, D. F.: Bovine Babesiosis. Preparation and assessment of complement fixing antigens. *Exp. Parasitol.*, 20: 232 (1967).
- 49.- Mahoney, D. F., Wright, I. G., Mirra, G. B.: Bovine babesiosis: The persistence of immunity to Babesia argentine and B. bigemina in calves (*Bos taurus*) after natural infection. *Ann. Trop. Med. Path.*, 67: 197 (1973).
- 50.- Mahoney, D. F. and Mirra, G. B.: Babesia argentine. The infection of splenectomized calves with extracts of larval ticks (Diplophilus microplus). *Res. Vet. Sci.*, 16: 112 (1974).

- 51.- Mahoney, D. F.: Bovine babesiosis. A study of factors concerned in transmission. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 63: 1 (1969).
- 52.- Nutall, G. H. F. and Strickland, D.: Die parasiten der pferdepiroplasmose respder "Billiar Fever" Vor laufige, mitterilmg - Zentra E. B. L. *Bakt 1 ABT., Orig*, 28: 524-552 (1910).
- 53.- Osorno, M., Vega, C., Ristic, M., Robles, C., Ibarra, S.: "Isolation of Babesia spp from asymptomatic human beings" *Vet. Parasitol.* 2: 111-120, (1976).
- 54.- Osorno, M. y Solana, P.: Aislamiento e identificación de Babesia equi y Babesia caballi en caballos en México. *Tec. Pec. Mex.* 20: 41-44 (1972).
- 55.- Osorno, M. y Ristic, M.: Babesia canis en perros en México. *Tec. Pec. Mex.* 26: 36-40 (1973).
- 56.- Osorno, M.: "Babesiosis en México", estudio recapitulativo. *Vet. Méx.* IX. 4: 203-217 (1978).
- 57.- Osorno, B. M., Solana, P. and Ristic, M.: Results of field and laboratory trials in Mexico with and attenuated A. marginale vaccine. 6th National anaplasmosis Conf. mar. 19-20 (1973).
- 58.- Osorno, M., Ristic, M.: Anaplasmosis bovina con énfasis en control, diagnóstico, distribución de la enfermedad en México y uso de una vacuna atenuada de A. marginale. *Veterinaria Mex.* B: 85-98 (1977).
- 59.- Piana, G. P. and Galli-Valerio, B.: *Moderno Zoolatro (1895)* citado en: Nutall, G. H., Canine Piroplasmosis, *Int. J. Hyg.*, 4: 210-257 (1904).
- 60.- Pilcher, K. G., Wu, W. G. and Muth, O. H.: Studies on the morphology and respiration of Anaplasma marginale. *Am. J. Vet. Res.* 22: 298-300 (1961).
- 61.- Phillips, R. S.: Evidence that Piroplasma Can undergo antigenic va

- 62.- Quiroz, H., Correa, P., Sánchez, M. y Domínguez, J.: Efecto del Dipropionato de Imidocarb en bovinos con Babesia bovis. Resúmenes de la IX Reunión Anual del Inst. Nacional de Investigaciones Pecuarias, México, D. F. (1972).
- 63.- Robert, J. A.: Adoptive transfer of Immunity to Babesia rodhaini by spleen cells from immune rats. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 46: 807 (1968).
- 64.- Ristic, M., Conroy, J.D., Siwe, S., Healy, G.R., Smith, A. R. - and Huxoll, D. L.: "Babesia species from a woman with clinical babesiosis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 20: 14-22 (1971).
- 65.- Ristic, M., Sibinovic, S. and Walter, C. J.: An attenuated Anaplasma marginale vaccine. Proc. 72nd. Ann. Meet. U. S. - Livestock San. Ass'n. New Orleans, La. 56-64 (1968).
- 66.- Roby, T. O.: Natural Transmission of bovine anaplasmosis. Southwester, Vet., 16: 17-22 (1962).
- 67.- Ristic, M., and Kreier, J. P.: Anaplasmosis XV Morphological and chemical properties of the antigen used in the capillary tube agglutination test. Am. J. Vet. Res., 24: 958-962 (1963).
- 68.- Ristic, M.: A capillary tube agglutination test for Anaplasmosis a preliminary report. J. Am. Vet. Med. Assoc., 141: 588-594 (1962).
- 69.- Ristic, M. and Kreier, J. P.: Classification of the family Anaplasmaceae of the for the coming 8th edition, Breyer's manual of determinative Microbiology, 1973.
- 70.- Ristic, M.: Anaplasmosis advances in veterinary Science, 6: 111-192 (1960).
- 71.- Rodgers, T. F. and Wallace, W. R.: A rapid staining technique for Anaplasma. Am. J. Vet. Res, 27: 1127-1132 (1966).

- 72.- Ristic, M.: Morphology, antigenicity, growth and multiplication of Anaplasma marginale. Proc. 17th World Vet. Congr., Hannover, Germany, 1: 815-819 (1963).
- 73.- Ristic, M. and Watrach, A.: Studies in Anaplasmosis II Electron microscopy of Anaplasma marginale in deer. Am. J. Vet. Res. 22: 109-116 (1962).
- 74.- Ristic, M.: The nature of Anaplasma marginale. Proc. 5 Pan. Am. Cong. Vet. Med. 200. Tech., Caracas, Venezuela, 1966 Doc. V.V.Z., 26: 1-9 (1966).
- 75.- Rogers, R. J.: The acquired resistance to Babesia argentina of cattle exposed to light infections with cattle tick (Boophilus microplus), Aust. Vet. J., 47: 237 (1971).
- 76.- Ristic, M.: Babesiosis and theileriosis. In immunity to parasitic Animals. G. J. Jackson, Herman and I. Singer, Eds. Appleton Century Crafts, New York, 2: 831 (1970).
- 77.- Roos, J. P.J. and Lohr, K. F.: Transfer and persistence of antibodies to Babesia bigemina and Anaplasma marginale Via the Caloetrum. Z. tropenmed. Parasitol., 21: 401 (1970).
- 78.- Smith, T. and Kilborne, F. L.: Investigations in to the nature, causation and prevention of Texas or souther cattle fever. U. S. Department of Agriculture, Bureau of Animal Ind. Bull, 1: 1-301 (1893).
- 79.- Skrabalo, Z. and Deanovic, Z.: "Piroplasmosis in man" Report of - case. Aust. Vet. Bull, 28: 125 (1967).
- 80.- Stormont, C. J.: Prognosis of based on blood typing, field and local data, 6th Nat'l. Anaplasmosis conf., mar. 19-20, Las Vegas, Nev., (1973).

- 81.- Schundler, R., Ristic, M. and Wokatsh, R.: Vergleichende Untersuchungen mit A. marginale and A. centrale. J. Tropenmed und Parasitol. 17: 337-360 (October, 1966).
- 82.- Theiler, A.: Gall sickness of South Africa (Anaplasmosis of cattle) J. Comp. Pathol. Therap., 23: 98-115 (1910).
- 83.- Thoongsuwan, S. and Cox, H. W.: Antigenic variations of haemosporidium Parasite, Babesia rodhaini, selected by in vitro - treatment with immune globulin. Ann. Trop. Med., Parasitol. 67: 383 (1973).
- 84.- Tussaint, M.: Piroplasmosis bigemina en México. Boletín del Inst. Patológico. Estación Agrícola central. Boletín No. 4 (1905).
- 85.- Wolf, R. E.: "Effects of antilymphocyte serum and splenectomy on resistance to Babesia microti infection in Hamsters". Clin. Immunol., Immunopathol., 2: 381 (1974).