



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES**

**CUAUTITLAN**

**PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA Anaplasma marginale Y  
Babesia spp EN BOVINOS DE LA RAZA SUIZO PARDO Y CEBU EN  
CLIMA AF (C)**

**T E S I S**

**Que para obtener el título de  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P r e s e n t a**

**LUIS GIL ORTEGA ORTEGA**

**ASESOR: M. V. Z., M. Sc. GERMINAL JORGE CANTO ALARCON**

**México, D. F. 1982**



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

INTRODUCCION	1
MATERIAL Y METODOS	19
RESULTADOS	22
DISCUSION	31
BIBLIOGRAFIA	33

## R E S U M E N

El presente estudio fue con el objeto de obtener el porcentaje de animales de las razas Suizo Pardo y Cebú, en clima subtropical húmedo AF (c) Sero-Positivos a Anaplasmosis y Babesiosis. Se sangraron 532 animales, 254 de la raza Suizo Pardo y 278 de la raza Cebú, en las cuales se encontró: 39.6% de reactores positivos a Anaplasmosis en ganado Suizo Pardo y 32.7% de reactores positivos en ganado Cebú. Teniendo la Babesiosis 48.6% de reactores positivos en ganado Suizo Pardo y 70.9% de reactores positivos en ganado Cebú, notando en ambos casos que a medida que aumenta la edad, aumenta el porcentaje de animales positivos. La prevalencia de Babesiosis en general fue de 59.9% y en Anaplasmosis de 36.1%. Los valores obtenidos de la probabilidad diaria de infección, para Babesiosis fue de 0.0015 en la raza Suizo Pardo y de 0.0027 para la raza Cebú.

## INTRODUCCION

Las enfermedades transmitidas por garrapatas y por otros artrópodos biológicos como moscas, moscos y que afectan a las especies domésticas, se consideran de gran importancia económica y de importancia en zoonosis (13). En México las principales enfermedades transmitidas por garrapatas a los animales domésticos son la Anaplasmosis y Babesiosis. Estas dos enfermedades se encuentran difundidas en gran parte del territorio nacional, observando la mayor incidencia en el trópico y subtropico del país (38).

En la actualidad la Anaplasmosis y Babesiosis han despertado gran interés por parte de los productores de carne y leche en los trópicos, de los Institutos de Investigación y de las autoridades administrativas del sector agropecuario, ya que se considera que estas dos enfermedades son las limitantes más importantes en la introducción de razas especializadas para la producción de carne y leche en zonas en donde se encuentra una gran cantidad de forraje.

## ANAPLASMOSIS

La anaplasmosis es una enfermedad causada por una rickettsia llamada Anaplasma marginale, que afecta a bovinos, ovinos y caprinos - (2, 23). Los conocimientos científicos y la investigación de la Anaplas

mosis se inician desde hace 80 años, cuando Smith y Kilborne, estudiaron eritrocitos de bovinos infectados y observaron que dentro de las células se encontraban unos cuerpos en forma cocoide, algunos en posición marginal, estos cuerpos fueron considerados como formas de Babesia bigemina (18). Estudios posteriores demostraron que la Anaplasmosis era una enfermedad diferente y el agente causal fue denominado Anaplasma marginale (18). Sin tener un conocimiento preciso sobre la naturaleza de este organismo y en vista del parecido de algunos signos clínicos de babesiosis, se pensó que anaplasma también era un protozoario sanguíneo (18).

Los primeros descubrimientos formales de la naturaleza de estos cuerpos marginales de anaplasma, se iniciaron en un estudio que revela que el organismo no está formado de una sola unidad compacta - llamada cuerpo de cromatina, sino que consistía de un cuerpo de inclusión compuestos de varias sub-unidades que son los agentes etiológicos de anaplasmosis y que la habilidad inicial de estos cuerpos para invadir eritrocitos maduros y multiplicarse dentro de las células permitía la formación de un cuerpo de inclusión marginal (18, 21, 43).

#### ESPECIES AFECTADAS

Anaplasma marginale principalmente afecta a bovinos, sin embargo otros ruminantes como los ovinos y los caprinos también han sido afectados en países africanos, mediterráneos, Unión Soviética y Estados Unidos (2, 23). En México no se ha reportado esta enfermedad en ovinos y caprinos.

## TRANSMISION

La fuente de infección es siempre la sangre de un animal infectado. Una vez infectado éste, permanece como portador durante muchos años, quizá toda la vida, aunque muchas veces no pueda demostrarse la presencia del parásito en la sangre. La transmisión de un animal a otro ocurre principalmente por medio de insectos vectores, como pueden ser Garrapatas del Género: Boophilus, Demacentor, Hyaloma, Margaropus, Rhipicephalus y moscas tales como: Tabanus fuscicostatus, T. atratus, T. abactor, T. equalis, T. erithraeus (23, 24, 40, 47). Las moscas del género Hematobia irritans, también son vectores de la enfermedad, al igual que los mosquitos de los géneros: Psorophora y Aedes (43).

La anaplasmosis bovina puede también diseminarse mecánicamente por medio de agujas hipodérmicas, por instrumentos utilizados para la castración, amputación de cuernos y transfusiones, la facilidad con que puede propagarse el proceso infeccioso mecánicamente varía según la virulencia de la cepa de Anaplasma y este método de diseminación puede ser más importante de una región a otra (2, 4, 7, 18).

## DISTRIBUCION

La anaplasmosis tiene una distribución mundial, a excepción de la Gran Bretaña donde no se ha reportado (2). En México se han detectado reactores positivos, por medio de pruebas serológicas en las siguientes zonas del país:

Zona Norte.- Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León y Zacatecas, con 7.94% de bovinos positivos.

Zona Costera del Golfo.- Tamaulipas, Puebla, Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo, con 51.44% de bovinos positivos.

Zona del Altiplano.- Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Morelos y México, D.F., con 25.9% de bovinos positivos.

Zona Costera del Pacífico.- Sonora, Nayarit, Colima, Guerrero y Oaxaca con 14.6% de bovinos positivos.

Como se puede ver hay zonas que tienen un mayor número de animales positivos (Zona del Golfo), debido a la presencia de mayor número de vectores biológicos para la transmisión de la enfermedad, siendo mayor la frecuencia en los meses de Mayo - Agosto (38, 44).

#### PATOGENIA

Los cuerpos iniciales viables de Anaplasma marginale son transferidos de un animal enfermo ó portador a uno susceptible. Posteriormente penetra en los eritrocitos del bovino normal, aumentando de tamaño y dividiéndose por fisión en 2 a 8 cuerpos iniciales hijos. Estos cuerpos corresponden a los cuerpos marginales. Los cuerpos iniciales son liberados del eritrocito parasitado y se repite el ciclo de penetración en nuevas células y reproducción del parásito (18, 38, 41, 45).

El crecimiento del anaplasma reduce la cantidad de fosfolípidos en el estroma del eritrocito y vuelve frágil la célula hemática, aunque la fragilidad y la anemia adquieren valores máximos al mismo tiempo, no se produce hemólisis en el plasma. Poco a poco los eritrocitos parasitados son eliminados de la circulación por eritrofagia, operación que ejecutan las células del sistema retículo endotelial, esta anemia, es de tipo inmunológico, al reaccionar los anticuerpos en contra de la membrana eritrocítica (3, 4, 7, 18, 21, 45).

#### SIGNOS CLINICOS

En bovinos, el período de incubación varía de acuerdo a la forma de transmisión y a la cantidad de material infeccioso inoculado, cuando la transmisión es por medio de un vector como la garrapata el período de incubación es aproximadamente de 3 a 4 semanas. En forma experimental inoculando sangre con A. marginale el período ha sido entre 1 y 5 semanas (2, 40, 46).

En la mayor parte de los casos la enfermedad es subaguda, especialmente en animales jóvenes. La temperatura se eleva lentamente, presentándose una fiebre fluctuante, llegando hasta 41 °C, con períodos irregulares que varían de varios días a dos semanas. Existe anorexia, pudiendo el animal morir durante esta etapa ó sobrevivir en un estado de subdesarrollo con su fecundidad perturbada. En las mucosas se advierte ictericia y palidez intensa, especialmente pasada la etapa aguda, pero no se aprecia hemoglobinuria. No son raros los casos hiperagudos con un

inicio brusco de los signos clínicos: elevación de la temperatura, anemia, ictericia, disnea y muerte. Estos casos hiperagudos suelen encontrarse en ganado lechero en un período de 24 horas (2, 18, 23, 46).

#### LESIONES A LA NECROPSIA

A la necropsia se pueden observar algunas garrapatas adheridas a la piel; la mayoría de las alteraciones de los órganos se relacionan con la anemia, el cuerpo del animal suele estar emaciado y los órganos deshidratados, la sangre es delgada debido a la pérdida de eritrocitos y la mayoría de los tejidos están pálidos e ictericos. Pequeñas cantidades de trasudado se ven en las cavidades del cuerpo y en el tejido subcutáneo de la parte baja del cuello, tórax y abdomen. Petequias a veces en abundancia, se encuentran en el epicardio, endocardio y membranas serosas. El bazo y en ocasiones los ganglios linfáticos presentan aumento de tamaño, se observa hiperplasia de la médula ósea roja. A causa de la hiperventilación, los pulmones pueden hallarse enfisematosos, la vesícula biliar se encuentra distendida con bilis de consistencia grumosa y el hígado está pálido (2, 15, 18, 20, 46).

El diagnóstico de anaplasmosis se puede hacer por pruebas de laboratorio que han demostrado ser confiables. Durante la infección aguda, los cuerpos de la inclusión pueden ser detectados en frotis de sangre periférica, por medio de tinciones como son: el giemsa, que es el colorante más usado, el azul de toluidina y anaranjado de acridina,

el uso de los métodos de marcado directos ó indirectos con la técnica de los anticuerpos fluorescentes, han permitido la identificación marginal y de las subunidades denominadas cuerpos iniciales (2, 15).

En contraste a lo sencillo que es la determinación de los estados agudos de anaplasmosis se presenta dificultad de identificación en el estado de huésped portador. Los bovinos que se encuentran en estado de portador sirven como reservorios de la infección. Estos no pueden ser clínicamente diferenciados de los animales que no han sido infectados con anaplasma y normalmente no se puede demostrar este estado por medio de frotis sanguíneo (3, 20).

#### PREVENCION

Un método preventivo que dá buenos resultados es el baño de los animales, empleando sustancias químicas de elevado poder garrapaticida, pero inócuas para los animales, el empleo de este sistema con una frecuencia de 14 días ha demostrado ser eficaz.

Evitar errores en el manejo como serán: vacunar, desparasitar ó tratar a un grupo de animales con una sola aguja, no desinfectar el material quirúrgico en el descorne y/o castración (18).

El empleo de vacunas específicas contra anaplasmosis se empieza a usar en Estados Unidos, sólo que no ha dado resultados satisfactorios, ya que la vacuna induce la producción de anticuerpos que atacan a

los glóbulos rojos y produce isoeritrólisis neonatal de curso fatal en becerros nacidos de vacas vacunadas, además de la aparente baja protección (3, 8).

Las investigaciones sobre prevención de anaplasmosis, se enfocan en la elaboración de una vacuna eficaz contra el Anaplasma marginale (41).

#### TRATAMIENTO

El tratamiento que ha demostrado ser eficaz contra el anaplasma, es a base de oxitetraciclinas. En dosis de 1.1 mg/kg en un período de 180 días en el alimento, sólo que esta dosis elimina el estado de portador y hace susceptible al animal a una nueva infección (35, 42). La dosis de 4.4 a 11 mg/kg es la más usada (35). Experimentalmente dosis de 20 mg/kg han dado buenos resultados, ya que evita el manejo continuo del animal y además de ser una sola aplicación (30).

#### BABESIOSIS

El estudio de la etiología de la piroplasmosis lo inicia Babes en 1888, al descubrir en Rumanía que los glóbulos rojos de bovinos con hemoglobinuria epizootica contenían pequeñas formaciones redondas y que la enfermedad se podía transmitir de los animales enfermos a los sanos mediante la inoculación de sangre y de un macerado de sustancia renal. La naturaleza protozoárica del agente y la transmisión de -

la enfermedad por garrapatas fue descubierta por Smith en 1889. Este autor investigó luego con Kilborne, la llamada fiebre de Texas, enfermedad enzoótica de las zonas costeras del Golfo de México y denominó al agente patógeno Pirosona bigeminum (16).

#### ESPECIES AFECTADAS

La babesiosis es una enfermedad infecciosa de distribución mundial que afecta a vacunos, ovejas, caballos, cerdos, gatos, ratas, ratones y al hombre (9, 13).

#### TRANSMISION

Infección Artificial.- En el ganado vacuno se consigue mediante la inyección parenteral de sangre, de tejido hepático o de bazo de animales enfermos o animales sanos. Los animales inoculados enferman de 8 a 10 días después, con aumento de temperatura, fenómenos de anemia, hemoglobinuria y frecuentemente diarrea sanguinolenta, al mismo tiempo los hematíes contienen babesias (2, 16, 46).

#### INFECCION NATURAL

Es transmitida principalmente por garrapatas de un sólo hospedador del género Boophilus y más concretamente por larvas descendientes de hembras que chuparon sangre de bovinos infectados.

La causa de esto, se debe a que los piroplasmas sufren en el

cuerpo de la garrapata un ciclo evolutivo determinado, antes de ser eliminados en forma infectante con la saliva del insecto. Al ser ingerida la babesia por la garrapata, ésta se multiplica en las células epiteliales - del intestino, las cuales invaden el cuerpo de la garrapata, algunos invaden los ovarios, siguiendo su evolución en el epitelio del intestino y pasando a las glándulas salivales, donde ya son patógenas para el hospedero vertebrado (32).

Las especies de Babesia que han sido notificadas como agentes etiológicos de la babesiosis en bovinos de América son Babesia bovis - (sin: Babesia argentina, Babesia berbera) y Babesia bigemina.

#### PATOGENIA

Los signos de la babesiosis bovina varían en intensidad dependiendo de la virulencia de la cepa de babesia, el volumen del inóculo, - edad del animal, stress y en los animales jóvenes de zonas enzoóticas, - por el grado de inmunidad pasiva transferida en calostro. El grado de parasitemia que se presenta es variable y con frecuencia, como en el caso - de Babesia bovis, es menor al 0.1% lo que dificulta considerablemente el diagnóstico (5, 32).

Signos Clínicos: En los casos agudos, la enfermedad empieza después de una incubación de 7 a 10 días. Las alteraciones clínicas se cree que son provocadas por la liberación de sustancias farmacológicamente ac

tivas debido a la presencia de la babesia. Parece ser que el parásito activa de alguna manera hasta el momento desconocido los sistemas del complemento, de las cininas, de la coagulación y de la fibrinólisis provocando un síndrome semejante o idéntico al de la coagulación intravascular diseminada (12). Además de que se agrava por la presencia de complejos antígeno-anticuerpo que se depositan en el riñón, llegando a provocar glomérulo nefritis y la consiguiente retención de sustancias tóxicas en la sangre. La activación del complemento y de las cininas vá unida a alteraciones en la coagulación y la fibrinólisis por lo que se sugiere que la patogenia es semejante al síndrome de la coagulación intravascular diseminada, esto se ha observado en ratones inoculados con Babesia rodhaini, por lo que también se cree que suceda en bovinos con B. bovis. Hay una elevación de la temperatura hasta 42°C, notable lasitud, -postración, taquicardia y en la defecación, al principio se presenta constipación, más tarde sobreviene diarrea mucosa o sanguinolenta. La secreción láctea disminuye inmediata y considerablemente. Las vacas a menudo abortan (1, 10, 12, 32, 36, 53).

Las mucosas palidecen y se vuelven ictericas, la orina tiene mayor peso específico y contiene albúmina, a consecuencia de la presentación de metahemoglobina o también de materias colorantes biliares, tomando una coloración desde rojiza hasta rojo negro; por agitación se forma mucha espuma y por ebullición se coagula formando una masa gelatiniforme.

Por lo que toca a la anemia llama la atención de que ésta se produce independientemente del grado de parasitemia, ya que se ha observa

do que ocurre con la misma intensidad en animales con 10% de los glóbulos rojos parasitados o con menos del 0.01%. Este hecho ha sugerido que la anemia no se debe a la acción física de entrada y salida de la babesia de los eritrocitos, sino que probablemente tenga una base inmunológica (17, 32, 52).

Las causas de la muerte del animal son el choque terminal que ocurre asociado al síndrome de coagulación intravascular diseminada y la anemia. Además en el caso de la babesiosis provocada por B. bovis hay aglutinación de los eritrocitos parasitados en los capilares cerebrales, lo que provoca una trombosis. Esta es la razón de que en ocasiones haya signos clínicos nerviosos que se asemejan a los de la rabia. Por otra parte, la formación de complejos inmunes que se depositarían en el riñón impedirían una filtración adecuada y la retención de productos tóxicos - agravaría el cuadro clínico, aunque esto no ha sido demostrado con B. bovis (29. 51).

#### LESIONES A LA NECROPSIA

El bazo está aumentado de volumen y llega a tener un tamaño cuatro veces el normal. El hígado también se encuentra aumentado de tamaño y tiene color café amarillento. La grasa del cuerpo y los tejidos conectivos también puede ser amarillenta, hay hemorragias en el miocardio, así como en el tejido subcutáneo. La orina es de color rojizo (2, 16, 48).

## DIAGNOSTICO

Diagnóstico Clínico.- Caracterizan a la enfermedad, la hemoglobinuria, que se presenta rápidamente con fenómenos febriles y posteriormente la anemia y la ictericia. Durante este período se pueden hacer frotis con sangre y teñidos con Giemsa para observar el parásito, B. bovis puede ser observada en frotis de cerebro y riñón (2, 15, 16).

Diagnóstico Serológico.- Para el diagnóstico de la Babesiosis se han desarrollado varias pruebas serológicas.

### PRUEBAS SEROLOGICAS QUE SE USAN EN EL DIAGNOSTICO DE LA BABESIOSIS.

P R U E B A	A N T I G E N O
1.- Fijación de Complemento.	Mezcla de parásitos y eritrocitos lisados.
2.- Inmunofluorescencia Indirecta.	Glóbulos rojos parasitados.
3.- Hemoaglutinación pasiva.	Antígeno soluble.
4.- Aglutinación capilar.	Antígenos particulados.
5.- Difusión en gel.	Plasmas y antígenos soluble.
6.- Aglutinación con bentonita y partículas de latex.	Antígeno soluble.
7.- Aglutinación de parásitos.	Suspensión de parásitos teñidos.
8.- Contraelectroforesis.	Antígeno soluble.

Dentro de las pruebas serológicas probablemente la más específica sea la de inmunofluorescencia indirecta pues es posible visualizar la Babesia en forma inequívoca. Las otras pruebas tienen el inconveniente de

que los antígenos no son puros y están contaminados con sustancias de los eritrocitos, lo que puede dar reacciones falsas positivas (11, 31).

#### PREVENCIÓN

El método que mejor resultado ha dado para proteger a los animales de enfermar de babesiosis es la premunición o inmunidad infecciosa. Consiste en inocular a los animales susceptibles con una pequeña cantidad de sangre conteniendo babesias o poner unas pocas larvas de garrapatas infectadas sobre el animal. Después de un período variable de incubación los animales pueden llegar a presentar signos clínicos y una vez tratados y recuperados pueden ser introducidos a una zona enzoótica donde existe la Babesia. Aquí pueden ocurrir varias cosas; una es que el animal permanezca sano, es decir, esté protegido o también es posible que el bovino enferme y esto sería debido a que la infestación por garrapatas con babesia fue muy elevada o que las cepas de Babesia utilizadas en la inmunización y de la zona enzoótica son diferentes por lo que no hay protección (49).

La premunición generalmente es costosa y tiene un riesgo de aproximadamente 5% de mortalidad además de la posibilidad de introducir otros microorganismos patógenos tales como anaplasmas, tripanosomas o leucosis del bovino donador.

#### VACUNAS

La mayoría de las vacunas se encuentran en estado experimental

a excepción de la utilizada en Australia desde hace varios años. En el cuadro se presentan las vacunas que se han desarrollado para proteger a los bovinos de la Babesia ( 27, 31, 37, 48).

#### VACUNAS EXPERIMENTALES CONTRA BABESIA spp

ORIGEN DE LOS ANTIGENOS	RESULTADOS	DESVENTAJAS
A. Sangre completa		
1) Parásitos atenuados a través de becerros esplenectomizados.	Protección variable	Se ha usado extensivamente en Australia y Bolivia. La vacuna es de difícil manejo y ha llevado a revertir la patogenicidad, provocando pérdidas de alrededor del 14% de los animales. Provocando en ocasiones la enfermedad hemolítica neonatal. Puede transmitir otros microorganismos. Se necesitan varias cepas.
2) Parásitos irradiados	Protección variable	La mejor protección es con cepas homólogas y es escasa o nula con cepas heterólogas.
3) Parásitos inactivados químicamente <u>in vivo</u> .	Protección variable	El período parcial de inactivación del parásito es corto por lo que probablemente sea difícil de controlar.
B. Formas evolutivas de la Babesia		
1) Estado del parásito en la garrapata en la forma de anillos y vermículos.	Protección variable	Dificultad técnica de obtener los parásitos en cantidades adecuadas. Es necesario demostrar que este estado es antigénicamente semejante a la fase infectante de la larva de la garrapata.

- |  |                     |  |
|--|---------------------|--|
| 2) Babesia obtenida de un sistema de cultivo <u>in vitro</u> . | Protección variable | Los parásitos probablemente corresponden a los merozoitos que poseen antígenos importantes para penetración a los eritrocitos, este tipo de vacuna ofrece excelentes posibilidades de proteger a los animales. |
|--|---------------------|--|

C. Preparaciones antigénicas

- |   |                     |   |
|---|---------------------|---|
| 1) Antígenos a partir de eritrocitos infectados.        | Protección variable | Existe el problema de obtener parasitemias elevadas así como la existencia de diferentes cepas. |
| 2) Antígenos del plasma en fase aguda de la enfermedad. | Protección variable | Es difícil estandarizar la concentración de antígeno en el plasma.                              |

A pesar de los diferentes tipos de vacuna que se han estado investigando se desconocen cuales son los antígenos importantes para provocar una respuesta inmune adecuada. Estos podrían estar presentes en una fase evolutiva tales como los esporozoitos o merozoitos y podrían ser estructuras que tuvieran función de receptor o para la penetración del glóbulo rojo o metabolitos que se sintetizarían solo estando el parásito vivo. En este último caso, es probable que existan sustancias producidas por la babesia de vida media corta con actividades farmacológicas o que estas sean capaces de activar los mecanismos fisiológicos en el animal y que serían responsables de la aparición de los signos clínicos. Si ocurre de esta manera, una vacuna con parásitos muertos no incluiría los antígenos metabólicos importantes por lo que los animales no estarían protegidos de desarrollar los signos clínicos.

## TRATAMIENTO

En el tratamiento contra la babesiosis se han empleado diversos productos farmacológicos, que han demostrado buenos resultados. Tripanazól al 1%, de 50 a 100 ml disueltos en solución salina fisiológica, inyectada en forma endovenosa. Otros compuestos son el Ganaseg, Acaprin, Pirevan, Tripaflavina en dosis de .5 a 1 g por vía intravenosa. El Berenil en dosis de 3 mg/kg dá buenos resultados generalmente 1 sola dosis (16).

## DESCRIPCION DEL CENTRO EXPERIMENTAL PECUARIO Y SU AREA DE INFLUENCIA

El Municipio de Hueytamalco está localizado en la parte noroeste del Estado de Puebla en la Sierra Madre Occidental, limitando al norte con el Municipio de San José Acateno, Pue., y el Estado de Veracruz, al Sur con el Municipio de Teziutlán y al Oeste con los Municipios de Hueyapan, Ayotoxco y Tenampulco. Teniendo comunicación con carretera se mipavimentada en un 60% y trabajado el otro 40%. Con una superficie de 242.30 Km<sup>2</sup>. La textura del suelo es arenoso.

Orografía: Es cerril en un 40%, lomerío en el 50% y plano en el 10%.

Población Bovina: La población bovina existente es de 9 mil cabezas de ganado según datos del censo agrícola y ganadero de 1981.

Bovinos de engorda: 5,000.

Bovinos para pie de cría: 4,000.

Las tierras son utilizadas para la siembra de caña de azúcar, -

frijol, maíz y se tiene plantíos de aguacates y naranja, pastizales 4.8%.

**Escuelas:** El Municipio cuenta con 13 centros de enseñanza elemental, 20 escuelas de enseñanza primaria y 2 telesecundarias.

**Asistencia Médica:** En el Municipio se localizan un puesto de socorro de la Cruz Roja, un puesto periférico del ISSSTE, 5 puestos de socorro de la S.A.A. 3 clínicas periféricas del I.M.S.S.

**Industria:** El Municipio cuenta con una fábrica de cal y beneficios de café.

El Centro Experimental Pecuario "Las Margaritas" se localiza en el Municipio de Hueytamalco, a los 19°15' latitud Norte y 97°21' longitud Oeste, a 400 m sobre el nivel del mar. El clima presente en esta área corresponde al tipo AF (c), la precipitación anual es de 2,300 mm con una temperatura ambiental media de 21°C, la temperatura máxima de 30°C durante el verano y mínima de 8°C durante el invierno (50). La población bovina del Centro Experimental Pecuario "Las Margaritas" es de 1,418 animales de los cuales 650 son Oebú y Brahaman, 483 son Pardo Suizo y 285 cruzados.

#### OBJETIVO

Dada la importancia que representan las áreas tropicales y subtropicales en cuanto a su potencial de producción forrajera y a la creciente demanda de productos de origen animal, leche, carne, es importante conocer la situación de estas dos enfermedades.

El objetivo del presente trabajo es el conocer el estado inmunológico en contra de Anaplasma marginale y Babesia spp en ganado Cebú (Indobrasil y Brahman) y Pardo Suizo del Centro Experimental Pecuario "Las Margaritas".

#### MATERIAL Y METODOS

Se obtuvieron muestras de sangre con el sistema vacutainer por punción en la yugular, de 532 animales, 254 de la raza suizo pardo y 278 de cebú (I. B. Y Bm.), divididos de la siguiente manera: 50 animales mayores de 5 días y menores de 3 meses, 50 animales mayores de 3 meses y menores de 9 meses, 50 animales mayores de 9 meses y menores de 18 meses, 50 animales mayores de 18 meses y menores de 27 meses y 50 animales mayores de 27 meses, en total 250 animales por raza. El muestreo se efectuó en los meses de febrero y marzo del presente año.

Se sangraron los animales con agujas estériles y tubos de 10 ml con vacío, una vez coagulada la sangre se centrifugó a 230 g durante 10' con el fin de obtener el suero libre de eritrocitos, a estas muestras se les aplicaron las pruebas de F.C. e I.F.I.

Las pruebas serológicas que se practicaron 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 Babesia spp.

TECNICA PARA LA PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO (F.C.)

- 1.- Descongelar los sueros en medio ambiente
- 2.- Estandarizar glóbulos rojos de carnero al 2%.
- 3.- Hacer diluciones del suero 1:5 en Solución Amortiguadora de Verona (S.A.V.).
- 4.- Incubar a 57°C durante 45 minutos para inactivar el complemento - propio del suero.
- 5.- Pasar .025 ml de suero problema en los posos pares y nones de las cajas de observación.
- 6.- Agregar .025 ml de antígeno en los pozos nones.
- 7.- Agregar .025 ml de complemento a todos los pozos.
- 8.- Agregar .025 ml de S.A.V. a los pozos pares.
- 9.- Se incuba a 37°C durante 1 hora.
- 10.- Agregar el sistema hemolítico .050 ml a todos los pozos.
- 11.- Se vuelve a incubar una hora a 37°C en baño maría.
- 12.- Refrigerar durante 12 horas.
- 13.- Controles.- Se llevan los siguientes controles en 7 pozos:
  - a) Antígeno + complemento + sistema hemolítico.
  - b) Sistema hemolítico + complemento.
  - c) Solución Amortiguadora de Veronal (SAV) + sistema hemolítico.
  - d) Suero positivo + antígeno + complemento + sistema hemolítico.
  - e) Suero negativo + antígeno.
  - f) Suero positivo + sin antígeno + complemento + sistema hemolítico.
  - g) Suero negativo + sin antígeno + complemento + sistema hemolítico.
- 14.- Lectura: Se consideran sueros positivos aquellos pozos que presentan una sedimentación de eritrocitos del sedimento de glóbulos 50% o más.

TECNICA PARA LA PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (I.F.I.)

- 1.- Sacar las laminillas (frotis) que contiene el antígeno, que se guardan a  $-70^{\circ}\text{C}$ .
  - 2.- Desechar el antígeno durante 30 minutos en bomba de vacío y fijar en acetona 30 minutos.
  - 3.- Hacer diluciones del suero problema 1:80 usar una pipeta de suero.
  - 4.- Hacer círculos en la laminilla.
  - 5.- Con una pipeta pasteur por suero, se pone una gota en cada círculo.
  - 6.- Incubar en cámara húmeda durante 30 minutos.
  - 7.- Lavar con agua.
  - 8.- Ponerla en PBS (Solución Buffer de Fosfato) dentro de una caja con agitador magnético a 70 vueltas por minuto.
  - 9.- Lavar con agua destilada durante 5 minutos con agitador magnético.
  - 10.- Secar enfrente de un ventilador de aire, a temperatura ambiente.
  - 11.- Se agrega el conjugado de fluoresceína en dilución de 1:30, 1 gota - con pipeta pasteur.
  - 12.- Incubar durante 30 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$  en cámara húmeda.
  - 13.- Lavar con agua.
  - 14.- Lavar con PBS durante 5 minutos con agitador magnético.
  - 15.- Lavar con agua destilada 5 minutos con agitador magnético.
  - 16.- Secar.
  - 17.- Poner una capa de glicerina y cubrir con un cubreobjetos.
  - 18.- Observar en microscopio de luz ultravioleta.
  - 19.- Controles: en un círculo se deposita la dilución del suero positivo y en otro círculo se pone la dilución del suero negativo y se añade la fluoresceína.
- Interpretación: ( + ) Positivos cuando se observa la fluorescencia específica.
- ( - ) Negativo cuando no hay fluorescencia específica

## RESULTADOS

Para detectar anticuerpos contra Anaplasma marginale y Babesia spp, se realizaron las pruebas de fijación de complemento e inmunofluorescencia indirecta, en 531 animales de las razas pardo suizo y cebú, - divididos en 5 grupos según la edad. En el cuadro (3) se puede observar que a medida que aumenta la edad aumenta el porcentaje de animales positivos. En el grupo de animales mayores de 5 días y menores de 3 meses - el porcentaje es de 18% de reactores positivos. En los animales mayores de 3 meses y menores de 9 meses es de 32%, en los animales mayores de 18 meses y menores de 27 meses es de 54% y en los animales con una edad superior a los 27 meses el porcentaje de reactores positivos es de 40.3%. Teniendo 39.6% de promedio el ganado suizo pardo.

En la raza cebú (cuadro 4) se observa al igual que en la raza - pardo suizo, que al ir aumentando la edad, también aumenta el número de reactores positivos. Teniendo 30% para los animales mayores de 5 días y menores de 3 meses, 22.7% los animales mayores de 3 meses y menores de - 9 meses, 28.5% en animales entre los 9 y 18 meses, de 34.6% de animales mayores de 18 meses y menores de 27 meses y del 48.1% con animales mayores de 27 meses, siendo el promedio del 32.7%.

La prueba de inmunofluorescencia indirecta se realizó en 532 - muestras, 274 de cebú y 254 de pardo suizo. En el cuadro 1 se muestran los valores obtenidos que fueron del 34.0% para el grupo de más de 5 - días y menor de 3 meses, en el grupo de más de 3 meses y menores de 9 me - ses el porcentaje fue del 38.0%, el grupo de animales mayores de 9 meses y menores de 18 meses tuvo el 48% de animales positivos en los bovinos -

mayores de 18 meses y menores de 27 meses el 60% fueron positivos, y los animales con más de 27 meses el 63.4% reaccionaron positivamente. Siendo la prevalencia de 48.6% para el ganado pardo suizo.

En los animales de la raza cebú (cuadro 2) se observa que en el segundo grupo (> 3 meses < 9 meses) existe una baja en el porcentaje de reactores positivos, siendo éstos solamente del 31.80% en relación al primer grupo (> 5 días < de 3 meses) en el que el 60.0% de los animales resultaron positivos. En los demás grupos se aprecia un claro aumento en el porcentaje de reactores positivos, así vemos que, en animales de los >9 meses a <18 meses, de los 18 meses a <de 27 meses y de 27 meses en adelante, el porcentaje de reactores positivos se incrementa paulatinamente, siendo de 78.50%, 86.53% y 98.10% respectivamente, lo que nos da una prevalencia del 70.98%.

En el cuadro 6 podemos apreciar los porcentajes de reactores positivos en contra de Anaplasma marginale sin tomar en cuenta la raza de los bovinos en estudio y divididos en cinco grupos según la edad, así vemos que, los porcentajes aumentan del primer grupo al cuarto, siendo del 24.0%, 26.7%, 40.7% y 45.0%, observándose una disminución en el quinto y último grupo en el que el porcentaje de animales positivos fue del 44.30%.

En el cuadro 5 podemos observar los resultados obtenidos en la prueba (I.F.I.) para la detección de anticuerpos séricos en contra de Babesia spp. El aumento de animales positivos entre los grupos de más de 3 meses y menores de 9 meses, mayor de 9 meses y menor de 18 meses, mayores de 18 meses y menores de 27 meses, mayores de 27 meses se aprecia -

fácilmente, siendo éstos del 34.4%, 63.8%, 73.5% y 81.1% respectivamente, observándose que en los animales del primer grupo el porcentaje de reactivos positivos es del 47.0%, obteniendo una prevalencia del 59.9%.

Para poder determinar la probabilidad diaria de infección en -  
contra de Babesia spp de los bovinos en estudio se utilizó la fórmula di-  
señada por Mahoney y Ross en 1971:

$$I = 1 - e^{-ht} \quad \text{donde:}$$

I.- Incidencia que equivale a % de animales infectados.

e.- Base del log Nat.

h.- Probabilidad diaria de infección

t.- Tiempo en días

Y despejando la fórmula para obtener h, tenemos:  $h = \frac{(1 - I) e}{t}$

En dicho estudio se concluyó que si el porcentaje de animales -  
infectados era del 100% al destete (9 meses de edad) la situación de piro-  
plasmosis era estable. Cuando la probabilidad de infección de un hato -  
se encontraba entre 0.0005 y 0.005, estos animales se situaban dentro -  
del grupo de mayor riesgo asociado con un brote de la enfermedad.

Los resultados aquí obtenidos se muestran en los cuadros 7 y 8  
en donde se observa la probabilidad diaria de infección en contra de Ba-  
besia spp de animales de la raza pardo suizo y cebú respectivamente. La  
tasa de inoculación, para el grupo de 5 días a menores de 3 meses fue -  
del 0.0083 para los mayores de 3 meses y menores de 9 meses fue del - -  
0.0028 y los mayores de 9 meses y menores de 18 meses fue del 0.0016 en  
los mayores de 18 meses y menores de 27 meses fue del 0.0013 y los demás  
de 27 meses fue del 0.0012.

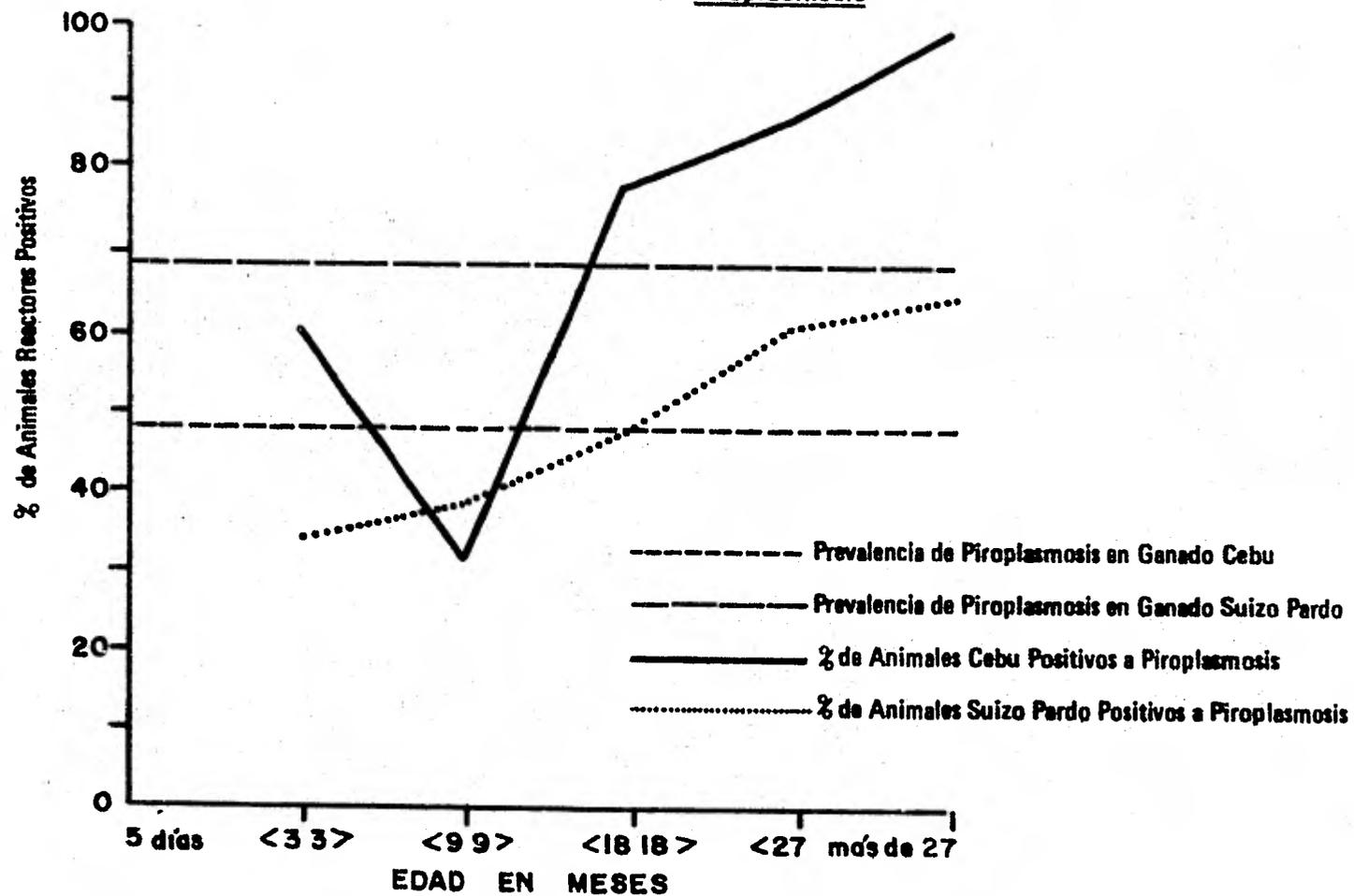
Teniendo una probabilidad diaria de infección promedio del - -  
0.0015.

En los animales del grupo cebú se obtuvieron las siguientes -  
probabilidades diarias de infección.

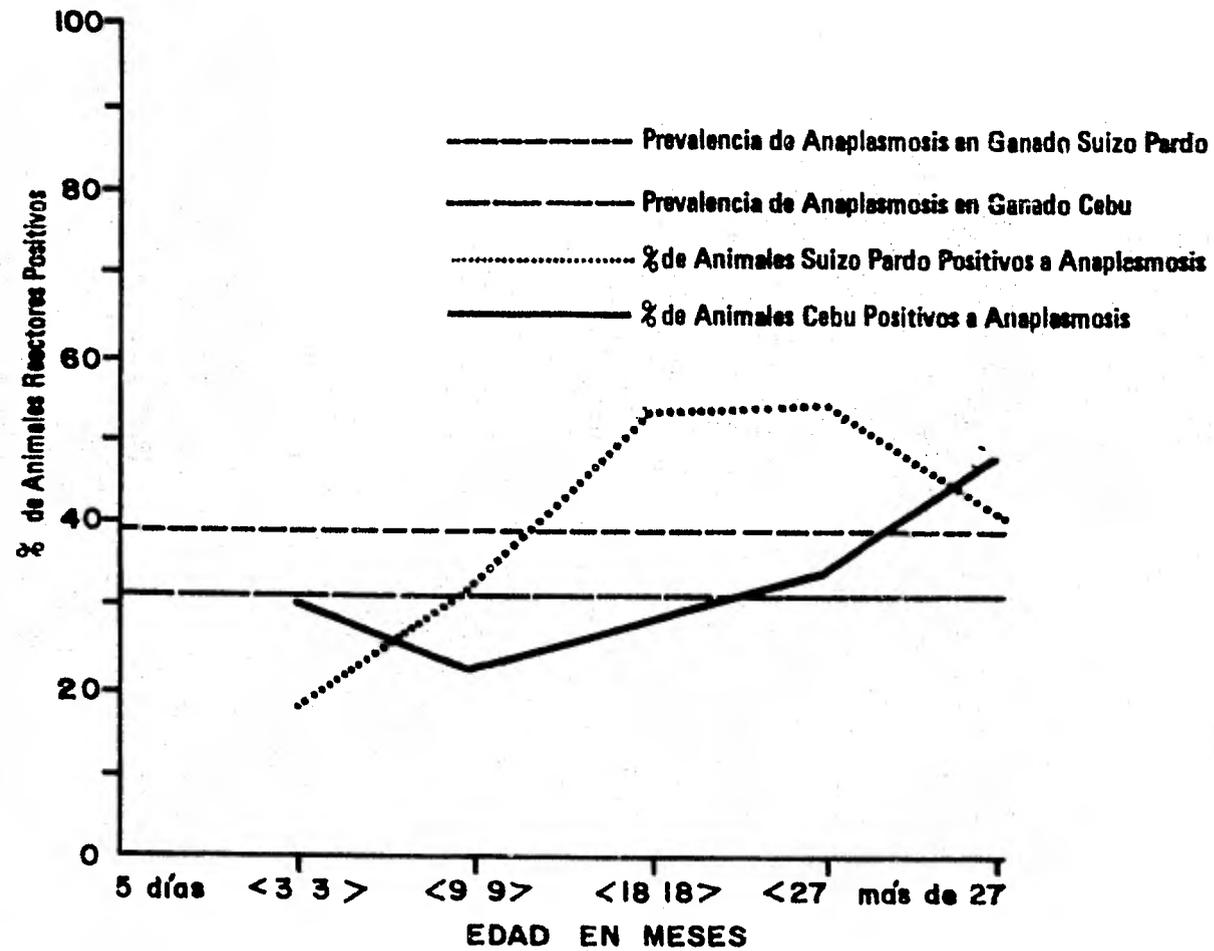
Animales de más de 5 días y menores de 3 meses	0.0152
Mayores de 3 meses y menores de 9 meses	0.0017
Mayores de 9 meses y menores de 18 meses	0.0030
Mayores de 18 meses y menores de 27 meses	0.0034
Y los mayores de 27 meses tuvieron	0.0048

Encontrándose una probabilidad diaria de infección para el grupo  
cebu del 0.0027.

**GRAFICA I**  
**PORCENTAJE DE REACTORES SERO-POSITIVOS DE LAS RAZAS**  
**SUIZO PARDO Y CEBU A Piroplasmosis**



**GRAFICA 2**  
**PORCENTAJE DE REACTORES SERO-POSITIVOS DE LAS RAZAS**  
**SUIZO PARDO Y CEBU A Anaplasmosis**



C U A D R O 1

PORCENTAJE DE ANIMALES POSITIVOS, DE LA RAZA PARDO SUIZO A LA PRUEBA DE I.F.I. PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Babesia spp.

E D A D	No. de Animales	No. de Positivos	%
Mayores de 5 días a 3 meses	50	17	34.0
> 3 meses < 9 meses	50	19	38.0
> 9 meses < 18 meses	52	25	48.0
> 18 meses < 27 meses	50	30	60.0
Mayores de 27 meses	52	33	63.4
T O T A L	254	124	48.6

C U A D R O 2

PORCENTAJE DE ANIMALES POSITIVOS, DE LA RAZA CEBU A LA PRUEBA DE I.F.I. PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Babesia spp.

E D A D	No. de Animales	No. de Positivos	%
Mayores de 5 días a 3 meses	50	30	60.0
> 3 meses < 9 meses	66	21	31.8
> 9 meses < 18 meses	56	44	78.5
> 18 meses < 27 meses	52	45	86.53
Mayores de 27 meses	54	53	98.1
T O T A L	278	193	70.98

C U A D R O 3

PORCENTAJE DE ANIMALES POSITIVOS DE LA RAZA PARDO SUIZO A LA PRUEBA DE F.C. PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Anaplasma marginale.

E D A D	No. de Animales	No.de Positivos	%
>5 días < 3 meses	50	9	18.0
>3 meses < 9 meses	50	16	32.0
>9 meses <18 meses	52	28	53.8
>18 meses <27 meses	50	27	54.0
Mayores de 27 meses	52	21	40.3
T O T A L	254	101	39.6%

C U A D R O 4

PORCENTAJE DE ANIMALES POSITIVOS DE LA RAZA CEBU A LA PRUEBA DE F.C. PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA - DE Anaplasma marginale.

E D A D	No. de animales	No.de Positivos	%
>5 días < 3 meses	50	15	30.0
>3 meses < 9 meses	66	15	22.7
>9 meses <18 meses	56	16	28.5
>18 meses <27 meses	52	19	34.6
Mayores de 27 meses	54	26	48.1
T O T A L	278	91	32.7%

C U A D R O 5

PORCENTAJE DE ANIMALES DE LA RAZA PARDO SUIZO Y CEBU POSITIVOS A LA PRUEBA DE I.F.I. PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Babesia spp.

E D A D	No. de Animales	No.de Positivos	%
De 5 días < 3 meses	100	47	47.0
> 3 meses < 9 meses	116	40	34.4
> 9 meses <18 meses	108	69	63.8
>18 meses <27 meses	102	75	73.5
>27 meses	106	86	81.1
T o t a l	532	316	59.9

C U A D R O 6

PORCENTAJE DE ANIMALES DE LA RAZA PARDO SUIZO Y CEBU POSITIVOS A LA PRUEBA DE F.C. PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Anaplasma marginale

E D A D	No. de Animales	No.de Positivos	%
De 5 días < 3 meses	100	24	24.0
> 3 meses < 9 meses	116	31	26.7
> 9 meses <18 meses	108	44	40.7
>18 meses <27 meses	102	46	45.0
Más de 27 meses	106	47	44.3
T o t a l	532	192	36.1

C U A D R O 7

REACTORES POSITIVOS Y PROBABILIDAD DIARIA DE INFECCION EN  
CONTRA DE Babesia spp EN ANIMALES DE LA RAZA PARDO SUIZO.

E D A D	$\bar{X}$ DIAS	No. DE ANIMALES	No. DE POSITIVOS	% DE POSITIVOS	PROB. DIARIA
+ de 5 días					
menor de 3 meses	50	50	17	34	0.0083
Mayor de 3 meses					
menor de 9 meses	170	50	19	38	0.0028
Mayor de 9 meses					
menor de 18 meses	395	52	25	48	0.0016
Mayor de 18 meses					
menor de 27 meses	685	50	30	60	0.0013
Mayor de 27 meses	800	52	33	63.4	0.0012
	<u>425</u>	<u>254</u>	<u>124</u>	<u>48.6</u>	<u>0.0015</u>

C U A D R O 8

REACTORES POSITIVOS Y PROBABILIDAD DIARIA DE INFECCION EN -  
CONTRA DE Babesia spp EN ANIMALES DE LA RAZA CEBU.

E D A D	$\bar{X}$ DIAS	No. DE ANIMALES	No. DE POSITIVOS	% DE POSITIVOS	PROB. DIARIA
+ de 5 días menor de 3 meses	60	50	30	60.0	0.0152
Mayor de 3 meses menor de 9 meses	220	66	21	31.8	0.0017
Mayor de 9 meses menor de 18 meses	500	56	44	78.5	0.0030
Mayor de 18 meses menor de 27 meses	600	52	45	86.5	0.0034
Mayor de 27 meses	810	54	53	98.1	0.0048
	<u>435</u>	<u>278</u>	<u>193</u>	<u>70.9</u>	<u>0.0027</u>

## DISCUSION

En el presente estudio se observaron prevalencias de anticuerpos séricos en contra de Anaplasma marginale y Babesia spp del 36.1% y 59.9%, respectivamente.

Los valores aquí obtenidos en el caso de anaplasmosis son similares a los encontrados por López, et al., (25) en los municipios de Villa Comaltitlán, Chiapas (33.6%) y Playa Vicente, Ver. 39.9% (26), trabajando con animales de las mismas características. En cuanto a la babesiosis, los resultados de este trabajo se asemejan a los obtenidos en el municipio de Playa Vicente, Ver., por López et al., en 1981 (26), en el que se obtuvo una prevalencia de 51.6%. El número de reactores positivos obtenidos en este estudio es mayor en un 79.3% al estudio que se realizó en el Municipio de Villa Comaltitlán, Chiapas 12.4% (25).

La Gráfica No. 1 nos muestra los porcentajes de reactores positivos a Babesia spp según la edad de los animales. En el ganado cebú se puede observar que existe un decremento de animales positivos en el segundo grupo, es decir, animales mayores de tres meses y menores de nueve meses, para posteriormente incrementarse, según la edad vá avanzando. Esto es debido a que en el primer grupo se detectan anticuerpos adquiridos a través del calostro (28).

En lo que respecta al ganado suizo, este fenómeno no se observa debido a que los animales son separados de sus madres desde el momento del nacimiento y no se les permite que ingieran leche materna (calostro), salvo en dos ocasiones al día empleando mamilas.

En la gráfica No. 2 podemos observar los porcentajes de reactivos positivos en contra de A. marginale en bovinos de las razas cebú y pardo suizo, de esta manera vemos que en los animales de la raza cebú mayores de 5 días y menores de 3 meses existe un alto porcentaje de animales positivos (30.0%) disminuyendo en el siguiente grupo (>3 meses <9 meses) posiblemente debido a la pérdida de inmunidad pasiva, en los siguientes grupos se observa un aumento paulatino conforme aumenta la edad. En el caso de los animales de la raza pardo suizo se observa que no existe ninguna disminución excepto en el grupo de animales mayores de 27 meses, esto es debido a que la prueba de F.C. elevó el número de falsos negativos en sueros de animales portadores de tiempo atras (44).

Los resultados obtenidos en este estudio en animales de la raza suizo pardo, de la tasa diaria de inoculación (h) de babesiosis es de 0.0015 en promedio de los 5 grupos, lo que indica que las probabilidades de que un bovino sea infectado con babesia en un día por una garrapata son de 1.5 en 1000 animales, en tanto que para la raza cebú se encontró una tasa diaria de inoculación, promedio de los 5 grupos de 0.0027, esto es que la probabilidad de que un bovino sea infectado con babesia en un día es de 2.7 en 1000 animales. Las cifras resultantes de un estudio de este tipo, indican el momento adecuado para llevar a cabo actividades relacionadas con el control de la babesiosis bovina. Este control debe efectuarse después de haber realizado varias pruebas del mismo grupo de animales y en diferentes épocas del año. Después de comprobar que la probabilidad diaria de infección vá en disminución y por lo tanto la susceptibilidad a padecer la enfermedad aumenta, las actividades de control que se pueden realizar van desde premunizar al ganado, hasta controlar por medio de garrapaticidad la mayor o menor incidencia de estos parásitos en un área determinada.

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

- 1.- Allen, P.C., Frerichs, W. M. and Holbrook, A.A. Experimental acute Babesia caballi infections. II. Response of platelets and fibrinogen. *Exp. Parasit.* 37: 373-379, 1975.
- 2.- Blood, D. C., Henderson, J. A. *Medicina Veterinaria*. 4a. Edición Interamericana. p. 608-615, 758-769, 773-776, 779-780, 815, - 1979.
- 3.- Buddens, J. and Dimopoulos G. Finite purification of Anaplasma marginale: serologic inactivity of Anaplasma body. *Am. J. Vet. Res.* 38: 633-636. May, 1977.
- 4.- Buening, G. M. Hipolipidemia and hipergammaglobulinemia associated with experimentally induced anaplasmosis in calves. *Am. J. - Vet. Res.* 3 No. 3 p. 371-374, 1974.
- 5.- Brocklesby, D. W., Harness E. and Sellwood, S. A. The effect of - age on the natural immunity of cattle to Babesia divergens. - *Res. Vet. Sci.*, 12: 15-17, 1971.
- 6.- Carson, C. A., Sells D. M., Ristic, M. Cell-mediated immune respon - se to virulent and attenuated Anaplasma marginale administered to cattle in live and inactivated forms. *Am. J. Vet. Res.* 38 p. 173-179, Feb. 1977.
- 7.- Carson, C. A., Sells, D. M., Ristic, M. Cell-mediated immunity re - lated to challenge exposure of cattle inoculated with virulent and attenuated strains of Anaplasma marginale. *Am. J. Vet. - Res.* 38. p. 1167-1172, Aug. 1977.
- 8.- Carson, C. A., Sells, D. M., Ristic, M. Cutaneous hipersensitivity and isoantibody production in cattle injected with live or - inactivated Anaplasma marginale in bovine and ovine erythrocytes. *Am. J. Vet. Res.* 37. p. 1059-1063. 1976.

- 9.- Chapman, W. E. and Ward, P. A.: The complement profile in babesiosis. J. Immunol. 117 (1976): 935.
- 10.- Chapman, W. E. and Ward, P. A. Change in C<sub>3</sub> metabolism during protozoan infection (Babesia rodhaini) in rats. J. Immunol., 116: - 1248-1284, 1976.
- 11.- Chapa, R. y Morilla S. Desarrollo de la respuesta inmune humoral y celular en la babesiosis bovina en: Resúmenes de la XIV Reunión Anual (sección Medicina Veterinaria) del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias de la S.A.R.H. 8 - 9 de Diciembre, México, D. F., 1977.
- 12.- Dalgliesh, R. J., Diamond, C. K., Hill, M. W. M. and Mellors, L. T. Babesia argentina: Disseminated intravascular coagulation in acute infections in splenectomized calves. Exp. Parasitol., 40: 124-131. 1976.
- 13.- Fitzpatrick, J. E. P., Kenedy, C. C., McGewn, M. G., Oreopouldous, D. G., Robertson, J. H. and Soyannwo, M. A.: Human case of Piroplasmosis nature. 217 (1968): 861.
- 14.- Francis, D. A., Kinden, D. A., Buening, G. M. Characterization of the inclusion limiting membrane of Anaplasma marginale by immunoferritin labeling. Am. J. Vet. Res. 40 (6) p. 777-782, 1979.
- 15.- Gibbons, W. J. Diagnóstico clínico de las enfermedades del ganado. Interamericana. Mex. p. 187-197. 1966.
- 16.- Hutyra, F., Marek, J., Maninger, M. Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos. Labor 2a. Ed. p.319-333, 1968.
- 17.- Jennings, F. The anemias of parasitic infections. En, Pathophysiology of parasitic infections. Editado por E.J.L. Soulsby, Academic Press. Inc. Nueva York, Londres, pp. 41-67, 1976.
- 18.- Jensen, R., y Mackey, D., Enfermedades de los bovinos en los corrales de engorda. U.T.E.H.A. 1a. Ed. p. 75-84. 1973.

- 19.- Kakoma, I., Ristic, M. Immunologic effector mechanisms in experimental anaplasmosis. Progress in Bovine Anaplasmosis and Babesiosis. p. 94, México city, México. February 26-28, 1980.
- 20.- Kelly, W. R. Diagnóstico clínico veterinario. C.E.C.S.A. 2a. Ed. p. 317-318, 343, 209-349. 1976.
- 21.- Kocan, K. M., Venable, J. H., Brock, W. E. Ultrastructure of Anaplasma inclusions (Pawhuska isolate) and their appendages in intact and hemolyzed erythrocytes and in complement fixation antigen. Am. J. Vet. Res. 39, p. 1123-1130, July, 1978.
- 22.- Kocan, K. M., Venable, J. H., Brock, W. E. Ultrastructural localization of anaplasma antigens (Pawhuska isolate) with ferritin-conjugated antibody. Am. J. Vet. Res. 39, p. 1131-1135. July, 1978.
- 23.- Lappage, G. Parasitología veterinaria. C.E.C.S.A. 5a. Ed. p. 687-689, 1979.
- 24.- Latorre, V. G. Evaluación profiláctica de la droga 4A 65 (dosis de 2 mg/kg de peso vivo) en la anaplasmosis. Tesis profesional U.N.A.M., 1971.
- 25.- López F. "Prevalencia de anticuerpos contra Anaplasmosis y Babesiosis en Villa de Comaltitlán, Chis." Tesis Profesional - U.N.A.M., 1982.
- 26.- López, F. I.N.I.P. Comunicación Personal.
- 27.- Lohr, K. F. Immunity to Babesia bigemina in experimentally infected cattle. J. Protozool., 19: 658-660, 1972.
- 28.- 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).
- 29.- Maegraith, B. G., Gilles, H. M. and Devokul, K. Pathological processes in Babesia canis infections. Z. Tropenmed. Parasitol. 8: 485-514, 1957.

- 30.- Magonigle, R. A., Simpson, J. E., Frank, F. W. Efficacy of a new oxytetracycline formulation against clinical anaplasmosis. Am. J. Vet. Res. 39: p. 1407-1410. Sept. 1978.
- 31.- Mahoney, D. F. Babesia of domestic animals. En parasitic protozoa. Editado por J. P. Kier Academic Press, New York, U.S.A. Vol. IV, pp. 1-52, 1977.
- 32.- Mahoney, D. F. Immune response to hemoprotozoa. II. Babesia spp. En, Immunity of Animal Parasites. Editado por E.J.L. Soulsby. Academic Press, New York, U.S.A. p.301-314, 1972.
- 33.- Mahoney, D. F. and Ross, D. R. 1972. Epizootiological factor in the control of bovine babesiosis. Aus. Vet. J. 48: 292-298.
- 34.- Medway, W. Prier, J., Wilkinson J. Patología clínica veterinaria. UTEHA. p. 219-235, 1969.
- 35.- Meyer, L. Farmacología y terapéutica veterinaria. UTEHA. p. 599, 326-329, 767-772, 775-776, 780-783, 1975.
- 36.- Morilla, A., Gallo, M., Chapa, R., Bautista, C. R., Ponce, L., — Lozano E. y Hernández P. Patogenia de la babesiosis bovina. En, Resúmenes de la XIV Reunión Anual (Sección Medicina Veterinaria) del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias de la S.A.R.H., 8 -9 de Diciembre, 1977. México, D.F.
- 37.- Morilla, A. Inmunología de las enfermedades causadas por hemoprotozoarios. En, Memorias del "Simposium Internacional de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario". Enero 15-22, 1977. Guanajuato, Gto., México, Vol. III. pp. 696-707.
- 38.- Osorno, M., Ristic, M. Anaplasmosis bovina con énfasis en control, diagnóstico, distribución de la enfermedad en México y uso de una vacuna atenuada de Anaplasma marginale. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Vol. VIII. No. 3, p. 85-95. Julio-Sept. 1977.
- 39.- Osorno, M.: "Babesiosis en México", estudio recapitulativo. Vet. - Mex. IX. 4: 203-217, (1978).

- 40.- Peterson, K. J., Raleigh, R. J., Stround, R. K., Goulding, R. L. Bovine Anaplasmosis transmission studies conducted under controlled natural exposure in a Dermacentor andersoni (venustus) indigenuos area of eastern. Oregon. Am. J. Vet. Res. 38: p. 351-354, May, 1977.
- 41.- Preston, M. D. In vitro cultivation of Anaplasma marginale. Mexico city, Mexico. February 26-28, 1980, p. 93.
- 42.- Richey, E. J., Brock, W. E., Kliewers, I. O., Jones, E. W. Resistance to anaplasmosis after elimination of latent Anaplasma marginale infections. Am. J. Vet. Res. 38: 169-170. Feb. 1977.
- 43.- Roberts, R. H., Love, J. N. Infectivity of Anaplasma marginale - after ingestion by potential insect vectors. Am. J. Vet. Res. 38: 1629-1630. Oct. 1977.
- 44.- Roby, T. O. Natural transmission of bovine anaplasmosis. South Western, Vet., 16: 17-22 (1962).
- 45.- Ristic, M., Lykins, J. D., Morris, H. R. Anaplasmosis: Oponins - and hemagglutinins in etiology of anemia. Experimental Parasitology. p. 31, 2-12, 1972.
- 46.- Runnells, R. A., Monlux, W. S., Monlux, A. W. Principios de patologia veterinaria. C.E.C.S.A. 1a. Ed., 6a. Impresión. p. - 61-65, 442-448. 1966.
- 47.- Smith, R. D. Epizootiology and models in bovine hemotropic disease. Progress in bovine anaplasmosis and babesiosis. p. 95-97 Mexico city, Mexico. Feb. 26-28, 1980.
- 48.- Smith, R. y Osorno, M. Inoculación de becerros con tejidos de garrapatas infectados con Babesia spp. Memorias de la XIII - Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, 4 - 7 de Mayo de 1976, México, D. F.
- 49.- Sergent, E., Parrot, L. and Donatien, A. Une question de terminologie. Immunizer et prémunir. Bulletin Societé Pathologie - Exotique, 17: 37 - 38, 1974.

- 50.- Tamayo, J. L. Geografía moderna de México, Trilla, 9a. Ed. p. 104-111, 1980.
- 51.- Wright, I. G. An electron microscopic study of intravascular agglutination in the cerebral cortex due to Babesia argentina infection. Int. J. Parasit., 2: 209-215, 1972.
- 52.- Wright, R. G. and Goodger, B. V. Proteolytic enzyme activity in - the intraerythrocytic parasites Babesia argentina and Babesia bigemina. Z. Parasitenk, 42: 213-220, 1973.
- 52.- Wright, I. G. and Mahoney, D. F. The activation of Kallifrein in - acute Babesia argentina infections of splenectomized calves. Z. Parasit., 43: 271-278, 1974.