



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

PREVALENCIA DE BOVINOS CON ANTICUERPOS
SERICOS EN CONTRA DE ANAPLASMA MARGINALE Y
BABESIA SPP. EN EL MUNICIPIO DE PLAYA VICENTE,
VERACRUZ

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O

P R E S E N T A N:

PEDRO APARICIO MORALES GARCIA

JOSE VENTURA ROGELIO MARTINEZ NAVARRETE

ASESOR:

M.V.Z. MSc. GERMINAL JORGE CANTO ALARCON

MEXICO, D. F.

1983

DONADO

*por Pedro Aparicio Morales Garcia
por Rogelio Martinez Navarrete*



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.



**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS
PROFESIONALES IZTAPALAPA**

IZT

J U R A D O

PRESIDENTE	M. en C. SERGIO VACA P.
VOCAL	BIOL. MARTHA SALCEDO A.
SECRETARIO	BIOL. BERTHA HASHIMOTO
1º SUPLENTE	Q.B.P. RODOLFO GOMEZ D.
2º SUPLENTE	BIOL. GABRIEL CAMARENA

C O N T E N I D O

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	23
RESULTADOS	39
DISCUSION Y CONCLUSIONES	41
BIBLIOGRAFIA	52

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN EL
DEPARTAMENTO DE HEMOPROTOZOARIOS DEL
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES
PECUARIAS.- S. A. R. H.

A MI MADRE

JOSEFINA NAVARRETE VDA. DE MARTINEZ

A MI ESPOSA E HIJOS

CONCEPCION SANCHEZ VEGA

ROGELIO MARTINEZ SANCHEZ

KARINA MARTINEZ SANCHEZ

YONATAN MARTINEZ SANCHEZ

A MIS HERMANOS CON CARINÓ

A MIS SUEGROS Y CUÑADOS CON CARINÓ

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

A MI MADRE

JULIA GARCIA BERNAL

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

CON RESPETO A NUESTRO ASESOR Y COASESORES

M.V.Z. M.Sc. GERMINAL JORGE CANTO ALARCON

M.V.Z. FERNANDO LOPEZ SANCHEZ

M.V.Z. INOCENCIO GONZALEZ ANDRADE

Y A LA SEÑORA MAGDALENA ESCANAME DE ENCISO
POR LA TRANSCRIPCION DEL PRESENTE TRABAJO.

RESUMEN

El propósito del presente estudio fue el obtener la prevalencia de anticuerpos en contra de Anaplasma marginale y Babesia spp., así como también determinar la probabilidad diaria de infección de Babesia spp. - en bovinos, localizados en Playa Vicente, Veracruz. 889 Animales cebú, criollos, cebú x suizo y criollo x suizo fueron sangrados. Estos animales pertenecían a 10 ranchos incluyendo el Centro Experimental y fueron divididos en grupos de acuerdo a su edad, la cual fluctuó entre 5 días y 8 años.

La prueba de fijación de Complemento fue usada para detectar - anticuerpos en contra de Anaplasma marginale. Mientras que la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta se empleó para detectar anticuerpos en con- tra de Babesia spp.

A fin de determinar la probabilidad diaria de infección se em- pleó la fórmula $I = 1 - e^{-ht}$ usada por Mahoney y Ross, obteniendo en este caso 1.8 por 1000. Los resultados muestran que la prevalencia de anti- cuerpos en contra de Anaplasma marginale y de Babesia spp. fue de 35.43% y de 65.43% respectivamente.

Además quedó demostrado que la prevalencia de ambas enfermeda- des es más baja en el Centro Experimental que en los ranchos. La dife- rencia fue de 64.66% en el caso de Anaplasma marginale y de 24.45% para Babesia spp.

También se comprobó la inmunidad pasiva a través del calostro. La probabilidad diaria de infección reveló que los animales más viejos son más susceptibles a la enfermedad que los animales jóvenes.

INTRODUCCION

Anaplasma y Babesia, Rickettsia y Protozoario respectivamente, son parásitos de la sangre de algunos mamíferos; parte de su desarrollo y reproducción se lleva a cabo en el interior de los eritrocitos; son causantes de las enfermedades conocidas como anaplasmosis y babesiosis, siendo la garrapata el vector biológico que las transmite, y en el caso de la anaplasmosis la mosca de los establos (Stomoxis), la mosca de los cuernos (Hematobia), - la mosca de los venados (Chrysops) y los tábanos (Tabanus), son capaces de transmitirla en forma mecánica.

En México se ha considerado la importancia económica que tienen estas enfermedades, ya que afectan a varias especies domésticas 58, 59. En el caso de babesiosis se ha comprobado que esta enfermedad es una zoonosis¹ 3,9,22,27,75,77,87.

La anaplasmosis y babesiosis tienen una mayor incidencia en los climas tropical y subtropical^{7,19,70,93} causando grandes bajas en la producción de leche y carne en bovinos.

En el país existen regiones con diferentes condiciones ecológicas, lo cual determina que en algunas de ellas esten presentes estas enfermedades, mientras que en otras no. En regiones altas o áridas las condiciones ecológicas no favorecen el desarrollo de los vectores de estas dos enfermedades, mientras que en zonas tropicales y subtropicales donde los factores de humedad, luz y temperatura propician el desarrollo de vectores artrópodos en el ecosistema, la enfermedad es enzootica. De esta manera, la incidencia de babesiosis y anaplasmosis está determinada por la densidad de los vectores y estos a su vez por las diferencias estacionales en las condiciones climáticas.

ANAPLASMOSIS

Antecedentes Históricos.-

La investigación en el campo de la anaplasmosis se inició cuando Smith y Kilborne, al estudiar eritrocitos de bovinos infectados observaron que dentro de estos aparecían cuerpos en forma cocoide, estando algunos en posición marginal. En un principio se creyó que tales cuerpos intraeritrocíticos, formaban parte del ciclo de Babesia bigemina⁸⁹. Estudios posteriores llevados a cabo por Theiler et al., en 1910^{91,92}, confirmaron que se trataba de un organismo diferente de Babesia bigemina al cual llamaron Anaplasma marginale.

El término anaplasma se refiere a que el agente carece de citoplasma y el término marginale indica que el agente se encuentra en posición marginal dentro del eritrocito. Estos mismos investigadores describen al agente causal de la anaplasmosis como un cuerpo compacto de cromatina. A principios de la década de los 50s De Robertis y Epstein¹⁷, revelaron que el cuerpo de cromatina descrito por Theiler, no era una sola entidad compacta, sino que, estaba formada por subunidades más pequeñas. Sin embargo no fue sino hasta el principio de la década de los 60s cuando se logró establecer con más claridad la estructura y el modo de desarrollo de Anaplasma, al demostrarse que la subunidad del cuerpo marginal, es decir, el cuerpo inicial, era el organismo verdadero de la anaplasmosis y que la habilidad de este cuerpo inicial para invadir eritrocitos maduros y multiplicarse en ellos por fisión binaria conducía a la formación del cuerpo marginal^{66,68,69,70}.

DEFINICION.-

La anaplasmosis es una enfermedad infecciosa transmisible, que se caracteriza por una anemia progresiva asociada con la aparición de cuerpos de inclusión dentro de los eritrocitos.

Los agentes causales de la anaplasmosis bovina son Anaplasma marginale y Anaplasma centrale.

Anaplasma centrale agente causante de la anaplasmosis benigna, encontrada originalmente en Africa del Sur, es un organismo que se encuentra con más frecuencia hacia el centro del eritrocito, de ahí el término "centrale".

CLASIFICACION

La semejanza de estructura y desarrollo del cuerpo inicial de Anaplasma con las rickettsias de los géneros Eperythrozoon y Haemobartonella, han contribuido a la clasificación de Anaplasma bajo el orden de Rickettsiales (cuadro 1). Las reacciones cruzadas en pruebas serológicas entre Anaplasma, Eperythrozoon y Haemobartonella indican que estas especies están relacionadas biológicamente³⁹. De esta manera y debido a sus similitudes los géneros Aegyptianella, Haemobartonella y Eperythrozoon junto con Anaplasma han sido agrupados en la familia Anaplasmataceae.

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS.

Por medio de estudios de filtración se ha sabido que la unidad infectiva de Anaplasma mide aproximadamente de 0.3 a 0.4 μ ^{1,65}, lo que concuerda con los estudios en microscopía electrónica, en los que se observó que el cuerpo inicial de Anaplasma, la subunidad del cuerpo marginal, también mide de 0.3 a 0.4 μ de diámetro⁶⁶.

La destrucción de Anaplasma por calor y oscilación sónica demostró que el organismo no era tan frágil. La infectividad de Anaplasma se perdió por calentamiento a 60°C durante 50 minutos; pero no fue así cuando se calentó a la misma temperatura por períodos de 15 y 30 minutos⁷. La infectividad de Anaplasma fue destruida por oscilación sónica* a 35°C durante 90 minutos,

* 1.2 amperios/10 min.

péro no durante 75 minutos a la misma temperatura^{9,10}.

Los efectos de radiaciones ionizantes en la capacidad infectiva de Anaplasma fueron estudiados, confirmándose que dosis de radiaciones de - - 75,000 R* o más, prevenían el desarrollo de la enfermedad^{18,31,85,96}.

C U A D R O I

CLASIFICACION DE ANAPLASMA

ORDEN	RICKETTISIALES
FAMILIA III	ANAPLASMATACEAE
GENERO I	
ESPECIES	MARGINALE CENTRALE OVIS
GENERO II	PARANPLASMA
ESPECIE	CAUDATUM

Ristic and Kreier (1974)⁷².

PROPIEDADES BIOLÓGICAS

Anaplasma marginale es la especie representativa del género Anaplasma familia Anaplasmataceae orden Rickettsiales⁷².

Se ha demostrado que este organismo (cuerpo inicial) penetra al eritrocito por invaginación de la membrana citoplasmática formando sucesivamente una vacuola⁶⁶. Después de esto, el cuerpo inicial se multiplica por fisión binaria y se forma un cuerpo de inclusión que consiste de cuatro a ocho cuerpos iniciales. Los cuerpos de inclusión son numerosos durante la fase aguda de la infección, sin embargo niveles bajos de infección perduran por varios años después de la infección aguda⁶⁷.

La cinética del movimiento del cuerpo inicial de Anaplasma entre eritrocitos se lleva a cabo de tal manera que no se produce daño irreparable en la membrana celular del eritrocito²⁰.

La eliminación del organismo de la circulación se lleva a cabo por fagocitosis de los eritrocitos infectados. La fagocitosis de eritrocitos no infectados, es debida a la estimulación de respuesta autoinmune producida por alteraciones de la membrana del eritrocito causadas por Anaplasma²³.

DISTRIBUCION GEOGRAFICA

En México es importante el lugar que tiene la anaplasmosis bovina en el nivel epizootiológico. La distribución de esta enfermedad es amplia como se ha comprobado a través de la Red Nacional de Diagnóstico y por el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. La importancia que tiene esta enfermedad en el desarrollo de la ganadería nacional es de primer orden. Las encuestas serológicas llevadas a cabo en varias zonas del mundo, han revelado que la anaplasmosis es de distribución cosmopolita⁶⁵,

sin embargo, se ha considerado como propia de los climas tropical y subtropical.

TRANSMISION.

La transmisión de Anaplasma se puede llevar a cabo de manera mecánica (por insectos mordedores y por el hombre) y biológica, teniendo por vectores a las garrapatas.

Anaplasma spp., es transmitida cíclicamente por las garrapatas Boophilus microplus y Boophilus annulatus, pertenecientes a la familia Ixodidae.

Boophilus spp., son garrapatas de un sólo hospedador, significando esto que todos los estados (larva, ninfa, adulto) ocurren en el mismo hospedador.

El mecanismo parasitario de la garrapata se lleva a cabo de dos maneras, cuando infecta al bovino o cuando extrae sangre infectada del mismo, presentando de esta manera Anaplasma en el bovino o en el vector. Otros vectores como la mosca de establo (Stomoxis), la mosca de los cuernos (Hematobia), la mosca de los venados (Chrysops), los tábanos (Tabanus) causan también la enfermedad³⁴.

FACTORES QUE INFLUENCIAN LA ENFERMEDAD.

En becerros inmunodeprimidos o esplenectomizados e inoculados con una cepa patógena de Anaplasma marginale, se observa la enfermedad en forma semejante a los adultos.⁵⁸

En animales adultos se ha comprobado que mediante stress, se desarrolla e incrementa la enfermedad.⁵⁸

Schroeder y Ristic han probado que la severidad de la anemia que se presenta en animales enfermos, no depende necesariamente del grado de

parasitemia, la presencia de una opsonina resistente al calor sugiere que la anemia puede ser debida en parte a autoinmunización^{53,81.}

P A T O G E N E S I S.

La patogénesis y las anomalías hematológicas que acompañan a la enfermedad han sido descritas por Jones y Brock³⁷. De acuerdo a estas investigaciones y a Norman, et al.,⁵⁷ se consideran cuatro periodos asociados a la patogénesis: Período de incubación, período de incremento de anemia, período de anemia máxima y convalecencia.

El período de incubación varia de 3 a 6 semanas, pudiéndose extender hasta 3 meses^{22, 23,35,39.}

Los parásitos de Anaplasma se introducen por medio de la picadura del intermediario Boophilus spp., llegando a los glóbulos rojos; adoptando éstos la forma de una placa rosada, la cual toma mal los colorantes. Al quedar destruidos los glóbulos rojos, queda la hemoglobina en libertad y esta al llegar al hígado, se desdoble en biliverdina y bilirrubina, posteriormente se fijan los pigmentos en los tejidos, observándose ictericia y repleción de la vasícula biliar.

Los glóbulos rojos llegan a reducirse hasta $2 \times 10^6 / \text{ml}^3$, lo que produce descargas hematopoyéticas compensadoras, observándose eritroblastos y eritrocitos de distintos tamaños³⁸.

Hay policromasia, puntilleo basofílico y eritrocitos con corpúsculos de Howell-Jolly. Los animales que sobreviven quedan como portadores de Anaplasma, pudiendo tener recaídas de menor severidad³⁸.

S I G N O S

Los animales atacados de Anaplasma se muestran en un principio apáticos, en ellos se observan anorexia, temperatura alta hasta 41°C, taquicardia, taquipnea, emaciación, anemia, palidez o tinte subictérico de las mucosas.

El curso de la enfermedad puede variar de subagudo a crónico dependiendo de la virulencia de la cepa, la cantidad de inóculo, así como de la edad y del estado inmunocompetente del hospedador¹¹.

P A T O L O G I A

A la necropsia se presentan las siguientes alteraciones: disminución de las reservas grasas; coloración pálida e icterica de las mucosas, capas tendinosas y músculos; hay esplenomegalia y hepatomegalia. Se observan petequias en el epicondrio³⁸, los riñones con zonas rojizas y la vejiga con abundante orina transparente sin tinte rojizo.

D I A G N O S T I C O

El diagnóstico se realiza por los signos y por la zona de donde proviene o se encuentran los animales. El diagnóstico de laboratorio es necesario que se realice, ya que sirve para descartar otras enfermedades y es mediante la tinción de un frotis de sangre periférica con colorantes de Giemsa, Wright o con nuevo Azul de Metileno.

Los anaplasmas con Giemsa se colorean de rojo a rojo violeta; no tienen protoplasma evidente, aún cuando se nota una especie de halo a su alrededor, que no toma el colorante basófilo.

El uso de las técnicas de Inmunofluorescencia Directa e Indirecta⁶⁵ dan resultados más confiables que con los colorantes mencionados, cuando se trata de casos subclínicos.

Otras pruebas para la detección de animales portadores, los cuales no manifiestan signos clínicos evidentes son: la prueba de Fijación de complemento²⁴, la prueba de Aglutinación en Tarjeta², y la Aglutinación Capilar⁶⁷. Estas pruebas son relativamente exactas para detectar a portadores subclínicos de anaplasmosis.

La prueba de Fijación de Complemento es usada en el laboratorio por personal entrenado, mientras que las otras dos pruebas Aglutinación de Tarjeta y Aglutinación Capilar, son sencillas y no requieren de muchos reactivos.

La prueba de aglutinación en placa es muy útil para ser usada en condiciones de campo.

INMUNOLOGIA

La infección de Anaplasmas induce tanto inmunidad humoral como celular. Las vacunas inactivadas inducen la formación de anticuerpos (respuesta humoral), así como hipersensibilidad tardía (inmunidad celular).

Los cambios que ocurren en las proteínas del suero (Globulinas), durante la anaplasmosis bovina, han sido estudiados por Murphy, et al.^{54,55}. El primer tipo de inmunoglobulinas que se detectó por medio de la prueba de Fijación de Complemento, fue la IgM cambiando a IgG a los 4 ó 5 días.

Otro tipo de anticuerpos que se producen son las autohemoglobulinas y opsoninas, las cuales son dirigidas en contra de antígenos modificados de los eritrocitos^{51,53}. La aparición de autohemoaglutininas en el suero durante la anaplasmosis esta asociada a la disminución de los valores del hematocrito^{78,79}

Kreier³⁹ observó que la aparición de hemoaglutininas es seguida de la fagocitosis de eritrocitos infectados, en el bazo y médula ósea. Por otro lado la severidad de la anemia en anaplasmosis, no esta relacionada con la intensidad de la parasitemia. Mediante suero de bovino infectado con Anaplasma se ha demostrado la presencia de opsoninas, las cuales sensibilizan a los eritrocitos para ser fagocitados por células del sistema reticuloendotelial⁸⁰.

En lo que respecta a la inmunidad celular, se ha demostrado mediante estudios in vivo, que se desarrolla de 2 a 4 semanas. Después de haber ingo

culado Anaplasma se observa una elevada respuesta inmunológica celular. Mientras que con la transferencia de suero de bovino hiperinmune a animales susceptibles, no se logra protección contra Anaplasma marginale⁶⁸.

I N M U N O P R O F I L A X I S

Para la inducción de inmunidad en bovinos se cuenta con dos tipos de preinmunización, así como también de dos vacunas. La preinmunización por medio de organismos de Anaplasma centrale no resulta en una inmunidad total al exponer con Anaplasma marginale, sin embargo induce un nivel relativo de protección^{41,42}.

El uso de cepas de Anaplasma marginale para preinmunizar ha dado mejor resultado, es decir mayor nivel de protección contra anaplasmosis⁹⁵. Este método de preinmunización debe realizarse con mucha precaución, vigilancia estrecha de la infección producida.

Vacuna inactivada.- Elaborada a partir de sangre de bovino infectada con organismos muertos combinados con adyuvante oleoso. La vacuna y revacunación se recomiendan en un tiempo de por lo menos seis semanas. Esta vacuna no previene la enfermedad, solo aminora la gravedad.

Vacuna atenuada.- Ristic et al.⁷¹, desarrollaron una vacuna atenuada para prevenir la anaplasmosis adaptando una cepa virulenta de Anaplasma - proveniente de Florida, E.U.A., a un huésped diferente de los bovinos. Más específicamente, la vacuna consiste en la adaptación de una cepa de Anaplasma biológicamente seleccionada a borregos y cabras.

TRATAMIENTO Y CONTROL

En el tratamiento de la anaplasmosis bovina han dado buen resultado las tetraciclinas (clortetraciclina, tetraciclina, oxitetraciclina).

El uso del compuesto denominado Imidocarb en diferente experimentos ha probado que podía ser un buen agente terapéutico en contra de anaplasmo

sis, sin embargo posee una alta toxicidad, afectando preferentemente el hígado.

En lo referente al control de la anaplasmosis este se logra de manera relativa mediante el establecimiento de campañas tendientes a eliminar a los vectores, como serían los baños garrapaticida en conjugación con métodos de pre-inmunización.

BABESIASIS O PIROPLASMOSIS

Antecedentes Históricos.

El primero en observar parásitos de Babesia en sangre de ovinos y bovinos, fue Babes en 1888⁷, pero no asoció la enfermedad con la presencia del parásito. El parásito fue llamada posteriormente Babesia bovis, por Starcovici⁹⁰.

En 1893, Smith y Kilborne⁸⁹ estudiaron la Fiebre de Texas en los Estados Unidos de Norteamérica reconociendo el papel que juegan las garrapatas como vectores biológicos de Babesia. Esta fue la primera ocasión que se demostró que un artrópodo es capaz de producir enfermedad en un vertebrado. Estos autores propusieron el nombre de Pyrosoma bigemina. Posteriormente fue cambiado por Starcovici⁹⁰ a Babesia bigemina.

Se ha mencionado en la literatura a otras especies; Babesia argentina y Babesia berbera, las cuales deben de ser consideradas como sinónimos de Babesia bovis⁵⁰.

DEFINICION

La babesiosis es una enfermedad transmitida por garrapatas de la familia Ixodidae. Afecta a ruminantes, equinos, perros, gatos, cerdos y bajo ciertas circunstancias al hombre. Se caracteriza por fiebre, anemia, ictericia y hemoglobinuria¹¹.

En México esta enfermedad se conoce con los siguientes nombres: Babesiosis bovina, Piroplasmosis bovina, Aguas rojas y ranilla, en Argentina como Derrengadera y Tristeza, en Venezuela como Lomadera, en Estados Unidos de Norteamérica como "Texas fever" y "Red water", mientras que en Australia como "Tick fever".

C U A D R O 2
CLASIFICACION DE BABESIA

Reino	Protista	
Subreino	Protozoa	
Filum	Apicomplexa	Levine, 1970 ⁴⁵
Clase	Sporozoa	Leuckart, 1879 ⁴³
Subclase	Piroplasmaia	Levine, 1961 ⁴⁴
Orden	Piroplasmida	Weyon, 1926 ⁹⁷
Familia	Babesiidae	Poche, 1913 ⁶⁰
Género	Babesia	Starcovici, 1893 ⁹⁰

La clasificación de los protozoarios, especialmente su división dentro de los grupos taxonómicos superiores, es controversial, la mayoría de los investigadores están de acuerdo en muchos aspectos de la sistemática y filogenia de los protozoarios, sin embargo, surgen otros problemas que requieren elaboración y estudio en el sistema taxonómico.

El Comité de Sistemática y Evolución de la Sociedad de Protozoólogos, publicaron una clasificación del Phylum Protozoa (Cuadro 2). El Género Babesia incluye aquellos Piroplasmas que se dividen en dos, cuatro o más veces, dentro de los eritrocitos. Estas formas apareadas están frecuentemente arregladas en un ángulo característico, el cual ha sido usado como guía para la identificación de especies, especialmente en ganado.

Neitz en 1965⁵⁶ estableció que es imposible diferenciar a Babesia argentina, Babesia berbera, Babesia major, de Babesia bovis, contando solamente con la morfología. Si bien Babesia berbera es reconocida por Neitz como una especie, Simitch y Nevenitch⁸⁴ consideraron a Babesia berbera como sinónimo de Babesia bovis.

Richardson⁶² considera a Babesia berbera como una cepa Africana, de Babesia bovis; sin embargo no hay inmunidad cruzada.

E P I Z O O T I O L O G I A .-

a) Distribución geográfica e importancia.

La Distribución de la babesiosis a través de los diferentes agentes que la causan es mundial, siendo en los climas subtropical y tropical donde prevalece dicha enfermedad. En México encontramos Babesia bovis y Babesia bigemina afectando bovinos.

La importancia de la babesiosis se manifiesta en el hecho de que producen cuantiosas pérdidas económicas al elevar los costos de producción de leche y carne (se ha calculado que cada animal pierde 30 kg. durante la infección)¹⁶.

b) Transmisión de Babesia spp.

A varios géneros y especies de ácaros parásitos del ganado bovino se les dá el nombre común de garrapatas; de todas las que existen en México las de mayor interés económico y únicas transmisoras de la enfermedad son: Boophilus annulatus y Boophilus microplus.

La transmisión de Babesia dentro de las garrapatas se lleva a cabo de dos formas: Transovárica y Transestadio; 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.

c) Factores que influyen en el curso de la enfermedad.

Bajo determinadas condiciones de stress fisiológico, hacinamiento, inanición, viajes, etc., los animales portadores son susceptibles de padecer una recurrencia fatal.

La administración de corticosteroides bajo condiciones de laboratorio, produce un incremento en la parasitemia.

Otros factores son: El estado de susceptibilidad del hospedador, la edad del hospedador (los animales jóvenes pueden padecer la enfermedad con curso asintomático, conforme la edad aumenta la posibilidad de severidad y letalidad de la infección también aumentan), cepas de Babesia spp. diferentes, de una misma especie no poseen la misma virulencia.

H O S P E D A D O R . I N V E R T E B R A D O

La primer secuencia del desarrollo comienza cuando los eritrocitos infectados llegan a las células epiteliales del intestino de la garrapata, donde se cree que son fagocitados; comenzando la fisión del cuerpo infectante. Posteriormente surgen formas de masa denominadas vermículas, - las cuales miden de 11 a 15 μ m de longitud. Estas unidades migran a través de la hemolinfa y pueden ser detectables bajo condiciones de laboratorio, - después de tres o cinco días de la replicación. Los órganos que infectan son los ovarios, túbulos de Malpighi, tejido peritraqueal y músculo. La continua producción de vermículas (por esquizogonia) es un mecanismo para mantener e incrementar la probabilidad de infección de los huevos de garrapatas durante el período de oviposición. Después del período de oviposición de las garrapatas, las vermículas se multiplican en el huevo y las células hijas invaden el epitelio intestinal de la larva en desarrollo. Después del desarrollo embrionario de las larvas las formas de esporozoitos se localizan en las glándulas salivales.

HOSPEDADOR VERTEBRADO

La infección de los vertebrados se lleva a cabo por esporozoitos (forma infectante) procedentes de las glándulas salivales de las garrapatas. Los esporozoitos aparentemente penetran directamente a los eritrocitos dando lugar a la forma de trofozoito, esta a su vez se multiplica (se desconoce la naturaleza exacta del proceso) dando lugar a los merozoitos, los que abandonan el eritrocito y pasa al torrente sanguíneo donde afectan los demás eritrocitos⁴⁰.

PATOGENESIS

Los esporozoitos o formas infectantes son inoculadas por la garrapata. Posteriormente la membrana del eritrocito sufre una invaginación - causada por el parásito, penetrando este al interior del eritrocito.

El período de incubación varía de cinco a diez días, dependiendo de la especie del parásito. El parásito produce la destrucción de los eritrocitos con desprendimiento de hemoglobina, produciendo varios grados de anemia. Hay disminución del hematocrito, ocasionando anorexia, degeneración de células endoteliales y circulación más lenta así como anoxia.

En el caso de Babesia bovis, esta se acumula en los capilares - del encefalo, así como riñón, corazón y bazo.

La sangre presenta inconsistencia "sangre aguada". El tiempo de coagulación esta retardado.

En ocasiones puede haber hemoglobinuria, en otros casos hay incremento de temperatura hasta los 42° C y 43°C los que preceden a la muerte - del animal.

Si el animal sobrevive a la fase aguda de la enfermedad, la - densidad de los parásitos en la sangre decrece y el animal se convierte en un portador del parásito en ausencia de otra infección hasta por varios meses³⁸.

S I G N O S .

Cuando la enfermedad presenta un cuadro sobreagudo, el animal se desploma presentando fiebre elevada, polipnea, ocurriendo la muerte pocas horas después.

Este cuadro sobreagudo se observa con ganado adulto productor de leche que es introducido a zonas enzoóticas, sin haberse tomado las debidas precauciones. Por el contrario, en ganado cebú y criollo en zonas enzoóticas, suele presentarse la enfermedad de manera asintomática.

Otros signos de la manifestación de la enfermedad son: las mucosas visibles primeramente aparecen congestionadas, tornándose pálidas (anemía) y posteriormente ictericas. Además de anorexia hay taquicardía y taquipnea. Después de varios días los animales muestran incoordinación al caminar y debilidad¹¹.

En los casos agudos el primer signo es una fiebre elevada (41°C o más), coincidiendo con la aparición de la parasitemia.

D I A G N O S T I C O .

En lo que respecta al diagnóstico hematológico, éste se realiza preparando frotis gruesos o delgados de sangre capilar; cuando hay parasitemias escasas, se realizan frotis gruesos, aunque este tipo de estudio ha sido substituido por pruebas serológicas⁴⁷. Cuando la sintomatología del animal se manifiesta, los frotis delgados son los indicados.

A la necropsia es conveniente realizar improntas de los siguientes órganos: cerebro, riñón, corazón e hígado.

Durante el diagnóstico microscópico de babesiosis es útil tener en cuenta las siguientes consideraciones:

a) La ausencia de parásitos en la sangre no es un indicativo de que la enfermedad no esté presente.

b) En términos generales, Babesia bigemina causa la enfermedad con parasitemia que exceden el 3%, mientras que en Babesia bovis las parasitemias en casos clínicos son de 0.1%. En México bajo condiciones de laboratorio se han observado que Babesia bovis, es más virulenta. Sin embargo, en las zonas enzoóticas de la República Mexicana las infecciones mixtas son muy comunes, incluso asociadas con Anaplasma marginale.⁸⁷

De las pruebas serológicas que se han desarrollado para diagnosticar babesiosis bovina se pueden citar las siguientes: Fijación de Complemento, Inmunofluorescencia Indirecta, Aglutinación en tubo capilar, en Tarjeta, en látex y la prueba de ELISA (Enzimatic Linkage Immunosorbent Assay).

La prueba de Fijación de complemento ha sido usada en el diagnóstico de la infección con Babesia bigemina, Babesia bovis, Babesia equi, Babesia caballi, Babesia canis y Babesia ovis.

En bovinos la prueba tiene un alto grado de especificidad, dando sólo de 1 a 2% de falsos positivos en bovinos que no se encontraban infectados. La sensibilidad de la prueba de Fijación de Complemento es baja puesto que los anticuerpos permanecen a niveles detectables tan sólo por pocos meses después de la infección.⁴⁸

La prueba de Inmunofluorescencia Indirecta tiene una alta especificidad. Se encontró que cada 3 ó 4% de reacciones falsas positivas para Babesia bovis, en bovinos no infectados. Mientras que la sensibilidad fue de 97 a 98% al detectar animales con infección subclínica.³⁵

La prueba de Hemoaglutinación Indirecta ha sido evaluada para diagnosticar Babesia bovis y Babesia bigemina. Los antígenos para esta prueba han sido parcialmente purificados a partir de extractos de células parásitadas por medio de cromatografía de intercambio iónico y filtración en gel.^{28,29} La prueba resultó muy confiable en mediciones experimentales, pero en diagnóstico de campo, disminuyó notablemente su eficiencia.

La prueba de Aglutinación Capilar fue desarrollada por Lohr y Ross⁴⁶, los resultados fueron similares a los de Fijación de Complemento, detectándose anticuerpos calostrales durante períodos más prolongados.

La prueba de Aglutinación en Tarjeta es una modificación de la anterior⁹⁴. Demostró ser útil aunque requiere de mayor investigación. La prueba de Aglutinación en Látex demostró funcionar bien en el laboratorio, pero bajo condiciones de campo tiene un número bastante grande de falsos positivos³⁰.

La prueba de ELISA es directamente aplicable a Babesia divergens pero todavía no hay resultados concretos en cuanto a su aplicación en Babesia bovis^{61,82}.

I N M U N O L O G I A .

La inmunología a Babesia spp., está basada en el principio de infección-inmunidad. El parásito persiste en la sangre periférica del huésped (infección latente). En bovinos las infecciones latentes pueden durar de uno - - a doce años. No está todavía claro de qué manera la infección inicial por sí sola contribuye a la duración de la infección latente. Además del proceso de infección-inmunidad, todavía opera otro mecanismo de inmunidad, inmunidad estéril, esto es hospedadores inmunes y que no albergan al parásito. Existen varios autores que describen la resistencia a la infección clínica en bovinos, sin que previamente estos hayan tenido infección latente^{6,15,63}.

Por otro lado se ha comprobado la importancia de los anticuerpos cuando son transferidos por madres inmunes a sus crías mediante el calostro^{32,33}. Se ha informado de la presencia de anticuerpos después de cuatro días de ocurrida la infección, sin embargo, no se ha podido establecer una correlación entre los anticuerpos mensurables y la protección del huésped^{12, 75}.

Se considera que ciertos anticuerpos pueden actuar directamente sobre el parásito, mientras que la acción de otros estaría mediada por el complemento. En lo que respecta a la respuesta inmune, desarrollada por los animales

durante la infección, se ha observado que contribuye a la patogenia debido a efectos de anticuerpos autoinmunes dirigidos contra los eritrocitos, ya sea que se encuentren o no parasitados.

La titulación del antígeno y anticuerpo en el suero durante el curso de la infección con Babesia reveló que el título de anticuerpos es inversamente proporcional a la severidad de la parasitemia y antígeno⁸³.

Por otro lado la variación antigénica es un fenómeno bien conocido en parásitos protozoarios, esto es, la "habilidad" que tienen para cambiar la especificidad de antígenos de superficie como respuesta a un estímulo desfavorable, tal como la exposición a un anticuerpo específico. Este fenómeno fue observado primero en Tripanosoma, posteriormente fue demostrado en otras especies patógenas tales como Plasmodium y Babesia.

Curnow^{13, 14}, estudio la especificidad de un aglutinógeno sobre la superficie de los eritrocitos infectados con Babesia bovis, encontrando que había diferencia entre poblaciones de parásitos de cada parasitemia durante la fase crónica de la infección.

Respecto a la inmunidad celular, es poco lo que se ha investigado, probablemente por los altos costos que implica realizarla en bovinos.

I N M U N O P R O F I L A X I S .

Varios métodos se han ensayado en la profilaxis contra la babesiosis: Preinmunización con sangre infectada, preinmunización con garrapatas infectadas, antígenos procedentes de los eritrocitos y del plasma de animales infectados, vacunas con organismos atenuados por pases, vacunas con organismos atenuados por irradiación con Co⁶⁰.

T R A T A M I E N T O.

El tratamiento que se sigue en esta enfermedad es a base de Ganaseg, productos hematopoyéticos (cianocobalamina, vitamina del complejo B, hierro, etc.), productos derivados de sales arsenicales (Arisel), todo esto aunado a un buen manejo de los animales enfermos, en cuanto se refiere a una buena - dieta y cuidados para evitar una recaída.

Otros productos con el mismo principio activo adicionado con tetraci-- clinas, son el Babesol, Gasel y Rivevet. Todos estos productos son usados - con el fin de combatir las infecciones mixtas de babesiosis y anaplasmosis, las cuales son muy frecuentes en las zonas tropicales y subtropicales de Mé- xico.

C O N T R O L.

México posee areas tropicales y subtropicales, este hecho favorece la , existencia de un mayor número de vectores, siendo los principales las garrapatas.

Las medidas de control que más se han empleado son las que tienen que ver con la supresión o reducción en el número de garrapatas, por medio del - empleo de baños con sustancias ixodicidas.

Para el control de vectores se conocen tres tipos de baños con solucio- nes garrapaticidas y estos son el de unción, el de aspersion y el de inmer-- sión. Los baños de inmersión son más eficaces y económicos, ya que se gasta menos cantidad de ixodicida por animal tratado y los animales quedan total-- mente empapados en un menor tiempo.

Otros métodos que se estudian son la utilización de enemigos naturales de la garrapata (control biológico), así como la síntesis de feromonas para interferir en los procesos reproductivos ¹⁶.

O B J E T I V O.

Determinar la prevalencia de animales con anticuerpos séricos en contra de Anaplasma marginale y Babesia spp., en el Municipio de Playa Vicente, Ver.

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA ZONA.

Población humana: Según datos tomados del Censo de población de 1980, la población humana existente es de 45,000 habitantes, compuesto por pequeños agricultores y ganaderos en esta proporción:

Agricultores.....	60%
Ganaderos.....	40%

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....	20%
Bovinos productores de carne....	80%

LOCALIZACION (Mapa 1 y 2)

El Municipio de Playa Vicente, Ver., se encuentra limitado al Norte con los municipios de Loma Bonita, Oax., Villa José Azueta, Ver., Ciudad Isla Ver., al Sur con los municipios de Jocotepec, Oax. y San Juan la Lana, Oax., al Este con los municipios de San Juan Evangelista y Juan Rodríguez Clara, Ver., al Oeste con el Municipio de Tuxtepec, Oax.

Altitud: 95 metros sobre el nivel del mar.

Clima: Tropical lluvioso (Aw), con temperatura media anual de 25.8 °C y precipitación promedio anual de 2,200 mm, con una estación seca de tres meses.

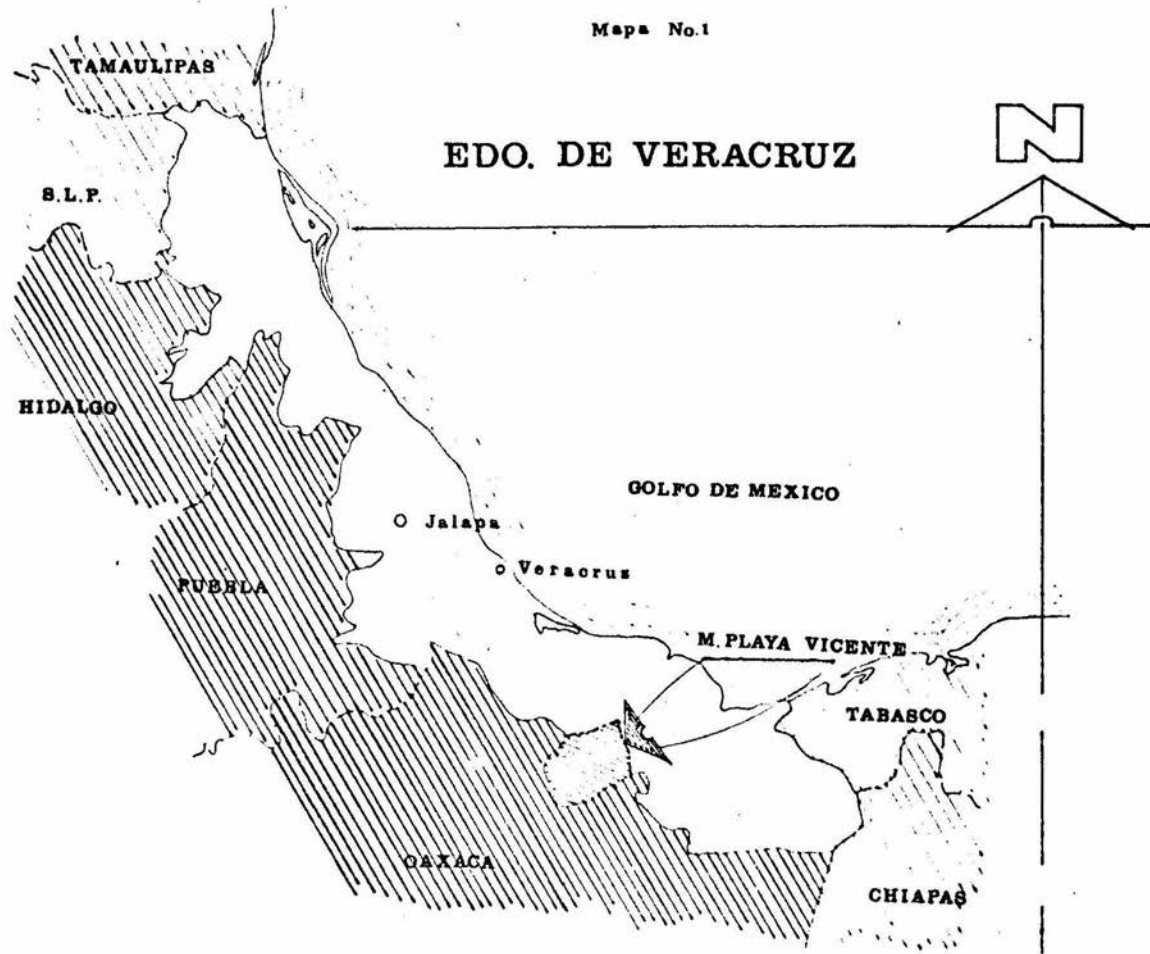
Carreteras: La principal carretera es la Transistmica, que conduce hacia el Sur hasta la frontera con Guatemala y hacia el Norte con México.

Escuelas: El municipio cuenta con tres escuelas de enseñanza elemental, y una telesecundaria.

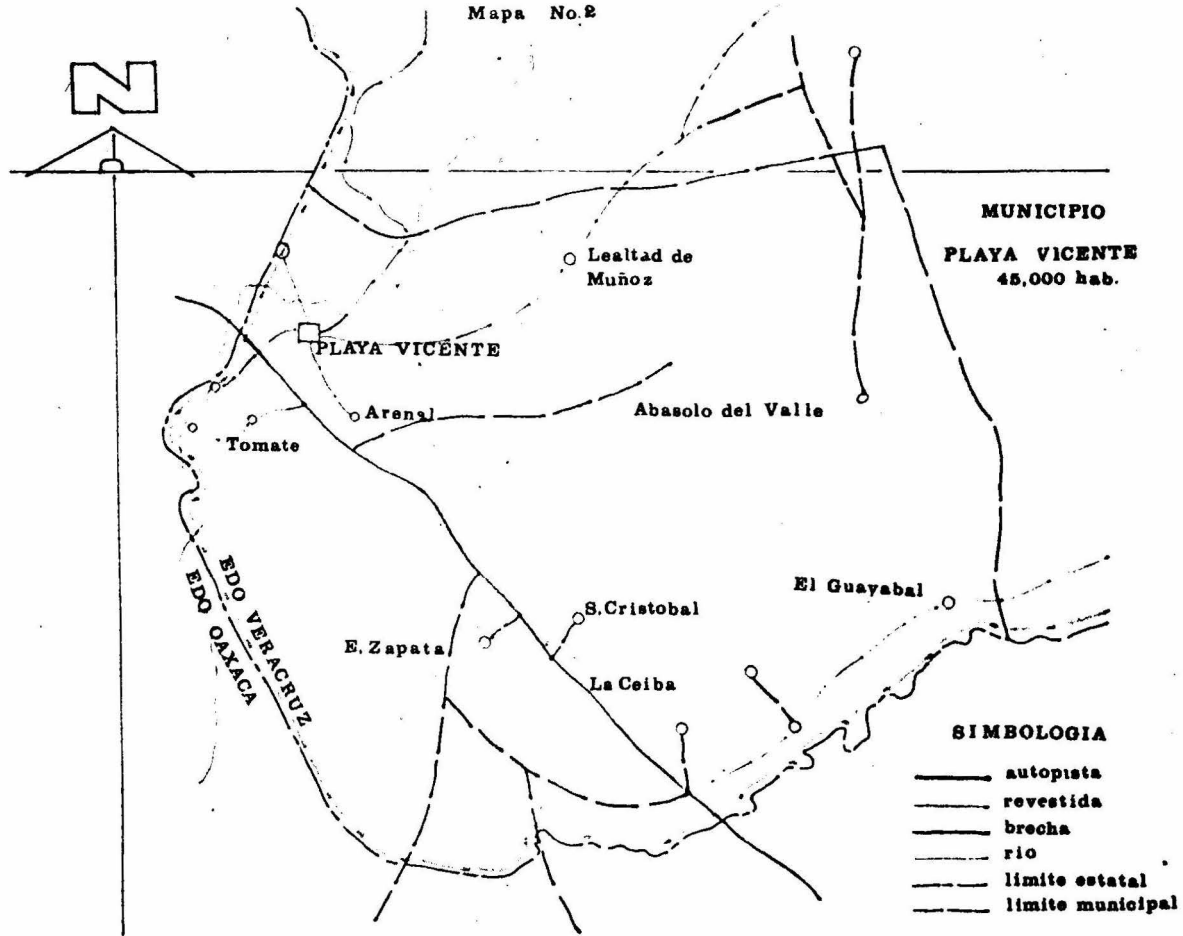
Hospitales: El municipio cuenta con un Centro de Salud perteneciente a la S.S.A.

Industria: El municipio cuenta con tres plantas barbasqueras.

Mapa No.1



Mapa No. 2



MATERIAL Y METODOS.

Para llevar a cabo este trabajo se emplearon sueros de 889 cabezas de ganado cebú, la distribución por edades quedó de la siguiente manera:

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

Novillonas cebú destetadas de 3 meses a menores de 9 meses de edad.

Novillos cebú de engorda de 9 meses a menores de 19 meses de edad.

Toretas cebú de engorda de 19 meses a menores de 27 meses de edad.

Vaca cebú de más de 27 meses de edad.

El material y equipo fue proporcionado por el Departamento de Hemo protozoarios del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, perteneciente a la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos y consto de:

Tubos y fracos de 10.0 ml.

Tapones de hule.

Agujas hipodérmicas del No. 4.

Etiquetas para identificar.

Recipientes de Aluminio.

Hielera.

Hielo seco.

Equipo y reactivos para la prueba serológica de Fijación de complemento (F.C.).

Centrífuga (CU-500 DAMON/IEC DIVISION)

Baño María.

Potenciómetro (Corning PH meter 130)

Espectrofotómetro (ESPECTRONIC MODELO 21 UV).

Termómetro (WEST GERMANY MOD. 466300-90)

Micropipetas (ZEISS, INDUSTRIAS CARL ZEISS DE MEXICO, S.A. DE C.V.)

Pipetas automáticas de 50, 50, 250 y 1000 microlitros (LABORATORIOS HELENA).

Micropuntillas.

Microplaca.

Espejo de Lectura.

Balanza analítica (SARTORIUS WEKKE, TYPE 2462).

Antígeno de Anaplasma marginale (Donado gentilmente por el Dr. George Brown del Departamento de Agricultura de los E.E.U.U.).

Complemento de cobayo (LAB. GIBCO).

Hemolisina Glicerizada (RABBIT ATI-SHEEP HEMOLISIN), LAB. GIBCO.

Eritrocitos de ovino sano (libre de Ac. en contra de Anaplasma).

Solución Amortiguadora de Veronal (SAV).

Equipo y reactivos para la prueba serológica de Inmunofluorescencia Indirecta (I.F.I.).

Estufa de cámara húmeda (NATIONAL APPLIANCE Co. MODELO 3640).

Ventilador.

Bomba de vacío.

Microscopio de Fluorescencia (LEITZ WETZLAR, GERMANY 66654).

Micropipetas automáticas de 1 ml. y de 10 a 50 mcl. (LAB. HELENA)

Base para agitador magnético.

Lápiz de pintura de aceite (MARKTEX) de .5 cm. de diámetro.

Lápiz de diamante.

Porta y cubreobjetos.

Piedra de sílica.

Antígeno de Babesia spp. (frotis de sangre de bovinos con 5% de parasitemia).

Preparación del Antígeno de Babesia.-

- a) Animal parasitado con Babesia.
- b) Extracción de la sangre de dicho animal (500 ml).
- c) Inoculación de la sangre a un animal esplenectomizado (2 ml) de eritrocitos parasitados.
- d) Se vigila si existe o no Babesia; se toman muestras sanguíneas y se realizan frotis desde el primer día que se inocula.
- e) Cuando se comprueba la existencia de Babesia se realizan pases sucesivos, para incrementar la parasitemia en animales esplenectomizados susceptibles.
- f) Se sangra el último animal, el cual se le hizo la última inoculación y que se encuentre con una parasitemia entre 5 y 10%.
- g) La sangre se obtiene en anticoagulante (EDTA) y se lava en solución salina 0.85% a 2000 rpm 3 veces.

- h) Se eliminan glóbulos blancos y suero. Se obtiene el paquete de glóbulos rojos.
- i) Realización de frotis; se secan al aire; se introducen en cámara húmeda a 37°C durante una hora.
- j) Los frotis se cubren con papel sanitario y se envuelven en papel estaño. Se depositan dentro de bolsas de polietileno se identifican y se guardan a -70°C.

Conjugado de fluoresceína (Fluorescein Conjugated IgG Fraction Rabbit Anti-Bovine IgG (Heavy Light Chains) LAB. CAPPEN.

Solución amortiguadora de Fosfatos (PBS) pH 7.2.

Solución de glicerina fosfatada al 10%.

Acetona.

M E T O D O S

Los animales en estudio fueron sangrados con agujas estériles mediante punción yugular, se obtuvieron aproximadamente 10 ml de sangre, los cuales fueron recolectados en tubos al vacío, una vez coagulada la sangre se centrifugo a 900 xg durante 10 minutos, con el fin de obtener el sobrenadante (suero) libre de eritrocitos, cada muestra fue dividida en dos partes para correr las pruebas de Fijación de Complemento (F.C.) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), este seguimiento se llevó a cabo para cada una de las 889 - muestras con las que se trabajó, siendo transportadas al laboratorio del - - I.N.I.P. en recipientes que contenían hielo seco para mantenerla congeladas a una temperatura de 4°C hasta el momento de su utilización.

Las pruebas serológicas que se corrieron fueron las siguientes:

- 1.- Fijación de Complemento (F.C.)
- 2.- Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).

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

A cada muestra de suero se le hizo una dilución 1:5 con Solución Amortiguadora de Veronal (SAV), de pH 7.2 a 7.4, estando hecha la dilución se incubó en Baño María a 56°C durante 1 hora, con el fin de inactivar el complemento del propio suero, ya inactivado se pusieron .025 ml de suero problema, en los pozos de la microplaca (caja de observación), dos pozos por muestra, esta caja consta de pozos pares y nones, teniendo el suero se agregaron .025 de ml de antígeno únicamente a los pozos nones, posteriormente se agregaron .025 de ml de complemento a todos los pozos y .025 de ml de SAV a los pozos pares y se incubó en Baño María a 37°C durante 1 hora, al término de esta incubación se agregó el sistema hemolítico (sistema indicador, glóbulos rojos de carnero) a razón de .050 de ml a todos los pozos y se volvió a incubar en Baño María durante 1 hora a 37°C después de esta última incubación se llevó a cabo la lectura de la prueba.

Los controles para la prueba de Fijación de Complemento fueron los siguientes:

Antígeno + Complemento + Sistema Hemolítico ——— Lisis

Solución Amortiguadora de Veronal (SAV) + Sistema Hemolítico —Botón

Suero positivo (sin antígeno) + Complemento + Sistema Hemolítico ———

Lisis.

Complemento + Sistema Hemolítico ——— Lisis.

Suero Positivo + Antígeno + Complemento + Sistema Hemolítico —Botón.

Suero negativo (sin antígeno + Complemento + Sistema Hemolítico ———

Lisis.

Suero negativo + Antígeno + Complemento + Sistema Hemolítico ——— Lisis.

TECNICA PARA LA PRUEBA DE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)

Utilizando antígeno de sangre bovina preparada en el I.N.I.P.*. Las laminillas fueron preparadas con eritrocitos de bovino infectados con Babesia spp. de 5 a 10% de parasitemia y mantenidas a menos 70°C.

Las laminillas fueron sacadas del congelador según se fueron utilizando. Se descongelaron los frotis (antígeno) en una cámara de desecación con sílica durante 60 minutos.

Después se fijaron las laminillas en acetona durante 30 minutos. Se secaron con ventilador durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se marcaron 10 círculos en cada laminillas con un lápiz de aceite (1 cm. de diámetro aproximadamente).

Se hizo una dilución 1:80 (8 ml). Se colocaron 7.9 ml de Solución Amortiguadora de Fosfatos (PBS) con un pH 7.2 (solvente) y .1 de ml de suero problema (soluta), así como de los sueros controles positivo y negativo.

Con una Pipeta Pasteur se colocó una gota de las diluciones a cada círculo. Colocándose en dos de los círculos los controles del suero positivo y negativo respectivamente. Se incubó durante 30 minutos en cámara húmeda a 37°C (primera reacción).

Posteriormente se lavaron las laminillas sumergiéndose en una solución de PBS dos veces por 5 minutos y una vez en agua destilada durante 5 minutos, aplicando en las tres ocasiones ligero movimiento rotativo con la ayuda de un agitador magnético.

Se puso a secar frente a un ventilador a temperatura ambiente.

* Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias.

Con el conjugado de fluoresceína se hace una dilución 1:30; en un tubo se coloca .1 de ml de conjugado y 2.9 ml de PBS.

Una gota de esta dilución fue aplicada en cada uno de los círculos con la muestra problema colocándo en el último círculo (sin muestra - problema) una gota de conjugado de fluoresceína como control. Se incubó 30 minutos a 30°C.

Nuevamente se vuelve a lavar con PBS durante 5 minutos y después con agua destilada otros 5 minutos, para quitarle el exceso de PBS.

Se puso una gota de glicerina buferada y se coloca el cubreobjetos. Finalmente se hizo la observación al microscopio de luz ultravioleta.

RANCHOS MUESTREADOS.

RANCHO "EL PROGRESO"

Número de animales estudiados.- 48 Distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No.DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	4
3 meses - < 9 meses	17
9 meses - < 18 meses	4
18 meses - < 27 meses	5
>27 meses	18
TOTAL :	<hr/> 48

RANCHOS MUESTREADOS:

RANCHO "EL TIMBRE"

Número de animales estudiados.- 100 Distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No. DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	8
3 meses - < 9 meses	12
9 meses - < 18 meses	14
18 meses - < 27 meses	24
> 27 meses	42
T O T A L:	<u>100</u>

CENTRO EXPERIMENTAL PECUARIO DE PLAYA VICENTE, VER.

Número de animales estudiados.- 155 Distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D E S	No. DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	33
3 meses - < 9 meses	18
9 meses - < 18 meses	46
18 meses - < 27 meses	17
> 27 meses	41
T O T A L:	<u>155</u>

RANCHO " EL SOLITO "

Número de animales estudiados.- 39 Distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No.DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	1
3 meses - < 9 meses	3
9 meses - < 18 meses	12
18 meses - < 27 meses	3
> 27 meses	<u>20</u>
T O T A L:	39

RANCHO "SAN PECHI"

Número de animales estudiados.- 70 Distribuidos por edades
manera:

E D A D	No.DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	5
3 meses - < 9 meses	9
9 meses - < 18 meses	7
18 meses - < 27 meses	7
> 27 meses	42
T O T A L:	<u>70</u>

RANCHO "EL TAURO"

Número de animales estudiados.- 186 Distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No. DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	21
3 meses - < 9 meses	17
9 meses - < 18 meses	21
18 meses - < 27 meses	21
> 27 meses	106
T O T A L:	<u>186</u>

RANCHO "CHAPALA"

Número de animales estudiados.- 101 Distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No. DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	13
3 meses - < 9 meses	19
9 meses - < 18 meses	6
18 meses - < 27 meses	10
> 27 meses	53
T O T A L:	<u>101</u>

RANCHO "EL CARACOL"

Número de animales estudiados.- 58 Distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No. DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	2
3 meses - < 9 meses	7
9 meses - < 18 meses	16
18 meses - < 27 meses	10
>27 meses	23
T O T A L:	<hr/> 58

RANCHO " LA LIBERTAD "

Número de animales estudiados.- 57 Distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No. DE ANIMALES
5 días - < 3 meses	4
3 meses - < 9 meses	6
9 meses - < 18 meses	6
18 meses - < 27 meses	12
> 27 meses	29
T O T A L:	<hr/> 57

RANCHO "EL MIRADOR"

Número de animales estudiados.- 75 Distribuidos por edades de la siguiente manera:

E D A D	No. DE ANIMALES
5 días = < 3 meses	4
3 meses - < 9 meses	14
9 meses - < 18 meses	8
18 meses - < 27 meses	10
> 27 meses	<u>39</u>
T O T A L :	75

RESULTADOS.

En el cuadro número 1 está representado el porcentaje (%) de bovinos seropositivos en contra de Anaplasma marginale. Se puede observar que en el grupo de animales de 5 días de nacidos a menores de 3 meses (lactantes), el número de animales positivos es mayor que en los demás grupos. También es posible ver que a mayor edad, mayor es el porcentaje de positivos a excepción del último grupo en donde se observa decremento en el porcentaje de animales con anticuerpos en contra de Anaplasma marginale.

En el cuadro número 2 se presentan los resultados, porcentaje (%) de bovinos seropositivos en contra de Babesia spp. Se puede ver que en el grupo de animales de 5 días de nacidos a menores de 3 meses (lactantes), el número de animales positivos es mayor que en los demás grupos. En los siguientes grupos se observa un incremento en el porcentaje de animales con anticuerpos séricos, en relación directa con la edad de los animales.

En la gráfica número 1 se muestra la prevalencia de anticuerpos en contra de anaplasmosis y babesiosis. La prevalencia general de anticuerpos específicos en contra de Anaplasma marginale fue de 35.43%, mientras que para Babesia spp fue de 65.46%. Se puede observar que la prevalencia de anticuerpos en contra de Babesia spp. es aproximadamente el doble de la de Anaplasma marginale.

Con respecto a los bovinos con anticuerpos séricos en contra de Anaplasma marginale, del Centro Experimental Pecuario (cuadro 3), se observa que en el grupo de animales de 5 días a menores de 3 meses (lactantes), el resultado fue de 12.12% de animales positivos. En el segundo grupo ocurre una baja en el porcentaje de animales seropositivos, 5.55%. En los siguientes grupos se observa que a mayor edad, mayor es el porcentaje de positivos. Sin embargo se puede observar que en el último grupo de animales (27 meses), el porcentaje disminuye a 17.07%.

En el porcentaje de bovinos seropositivos en contra de Anaplasma marginale, correspondientes a los ranchos del municipio (Cuadro 4) se observa que en el grupo de animales lactantes el porcentaje de seropositivos es mayor que en los demás grupos. En el siguiente grupo, animales de 3 meses a menores de 9 meses de edad, se observa disminución en el porcentaje de animales seropositivos. En los restantes grupos se aprecia aumento en el porcentaje de animales con anticuerpos positivos en relación a la edad. Empero, en el último grupo hay disminución en el porcentaje de animales seropositivos.

En la gráfica número 2 se muestra una comparación de las prevalencias de anticuerpos obtenidos en contra de Anaplasma marginale, entre los animales del Centro Experimental y el de los ranchos, siendo de 14.19% y de 39.9% respectivamente.

En el cuadro número 5 se observa el porcentaje de bovinos con anticuerpos séricos en contra de Babesia spp., del Centro Experimental. Se puede apreciar que en el grupo de animales lactantes el porcentaje de animales seropositivos es mayor al correspondiente de los demás grupos. En el segundo grupo de animales de 3 meses a menores de 9 meses se observa una baja en el porcentaje de animales seropositivos. En los siguientes grupos se ve que hay incremento en el porcentaje de seropositivos a partir del grupo de animales de 9 meses a menores de 18 meses.

El cuadro número 6 representa el porcentaje de bovinos con anticuerpos séricos en contra de Babesia spp., del resto de los ranchos en donde podemos observar que en el grupo de animales de 5 días a menores de 3 meses existe un porcentaje alto de animales seropositivos con respecto a los demás grupos. En el siguiente grupo de animales de 3 meses a menores de 9 meses el porcentaje de seropositivos se encuentra disminuido. No obstante, se puede observar que los demás grupos el porcentaje de seropositivos ha aumentado.

En gráfica número 3 se puede observar la comparación de la prevalencias de anticuerpos en contra de Babesia spp., entre los animales del Centro Experimental y el de los ranchos, siendo de 51.61% y 68.39% respectivamente.

En 1972 Mahoney y Ross⁴⁹ estudiaron los factores epizootiológicos en el control de la babesiosis, utilizando métodos estadísticos para determinar la probabilidad diaria de infección mediante la fórmula:

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

Donde:

- I = Incidencia que equivale al porcentaje de animales infectados.
- e = Base del logaritmo natural.
- h = Tasa de inoculación o probabilidad diaria.
- t = Tiempo en días

Despejando h, queda:
$$h = - \frac{\ln (1 - I)}{t}$$

Los resultados del cuadro número 7 nos muestran que la probabilidad diaria de infección disminuye conforme aumenta la edad de los animales, obteniendo un promedio de 0.0018.

CUADRO 1

PORCENTAJE DE ANIMALES CON ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Anaplasma marginale EN EL MUNICIPIO DE PLAYA VICENTE, VER.

E D A D	No.DE ANIMALES	No. DE +	% DE +
5 días - < 3 meses	95	32	33.68
3 meses - < 9 meses	122	28	22.95
9 meses - < 18 meses	140	45	32.15
18 meses - < 27 meses	119	49	41.17
> 27 meses	413	161	38.98
T O T A L	889	315	35.46

CUADRO 2

PORCENTAJE DE ANIMALES CON ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Babesia spp.
EN EL MUNICIPIO DE PLAYA VICENTE, VER.

E D A D	No. DE ANIMALES	No. DE +	% DE +
5 días - < 3 meses	95	64	67.36
3 meses - < 9 meses	122	56	45.90
9 meses - < 18 meses	140	86	61.42
18 meses - < 27 meses	119	85	71.42
> 27 meses	413	291	70.46
T O T A L:	889	582	65.46

CUADRO 3

PORCENTAJE DE BOVINOS CON ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Anaplasma marginale DEL CENTRO EXPERIMENTAL PECUARIO DE PLAYA, VICENTE, VER.

E D A D	No. DE ANIMALES	No. DE +	% DE +
5 días - < 3 meses	33	4	12.12
3 meses - < 9 meses	18	1	5.55
9 meses - < 18 meses	46	7	15.21
18 meses - < 27 meses	17	3	17.64
> 27 meses	41	7	17.07
T O T A L:	155	22	14.19

CUADRO 4

PORCENTAJE DE BOVINOS CON ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Anaplasma marginale DE LOS RANCHOS DEL MUNICIPIO DE PLAYA VICENTE, VER.

E D A D	No. DE ANIMALES	No. DE +	% DE +
5 días - < 3 meses	62	28	45.16
3 meses - < 9 meses	104	27	25.96
9 meses - < 18 meses	94	38	40.42
18 meses - < 27 meses	102	46	45.09
> 27 meses	372	154	41.39
T O T A L:	734	293	39.91

CUADRO 5

PORCENTAJE DE BOVINOS CON ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Babesia spp
DEL CENTRO EXPERIMENTAL PECUARIO DE PLAYA VICENTE, VER.

E D A D	No. DE ANIMALES	No. DE +	% DE +
5 días - < 3 meses	33	20	60.60
3 meses - < 9 meses	18	8	44.44
9 meses - < 18 meses	46	21	45.65
18 meses - < 27 meses	17	10	58.82
> 27 meses	41	21	51.21
T O T A L:	155	80	51.61

CUADRO 6

PORCENTAJE DE BOVINOS CON ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE Babesia spp.
DE LOS RANCHOS DEL MUNICIPIO DE PLAYA VICENTE, VER.

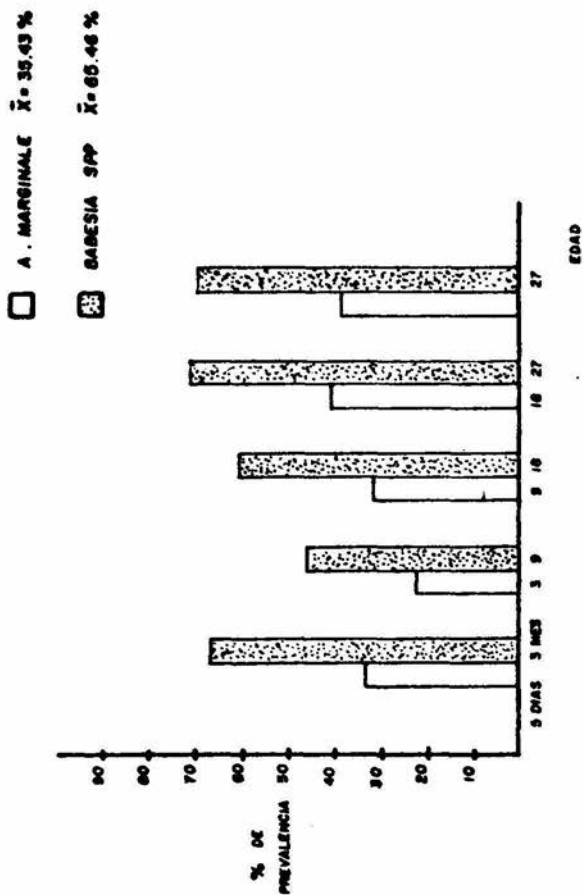
E D A D	No. DE ANIMALES	No. DE +	% DE +
5 días - < 3 meses	62	44	70.96
3 meses - < 9 meses	104	48	46.15
9 meses - < 18 meses	94	65	69.14
18 meses - < 27 meses	102	75	73.52
> 27 meses	372	270	72.58
T O T A L:	734	502	68.39

CUADRO 7

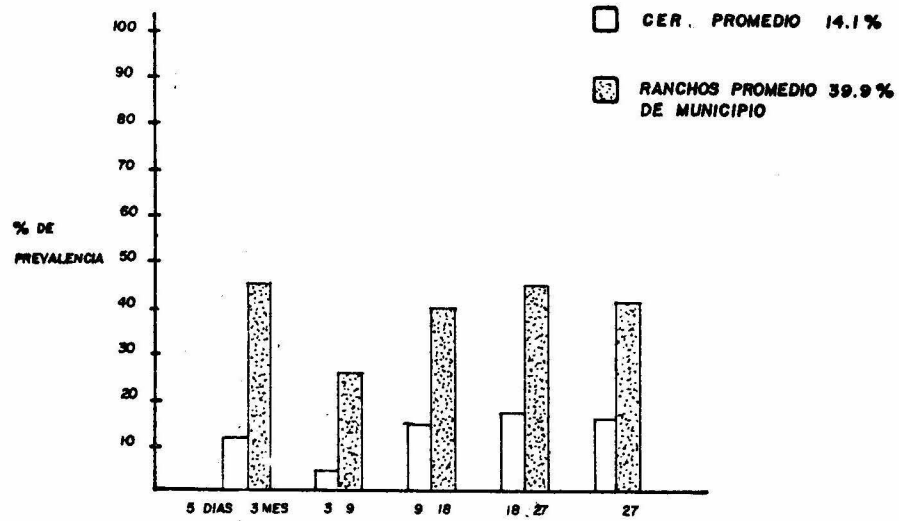
PROBABILIDAD DIARIA DE INFECCION DE Babesia spp. EN BOVINOS DEL MUNICIPIO DE PLAYA VICENTE, VER.

GRUPO	No. DE ANIMALES	No. +	% PREVAL.	PROB. DIARIA INF.
5 días - < 3 meses	95	64	67.36	.0235
3 meses - < 9 meses	122	56	45.90	.0034
9 meses - < 18 meses	140	86	61.42	.0023
18 meses - < 27 meses	119	85	71.42	.0018
> 27 meses	413	291	70.46	.0015
TOTAL:	889	582	65.46	.0018

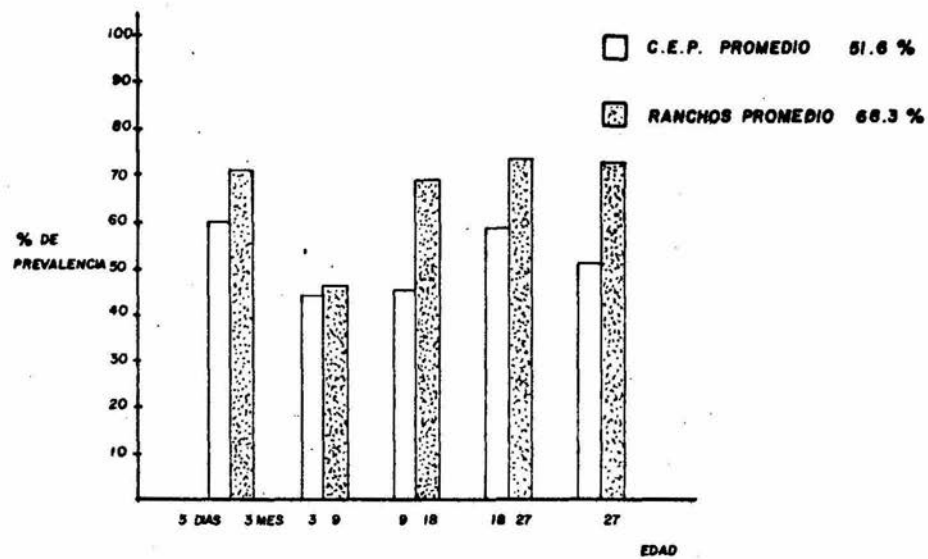
GRAF. 1 PREVALENCIA DE ANIMALES CON ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE ANAPLASMA MARGINALE Y BABESIA SPP EN EL MUNICIPIO DE PLAYA VICENTE VER.



GRAF. 2 COMPARACION DE LAS PREVALENCIAS DE ANIMALES CON ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE ANAPLASMA MARGINALE ENTRE EL CENTRO EXPERIMENTAL Y LOS RANCHOS DEL MUNICIPIO.



GRAF. 3 COMPARACION DE LAS PREVALENCIAS DE ANIMALES CON ANTICUERPOS SERICOS EN CONTRA DE BABESIA SPP. ENTRE EL CENTRO EXPERIMENTAL Y LOS RANCHOS DEL MUNICIPIO DE PLAYA VICENTE VER.



DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los animales muestreados corresponde en su mayoría a la raza - cebú, productor de carne, a diferencia del ganado lechero el cual se considera más susceptible a las garrapatas ¹⁶.

Factores climatológicos como son la humedad, luz, temperatura, propician el desarrollo de los vectores artrópodos, en la zona muestreada. De tal manera que la incidencia de anaplasmosis y babesiosis se vé favorecida.

Los valores aquí obtenidos en el caso de anaplasmosis son similares a los encontrados por López ⁴⁶ en Villa Comaltitlán, Chiapas, con una diferencia de sólo 1.8% y por Ortega ⁵⁸ con una diferencia de 2.7%. Respecto a babesiosis, el resultado de este trabajo difiere con el de López en - 53% en Villa Comaltitlán, Chiapas, mientras que con el de Ortega, existe - sólo una diferencia de 5.4%. En otro estudio similar en Tizimín, Yucatán, Ponce ⁶² encontró una prevalencia de 69.23% existiendo una diferencia en - este caso de un 3.8%. Por otro lado, el resultado de Ortega para la probabilidad diaria de infección fue de 0.0027. Ponce reporta un resultado de 0.0023 en un estudio similar en Tizimín, Yucatán. Estos resultados son mayores en un 0.0009 y 0.0005 respectivamente al obtenido en nuestro trabajo (0.0018).

Las diferencias aquí observadas en las prevalencias son debido a que los baños garrapaticidas no se llevan a cabo con la misma frecuencia en las diferentes regiones. Con respecto a la probabilidad diaria de infección notamos que los resultados mencionados anteriormente son mayores - al nuestro, lo cual sugiere un mayor número de garrapatas infectadas.

Para el estudio de los animales muestreados se separaron en cinco grupos: el primer grupo se formó con animales de 5 días a menores de 3 meses de edad, con el objeto de comprobar la inmunidad pasiva; el segundo grupo lo constituyen animales de 3 meses a menores de 9 meses de edad, los cuales quedaron destetados (interrupción de la inmunidad pasiva). Los tres grupos restantes, animales de 9 meses a menores de 18 meses de edad, de 18 meses a menores de 27 meses de edad y a mayores de 27 meses de edad, se les agrupó de esta manera para facilitar su manejo.

Los resultados obtenidos mediante las pruebas realizadas, Fijación de Complemento e Inmunofluorescencia Indirecta, demuestran que la prevalencia de anticuerpos en contra de Anaplasma marginale así como de Babesia spp., es mayor en los animales de los ranchos que en el Centro Experimental Pecuario, existiendo una diferencia de 64.66% en la prevalencia de anticuerpos en contra de A. marginale y de 24.45% en contra de Babesia spp. Esta diferencia se puede explicar si se toma en cuenta que en dicho Centro existe una organización en el trabajo bien establecida; existe un calendario que sirve de guía para desarrollar las actividades en las áreas de reproducción animal, nutrición, forrajes y control sanitario (baños garrapaticidas). Mientras que en los ranchos muestreados no se puede contar con las ventajas expuestas arriba, debido al desembolso que significaría contar con todas las actividades mencionadas. Sin embargo, el Centro Experimental brinda asesoría técnica a los ganaderos, al instituir en la zona un régimen de desparasitación externa (baños garrapaticidas cada 15 días), para abatir lo mejor posible la incidencia de anaplasmosis y babesiosis.

En nuestros resultados de prevalencia general de anticuerpos en contra de Anaplasma marginale y Babesia spp., encontramos que el porcentaje de bovinos con anticuerpos séricos en contra de Babesia spp. es mayor que el hayado en contra de A. marginale. Suponemos que esta diferencia se

debe a las condiciones en el nivel de microclima, el cual es más adecuado para el desarrollo de *Babesia* spp., aunque a este respecto no tenemos conocimiento de que se haya realizado algún estudio.

Sabemos por los estudios llevados a cabo por Roby (1962)⁷³, que los animales reciben inmunidad pasiva a través de calostro. En nuestros resultados se observa que en el grupo de 5 días a menores de 3 meses hay un incremento de animales con anticuerpos, lo cual indica que estos recibieron inmunidad pasiva a través de calostro.

En el segundo grupo, que es de 3 meses a menores de 9 meses de edad observamos una disminución en el porcentaje de anticuerpos, debido a que la inmunidad pasiva se pierde al destetarlos, ya que la vida media de los anticuerpos dura un corto tiempo.

En los siguientes dos grupos los resultados muestran un incremento en el porcentaje de reactores positivos, debido al mayor tiempo de exposición al medio ambiente; la presencia del agente incrementa el nivel de anticuerpos.

En el último grupo de animales, mayores de 27 meses, el porcentaje de los mismos con anticuerpos en contra de A. marginale disminuye, ya que existen portadores que con la prueba de Fijación de Complemento nos dan falsos negativos, debido a que existe un nivel de anticuerpos por debajo de los que se puede detectar como prevalente⁴. Quizá debido a que el sistema inmunológico del animal pierde eficiencia a través del tiempo. El envejecimiento del sistema inmunológico, debido a que el metabolismo del animal disminuye, así como las condiciones de "stress" causadas por movimiento de ganado, cambios de temperatura, sequías prolongadas, pueden desencadenar en una mayor morbilidad.

Refiriendonos al método de preinmunización como medio para conferir inmunidad a los bovinos en contra de Anaplasma marginale y Babesia spp., sabemos que tiene sus inconvenientes: transmisión de otras enfermedades, choque anafiláctico; implementación de asistencia técnica adecuada. Por lo que se ha buscado afanosamente la elaboración de vacunas que den protección eficiente sin mayores riesgos, pero hasta ahora con resultados negativos. No es fácil responder al porqué estos procedimientos inmunológicos no han tenido éxito en prevenir la anaplasmosis y babesiosis. No obstante, pensamos que en las vacunas elaboradas están representados sólo uno o pocos tipos de antígenos o también quizá haga falta purificar lo más posible al antígeno o antígenos implicados en la respuesta inmunológica.

Con respecto a la probabilidad diaria de infección de Babesia spp., sabemos por los estudios realizados por Mahoney y Ross (1972)⁴⁹, que las cifras resultantes en un estudio de este tipo, indicarán el momento para implementar medidas tendientes a controlar la babesiosis bovina, mediante la preinmunización o por medio de garrapaticidas.

El resultado obtenido en este estudio, fue de una tasa diaria de inoculación (h) de babesiosis de 0.0018 en promedio, lo que indica que la probabilidad de que un bovino sea infectado con babesia en un día por una garrapata, sea de 1.8 en 1000 animales.

También observamos que la probabilidad diaria de infección disminuye al aumentar la edad de los animales, por lo que la susceptibilidad de los animales libres a padecer la enfermedad se vé incrementada. El resultado obtenido en el primer grupo de bovinos (5 días a menores de 3 meses) no debe ser tomado en consideración, debido a la inmunidad calostrual.

De lo anterior se desprende que cuando la probabilidad diaria de infección ha descendido principalmente en los animales de mayor edad, estos serán mucho más susceptibles a padecer babesiosis si llegan a ser infectados por garrapatas.

CONCLUSIONES

- 1.- Los baños no van a eliminar el mal en su totalidad, dado que factores ecológicos como son luz, temperatura, humedad, alimento, son propicios para el desarrollo del vector. Sólo se logra un control parcial.
- 2.- La edad del animal es importante para adquirir la enfermedad.
- 3.- La probabilidad diaria de infección dependen del número de garrapatas.
- 4.- Las pruebas son lo suficientemente sensibles para determinar la prevalencia de anticuerpos.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Allbritton, A. R., and Parker, L. T. (1962). Am. J. Vet. Res. 618-625.
- 2.- Amerault, T. E. and Roby, T. O. (1967). Preparation and Characterization of a soluble Anaplasma marginale antigen. Am. J. Vet. Res. 28: - 1057-1072.
- 3.- Anderson, A. E., Cassidy, P. B. and Healy, G. R. (1974). Babesiosis in - Man Sixth Documented Case. Am. J. of Clinical Pathology. 62: 612-618.
- 4.- Angelovski, A. R. and Tomorova, O. (1963). Bovine Anaplasmosis in Macedo- nia. Vet. Glasnik. 17: 323-328.
- 5.- Anthony, D. W. (1965). Anaplasmosis on Look. Veterinarian. 37: 5-8.
- 6.- Arnold, R. M. (1948). Vet. Record. 60: 426.
- 7.- Babes, V. (1888). Sur L'Hemoglobinurie Bacterienne du Boeuf. Acad. Sci. 107: 692-694.
- 8.- Bedell, D. M. and Dimopoulos, G. T. (1962). Am. J. Vet. Res. 24: 618-623.
- 9.- Bedell, D. M. and Dimopoulos, G. T. (1963). Am. J. Vet. Res. 24: 278-282.
- 10.- Bedell, D. M. and Dimopoulos, G. T. (1965). Am. J. Vet. Res. 26: 889-891.
- 11.- Blood, D. C. and Henderson, J. A. (1979). Medicina Veterinaria. Nueva Edi- torial Interamericana S. A. pp. 603-608.
- 12.- Callaw, L. E. and Mc Gregor, W. (1970). The effect of imidocarb against - Babesia argentina and Babesia bigemina infections of cattle. Aust. - Vet. J. 46: 195-200.
- 13.- Curnow, J. A. (1968). In vitro agglutination of bovine erythrocytes infected with Babesia argentina. Nature (London). 217:268.
- 14.- Curnow, J. A. (1973). Studies on Antigenic changes and strain differences in Babesia argentina infection. Aust. Vet. J. 49: 279-283.
- 15.- Davies, D. F. M., Joyner, L. P. and Kendall, S. B. (1958). Ann. Trop. Med. Parasitol. 52: 206-215.
- 16.- De La Jara, A. F. (1970). Algunas notas sobre garrapatas del ganado bovino en México. Boletín Técnico. Distribuidora Shellter de México. p.8.
- 17.- De Robertis, E. and Epstein, B. (1951). Electron Microscope study of ana- plasmosis in bovine red blood cells. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 77: 254-258.

- 18.- Dommert, A. R. and Dimopoulos, G.T. (1965). Am. J. Vet. Res. 26:1047-1050.
- 19.- Edging, J. P. and Franklin, T. E. (1963). Recent observations on Anaplasmosis. Southwestern Vet. 17:35-38.
- 20.- Exp. E. and Fahrney, D. (1975) Exit of Anaplasma marginale from bovis red blood cell. Am. J. Vet. Res. 36:707-709.
- 21.- Fitzpatrick, J.E.P., Kennedy, C.C., McGeown, M.G., Oreopoulos, D.G., Robertson, J. H. and Soyannwo, M.A.O. (1968). Human case of piroplasmiasis. Nature, London, 217:861-862.
- 22.- Franklin, T.E., Huff, J. W. and Heck, F.C. (1962). Southwestern Vet. 15: 131-139.
- 23.- Franklin, T.E., Heck, F.C. and Huff, J.W. (1962). Proc. 4th. Natl. Anaplasmosis. Conf. Reno, Nevada. pp.50-53.
- 24.- Franklin, T.E., Heck, F. C. and Huff, J.W. (1963). Anaplasmosis complement fixation antigen production. Am. J. Vet. Res. 24: 483-487.
- 25.- Franklin, T. E., and Huff. J.W. (1967). A proposed method of preimmunizing cattle with minimum inocula of Anaplasma marginale. Res. Vet. Sci. 8:415-418.
- 26.- Gorenflot, A., Piette, M. and Marchand, A. (1976). Babesiosis animals et Sante humaine premier cas de babesiosis humaine observé en France. Reune de Medicine Veterinaire. 152(5):289-297.
- 27.- Goodger, B.V. (1971) Preparation and preliminary assessment of purified antigens in the passive haemagglutination test for bovine babesiosis. Aust. Vet. J. 47: 251-256.
- 28.- Goodger, B. V. (1973). Further studies of haemagglutinating antigens of Babesia bigemina. Aust. Vet. J. 49: 81-84.
- 29.- Goodger, B. V. and Mahoney, D.F. (1974). Evaluation of the passive haemagglutination test for the Diagnosis of Babesia argentina infection in cattle. Aust. Vet. J. 50: 246-249.
- 30.- Cough, B.J. and Dimopoulos, G. T. (1965). Am. J. Vet. Res. 26:346-349.
- 31.- Hall, W. T.K. (1960). The immunity of calves to Babesia argentina infection. Aust. Vet. J. 36:386-389.

- 32.- Hall, W. T. K. (1963). The immunity of calves to Babesia argentina infection. Aust. Vet. J. 36:386-389.
- 33.- Howell, D. E. (1975). Proc. 3rd. Natl. Res. Conf. Anaplasmosis in cattle. Manhattan, Kansas. pp. 14-16.
- 34.- Jackson, F.C. (1964). Vet. Med. 59:822-823.
- 35.- Johnston, L. A., Pearson, R.D. and Leatch, G. (1973). Evaluation of an indirect fluorescent antibody test for detecting Babesia argentina infection in cattle. Aust. Vet. J. 49:373-377.
- 36.- Jones, E. W., Brock, W. E. (1966). J. Am. Vet. Med. Assoc. 149:1624-1633.
- 37.- Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. (1980). Patología de los animales domésticos. Ed. UPOME. pp. 373-375.
- 38.- Kreier, J.P., Ristic, M. (1963). Am. J. Vet. Res. 24:697-702.
- 39.- Kreier, J. P., Gravely, S., Seed, T., Smucker, R. and Pfister, R. M. (1975). Babesia spp.: The relationship of stage of development to structure of intra and extra-cellular parasites. Tropenmed. Parasitol. 26:9-18.
- 40.- Kuttler, K.L. (1967). Serological relationship of Anaplasma marginale and Anaplasma centrale as measured by the complement fixation and capillary tube agglutination test. Res. Vet. Sci. 8:207-211.
- 41.- Kuttler, K.L. (1967). A study of the immunological relationship of Anaplasma marginale and Anaplasma centrale. Res. Vet. Sci. 8:467-471.
- 42.- Leuckart, K. (1979). Allgemeine naturgeschichte der parasiten. G. F. Winter, Lipzig and Heidelberg, X + 216 pp.
- 43.- Levine, N. D. (1961). Problems in the systematics of the "Sporozoa". J. Protozool. 8:442-451.
- 44.- Levine, N.D. (1970). Taxonomy of the sporozoa. J. Parasitol. 56 No. 4, Sect. II., pt. +: 208-209.
- 45.- Löhr, L.E. and Ross, J.P.J. (1969). Ein Kapillarröhrchen Agglutinations test Zum Nachweis von Babesia bigemina Antikörpern. Z. Tropenmed. Parasit. 20:287-297.
- 46.- López, S.F. (1982). Prevalencia de anticuerpos en contra de Anaplasma marginale y Babesia spp. Tesis Profesional. F.M.V.Z., U.N.A.M.

- 47.- Mahoney, D.F., and Saal, J.R. (1961). Bovine Babesiosis: Thick Blood Films for the detection of parasitemia. Aust. Vet. J. 39:44-47.
- 48.- Mahoney, D.F. (1967). Bovine babesiosis: The passive immunization of calves against Babesia argentina with special reference to the role of complement fixing antibodies. Exp. Parasitol. 20:119-124.
- 49.- Mahoney, D.F. and Ross, D.R. (1972). Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. Aust. Vet. J. 48:292-298.
- 50.- Mahoney, D.F. (1977). Babesia of domestic animals. Parasitic Protozoa, J. P. Kreier Ed., Vol. IV Academic Press New York, N. Y.
- 51.- Mann, D. K. and Ristic, M. (1963). Anaplasmosis XIV. The isolation and characterization of an autohemoagglutinin. Am.J.Vet.Res. 24:709-712.
- 52.- M'Fadeyen, J. and Stockman, S.(1911). An new species of piroplasma found in the flood of british cattle. J.Comp.Pathol. 24:340-354.
- 53.- Morris, H. and Risti , M. (1971). Characterization of opsonins eluted - from erythrocytes of cattle infected with Anaplasma marginale. Am. J. Vet. Res. 32:1221-128.
- 54.- Murphy, F.A., Osbold, J.W. and Aaalund, O. (1966). Kinetics of the anti body response to Anaplasma marginale infection. J. Infect. Dis. 116: 99-111.
- 55.- Murphy, F.A.,Aalund, O. and Osebold, J.W. (1965). Physical heterogeneity of bovine gamma globulins. Proc. Soc. of Exp. Biol. Med. 117:513-517.
- 56.- Neitz, W.O. (1965). Classification Transmission and Biology of Piroplasma of Domestic Animals. Ann. N. Y. Acad. Sci. 65:11.
- 57.- Norman, B.B., Jones, E.W. and Brock, W. E. (1966). Am. J. Vet. Res. 27: 829-832.
- 58.- Ortega, O.L. (1982). Prevalencia de anticuerpos de A. marginale y Babesia spp., en bovinos de la raza Suizo Pardo y Cebú en clima AF(c) en el municipio de Hueytamalco, Pue. Tesis Profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M.
- 59.- Osorno, M.B. Y Ristic, M.(1977). Anaplasmosis bovina con énfasis en control. diagnóstico, distribución de la enfermedad en México y uso de una vacuna atenuada de Anaplasma marginale.Veterinaria, Mex.8:85-98.

- 60.- Osorno, M.B. (1978). Babesiosis en México, Estudio recapitulativo.
Vol. IX. No. 4: 203-218.
- 61.- Poche, F. (1913). Das System der protozoen. Arch. Protistenk. 30:125-321.
- 62.- Ponce, G.L.I. (1979). Determinación de la probabilidad diaria de infección Babesia spp. de un hato de bovinos en el Centro Experimental Pecuario de Tizimin, Yuc. Tesis Profesional, F.M.V.Z., U.N.A.M.
- 63.- Purnell, R. E. and Hendry D.J. (1976). Microplate enzyme linked immunosorbent assay for antibody to Babesia divergens in cattle. Vet. Rec. 102.
- 64.- Richardson, V.F. (1948). Veterinary Protozoology. Oliver and Boyd. Ed. Edinburgh and London. pp. 75-84.
- 65.- Rieck, R.F. (1963). Immunity to Babesiosis. In "Immunity to Protozoa". P. cc. Garnham. A.E. Pierce and I. Rott, Eds. pp. 160-179.
- 66.- Rieck, R. F. (1964). The life Cycle of Babesia bigemina in the tick vector Boophilus microplus. Aust. J. Agric. Res. 15:872-821.
- 67.- Ristic, M. and White, F. H. (1960). Detection of an Anaplasma marginale antibody complex formed in vivo. Science. 131-897-988.
- 68.- Ristic, M. and Watrach, A. (1961). Studies in Anaplasmosis II. Electron microscopy of Anaplasma marginale in Deer. Am.J.Vet. Res. 22:109-116.
- 69.- Ristic, M. (1962). A capillary tube-agglutination test for anaplasmosis a preliminary report. J. Am. Vet. Med. Assoc. 141:588-5894.
- 70.- Ristic, M. (1963). Morphology antigenicity, Growth and Multiplication of Anaplasma marginale. Proc. 17th. World. Vet. Congr. Hannover, Germany. 1:815-819.
- 71.- Ristic, M. (1963). Anaplasmosis XX. Electron Microscopy of the causative agent stained by the negative contrast technique. Am.J.Vet.Res. 28: 63-70.
- 72.- Ristic, M. (1966). The nature of Anaplasma marginale. Proc 5th. Pan. Am. Congr. Vet. Med. Zoo. Tech. Caracas, Venezuela. 26:1-9.
- 73.- Ristic, M., Sibinovic, S. and Welter, C. J. (1968). An attenuated Anaplasma marginale vaccine. Proc. 72nd. Ann. Meet. U.S. Livestock San Ass'n. New Orleans, La. 56-64.



ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS
PROFESIONALES IZTAPALAPA

- 74.- Ristic, M. and Kreier, J. P. (1974). Familia Anaplasmataceae. In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. R.E. Buchanan and N. E. Ribbons. Eds., 8th Ed. pp. 906-914.
- 75.- Roby, T.O. (1962). Natural transmission of bovine anaplasmosis South Western, Vet. 16:17-22.
- 76.- Ross, J. P. J. and Lörh, K. F. (1970). Transfer and persistence of antibodies to Babesia bigemina and Anaplasma marginale Via the Calos trum. Z. Tropenmed. Parasitol. 21:401.
- 77.- Ruebush, K. et al. (1977). Annals of Internal medicine 86 (1): 6-9.
- 78.- Schindler, R., Schroder, G., Stieger, R., Wirahadiredja, R. and Kessler, W. (1970). Weitere. Untersuchungen. Über immunitat und serologische Reaktion bei hunden Nach. einer. Infektion mit Babesia canis. Z. - Tropenmed. Parasitol. 21: 182-190.
- 79.- Scholtens, R.G., Branf, E. H., Healye, G.R. and Gleason, N. (1968). A - case of babesiosis in man in the United States. American Tropical Journal of Tropical Medicine and Hygiene.
- 80.- Schroeder, W.F. and Ristic, M. (1965). Am. J. Vet. Res. 26: 239-245.
- 81.- Schroeder, W.F. and Ristic, M. (1965). Am. J. Vet. 26:679-692.
- 82.- Schroeder, W. F. (1966). Ph. D. Thesis. University of Illinois, Urbana, Ill.
- 83.- Schroeder, W. F. and Ristic, M. (1968). Am. J. Vet. Res. (in press).
- 84.- Seddon, H. R. (1952). Publ. Comm. Dept. Health. Australia. No. 8.
- 85.- Sibinovic, S., Sibinovic, K. H., Ristic, M. and Cox, H. W. (1966). Physical and serological properties of an antigen prepared from erythrocytes of Horses with acute babesiosis. J. Protozool. 13: 551-553.
- 86.- Simithch, T. and Nevenitch, V. (1953). Arch. Inst. Pasteur Algerie. 31: 91-101.
- 87.- Simpson, C.F., Neal, F.C. and Edds, G.J. (1954). Am. J.Vet. Res. 25: - 1771-1772.
- 88.- Skrabalo, Z. and Deanovic, Z. (1957). Piroplasmosis in man. Report on a case document of medicine geographical et tropical. 9:11-16.
- 89.- Smith, D.R. (1977). Guía para el diagnóstico y control de anaplasmosis y babesiosis en Ganado bovino. Depto. de Patología Veterinaria. Fac. de Med. Vet. Universidad de Illinois, Urbana, Ill.

- 90.- Smith, R., Osorno, M. B., Brener, J., De la Rosa, R., Ristic, M. (1978). Bovine babesiosis: severity and reproductibility of Babesia bovis infection induced by Boophilus microplus under laboratory conditions. Res. Vet. Sci. 24: 287-292.
- 91.- Smith, T. and Kilborne, F. L. (1893). Investigations into the nature causation and prevention of Texas or Southern cattle fever. U. S. Department of Agriculture, Bureau of Animal Ind. Bull. 1:1-301.
- 92.- Starcovic, C. (1893). Bemerkunger Uber den Durch Babes Entdeckten Blotparasiten und Die Durch Denselben Hervorgebrachten Garcag der Shafe (Babes), Zentralbl. Bakterial. Parasitenkol Infektions. Hyg. 14:1-8.
- 93.- Theiler, A. (1910). Anaplasma marginale (Gneus et Spec. nov.). The marginale pointssin the blood of cattle sufferig from a specific disease. Rept. Gout Vet. Bacteriol. Transvaal., S. Africa. 64:1908-1909.
- 94.- Theiler, A. (1910). Gall Sickness of South Africa (Anaplasmosis in cattle). A. Comp. Pathol. Therap. 23:98-115.
- 95.- Thomas, G.M. and Redford, M. A. (1965). Anaplasma in Wyoming. J. Am. Vet. Med. Assoc. 146:224.
- 96.- Todorovic, R.A., González, E.F. and Adams, L. G. (1973). Bovine babesiosis. Sterile immunity to Babesia bigemina and Babesia argentina Infections. Trop Anim. Health. Prod. 5:234-245.
- 97.- Vizcaino, O., Carrier, D.E., Torry, M. K., Carson, C.A., Lee, A. J., Kuttler, K. L., Ristic, M. and Treviño, G. S. (1980). Comparison of Three Methods of Immunization against Bovine Anaplasmosis evolution of protection efforded against Field challenge exposure. Am. J. Vet. Res. (in press).
- 98.- Wallace, W. R., Dimopoulos, G.T. (1965). Am. J. Vet. Res. 26:1356-1358.
- 99.- Weyon, C.M. (1926). Protozoology a manual sporozoa. J. Parasitol. 56. - No. 4, Sect. II, pt. 1:208-209.