

238  
2cy



# Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

ALTERACIONES HEMATICAS CAUSADAS POR CUATRO  
CEPAS DE Babesia bigemina TRANSMITIDAS POR  
GARRAPATAS Boophilus microplus EN BOVINOS



## T E S I S

Que para obtener el título de:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

**Patricia Eréndira Vázquez Vázquez**

Asesores: M.V.Z. Rubén Hernández Ortiz  
M.V.Z. Jesús Antonio Alvarez Martínez



México, D. F.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

1989



## **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 está 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.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN .....	1
INTRODUCCION .....	2
MATERIAL Y METODOS .....	14
RESULTADOS .....	18
DISCUSION .....	23
LITERATURA CITADA .....	32
GRAFICAS .....	38
CUADROS .....	47

## RESUMEN

VAZQUEZ VAZQUEZ, PATRICIA ERENDIRA. Alteraciones hemáticas causadas por cuatro cepas de Babesia bigemina transmitidas por garrapatas Boophilus microplus en bovinos ( bajo la dirección de los M.V.Z. Rubén Hernández Ortiz y Jesús Antonio Alvarez Martínez ).

En el presente estudio se emplearon cuatro cepas de Babesia bigemina, las cuales fueron sometidas a diferentes modificaciones para posteriormente observar las alteraciones hemáticas que producían en bovinos al ser inoculadas por medio de garrapatas Boophilus microplus. Se emplearon diez bovinos Holstein (que no habían tenido contacto previo con Babesia spp ni con garrapatas), los cuales fueron distribuidos en cinco grupos formados por dos animales cada uno y se infestaron con 20,000 larvas de garrapatas, progenie de garrapatas previamente infectadas con cada una de las siguientes cepas: grupo 1 testigo infestado con larvas de garrapatas libres de Babesia spp; grupo 2 infestados con larvas de garrapata infectadas con una cepa de Babesia bigemina aislada y mantenida en cultivo in vitro (cepa A); grupo 3 infestados con larvas de garrapatas infectadas con una cepa de Babesia bigemina aislada de un caso típico de campo y mantenidas exclusivamente por medio de pases en animales susceptibles (cepa B); grupo 4 infestados con larvas de garrapatas infectadas con una cepa irradiada con  $^{60}\text{Co}$  a una dosis de 7 krads y recuperada en cultivo in vitro (cepa C); grupo 5 infestados con larvas de garrapatas infectadas con una cepa de Babesia bigemina clonada e irradiada derivada de la cepa C y cultivada in vitro (cepa D). El día de infestación se consideró como día cero y dos veces por semana se verificó la temperatura rectal de los animales como auxiliar en el diagnóstico clínico; al mismo tiempo se tomaron muestras de sangre para determinar proteínas plasmáticas, hemoglobina, hematócrito, glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas y frotis sanguíneos para determinar el porcentaje de eritrocitos parasitados y la cuenta diferencial leucocitaria. Después se calcularon los índices de Wintrobe. En los grupos 1, 2, 4 y 5 no se diagnosticó la presencia de babesiosis por signos clínicos ni por medio de frotis sanguíneo, solamente el grupo 3 presentó signos clínicos y parasitemia patente entre los días 18 a 28. Se presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ) en proteínas totales, trombocitos, linfocitos y neutrófilos segmentados. En las otras variables no se presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ). Las cepas empleadas en el presente estudio poseen la capacidad de ser infectivas para las garrapatas y son capaces de infectar a los bovinos sin provocar alteraciones hemáticas.

## II. INTRODUCCION.

Los problemas infecciosos que afectan a la ganadería nacional, ocasionan grandes pérdidas principalmente en las zonas tropicales de México, estas pérdidas se reflejan en la disminución parcial o total de la eficiencia productiva o con la muerte del ganado (26).

La babesiasis o piroplasmosis es una enfermedad parasitaria, infecciosa, de curso agudo o crónico, causada por hemoprotozoarios del género Babesia, afecta a diferentes vertebrados domésticos y silvestres; es transmitida por garrapatas, se caracteriza por fiebre, anemia hemolítica, hemoglobinuria y ocasionalmente la muerte (37,40,45). Esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo, alcanzando su mayor prevalencia en zonas tropicales y subtropicales (1) de Africa, Medio Oriente, Asia (1,43) y Australia (46), localizadas entre los 30° latitud N y 40° latitud S del ecuador (38,48). Debido a las condiciones ecológicas propicias para el desarrollo del vector, la gran mayoría de los países Latinoamericanos son afectados por encontrarse dentro de estas áreas (43).

Desde la primera descripción de B. bovis por Babes en 1888, diferentes especies de Babesia han sido descritas en diversos animales domésticos y silvestres (43,48). De 71 especies citadas por Levine en 1971, 18 especies afectan a ovinos, cabras, bovinos, equinos, caninos y felinos (49).

Los parásitos del género Babesia son transmitidos naturalmente al hospedador vertebrado por garrapatas duras

(Ixodidae), aunque existe un reporte de transmisión de Babesia por garrapatas blandas (Argasidae) (23). Esta enfermedad también puede ser transmitida en forma mecánica durante vacunaciones masivas con una misma aguja o mediante instrumental médico quirúrgico (29,45). El ganado puede ser infectado artificialmente por la inoculación de sangre que contenga formas intraeritrocíticas de Babesia o con formas babesiales extraídas de garrapatas infectadas (15).

De las diferentes enfermedades, la babesiosis bovina es desde el punto de vista económico la más importante por su impacto sobre el desarrollo de la industria ganadera (48). Entre ellas las causadas por Babesia bovis y B. bigemina tienen altas prevalencias que se asocian a la amplia distribución de los vectores: Boophilus microplus, B. decoloratus y B. annulatus (43).

En los Estados Unidos de Norte América se eliminó la babesiosis bovina con la erradicación del vector que es la garrapata Boophilus annulatus (1). Las garrapatas de mayor importancia económica y que transmiten la babesiosis bovina en México y en algunos países de Centro y Sudamérica son Boophilus microplus y B. annulatus (40,43).

La garrapata B. microplus, en adición a su papel como principal vector de la babesiosis puede causar anemia, pérdida de peso y algunas veces la muerte del ganado (8,12).

En México las pérdidas estimadas en carne en el año de 1975 fueron de 291 mil 885 tons, pero en 1980 esta cantidad se redujo a 31 mil 562 tons, en total las pérdidas

ocasionadas por las garrapatas de 1975 a 1979 fueron de 11 mil millones de pesos; es decir, el 23.4% del valor de la ganadería (10).

#### 1.- Ciclo Biológico.

La infección de la garrapata con Babesia spp ocurre cuando ingiere sangre infectada del huésped, generalmente durante las últimas 24 hrs, al tiempo final de repleción de la garrapata adulta (6). Posteriormente hay una rápida destrucción de eritrocitos y la liberación de la fase sanguínea en el lumen intestinal del artrópodo (47); ocasionalmente se observan eritrocitos infectados 72 hrs después de la repleción pero ninguna Babesia queda reconocible. (47).

El hecho de que sólo una pequeña cantidad de formas sanguíneas sobrevivan a la digestión intestinal para continuar el ciclo dentro de la garrapata, ha dado origen a la hipótesis de que existe una fase sexual de Babesia (47); de 24 a 36 hrs después de la repleción aparecen en el intestino formas alargadas, estas son seguidas de formas anilladas que contienen cromatina alrededor del margen, éste es uno de los estadios intracelulares tempranos de Babesia que podrían corresponder al desarrollo de un ooquiste (47).

Las formas anilladas se transforman en "cuerpos fisionados" o esquizontes, contienen varios núcleos, un citoplasma fragmentado y puede tener hasta 200 cuerpos

individuales; de 1 a 3 días después el esquizonte se rompe y libera las "vermiculas" al lumen intestinal (48).

En el intestino las vermiculas empiezan a emigrar por la hemolinfa y pueden penetrar los óvulos del ovario antes de que éstos elaboren una cubierta de quitina, e invaden las células intestinales del embrión (1,39,45,48). Se forma otro esquizonte, similar pero no igual al desarrollado en la garrapata adulta (48). Las vermiculas son otra vez liberadas y continúan su desarrollo en las células de la glándula salival; el esquizonte formado se caracteriza por tener la cromatina distribuida en el centro con la formación de miles de cuerpos anillados que posteriormente se transforman en peras o piroplasmas (48). Estos son los piroplasmas infectivos que son inoculados por la larva (en caso de B. bovis) o por la ninfa o el adulto (B. bigemina) al hospedador bovino durante la alimentación de la garrapata (6,9,38,48).

Un segundo ciclo se ha descrito para B. bigemina en el cual las vermiculas que ganan acceso a las células del túbulo de Malpighio o la hemolinfa repiten el ciclo intestinal de esquizogonia (48).

El tiempo en que cada estadio aparece en el ciclo depende de la especie de Babesia, de la garrapata, de la temperatura y del nivel de infección tanto en el bovino como en la garrapata (32,48).

Se considera que el esporozoito entra directamente al torrente circulatorio del hospedador e infecta al glóbulo rojo convirtiéndose en trofozoito, el cual por gemación o

división binaria forma dos o más merozoitos según la especie de Babesia; posteriormente salen e infectan a otros eritrocitos y así sucesivamente (37).

Se ha comprobado que cepas de B. bovis modificadas por pase rápido seriado en bovinos, pierden su habilidad para causar efectos patológicos en las células intestinales de garrapatas (17).

El mantenimiento de cepas de Babesia por la transmisión natural de garrapatas en becerros intactos, no tiene un efecto aparente en el desarrollo o morfología del parásito (56).

## 2.- Alteraciones Hemáticas.

Los problemas de coagulación en una infección aguda por B. bigemina, ocurren solamente por una gran cantidad de parásitos que provocan una hemólisis intravascular a gran escala (52).

En los animales infectados con Babesia, la anoxia general es resultado de una anemia hemolítica lo cual ocasiona daño a los tejidos (40,48).

Se ha sugerido que la anemia puede tener como origen diferentes causas tales como:

a) Los antígenos de la babesia se adhieren a la membrana de los eritrocitos provocando que éstos sean reconocidos como cuerpos extraños y sean fagocitados por el sistema reticuloendotelial (13).

b) Las sustancias de la babesia alteran las características de la membrana, lo que provoca la formación

de anticuerpos que actúan como opsoninas, que fijan al complemento incrementando la fagocitosis hasta provocar la lisis de los eritrocitos (24).

c) La fagocitosis de los eritrocitos no infectados, probablemente se debe a que se les adhieren antígenos de la babesia, también por un incremento de la actividad del sistema reticuloendotelial, así como por los cambios de la membrana que dan por resultado alteraciones en la forma y una mayor fragilidad osmótica de los glóbulos rojos no infectados. Esto los predispone a una lisis espontánea, particularmente en los capilares sanguíneos (61).

Muchas especies de Babesia, provocan lisis de los glóbulos rojos como consecuencia de la multiplicación del parásito y la subsecuente ruptura de la membrana eritrocítica por la salida del mismo (48). Inicialmente esta lisis es directamente proporcional a la parasitemia, en muchos casos puede alcanzar hasta 40 % o más (48).

La hemólisis causa lesiones anóxicas e inflamatorias en varios órganos especialmente en el riñón y en el hígado (48).

La mayoría de los investigadores han reportado pocos o ningún cambio en los niveles de proteínas plasmáticas durante la infección (48).

### 3.- Signos clínicos.

En los bovinos el periodo de incubación es de aproximadamente de 8 a 14 días; en la fase aguda los animales presentan fiebre que va acompañada de decaimiento general, anorexia, atonía del rumen, constipación, hemoglobinuria

(37,40), posteriormente el animal se postra, observandose lacrimación, salivación, a veces se presentan contracciones musculares, descenso de la temperatura corporal y muerte del animal (40). Se ha encontrado una correlación positiva entre el aumento de la temperatura corporal, el aumento de parasitemia y la aparición de formas atípicas de B. bigemina (42). Si el animal sobrevive al período agudo, pasa a una fase crónica en la que está levemente parasitado y es resistente a una nueva infección. Si el animal se restablece por completo al ser tratado con fármacos que eliminen al parásito del organismo, éste queda susceptible a la reinfección poco después (25,55). En la infección con B. bovis pueden aparecer manifestaciones nerviosas, debido a una embolia cerebral provocada por la aglutinación de eritrocitos infectados en los capilares cerebrales (60).

Los signos clínicos varían de intensidad dependiendo de la virulencia de la cepa de Babesia, de la edad del animal, del estado de tensión al que es sometido y de la raza (53). En los animales jóvenes de las zonas endémicas dependen de la inmunidad transferida por el calostro (25,37). La edad del ganado juega un papel importante a través del curso de la infección (27); se ha comprobado que la inmunidad pasiva adquirida por medio de anticuerpos colostrales (28,37) evita la presentación clínica más no la infección por Babesia (2); los animales jóvenes exhiben pocos signos de babesiosis clínica en comparación a los animales más grandes (27).

Se ha demostrado recientemente que las infecciones activas por B. bovis interfieren con la resistencia del ganado a las garrapatas B. microplus, presumiblemente por medio de la inmunosupresión (53).

#### 4.- Métodos de inmunización contra la Babesiosis bovina.

El grupo de las enfermedades por hemoparásitos, han provocado que diversos científicos y clínicos definan esfuerzos para trazar medidas preventivas efectivas (48).

En general la vacunación contra la babesiosis se lleva a cabo en áreas donde estas enfermedades son endémicas o bien cuando el ganado es trasladado de áreas libres a áreas endémicas (30).

La preinoculación es uno de los métodos más antiguos de inmunización pero no es el mejor, consiste en la inoculación de sangre completa infectada con Babesia de una vaca donadora mantenida bajo condiciones controladas (30). Posee la desventaja de causar signos clínicos similares a los de la infección natural e incluso pueden causar la muerte de los animales inoculados. El control por quimioterapia y los cuidados individuales que deben ser proporcionados son muy costosos (30).

Los animales que sobreviven a una infección por Babesia se les dificulta recobrar los niveles de producción perdidos durante la enfermedad, pueden sufrir de una recaída y además pueden contraer otras enfermedades por la inoculación de sangre completa (30).

El aislamiento de una cepa pura de Babesia bigemina por la infestación con Boophilus microplus adultos, se encontró más práctico y menos laborioso que el pase rápido de sangre infectada combinada con tratamientos específicos (22).

Actualmente se utiliza una vacuna en Australia, la cual consiste en la inoculación de sangre completa con parásitos atenuados por medio de pases en becerros esplenectomizados. Sin embargo, esta vacuna es de difícil manejo, la protección es variable y puede incluso revertir en su virulencia; en hembras que han sido inoculadas repetidas veces han llegado a provocar isocritrolisis neonatal en los becerros (7,43). La preparación y almacenamiento de las vacunas requiere de cuidados especiales y los animales vacunados deben de ser observados particularmente en la segunda semana, en algunos lugares se recomienda revacunar a los animales un mes después con una cepa diferente a la inoculada la primera vez (43).

Se ha utilizado una vacuna muerta para la inmunización contra B. bigemina utilizando un antígeno eritrocítico (Ag-E) el cual proporcionó una protección significativa cuando fueron desafiados hasta los 52 días, también se ha usado un antígeno somático (Ag-S) el cual dió mejor protección a los becerros que fueron desafiados 264 días después de la vacunación (3).

Se ha desarrollado una vacuna altamente infectiva de B. bigemina de reducida virulencia, en la que se obtuvo una substancial inmunidad a la confrontación con una cepa virulenta homóloga de B. bigemina (14).

Se han probado otro tipo de "vacunas" como la elaborada a partir de parásitos atenuados mediante la irradiación con rayos X o con  $^{60}\text{Co}$  (11); la exposición de parásitos de B. bovis a la gamma irradiación ha mostrado producir un estado avirulento, el cual es estable por unos 12 meses, los animales vacunados con éstos organismos son protegidos contra desafíos homólogos (62); otra vacuna viva obtenida con parásitos atenuados químicamente con diacetato de 4,4' diazoaminobenzamida, el periodo de inactivación parcial del parásito es corto y la protección ha sido variable (41); vacunas hechas a partir de estadios del parásito en la garrapata mezclados con un adyuvante, la protección ha sido variable y presenta la dificultad de obtener el antígeno en cantidad suficiente (54); vacuna elaborada con eritrocitos infectados, liofilizados y mezclados con un adyuvante, el problema que presenta es obtener suficientes parásitos además de que existen diferentes cepas (57); vacunas preparadas a partir de fracciones de beta globulinas, los animales inoculados son tolerantes al desafío homólogo (21) y finalmente vacuna preparada a partir de antígenos del plasma en la fase aguda de la enfermedad, es difícil estandarizar la concentración de los antígenos, además de estar contaminados con proteínas plasmáticas (31).

En México Erp, E. y Gravelly, S. en 1977 lograron por primera vez la multiplicación de Babesia bovis in vitro (35).

La clonación de parásitos derivados del cultivo in vitro ha llevado al aislamiento de poblaciones homogéneas de

organismos avirulentos y al subsecuente desarrollo de una vacuna viva de B. bovis (5,49).

Las vacunas elaboradas a partir de babesias cultivadas in vitro mezcladas con un adyuvante probablemente lleguen a ser un excelente inmunógeno (20,33,37).

En México, se ha comprobado la capacidad premunizante de cepas de B. bovis que se han clonado e irradiado, comportandose como cepas atenuadas al no provocar cambios notables en las constantes sanguíneas y no requerir de tratamiento específico (19). Para el caso de B. bigemina no existen estudios similares.

En la actualidad no se ha encontrado una forma satisfactoria para prevenir la Babesiosis bovina, actualmente se han realizado estudios sobre diferentes cepas de Babesia, en las que al ser sometidas a diferentes tratamientos e inocularse a bovinos susceptibles, aparentemente son avirulentas; el presente trabajo tiene como objeto el determinar si las 4 cepas de B. bigemina empleadas, son capaces de transmitirse por medio de garrapatas y si es así observar las alteraciones hemáticas que dichas cepas provocan al infectar al bovino. La importancia de esto radica en la contribución al estudio de cepas que pudieran servir como vacunas vivas, que posean una alta estabilidad y una buena calidad inmunogénica.

**HIPOTESIS.**

Las variaciones hemáticas causadas por Babesia bigemina transmitidas por garrapatas Boophilus microplus, dependen de la infectividad de la cepa utilizada.

**OBJETIVO.**

Observar las alteraciones hemáticas producidas por cuatro cepas de Babesia bigemina en bovinos susceptibles, transmitidas por garrapatas Boophilus microplus.

### III. MATERIAL Y METODOS.

#### LOCALIZACION.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de la División de Hemoprotozoarios perteneciente al Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias de la SARH, localizado dentro de las instalaciones del Centro Nacional de Parasitología Animal, Km 11.5 Carretera Federal Cuernavaca Cuautla, Jiutepec, Morelos.

#### ANIMALES EXPERIMENTALES.

Se utilizaron 10 bovinos intactos de raza Holstein Friesian, machos, con una edad promedio de 1.5 años y un peso aproximado de 300 Kg. Se les practicó la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) según procedimiento descrito por Monroy, A. V. (35), para verificar la ausencia de anticuerpos contra Babesia spp. Los animales no tuvieron contacto previo con garrapatas y fueron mantenidos en corrales individuales con collares para limitar sus movimientos y evitar la pérdida de garrapatas por el efecto de lamido; el manejo incluyó la administración de agua y alimento ad libitum.

#### MATERIAL BIOLÓGICO.

a) Garrapatas: Se utilizaron larvas de garrapatas de la especie Boophilus microplus, las cuales fueron la progenie de garrapatas adultas previamente expuestas a bovinos inoculados o no con las diferentes cepas de Babesia bigemina, de las hembras desprendidas naturalmente se seleccionaron las que

resultaron positivas a la prueba de hemolinfa, según técnica descrita por Smith (52), aquellas que resultaron negativas se seleccionaron de acuerdo a los días de parasitemia detectable en el bovino.

b) Cepas de Babesia bigemina.

Cepa "A" : B. bigemina aislada y mantenida en cultivo in vitro desde 1985.

Cepa "B" : B. bigemina aislada de un caso típico de campo y mantenida exclusivamente por medio de pasos en animales susceptibles.

Cepa "C" : B. bigemina derivada de cultivo in vitro, irradiada con  $^{60}\text{Co}$  a una dosis de 7 Krad y recuperada en cultivo in vitro.

Cepa "D" : B. bigemina clona irradiada derivada de la cepa "C" y cultivada in vitro.

#### PROCEDIMIENTO.

Los 10 animales se distribuyeron en 5 lotes de 2 animales cada uno, fueron infestados individualmente con 20,000 larvas según el grupo correspondiente :

Grupo 1 : Larvas de B. microplus mantenidas libres de Babesia spp en el laboratorio desde de 1978.

Grupo 2 : Larvas de B. microplus infectadas con la cepa "A".

Grupo 3 : Larvas de B. microplus infectadas con la cepa "B".

Grupo 4 : Larvas de B. microplus infectadas con la cepa "C".

Grupo 5 : Larvas de B. microplus infectadas con la cepa "D".

El día de infestación se consideró como el día cero, conociendo que el ciclo de vida parásita de las garrapatas es

de 21 días, se esperó que las mismas inocularan al protozoario en el estadio ninfal o adulto .

Dos veces por semana se realizó el muestreo de los animales que consistió en la extracción de 10 ml de sangre en tubos Vacutainer® con EDTA en condiciones asépticas. Al mismo tiempo, se registraron los valores de temperatura rectal de cada uno de los animales como auxiliar en el diagnóstico clínico durante 35 días, al momento de notar cambios en el comportamiento clínico que sugirieran la presencia del protozoario, se realizó el registro diario de la temperatura rectal.

En el laboratorio se procesaron las muestras obtenidas realizando las siguientes evaluaciones :

Determinación de Proteínas Totales plasmáticas ( PT g/ 100 ml ) empleando el refractómetro de Goldberg.

Hemoglobina ( Hb g/ 100 ml ) empleando el hemoglobínómetro de Spencer.

Hematócrito (Ht %) con la técnica de Microhematocrito.

Cuenta de Glóbulos Rojos (GR  $10^6/ \mu l$ ), Cuenta de Glóbulos Blancos (GB  $10^3/ \mu l$ ) y Cuenta de Trombocitos ( $10^5/ \mu l$ ) empleando el hematocitómetro de Neubauer.

Determinación de los Índices de Wintrobe:

- Volumen Corpuscular Medio (VCM  $\mu^3$ ).

- Concentración Media de Hemoglobina Globular

(CMHG %).

® Becton-Dickinson de México S. A. de C. V.

- Hemoglobina Corpuscular Media (HCM pg).

Se elaboraron Frotis teñidos con el colorante de Giemsa para determinar :

- Cuenta Diferencial de Leucocitos (%): Linfocitos, Monocitos, Neutrófilos segmentados y en banda , Eosinófilos y Basófilos.

Todas estas técnicas citadas por Bentinck-Smith (4).

- Porcentaje de Eritrocitos Parasitados (PEP %).

Catorce días después de finalizar el experimento se colectó sangre de cada uno de los animales y se sometió a condiciones de cultivo in vitro, según Vega, M. C. (58).

Los resultados se analizaron mediante la prueba de Análisis de Varianza (ANDEVA) empleando el diseño de bloques aleatorizados, considerando como variables respuesta: PT, Hb, Ht, GR, GB, Trombocitos, VCM, CMHG, HCM, Diferencial de Leucocitos y PEP.

Cada uno de los bloques correspondió a tiempo transcurrido después de la infestación:

Bloque 1: días 0-14 periodo prepatente.

Bloque 2: días 15-28 periodo patente.

Bloque 3: días 29-35 periodo postpatente.

Así mismo se realizó una prueba de Tukey para la comparación múltiple de medias (18,34).

Todos los datos fueron transformados con la finalidad de satisfacer las suposiciones del ANDEVA con mayor aproximación.

#### IV. RESULTADOS.

**Temperatura rectal (C).** - De los 5 diferentes tratamientos, la temperatura media observada hasta el día 15, no rebasó los 39.1 C. A los 18 días post-infestación los animales de los grupos 3 y 5 presentaron fiebre de 39.65 y 39.5 C, recuperándose el día 21 y permaneciendo con temperatura de 37.5 a 38.5 C el resto del experimento; en los otros grupos no se detectaron cambios importantes. (Gráfica 1, cuadro 1). Respecto al grupo 3, se observaron temperaturas superiores a los 40 C en uno de los dos animales del grupo durante los días 18 a 20 (Gráfica 2).

**Proteínas Totales del plasma (g/ 100 ml).** - Durante los primeros 18 días del trabajo los valores de Proteínas Totales del plasma mostraron valores similares entre los diferentes tratamientos, el día 21 el grupo 1 presentó el valor más alto (9.15), coincidiendo con el valor más bajo (7.4) del grupo 3, a partir del día 25 los 5 diferentes tratamientos retoman valores similares entre si, el valor mínimo fue para el grupo 3 con 7.75 y el valor máximo correspondió para los grupos 1 y 5 (8.05 y 8.2 respectivamente); estadísticamente el grupo 3 mostró una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en comparación con los otros ya que mostró el valor más bajo (7.963) en comparación con la cepa de cultivo, irradiada y clona (8.018, 8.195 y 8.195 respectivamente) y éstas a su vez presentan valores bajos en comparación al grupo testigo (8.463) (Gráfica 3, Cuadro 2).

**Hemoglobina (g/ 100 ml).**- Durante los primeros 7 días se observó un aumento moderado en la cantidad de hemoglobina en los diferentes tratamientos, excepto en el tratamiento 4 en el que posteriormente se observó una disminución; los 5 grupos alcanzaron niveles de entre 9.75 y 10.25, en el día 32 hay una nueva caída y es el grupo 3 quien presenta el valor más bajo con 9.25 (Gráfica 4). No se presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 2).

**Hematócrito (%).**- De los primeros datos obtenidos hasta el día 21 el hematócrito de los diferentes grupos se mantuvo en un rango de 27.5 a 38.5, posteriormente el día 25 el hematócrito promedio del grupo 3 disminuyó a 25.5. Al día 28 los 5 tratamientos mostraron un incremento, correspondiendo el valor más alto para el grupo 2 con 36.5 y el más bajo para el grupo 3 con un valor de 27. Al día 35 los 5 grupos mostraron prácticamente los mismos valores los cuales se localizaron en un rango de 30 a 33 (Gráfica 5). Los 5 grupos permanecieron dentro de los valores normales y no presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 1).

**Glóbulos Rojos ( $10^6/\mu l$ ).**- Los valores obtenidos en los 5 diferentes tratamientos hasta el día 18 fueron muy similares entre sí, a partir de este día el grupo 3 presentó un descenso hasta obtener un valor mínimo de 5.27 al día 25, al finalizar el estudio este mismo grupo presentó el valor más bajo de 5.42 y los cuatro grupos restantes se mantuvieron en un rango de 7.94 a 9.85 (Gráfica 6). Los 5 grupos no

presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 2).

**Glóbulos Blancos ( $\mu$ l).**— Los 5 grupos se comportaron de una manera similar a lo largo del experimento, los valores registrados hasta el día 7 tuvieron una media general de 10,930, en el día 11 el grupo 2 presentó un valor máximo de 17,025 y el valor mínimo fué para el grupo 5 con 10,575, después se presenta una disminución general que se mantiene hasta el día 18, posteriormente el grupo 4 presenta el valor más bajo con 6,300 en el día 21; hacia el día 25 se presentaron valores elevados y el grupo 1 registró el valor más alto (15,450) (Gráfica 7). No se presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ) entre los diferentes grupos (Cuadro 2).

**Trombocitos ( $10^9/ \mu$ l).**— Los conteos de trombocitos a lo largo del estudio fueron constantes, excepto el grupo 1 que presentó el valor más alto en el día 25 con 22.52 y al final del estudio los registros fueron similares quedando en un rango de 2.3 a 9.8. (Gráfica 8). Estadísticamente el grupo 3 presentó los valores más bajos ( $P < 0.05$ ), en comparación con los grupos 1, 2, 4 y 5 (4.161 vs 11.216, 10.388, 11.153, 4.692) (Cuadro 2).

**Porcentaje de Eritrocitos Parasitados (%).**— Las parasitemias en frotis sanguíneo únicamente fueron detectadas en los animales del grupo 3 entre los días 18-28 post-infestación. (Cuadro 1).

El animal 86-134 presentó una parasitemia leve del día 19 al día 22 menor a 0.04%, el día 23 aumentó a 0.08% y el día 24 registró un valor máximo de 0.31% representando un incremento del 74.19% en 24 hr, al siguiente día mostró un descenso del 96.77%, el día 26 se incrementó nuevamente a 0.19% y el día 28 disminuyó a 0.01% (Gráfica 9).

El animal 86-199 registró parasitemia el día 18 con un valor de 0.05% incrementandose al día 19 a 0.19%, posteriormente presentó parasitemias por debajo del 0.04%, en los días 24 a 28 la parasitemia fué tan leve que no pudo ser evaluada hasta los días 28 a 32 en que se detectaron las últimas parasitemias (Gráfica 9).

**INDICES DE WINTROBE.**- Los valores obtenidos en los 5 grupos fueron similares para los índices determinados (VCM, HCM y CMHG). Durante los muestreos de rutina no hubo variación (Cuadro 3).

**CUENTA DIFERENCIAL LEUCOCITARIA.**- Los linfocitos en los grupos 1 y 4 presentaron los valores más bajos (56.3 y 60.5), los grupos 2 y 3 presentaron los valores más altos (72.7 y 71.7), sin embargo todos permanecieron dentro del rango normal. No se presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 4).

Los Neutrófilos Segmentados en los grupos 2, 3 y 5 presentaron los valores más bajos (21.1, 22 y 25.6 respectivamente) y el grupo 1 presentó el valor más alto (35.4); sin embargo, todos permanecieron dentro del rango normal. Los valores obtenidos presentaron diferencias

estadísticas significativas (  $P < 0.05$  ). Los Monocitos, Neutrófilos en Banda, Eosinófilos y Basófilos no presentaron diferencias estadísticas significativas (  $P > 0.05$  ) (Cuadro 4).

**RECUPERACION DE CEPAS:** La sangre obtenida 49 días post-infestación fué sometida a condiciones de cultivo in vitro (58), las cuatro cepas empleadas se lograron aislar bajo estas condiciones (Cuadro 5).

#### V. DISCUSION.

Las cuatro cepas inoculadas por medio de garrapatas a los bovinos no provocaron aumento considerable de temperatura y sólo en el grupo 3 los signos clínicos fueron observados a las 24 hr de detectar parásitos en frotis sanguíneo, de este grupo solo un animal presentó temperatura superior a los 40 C lo que al determinar el promedio por grupo los valores obtenidos se atenuaron.

La causa por la que la cepa de campo no provocó alteraciones clínicas considerables, podría deberse a que cuando una cepa es mantenida bajo condiciones diferentes a las naturales, ésta puede sufrir alteraciones en su infectividad, ya que la cepa de campo empleada en el presente trabajo fué originalmente congelada y posteriormente mantenida a través de pases con jeringa en bovinos susceptibles, hasta infectar a las garrapatas cuya progenie se utilizó en el presente estudio. Smith en 1978 menciona que se desconoce el nivel de infección de las garrapatas madre, el nivel de infección de las larvas progenie y la cantidad de esporozoítos inoculados por cada ninfa (52).

La causa por la que el animal 86-134 presenta signos clínicos más notorios que el animal 86-199 se explica por la posible susceptibilidad individual presente ante cualquier infección.

Salas *et. al.* en 1987 al aplicar una clona irradiada de Babesia bovis por las vías endovenosa, intramuscular y subcutanea, con una dosis conocida de eritrocitos

parasitados, encontraron que dependiendo de la vía de inoculación serán las manifestaciones clínicas (50). En el presente estudio no se conoce la cantidad inoculada y al emplear la vía de inoculación por garrapata el estadio inoculado es el esporozoito. Pocos estudios emplean la vía de inoculación natural por medio de garrapata.

En el presente trabajo se obtuvieron valores de proteínas plasmáticas que no sobrepasaron los 9.5 g/ 100 ml. Smith en 1978 menciona que las variaciones obtenidas se deben probablemente a la presencia de los protozoarios y garrapatas, así como al efecto inmunosupresor que ejercen en forma conjunta las garrapatas y los protozoarios sobre el hospedador bovino (52). En los otros grupos el efecto fué tan leve que ni siquiera se lograron detectar por medio de frotis sanguíneo. Los valores normales para proteínas plasmáticas mencionados por Shalm, Jain y Carroll son de 6-8 g/ 100 ml (51), para que sea de consideración el aumento de cualquier valor sanguíneo debe por lo menos rebasar la mitad del doble del valor normal.

Ninguna de las cepas inoculadas por las garrapatas provocaron disminuciones considerables en los valores de Hemoglobina, debido tal vez a la cantidad de babesias inoculadas por las garrapatas, sin embargo los 5 grupos presentaron una tendencia a disminuir en el día 25 y el grupo inoculado con la cepa de campo fué el que presentó los valores más bajos, esta tendencia se debió probablemente a la coincidencia de la repleción y la caída de garrapatas,

conjuntamente con la presencia de Babesia en frotis, ya que fué el único grupo en que se detectó parasitemia. Los valores normales para hemoglobina reportados por Shalm, Jain y Carroll son de 8-15 g/ 100 ml (51). Wright en 1973 al trabajar con Babesia bovis irradiada en ganado esplenectomizado obtuvo valores menores de 5 g/ dl en el día 14 post-inoculación (59), Monroy en 1980 menciona un decremento de 5.5 g/ dl en el día 16 post-infestación (36), Salas et. al. en 1987 al trabajar con una cepa de Babesia bovis clonada e irradiada obtuvo valores mínimos de 9 g/ dl en el día 12 utilizando la vía subcutánea (50). En el presente trabajo las condiciones de inoculación y la especie de Babesia utilizada fueron diferentes, por lo que los resultados difieren con los autores mencionados.

Las alteraciones del hematócrito no fueron de consideración para los animales de los grupos 1, 2, 4 y 5; los animales del grupo 3 presentaron anemia normocítica normocrómica solamente por dos días (18 y 19) sin llegar a un estado crítico y recuperándose rápidamente. Los valores de hematócrito permanecieron siempre dentro de los valores normales (24-46%) mencionados por Shalm, Jain y Carroll (51).

En el trabajo realizado por Salas et. al. se obtuvieron valores normales en las cuatro vías de inoculación que emplearon (50), no así en los trabajos realizados por Monroy en 1980, quien obtuvo valores de 19% en el día 10 (36).

Los resultados obtenidos por otros autores no pueden compararse con los del presente trabajo ya que se trata de

diferentes especies de Babesia mantenidas bajo otras condiciones, además de que no se utiliza la misma vía de inoculación.

En cuanto a los valores de glóbulos rojos el grupo 3 presentó disminuciones de  $4.5 \times 10^6$  células/ $\mu$ l del día 14 al 25, la disminución quizá se debe a la destrucción provocada por la multiplicación del protozooario, lo cual ya ha sido reconocido por diferentes autores. Los valores normales para glóbulos rojos reportados por Shalm, Jain y Carrol en 1975 son de 5 a  $10 \times 10^6$ / $\mu$ l (51). En el trabajo realizado por Wright en 1973 al trabajar con Babesia bigemina inoculada por vía endovenosa obtuvo una disminución de  $2 \times 10^6$ / $\mu$ l en el día 14 post-inoculación (59); Monroy en 1980 al utilizar larvas de garrapatas infectadas con B. bovis en bovinos provocaron una disminución de  $2.8 \times 10^6$ / $\mu$ l en el día 16 post-infección (36) y Sales, et. al. en 1987 obtuvo una disminución de 6.2 millones/ $\text{mm}^3$  de eritrocitos empleando la vía endovenosa (50).

Los promedios generales para los Índices de Wintrobe no presentaron una diferencia entre grupos, lo cual puede deberse a que la infección fué tan leve y la presentación de signos clínicos sólo se manifestó en el grupo 3 en forma moderada.

En los conteos de glóbulos blancos no se encontraron diferencias estadísticas significativas no obstante que en los grupos 1 y 2 se presentaron valores indicativos de leucocitosis en relación con los valores normales citados por

Shalm, Jain y Carroll que son de 4 a 12 X 10<sup>3</sup>/ µl (51), estos resultados no concuerdan con los obtenidos por Salas et. al. quien obtuvo valores normales al inocular por vía subcutánea y endovenosa (50); Wright notifica la presencia de leucocitosis de 24,000/ mm<sup>3</sup> por Babesia bigemina (59), mientras que Monroy (36) y Laricos et. al. (26) reportaron leucopenia de 5000 y 2900/ mm<sup>3</sup> respectivamente. Esto sugiere que no se deben emplear los mismos parámetros para evaluar el comportamiento de especies diferentes de Babesia.

Los valores de linfocitos y neutrófilos segmentados en el presente estudio permanecieron dentro de los rangos normales durante el experimento, sin embargo se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los diferentes grupos. Los valores normales reportados para estas variables son de 45 a 75 % para linfocitos y de 15 a 45% para neutrófilos segmentados según Shalm, Jain y Carroll (51).

Estos resultados difieren de los obtenidos por Rehman y Roychoudhury en 1981, quienes al inocular B. bovis por medio de garrapatas observaron leucocitosis, monocitosis y un grado moderado de neutropenia (46).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo mostraron una gran variación en este aspecto, por lo que no se puede afirmar que los datos obtenidos fueron provocados por el efecto exclusivo de las diferentes cepas de Babesia y a la presencia de garrapatas ya que existieron muchos factores que pudieron afectar el valor de glóbulos blancos como las condiciones de alimentación, estrés por manejo en el

muestreo, variaciones climáticas presentes durante la realización del presente trabajo, así como a la presencia de otros microorganismos que no mostraron manifestación clínica; por lo anterior no se puede emplear esta variable como indicativo de la presencia de Babesia en el presente estudio.

En los grupos 1, 2 y 4 se presentó trombocitosis en los días 18 a 28 post-infestación, debido probablemente al efecto de infestación por garrapatas en coincidencia con la repleción de las mismas. Los valores normales reportados por Shalm, Jain y Carroll para las plaquetas son de 1 a 8 X 10<sup>9</sup>/ $\mu$ l (51). Este resultado no concuerda con los valores obtenidos por Monroy (36), Larios, et. al. (26) y Salas (50), quienes reportan trombocitopenia en sus respectivos trabajos.

Por otro lado únicamente se detectaron parasitemias en el grupo 3, en el que fué muy leve.

Como ya se mencionó con anterioridad, al emplear garrapatas para transmitir a los protozoarios no se sabe con exactitud la cantidad inoculada, tampoco se sabe si el efecto de pases seriados inoculados por garrapatas de cepas modificadas provoca que éstas recuperen su virulencia hacia los bovinos.

La cepa inoculada al grupo 3 fué una cepa de campo mantenida a través de pases con jeringa en animales susceptibles, mientras que las cepas utilizadas en los demás grupos, se sometieron a condiciones artificiales de mantenimiento además del efecto de clonación e irradiación.

En el presente estudio pudo ocurrir una situación similar a la descrita por Stewart en 1986, quien menciona que el mantenimiento en el laboratorio por métodos artificiales de B. bigemina puede afectar el desarrollo del parásito en su vector la garrapata Boophilus microplus (56).

Por su parte Dalgliesh, R. J. et. al. en 1977 observaron que el número y frecuencia de pases sanguíneos realizados con una cepa de B. bovis, puede determinar que su infectividad para las garrapatas sea variable o se pierda completamente (16).

Purnell en 1979 empleando B. divergens irradiada de 25 a 30 Krads, observó que al inocular becerros estos quedaban protegidos contra un desafío de campo que causó la enfermedad a 10 animales control, 6 de los cuales presentaron severas reacciones (44).

Dalgliesh en 1981 sugiere que las cepas modificadas después de pases sanguíneos rápidos en becerros esplenectomizados, pierden su habilidad para causar efectos patológicos en las células intestinales de garrapatas infectadas (17).

Por otra parte al someter a la clonación cepas de B. bovis se observó que los bovinos inoculados mostraron cambios hematológicos menores en relación con los animales inoculados con material no clonado (5). En el presente trabajo aparentemente se comportaron de manera similar tanto la cepa procedente de cultivo como la cepa irradiada y la clona irradiada, pero es probable que se deba a la baja cantidad

inoculada y no por el tratamiento aplicado a cada una de las cepas, así mismo el comportamiento de B. bovis difiere al mostrado por B. bigemina.

Las cepas de Babesia modificadas empleadas en el presente trabajo, no pudieron ser observadas por medio de frotis sanguíneo en los animales y tampoco pudieron observarse en la hemolinfa de las garrapatas desprendidas de ellos, sin embargo se demostró que las cuatro cepas fueron transmitidas por las garrapatas cuando la sangre de estos animales se sometió a condiciones de cultivo in vitro, lograndose la propagación de los protozoarios bajo estas condiciones.

Estos resultados no concuerdan con los obtenidos por Wright et. al. en 1983 quienes mencionan que las cepas irradiadas no son capaces de transmitirse por medio de garrapatas ya que ellos sobre irradiaron una cepa de B. bovis (350° de gamma irradiación), lo que posiblemente provocó la muerte del protozoario (62), esto no lo pudieron comprobar, puesto que no realizaron pruebas de hemolinfa en las garrapatas para corroborar la viabilidad de las cepas utilizadas, tanto en las que estuvieron en contacto con animales inoculados con parásitos irradiados como los inoculados con parásitos sin irradiar y además de que no contaban con el recurso de cultivo in vitro para Babesia.

Por los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye que las cepas poseen la capacidad de ser infectivas

para las garrapatas y que son capaces de infectar a los bovinos sin provocar alteraciones hemáticas.

Con base en lo anterior se sugiere realizar otros estudios con estas cepas para comprobar su estabilidad apatógena, su calidad inmunogénica, así como realizar cortes histológicos en garrapatas para verificar el comportamiento de estas cepas en los artrópodos a lo largo de diversos pases en bovinos susceptibles.

## VI. LITERATURA CITADA.

1. Acha, P. N. y Szyfres, B.: Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al Hombre y los Animales. 2a. ed. Organización Mundial de la Salud, Washington D. C., 1986.
2. Alvarez, M. A. y Cantó, A. G.: Epidemiología de la Babesiosis, Parasitología. Sociedad Mexicana de Parasitología A. C., México, 1985.
3. Banerje, D. P. and Prasad, K. D.: The use of killed vaccine in immunization of cattle against B. bigemina infections. Int. J. Vet. Med., 5: 1-4 (1985).
4. Bentinck-Smith, J.: Hematología. En: Patología Clínica Veterinaria. Editado por: Medway, W., Prier, J. E., Wilkinson, J. S., 208-251. UTEHA, México D. F., 1969.
5. Buening, G. M., Kuttler, K. L. and Rodríguez, S. D.: Evaluation of a cloned B. bovis organism as a live immunogen. Vet. Parasitology., 22: 235-242 (1986).
6. Callow, L. L.: The infection of Boophilus microplus with B. bigemina. Parasitol., 58:663-670 (1968).
7. Callow, L. L. : The control of babesiosis with highly infective, attenuated vaccine. Wld Vet. Congress, 1: 357-360 (1971).
8. Canales, Y. I.: El papel de la familia Ixodidae en las zoonosis parasitarias. Editado por : UNAM - FMVZ en coordinación con la SARH - INIP y la AMPAVE. 314-316. UNAM, SARH, AMPAVE, México, 1982.
9. Cantó, A. G. : Epidemiología de la babesiosis bovina. VII Congreso Nacional de Parasitología. Puebla, Pue. 1986. 62-72. Sociedad Mexicana de Parasitología, Puebla, México (1986).
10. Carranza, D.: Implicación de condiciones sociales y económicas como determinantes de la efectividad de la Campaña Nacional contra la Garrapata en las entidades Federativas. Reunion de Investigación Pecuaria. México D. F. 1983. 923-927. INIP-SARH. México D. F. (1983).
11. Castro, E. R. y Canabez, F.: Propiedades biológicas y características de Babesia bigemina. Efectos de radiaciones iónicas sobre la infecciosidad de sangre total infectada. Boln. Chileno Parasit., 23: 30-33 (1969).

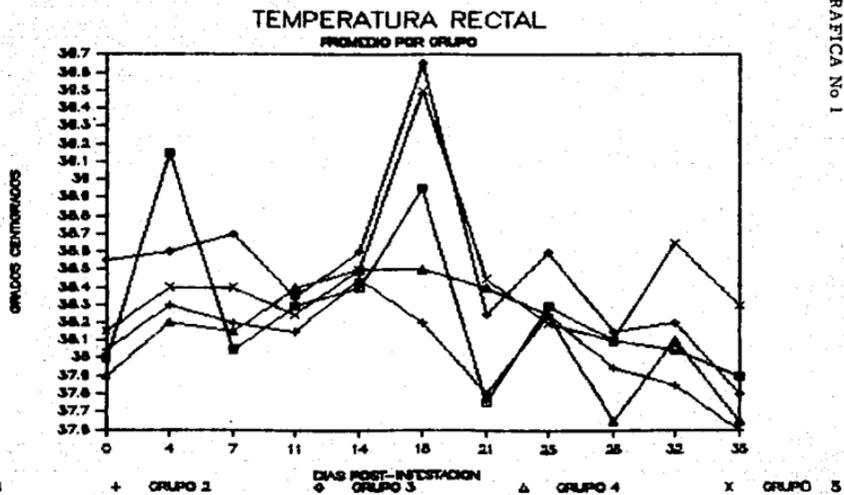
12. Clark, C. H. and Coleman, C. N.: Tick paralysis in a calf. Vet. Med. and Small Anim. Clin., 75: 1030 (1980).
13. Curnow, J. A.: In vitro agglutination of bovine erythrocytes infected with Babesia argentina. Nature, 217: 267-268 (1968).
14. Dalgliesh, R. J., Callow, L. L., Mellors, L. T. and McGregor, W.: Development of highly infective B. bigemina vaccine of reduced virulence. Aust. vet. J., 57: 8-11 (1981).
15. Dalgliesh, R. J. and Stewart, N. P.: The extraction of infective B. bovis and B. bigemina from tick eggs and B. bigemina from unfed larval ticks. Aust. vet. J., 54: 453-454 (1978).
16. Dalgliesh, R. J. and Stewart, N. P.: Failure of vaccine strains of B. bovis to regain infectivity for ticks during long-standing infections in cattle. Aust. vet. J., 53: 429-431 (1977).
17. Dalgliesh, R. J., Stewart, N. P. and Duncalif, F.: Reduction in pathogenicity of B. bovis infection for its tick vector B. microplus, after rapid blood passage in splenectomized calves. Z. Parasitenkd., 64: 347-351 (1981).
18. Daniel, W. W.: Biostatísticas Bases para el Análisis de la Ciencia de la Salud. LIMUSA, México, 1983.
19. Fernández, R. M. Hernández, O. R., Aboytes, T. R., Ramos, A. J., Buening, G. M., Cantó, A. G. y Vega, M. C.: Prueba de campo de una clona avirulenta de B. bovis: Cambios clínicos y hematológicos. Reunión de Investigación Pecuaria. México, 1986. 83. SARH - UNAM. México D. F. (1986).
20. Figueroa, M. J., Cantó, A. G., Juárez, F. J. y Ruiz, L. F.: Cultivo in vitro de B. bovis: Condiciones óptimas de crecimiento. V Reunión Anual. México D. F. 1984. 22-24. AMPAVE. México (1984).
21. Goodger, B. V., Wright, I. G. Waltisbuhl, D. J. and Mirre, G. B.: B. bovis: successful vaccination against homologous challenge in splenectomized calves using a fraction of haemagglutinating antigen. Int. J. Parasitol., 15: 175-179 (1985).

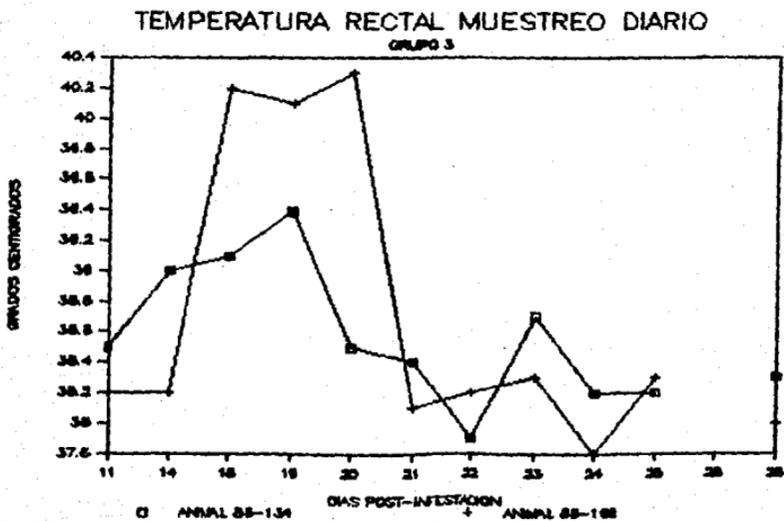
22. Guglielmore, A., Bermudez, A., Hadani, A., Mangold, A., Vanzini, V., Luciani, C., Rios, L. G. de and Galletto, C.: Isolation of a pure strain of B. bigemina by infesting a calf with adult B. microplus ticks. Gaceta Vet., 43: 341-347 (1981).
23. Gunders, A. E. and Hadani, A.: Transmission of mammalian piroplasm by an Argasid tick. Nature, 247: 225-226 (1974).
24. Jennings, F. W.: The anaemias of parasitic infections. In: Pathophysiology of parasitic infections. Edited by: Souleby, E. J. L. 53-102. Academic Press, New York, 1981.
25. Jubb, K. F. V. and Kennedy, P. C.: Pathology of Domestic Animals. 2nd.ed. Academic Press, New York, 1970.
26. Larios, F., Smith, R. and Monroy, J.: Pathophysiology of calves infected with Babesia bovis and B. bigemina. Proceedings: Progress in bovine Anaplasmosis and Babesiosis. 47-55. México City, 1980.
27. Latif, B. M., Said, M. S. and Ali, S. R.: Effect of age on the immune response of cattle experimentally infected with B. bigemina. Vet. Parasitology, 5: 307-314 (1979).
28. Lewis, D., Purnell, E. R. and Brocklesby, W. D.: B. divergens protection of intact calves against heterologous challenge by the injection of irradiated piroplasm. Vet. Parasitology, 6: 297-303 (1980).
29. López, S. F., Fajardo, J. y Cantó, A. G.: Prevalencia de anticuerpos contra Anaplasmosis y Babesiosis e incidencia de infección diaria de babesiosis en bovinos del municipio de Playa Vicente, Ver. Tec. Pec. Mex., 44: 82-85 (1983).
30. Lora, A. C.: Methods of immunization against bovine babesiosis used in Latin America. In: Babesiosis. Edited by: Ristic, M. and Kreier, P. J. 567-571. Academic Press, New York, 1981.
31. Mahoney, D. F. and Goodger, B. V.: Babesia argentina immunogenicity of plasma from infected animals. Exp. Parasitol., 32: 71-85 (1972).
32. Mahoney, D. F. and Mirre, G. B.: Bovine babesiosis: Estimation of infection rates in the tick vector Boophilus microplus (Canestrini). Ann. Trop. Med. Parasitol., 65: 309-317 (1971).

33. Mahoney, D. F., Wright, I. G. and Goodger, B. V.: Bovine babesiosis: Immunization of cattle with fractions of erythrocytes infected with B. bovis. Vet. Immunol. and Immunoparasitol., 2: 145-156 (1981).
34. Mendenhall, W.: Introducción a la Probabilidad y la Estadística. Iberoamericana, México D. F., 1979.
35. Monroy, A. V.: Respuesta serológica de bovinos a Babesia argentina cultivada in vitro. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F., 1978.
36. Monroy, B, J.: Alteraciones hemáticas y de química sanguínea en bovinos expuestos experimentalmente a larvas de garrapatas infectadas con B. bovis. Tesis de Licenciatura. ENEP- Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. México, 1980.
37. Morilla, G. A.: Inmunología de la babesiosis. En: Ciencia Veterinaria. Editado por: Moreno, Ch. R., 3: 239-275. UNAM, México D. F., 1981.
38. Nuñez, J. L., Moltedo, H. L. y Muñoz, C. M.: Boophilus microplus la garrapata común del ganado vacuno. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, 1982.
39. Olsen, O. W. : Parasitología animal. El parasitismo y los protozoos . AEDOS, Barcelona, España, 1977.
40. Osorno, E. M.: Babesiosis en México. Estudio recapitulativo. Revta Vet. Mex., 9 : 203-218 (1978).
41. Osorno, E. M., Melchor, J. y Ramos, Z.: Inactivación química in vivo de Babesia bigemina y Babesia argentina. XII Reunion Anual del INIP-SARH. México D. F. 1976. 11. INIP- SARH, México D. F. (1976).
42. Pandey, N. N. and Mishra, S. S. : Morphological variations and intraerythrocytic multiplication of Babesia bigemina in indigenous cow calves (Bos indicus). Indian J. Vet. Med., 4 : 84-86 (1984).
43. Purnell, R.E.: Tick-borne diseases. Br. Vet. J., 137: 221-240 (1981).
44. Purnell, R. E., Lewis, D., Brocklesby, D. W. and Taylor, S. M.: Bovine babesiosis: steps towards an irradiated vaccine. J. South African Vet. Assoc., 50: 339-344 (1979).
45. Quiroz, R. H. : Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domesticos. LIMUSA, México D. F., 1984.

46. Rehman, A. and Roychoudhury, G. K.: Haematological observations during experimental studies on babesiosis in cattle. Indian Vet. J., 58: 355-358 (1981).
47. Riek, R. F. : The life cycle of Babesia bigemina (Smith and Kilburne, 1893), in the tick vector Boophilus microplus (Canestrini). In: Babesiosis. Edited by: Ristic, M. and Kreier, P. J. 143-169. Academic Press, New York, 1981.
48. Ristic, M. and Kreier, P. J. : Babesiosis. Academic Press, New York, 1981.
49. Rodriguez, D. S., Buening, M. G., Green, J. T. and Carson, C. A.: Cloning of B. bovis by in vitro cultivation. Infect. Immun., 42: 15-18 (1983).
50. Salas, T. E., Garcia, G. J., Ramos, A. J., Rodriguez del R. E., Aboytes, T. R., Buening, G. M. y Vega, M. C.: Patogenia de una clona irradiada de B. bovis obtenida de cultivo in vitro. Tec. Pec. Mex., 26: 36-45 (1988).
51. Shalm, W. C., Jain, N. C. and Carroll, E. J. : Veterinary Haematology. 3th ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1975.
52. Smith, R. D. : Ciclo biológico de la babesia en la garrapata. En : Ciencia Veterinaria. Editado por: Moreno, Ch. R., 2: 233-264. UNAM, México D. F., 1978.
53. Smith, R. D., Molinar, E., Larios, F., Monroy, J., Trigo, F. and Ristic, M.: Bovine babesiosis: pathogenicity and heterologous species immunity of tick-borne B. bovis and B. bigemina infections. Am. J. Vet. Res., 41: 1957-1965 (1980).
54. Smith, R. y Osorno, E. M.: Inoculación de becerros con tejidos de garrapatas infectadas con Babesia spp. XII Reunion Anual del INIP-SARH. México D. F. 1976. 30.SARH. México D. F. (1976).
55. Soulsby, E. J. L.: Helminths, Arthropods and Protozoa of Domestic Animals. 7th ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1982.
56. Stewart, P. N., Dagliesh, J. R. and De Vos, J. A.: Effect of different methods of maintenance on the development and morphology of Babesia bigemina in the gut of Boophilus microplus. Res. Vet. Sci., 40: 94-98 (1986).
57. Todorovic, R. A. y González, E. F.: Inmunización contra babesiosis bovina con una vacuna hecha a base de parásitos muertos. Rev. ICA., 10: 243-254 (1976).

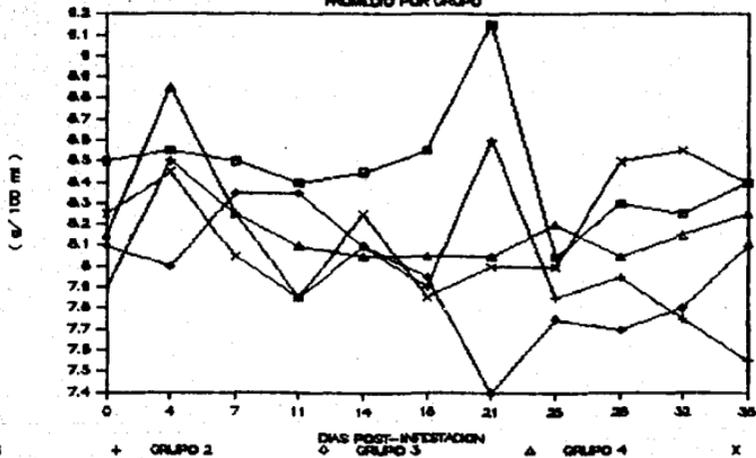
58. Vega, M. C., Buening, G. M., Green, T. J. and Carson, C. A.: In vitro cultivation of B. bigemina. Am. J. Vet. Res., 46: 416-420 (1985).
59. Wright, I. G.: Observations on the haematology of experimental induced B. argentina and B. bigemina. Res. Vet. Sci., 14: 14-29 (1973).
60. Wright, I. G.: Studies on the pathogenesis of Babesia argentina and Babesia bovis infection in splenectomized calves. Z. Parasitenkd., 39: 85-102 (1972).
61. Wright, I. G.: Osmotic fragility of erythrocytes in acute Babesia argentina and B. bigemina infections in splenectomized Bos taurus calves. Res. Vet. Sci., 15: 299-305 (1973).
62. Wright, I. G., Mirre, B. G., Mahoney, F. D. and Goodger, B. V.: Failure of Boophilus microplus to transmit irradiated B. bovis. Res. Vet. Sci., 34: 124-125 (1983).

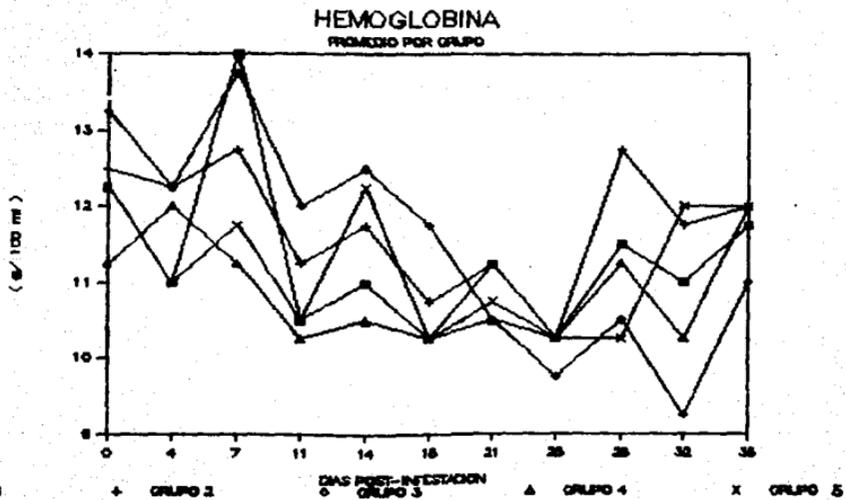


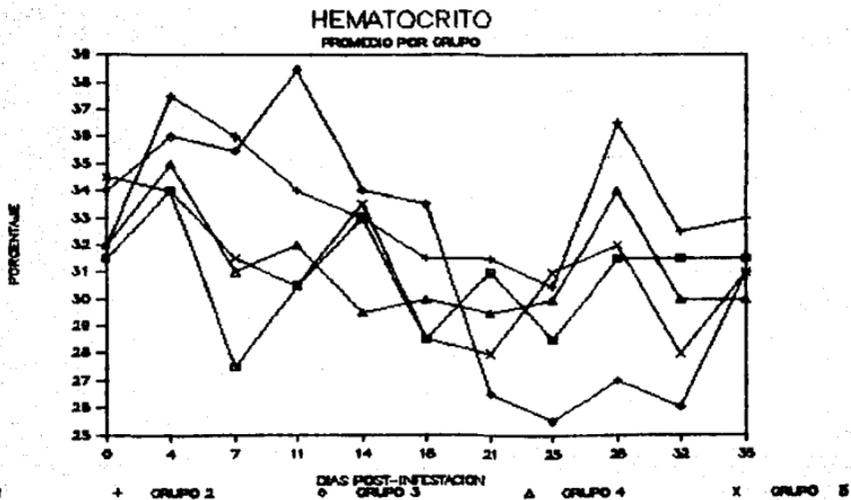


PROTEINAS TOTALES PLASMATICAS

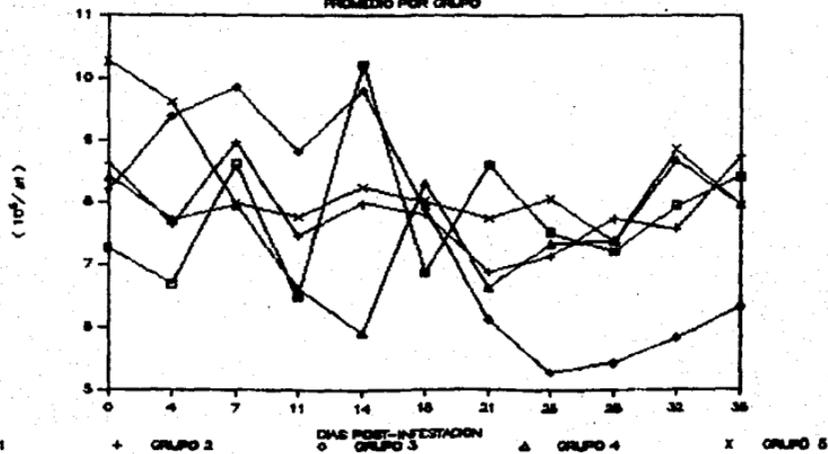
PROMEDIO POR GRUPO



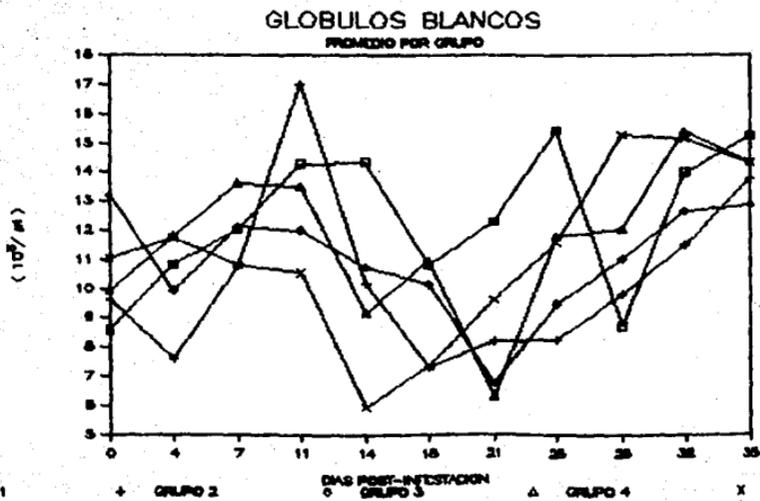




GLOBULOS ROJOS  
 PROMEDIO POR GRUPO



GRAFICA No. 6



■ GRUPO 1

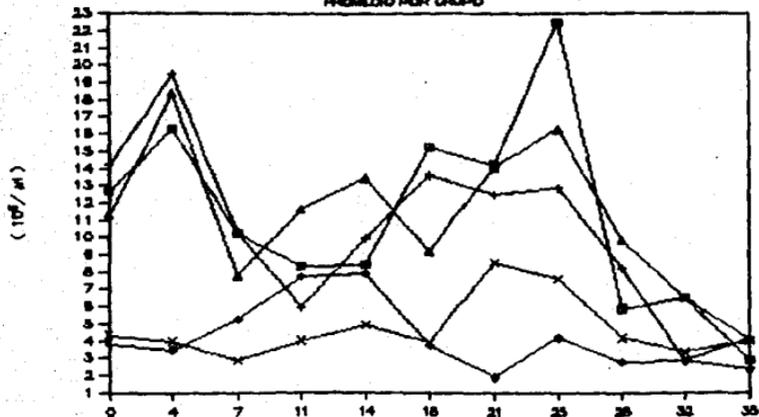
+ GRUPO 2

● GRUPO 3

▲ GRUPO 4

X GRUPO 5

TROMBOCITOS  
PROMEDIO POR GRUPO



□ GRUPO 1

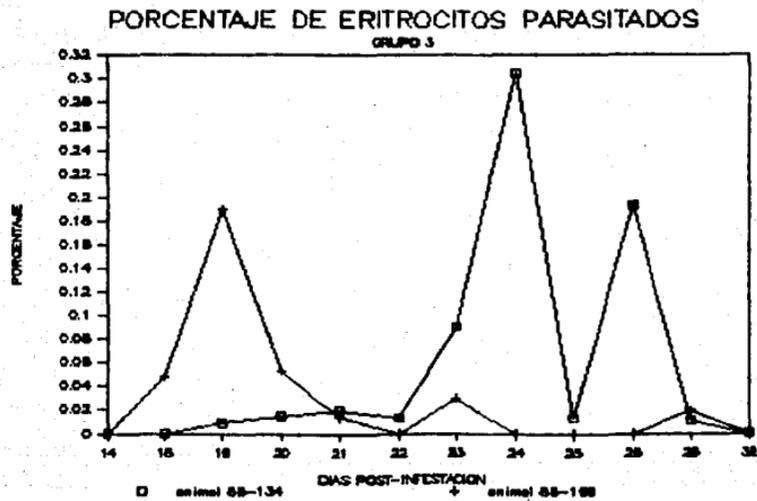
+ GRUPO 2

○ GRUPO 3

△ GRUPO 4

x GRUPO 5

GRAFICA No 8



CUADRO No 1 .- INDICADORES CLINICOS.

	PROMEDIO POR GRUPOS				
	I	II	III	IV	V
TEMPERATURA** RECTAL (°C)	38.3	38.1	38.5	38.1	38.4
Ht (arcoseno)* (%)**	0.3134 <sup>a</sup> 30.9	0.3412 <sup>a</sup> 33.5	0.3219 <sup>a</sup> 31.6	0.3174 <sup>a</sup> 31.2	0.316 <sup>a</sup> 31.1
P E P (%)**	0	0	0.0502	0	0

Diferente literal en la misma línea indica diferencia significativa (  $P < 0.05$  ), prueba de Tukey.

\* Valores transformados

\*\* Valores absolutos

CUADRO No. 2 .- HEMATOLOGIA

	PROMEDIO POR GRUPO				
	I	II	III	IV	V
GR (Log <sub>10</sub> )# 0.8879 <sup>a</sup> (10 <sup>2</sup> / µl)** 7.80	0.8929 <sup>a</sup> 7.86	0.8617 <sup>a</sup> 7.54	0.8725 <sup>a</sup> 7.53	0.9184 <sup>a</sup> 8.35	
GB (Log <sub>10</sub> )# 4.08 <sup>a</sup> (10 <sup>2</sup> / µl)** 12.42	3.991 <sup>a</sup> 10.38	4.024 <sup>a</sup> 10.96	4.051 <sup>a</sup> 11.72	4.030 <sup>a</sup> 11.22	
Hb (raíz <sup>2</sup> )# 3.3631 <sup>a</sup> (g/100 ml)** 11.34	3.4250 <sup>a</sup> 11.75	3.3790 <sup>a</sup> 11.5	3.2925 <sup>a</sup> 10.88	3.340 <sup>a</sup> 11.20	
PT (raíz <sup>2</sup> )# 2.9066 <sup>a</sup> (g/100 ml)** 8.463	2.8303 <sup>b</sup> 8.018	2.8196 <sup>a</sup> 7.963	2.8616 <sup>b</sup> 8.195	2.8621 <sup>b</sup> 8.185	
TROMBOCITOS (Log <sub>10</sub> )# 6.1135 <sup>b</sup> (10 <sup>2</sup> / µl)** 11.216	5.9559 <sup>b</sup> 10.388	5.5535 <sup>a</sup> 4.161	5.9983 <sup>b</sup> 11.153	5.6334 <sup>b</sup> 4.692	

Diferente literal en la misma línea indica diferencia significativa ( P < 0.05 ), prueba de Tukey.

# Valores transformados.

\*\* Valores absolutos.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUADRO No. 3 .- INDICES DE WINTROBE.

	PROMEDIO POR GRUPOS				
	I	II	III	IV	V
V C M ( $\mu^3$ ) $\dagger$	40.25	43.09	43.25	40.10	37.71
C M H B (%) $\dagger$	36.67	35.19	36.55	34.96	34.74
H C M (pg) $\dagger$	14.73	15.12	15.77	14.65	13.54

$\dagger$  Volumen Corpuscular Medio (normal: 40-60  $\mu^3$ ).

$\dagger$  Concentración Media de Hemoglobina globular (normal: 30-36%).

$\dagger$  Hemoglobina Corpuscular Media (normal: 11-71 pg).

CUADRO No. 4 .- CUENTA DIFERENCIAL LEUCOCITARIA.

	PROMEDIO POR GRUPOS				
	I	II	III	IV	V
Linfocitos (arcoseno) ‡ (%) ‡‡	0.6033= 56.3	0.8234= 72.7	0.8191= 71.7	0.6590= 60.5	0.6727= 60.6
Monocitos (arcoseno) ‡ (%) ‡‡	0.0245= 3.8	0.0259= 2.5	0.0315= 3.1	0.0346= 3.4	0.0382= 2.4
N B (arcoseno) ‡ (%) ‡‡	0.3648= 35.4	0.2136= 21.1	0.2231= 22	0.3094= 30.2	0.2619= 25.6
N B (arcoseno) ‡ (%) ‡‡	0.02= 2	0.0164= 1.6	0.021= 2.1	0.03= 2.9	0.384= 3.8
Eosinófilos (arcoseno) ‡ (%) ‡‡	0.037= 3.6	0.02= 2	0.0246= 2.4	0.03= 3	0.0127= 1.3
Basófilos (%) ‡‡	sólo se encontró un basófilo a lo largo de todo el trabajo.			0.045	

Diferente literal en la misma línea indica diferencia significativa ( P < 0.05 ), prueba de Tukey.

‡ Valores transformados.

‡‡ Valores absolutos.

CUADRO No. 5 .- COMPORTAMIENTO GENERAL DE LAS CEPAS.

	FROTIS *	SIGNOS CLINICOS **	RECUPERACION EN CULTIVO ***
Grupo 1 Testigo	(-)	(-)	(-)
Grupo 2 Cepa "A"	(-)	(-)	(+)
Grupo 3 Cepa "B"	(+)	(+)sm	(+)
Grupo 4 Cepa "C"	(-)	(-)	(+)
Grupo 5 Cepa "D"	(-)	(+)sl	(+)

\* Frotis sanguíneo 18 días post-infestación.

\*\* Signos clínicos 18 días post-infestación.

\*\*\* Cepas recuperadas en cultivo in vitro.

sm.- Signos moderados.

sl.- Signos leves.