

88  
2010



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TASA DE SEROCONVERSION MENSUAL DE  
ANTICUERPOS CONTRA Babesia bovis EN  
HATOS LECHEROS DEL MUNICIPIO DE  
EMILIANO ZAPATA, MORELOS.

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

Médico Veterinario Zootecnista

P R E S E N T A :

RAUL EBODIO HERNANDEZ DIAZ

A sesores:

M. V. Z. ZEFERINO GARCIA VAZQUEZ

M. V. Z. NORBERTO VEGA ALARCON



MEXICO, D. F.

1994.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **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.

**DEDICATORIA**

**A MIS PADRES: FIDEL Y MARTHA SALUSTIA**

**A MIS HERMANOS: SERGIO, ALFONSO, ENRIQUE  
LULU, MARTHA, PATY, PILY Y MIGUEL.**

**A MI QUERIDA ESPOSA: LUZ MARIA**

**A MIS HIJOS : LUZ, JULY Y RAUL**

**A MIS AMIGOS: OSCAR, ALEJANDRO F. Y ALEJANDRO M.**

**A MIS ASESORES QUE SON TAMBIEN MIS AMIGOS.**

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2-6
MATERIAL Y METODOS	7-10
RESULTADOS	11
DISCUSION	12-15
LITERATURA CITADA	16-18
CUADROS	19-20
FIGURAS	21
APENDICE	22-23

## RESUMEN

Sesenta y uno bovinos de raza Holstein provenientes de seis explotaciones del Municipio de Emiliano Zapata del Estado de Morelos fueron muestreados en forma mensual durante seis meses, de Julio a Diciembre de 1992. Se determinó la tasa de seroconversión mensual de anticuerpos en contra de Babesia bovis, por medio de la prueba de Ensayo Inmunoenzimatico con enzima asociada (ELISA). En cuatro ranchos se encontró seroconversión en los meses de septiembre a diciembre de 1992. En el rancho tres se encontró la mayor incidencia durante el periodo de estudio. Se determino que existe una gran variación de la dinamica de B. bovis entre los ranchos en estudio aunque pertenezcan a una misma región geográfica. Esta variación puede ser explicada por los diferentes factores de manejo específicos en cada explotación. Se concluye, que para determinar la dinámica de B. bovis en un hato bovino, es necesario realizar estudios de incidencia que permita identificar el periodo donde ocurre la transmisión del parásito, y esto permite establecer programas de control de la Babesiosis mas adecuadas.

## INTRODUCCION.

Babesia bovis es un protozoo intraeritrocítico y es el agente causal de la babesiosis bovina, el cual es transmitido por la garrapata del género Boophilus spp (10). Babes en 1888 fu, el primero en describir al parásito en la sangre en ganado bovino de Africa que presentaban hemoglobinuria(10).

El trabajo clásico de Smith y Kilborne en 1893 en Estados Unidos, se realizó aproximadamente al mismo tiempo significando el comienzo del estudio científico de la babesiosis, y así se demostró por primera vez que la garrapata Boophilus spp era el vector de Babesia bigemina, una de las especies de babesia conocida (10).

La presentación de la enfermedad es principalmente en zonas tropicales y subtropicales; en México estas zonas abarcan el 60% del total del territorio y es donde principalmente se desarrolla la ganadería de bovinos.

La distribución de los vectores, las garrapatas Boophilus microplus y B. annulatus se encontraba en un 50 % del territorio nacional hasta el año 1985 (6), habiéndose erradicado en algunos estados del norte del país y disminuyendo los índices de infestación del parásito en otros estados, esto fue debido al efecto ejercido por la Campaña Nacional Contra la Garrapata. A partir de mediados de 1985 fecha en que desapareció esta campaña, las acciones de control de la garrapata disminuyeron y los casos de babesiosis se hicieron presentes en diversas zonas del país.

La babesiosis bovina en México es causada por dos especies del Género Babesia: Babesia bovis y B. bigemina (5). En general y desde el punto de vista económico, la infección causada por B. bovis es considerada la mas importante de las babesiosis debido a la alta mortalidad que se presenta. En el caso de B. bigemina la mortalidad es menor (12).

La babesiosis en los bovinos ha sido descrita de dos formas: babesiosis y babesiasis. Babesiosis se refiere a la infección con un rápido crecimiento y multiplicación del parásito con signos clinicos tales como : fiebre hasta 41 C, anorexia, depresión, debilidad, disminución de la producción de leche, aumento de la frecuencia respiratoria y cardiaca, anemia, hemoglobinuria, y aborto en algunas hembras gestantes (4).

La babesiasis se refiere a la infección subclínica que se presenta en animales que se han recuperado de la enfermedad y en animales jovenes inmunizados pasivamente a traves del calostro materno (1,3). Es bien conocido que en condiciones de campo, es menos frecuente que los becerros se enfermen de babesiosis en forma clínica que los bovinos adultos, este fenómeno ha sido llamado "Resistencia inversa con la edad" (3,9). Algunos autores han sugerido que la resistencia puede ser explicada como resultado de la transmisión en forma pasiva de los anticuerpos especificos de una vaca infectada al becerro. El soporte de esta sugerencia es a través de la detección de anticuerpos maternos en contra de Babesia bovis que han sido encontrados en becerros de 5 meses de edad que han estado en completo aislamiento desde su nacimiento, de lo que se deduce que estos anticuerpos fueron transferidos en forma

pasiva a través del calostro de la madre y que protegen al animal durante esta etapa y no son producidos en forma activa por el propio becerro (2).

Otros autores (2,3) señalan que los becerros estarán protegidos en contra de la babesiosis en los dos primeros meses de edad, debido a la transferencia de anticuerpos por medio del calostro. Posteriormente los becerros serán susceptibles a la enfermedad en caso de no ser inmunizados en contra de Babesia spp, y esto ocurre generalmente a través de la infección natural con garrapatas del género Boophilus spp, infectadas (8), por lo anterior es importante determinar a través de estudios serológicos la dinámica de presentación de la enfermedad para poder establecer medidas de protección en contra de la misma.

Diferentes métodos de diagnóstico de laboratorio se han utilizado en la babesiosis bovina como son: frotis sanguíneo directo y serología, siendo esta última la más utilizada para estudios epidemiológicos. Las pruebas serológicas más utilizadas en epidemiología han sido la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la determinación de anticuerpos contra Babesia bovis; esta prueba ha sido utilizada en diversos estudios seroepidemiológicos en diferentes partes del mundo (12) y en México se realizó en los estados de Nuevo León, Tamaulipas y Coahuila, habiéndose reportado en este estudio en 1985 una prevalencia del 50% de seropositivos (13). Otro estudio fue realizado en el estado de Guerrero, se reportó una prevalencia de anticuerpos contra Babesia ssp. de 77% de animales (5).

Otra prueba serológica que en los últimos años se ha utilizado es la de Inmunoensayo Enzimático (ELISA) para detectar anticuerpos en contra de varios hemoparásitos incluyendo la Babesia spp. de importancia en medicina veterinaria (11,14). Su sensibilidad ha demostrado ser mayor que otras pruebas serológicas ya establecidas como son: Fijación de Complemento, Hemaglutinación e Inmunofluorescencia (15).

Los estudios epidemiológicos de babesiosis en México han sido realizados, principalmente para determinar la prevalencia de la enfermedad, definiéndose la prevalencia como la proporción de animales enfermos en una población durante un periodo determinado. La prevalencia mide la frecuencia de la enfermedad que existe y no tiene dimensiones ó unidades, además de ser una medida estática. Por definición los valores posibles estan dentro de cero y uno (7).

Por otro lado los estudios más dinámicos como son los de incidencia, son escasos, y en México solo se ha realizado uno (13). Si se define que la incidencia es la tasa de nuevos casos de una enfermedad que ocurre en una población animal durante un periodo determinado. La incidencia es una medida importante de la enfermedad que permite determinar los nuevos eventos de la enfermedad dentro de una población animal y en un tiempo determinado; a diferencia de la prevalencia en que no se repiten los casos ya ocurridos durante el periodo en estudio. Por lo señalado, la incidencia es una medida de tipo dinámico y no de tipo estatico como es la prevalencia. Es importante señalar que los estudios de incidencia son más difíciles

de realizar y de un costo mayor pero son necesarios para definir la historia natural de la enfermedad (7).

## JUSTIFICACION

Los estudios sobre babesiosis bovina realizados en México y en el estado de Morelos , son exclusivamente de prevalencia de la enfermedad por lo tanto la información generada no ha permitido explicar la historia natural de la enfermedad y así establecer programas de control fidedignos en los lugares de estudio. Por lo que es necesario realizar estudios de incidencia los cuales son dinámicos y con mayor exactitud, y permitan obtener información aplicable al control de la babesiosis en el lugar y explotaciones ganaderas en estudio. Por lo cual se programo la realización del presente trabajo.

**HIPOTESIS.-** La tasa de seroconversión mensual de anticuerpos contra B. bovis (incidencia) en el ganado lechero semiestabulado en el municipio de Emiliano Zapata Morelos, es baja, debido al tratamiento sistemático que reciben los bovinos contra las garrapata Boophilus spp.

**OBJETIVO.-** Se determinarán las tasas de incidencia de babesiosis bovina causada por B. bovis en seis hatos de ganado lechero del municipio de Emiliano Zapata, Morelos a través de un seguimiento serológico de las IgG en forma mensual durante seis meses, utilizando la prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA).

Con las tasas de seroconversión que se presentaron se realizo una propuesta de control y prevención de la babesiosis bovina en las explotaciones en estudio.

## MATERIAL Y METODOS.

Localización del sitio de estudio. Los seis hatos lecheros en estudio se localizan en el Municipio de Emiliano Zapata del Estado de Morelos. El municipio del Emiliano Zapata esta situado en la parte centro del estado y colinda al norte con el Municipio de Jiutepec, al sur con el Municipio de Xochitepec, al este con el Municipio de Temixco, al oeste con el Municipio de Yautepec.

La topografía del Municipio en su totalidad es plana, con un rango de temperatura anual de 18 C a 30 C y una temperatura media anual de 22 C. El tipo de clima es semi-cálido, y los meses calurosos son de mayo a junio. La precipitación pluvial es de 700 mm a 1000mm, con un promedio anual de de 853 mm. Los meses de mayor lluvia son de mayo a septiembre.

Seguimiento serológico. Los bovinos utilizados fueron mayores de 9 meses. Siendo muestreados mensualmente, previa identificación de cada uno de ellos. En el primer sangrado se determinarán los animales que se estudiarían en el seguimiento, dentro del grupo se incluyeron animales positivos y negativos a Babesia bovis determinados a través de serología. Para el cálculo de la incidencia solo se consideraron los animales serológicamente negativos al inicio del estudio.

Obtención de la muestra. Se obtuvieron muestras de sangre por punción de la vena yugular en tubos de 15 ml. sin anticoagulante, se transportaron al laboratorio del CENID Parasitología en Jiutepec, Mor. para su procesamiento. Las muestras se centrifugaron a 800 gravedades por 10 minutos y el suero se depositó en viales de 1.5 ml. y se mantuvo a una temperatura de -70o C hasta su uso(10).

Prueba de Inmunoensayo Enzimático (ELISA). Los reactivos utilizados para la prueba fueron proporcionados por la Agencia Internacional de Energía Atómica, F.A.O. Los antígenos fueron preparados con un extracto crudo de B. bovis y la cantidad de proteína utilizada fue de 10 microgramos por mililitro. Sueros control positivos fuerte, débiles y negativos fueron incluidos en cada una de las placas. La dilución del suero problema utilizada fue de 1:100 y el conjugado anti-bovino IgG marcado con peroxidasa se utilizó la dilución de 1:8000.

Adsorción del suero problema. Los sueros problema fueron adsorbidos previamente a la realización de la prueba, el procedimiento fue el siguiente: se colecto sangre de un bovino negativo a B. bovis en heparina y se centrifugo a 800 X g. Las células rojas, se separaron y se lavaron tres veces en una solución amortiguadora de fosfatos (SAF) pH 7.2, los glóbulos rojos fueron lisados con agua destilada fría agregando 5 volúmenes de agua al paquete de células. La muestra se centrifugo a 12000 X g a 4 C por 30 minutos y se preparó una solución a una dilución de 1/10 con el sobrenadante y SAF. Previo a la conducción de la prueba de ELISA el suero problema fue diluido 1/5 con el lisado y se mantuvo 12 horas a 4 C . Esta dilución 1/5 de suero se uso en la prueba a la dilución 1/100.

## PROCEDIMIENTO .

- 1.- El antígeno se diluyó 1:500 en una solución amortiguadora de carbonato-bicarbonato pH 9.6 y 50 microlitros del antígeno se depositaron en cada pozo del plato de micro-ELISA (NUNC-INMUNOPLATE,DENMARK).
- 2.- Se incubo la placa durante 2 horas a 37 C .
- 3.- La solución de antígeno se removio de la placa y se lavo tres veces con SAF pH 7.2 conteniendo 0.01% de Tween 20 . 4.- Se bloqueo la placa con 100 microlitros de una solución amortiguadora de carbonato-bicarbonato con 0.5% de gelatina y se incubó una hora a 37o C .
- 5.- Después del bloqueo, las placas se lavaron 3 veces con una solución amortiguadora de fosfatos (SAF) pH 7.2 conteniendo 0.01% de Tween 20.
- 6.- El suero problema se diluyó 1:100 en S.A.F.y 50 microlitros se depositaron en cada pozo de la placa en duplicado y se incubó 1 hora a 37 C. Los sueros controles positivos y negativos fueron incluidos en cada placa.
- 7.- Posteriormente se lavo tres veces la placa.

- 8.- El conjugado anti-bovino IgG marcado con peroxidasa de rábano se diluyó :8000 en S.A.F., Tween 20, y se agregaron 50 microlitros del conjugado en cada pozo, la placa se incubó a 37 C por una hora.
- 9.- Después el plato fue lavado tres veces con S.A.F. y Tween 20. A la placa se le agregaron 50 microlitros del substrato ABTS (2.6 mM) 2-2'-azinobis (3 etil benzotiazol-6- cido sulfónico).
- 10.- La reacción fue suspendida después de 15 minutos agregando 50 microlitros de 0.25 M. de ácido cítrico (7).
- 11.- El valor de absorbancia fue determinado usando un lector de micro-ELISA equipado con un filtro de 405 nm.

El resultado fue expresado como un índice derivado de la división de la media de la densidad óptica de cada suero entre la densidad óptica del suero control positivo, los valores mayores de uno se consideraron positivos y los valores menores a uno se consideraron negativos.

## RESULTADOS

De los seis ranchos estudiados durante un periodo de seis meses, se encontró seroconversión en todos los ranchos en estudio. En los ranchos 2, 3, 5 y 6 se presentó seroconversión en los meses de septiembre a noviembre principalmente, en este periodo la temperatura media mensual fue de 21 C y la humedad relativa mensual fue de 70%. En el rancho 3 se encontró el mayor numero de animales que seroconvirtieron como se observa en la Figura 1.

En el cuadro 1 se muestran los resultados de los animales que en forma seriada fueron estudiados en los cuales se detectaron anticuerpos en contra de B. bovis, durante el periodo de estudio seroconvirtieron de positivo a negativo siete animales y 21 animales seroconvirtieron de negativo a positivo. La incidencia calculada (nuevas infecciones dividido entre los animales que permanecen en riesgo) fué, calculada en cada uno de los ranchos, observando que en el rancho 3 en todos los meses hubo nuevas infecciones a excepción del mes de diciembre; en los ranchos 1, 4 y 6 solo existió un seropositivo en el mes de noviembre (cuadro 2).

Es importante hacer notar que aunque se calculo la incidencia mensual en los ranchos 4, 5 y 6, el número de animales es muy reducido para poder hacer una inferencia sobre la presentación de la incidencia de la babesiosis, ya que es necesario tener un mayor numero de animales en observación para que la probabilidad de presentación de la enfermedad sea mas real que la que se observó en este reducido número de animales.

## DISCUSION Y CONCLUSION

Los resultados indican que existe una gran variación de actividad de Babesia en esta zona . Esto es probablemente debido a los diferentes sistemas de manejo empleados entre los seis ranchos en estudio.

La forma ideal para determinar los períodos de transmisión de la babesiosis bovina deben de ser determinados por muestreos seriados, como se realizó en los seis ranchos en estudio. Aunque esto es caro en términos de tiempo y dinero es una actividad necesaria por la precisión que se obtiene para determinar el período de transmisión. Una desventaja es que limita severamente el número de hatos y animales que puedan estudiarse como fue el caso de este estudio, el cual se contemplo a un lapso mayor, pero debido al aumento de costos de producción los propietarios vendieron parte o el total de los animales de las explotaciones en estudio.

Un solo muestreo al año podría solo mostrar una baja prevalencia, pero no permite identificar cuando la transmisión ocurre.

La causa de la alta seroconversión en el rancho tres durante el curso del estudio fue debido a que en esta ,poca del año hubo un aumento de temperatura y humedad lo que permitio el aumento de la población de garrapatas Boophilus en el predio donde pastorean estos animales. El manejo que se realiza en los ranchos 1 y 6 es dar

tratamiento periodico con ixodicidas a los animales ,en los ranchos 3,4 y 5 es dar tratamiento con ixodicidas cuando se observan garrapatas en los animales, en todos los ranchos los utilizan en forma alternada y no sistemática los métodos de aspersión y percutaneo ("pour-on") .

Estudios adicionales son necesarios para determinar el número de garrapatas necesarias para mantener B. bovis en un hato. Un modelo matemático para B. bovis ha sido desarrollado en el que se predice que una infestación de 2 a 8 garrapatas adultas por día son requeridas para tener una situación epidemiológica inestable (4). Cuando el número de garrapatas es menor del rango mencionado, B. bovis no se mantiene en un hato bovino, pero cuando se presentan mas de ocho garrapatas adultas por día la mayoría del ganado bovino se infecta antes de tener 9 meses de edad , debe esperarse que la seroconversión encontrada en el rancho 3 durante este periodo de estudio pudo ser debido a la presencia de numerosas garrapatas, especialmente cuando las tasas de infección de solo 0.0004 para B. bovis y además son encontrados vernículos en garrapatas adultas colectadas en el predio (6-7).

La seroconversión encontrada se presentó principalmente en animales juvenes, y por la falta de reportes de animales enfermos esto sugiere una baja patogenicidad de la B. bovis en los animales en estudio.

En el cuadro I se observa que los animales negativos que fueron estudiados, la gran mayoría son nativos de esta zona y se infectaron en edades tempranas , además de lo anterior también el manejo de ixodicidas es mas constante. En este cuadro se

observa una elevada seroconversión de negativo a positivo, esto se debe a que muchos animales son jóvenes menores de tres años y se enferman por vivir en una zona de riesgo aunado al periodo cuando se realizó el estudio que favorecía la reproducción e incremento de la población de garrapatas Boophilus spp.

En la figura 1 se observa que la actividad de seroconversión se presentó principalmente en el periodo comprendido de agosto a noviembre, esto se debe a que en este periodo la precipitación, temperatura y humedad 30 C y 80% de humedad relativa favoreció la presencia de garrapatas, los ranchos 2, 3, y 6 presentaron mayor actividad de seroconversión debido a que el predio donde pastorean estos animales es una zona de paso de otros animales a otros predios desconociéndose su estado de salud y parasitosis externa aparte de lo antes mencionado.

Además se observó que el periodo de infección por B. bovis se presentó principalmente en animales jóvenes menores de tres años, esto se debe a que estos sufren la infección natural en forma temprana (8), además de que la mayoría de estos animales no están en etapa de producción por lo que no son tratados con ixodicidas frecuentemente como los que están en producción.

Por lo que se concluye que para determinar la dinámica de una infección por B. bovis es necesario realizar estudios de incidencia en las explotaciones ganaderas, esto permite establecer medidas preventivas en contra de la babesiosis bovina. En las explotaciones de bovinos estudiadas, en los meses de septiembre a noviembre

fue cuando ocurrió la mayor transmisión del parásito por lo tanto deberá establecerse un calendario estricto de desparasitación externa para el control del vector en este periodo. En el presente estudio se encontró una gran variación entre cada una de las seis explotaciones y aunque se encuentran localizadas en una misma región geográfica existen factores intrínsecos de manejo principalmente que influyen en el aumento o disminución de la probabilidad de infección con Babesia bovis en cada una de las explotaciones.

## LITERATURA CITADA

- 1.- Carson, C.A., Phillips, R.S. Immunologic response of the vertebrate host to Babesia. In: Babesiosis Edit. Ristic., Krier, J.P. New York, Ac. Press Inc. (1981)
- 2.- Christensson, D.A. Clinical and serological response after experimental inoculation with Babesia divergens of newborn calves with and without maternal antibodies. Act. Vet. Scand. 28: 381-392 (1987).
- 3.- Christensson, D.A., Thorburn, M. Age distribution of natural occurring acute babesiosis in cattle in Sweden. Act. Vet. Scand. 28: 361-371 (1987).
- 4.- Dallwitz, M.J., Young, A.S., Mahoney, D.F., Sutherns, R.W. Comparative epidemiology of tick-borne diseases of cattle with emphasis on modelling. Int. J. Parasitol. 17: 629-637. (1987).
- 5.- Fragoso, S.G., Millan, S.F. Prevalencia de anticuerpos contra Anaplasma marginale y Babesia spp. en la zona centro del Estado de Guerrero. Mem. Reunión Invest. Pec. SARH México p.199 (1986)

- 6.- Garcia, V.Z. " La Babesiosis en Mexico " Seminario Internacional de Parasitología Animal. SARH Cuernavaca, Mor. pp. 70-77 (1986).
- 7.- Garcia, V.Z., Epidemiología Veterinaria y Salud Animal. Edit. LIMUSA pp. 58-68. (1990).
- 8.- James, M.A., Kuttler, K.L., Levy, M.G., Ristic M., Antibody kinetics in response to vaccination against Babesia bovis. Am. J. Vet. Res. 42: 1999-2001 (1981).
- 9.- Levy, G.M., Clabangh G., Ristic M. Age resistance in bovine babesiosis: role of blood factors in resistance to Babesia bovis. Infect. Immun. 37: 1127-1131 (1982).
- 10.- Mc Cosker, P. J., The global importance of babesiosis. In: Babesiosis. Edit. Ristic, M., Kreir, J. Academic Press. New York. pp 2-19.
- 11.- Nielsen, K.H., Kelly, P.F., Cherwonogrodz, W.A. Review of enzyme immunoassay for detection of antibodies to Brucella abortus of cattle. Vet. Immunol. Immunopathol. 18: 331-347 (1988).
- 12.- Purnell, R.E. Babesiosis in various hosts. In : Babesiosis. Edit. Ristic, M., Kreir, J. Academic Press. New York. pp 25-26 (1981).

- 13.- Teclaw, R.F., Romo,S., Garcia, Z., Castañeda,M., Wagner, G.G. A seroepidemiological study of bovine babesiosis in Northern Mexico. *Prevent. Vet. Med.* 3: 403-415 (1985).
- 14.- Voller, A., Bidwell, D.E., Barlett, A., The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). A guide with abstracts of microplate applications. Dynatech, Europe, Guernsey G.B. (1982)
- 15.- Waltisbuhl, D.J., Goodger,B.V., Wright,I.G., Commins, M.A., Mahoney, D.F., An enzyme linked immunosorbent assay to diagnose *Babesia bovis* infection in cattle. *Parasitol. Res.*,73: 126-131,(1987).

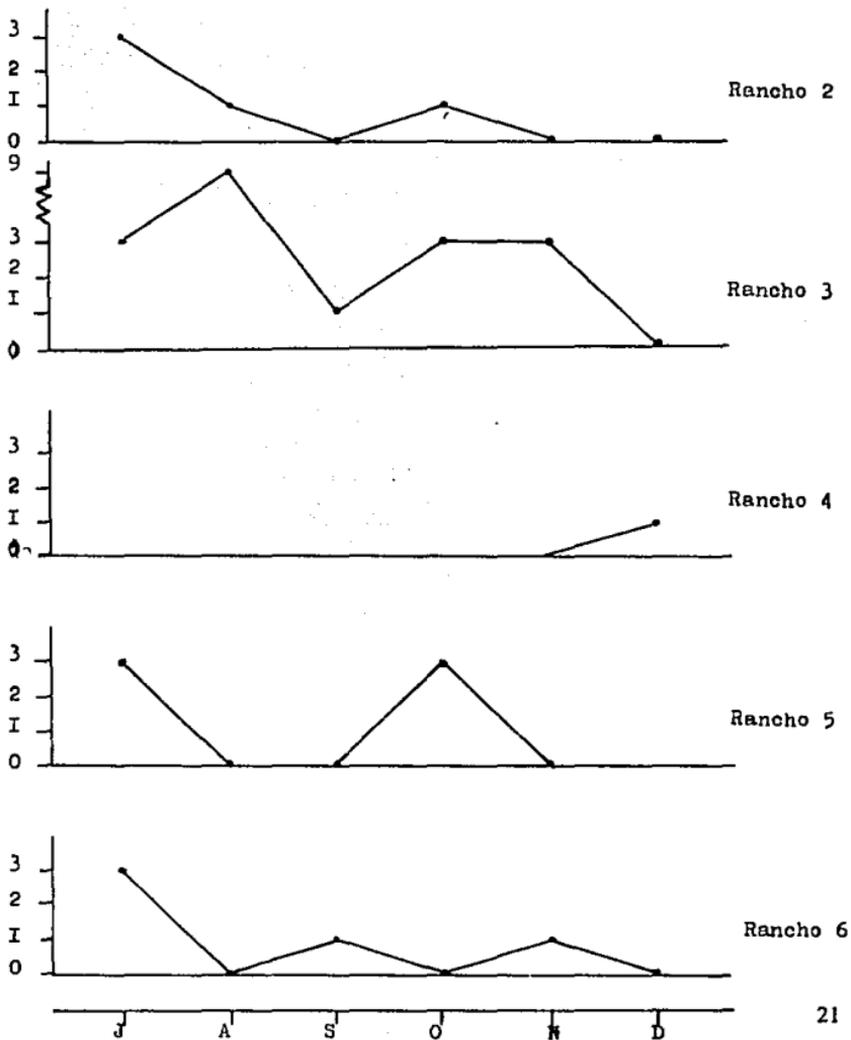
Cuadro 1. Cambio de estado serológico determinado con la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos contra Babesia bovis de julio a diciembre de 1992.

Rancho	No Animales	Persistencia Negativos	Seroconversión neg. a post.	Persistencia positivos	Seroconversión post. a neg.
1	10	7	0	2	1
2	10	5	2	1	2
3	21	3	12	6	0
4	5	3	2	0	0
5	8	1	4	1	2
6	7	3	1	1	2
Total	61	22	21	11	7

Cuadro 2. Tasa de ataque mensual de bebesiosis bovina en seis hatos lecheros del Municipio de Emiliano Zapata de Morelos de junio a diciembre de 1992.

Rancho	No Animales	Julio (%)	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
1	10	3/10 (30)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	1/7 (14)	0/6 (0)
2	10	3/10 (30)	1/7 (14)	0/6 (0)	1/6 (17)	0/5 (0)	0/5 (0)
3	21	3/21 (14)	9/19 (47)	1/10 (10)	3/9 (33)	3/6 (50)	0/3 (0)
4	5	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	1/5 (20)	0/4 (0)
5	8	3/8 (37)	0/5 (0)	0/5 (0)	3/5 (60)	0/2 (0)	0/2 (0)
6	7	3/7 (42)	0/4 (0)	1/4 (25)	0/3 (0)	1/3 (33)	0/2 (0)

Figura I.- Meses estimados de seroconversión a Babesia bovis en cinco ranchos en el Municipio de E. Zapata, Morelos en 1992 .



## APENDICE.

### MATERIAL DE LABORATORIO.

- 1.- Microplacas de poliestireno de 96 pozos para ELISA (NUNC DENAMARK).
- 2.- Un juego de micropipetas de 1-10 ul. 10-100 ul, 100-1000 ul.
- 3.- Una micropipeta multidespachadora de 12 puntas graduable de 10-100 ul.
- 4.- Vasos de precipitado de 50, 100 y 500 ml.
- 5.- Matraces de 10, 50, 500 y 1000 ml.
- 5.- Platina caliente con agitador magnético
- 6.- Medidor de pH.
- 7.- Lector de ELISA para microplatos.
- 8.- Un refrigerador y un congelador.

### REACTIVOS DE LABORATORIO.

- 1.- Frasco de Tween 20 (detergente)
- 2.- Solución amortiguadora de fosfatos pH 7.2 (SAF).  
cloruro de sodio 8 g / l  
Fosfato de sodio 1.4 g / l  
Fosfato de potasio 0.2 g / l  
Cloruro de potasio 0.2 g / l

**3.- Solución amortiguadora de carbonatos pH 9.6.**

**Carbonato de sodio 1.59 g / l**

**Bicarbonato de sodio 2.93 g / l**

**Merthiolate 0.2 g / l**

**4.- Solución de gelatina al 0.5%**

**Gelatina 5 g / l de solución amortiguadora de carbonato.**

**5.- Solución de lavado**

**A un litro de SAF agregar 0.5 ml de Tween 20 agregarlo en forma lenta y disolverlo con un agitador magnético evitando la formación de mucha espuma. Esta solución se puede mantener en refrigeración sólo por 24 horas.**

**6.- Agua destilada.**