

BABESIOSIS Y ANAPLASMOSIS BOVINA DIAGNOSTICO, EPIDEMIOLOGIA Y CONTROL

VANZINI, V. R. * 1; RAMIREZ, L. M. *

RESUMEN

En la Argentina la babesiosis de los bovinos es causada por la *Babesia bovis* y la *Babesia bigemina*, mientras que la anaplasmosis es causada por el *Anaplasma marginale*. Alrededor de 22.500.000 bovinos (35% de la población del país) se encuentran dentro del área de ocurrencia de estas enfermedades.

En el presente trabajo se hace una descripción de los rasgos sobresalientes de los agentes etiológicos, formas de transmisión, descripción del síndrome clínico y hallazgos de necropsia. Se destaca la importancia del diagnóstico y la interpretación de los resultados para la adopción de medidas preventivas y de control de los brotes. Se analizan los factores que condicionan la epidemiología de estas enfermedades y el empleo de principios epidemiológicos para la aplicación de técnicas de prevención de las mismas. Finalmente, se reseñan tales métodos de prevención poniendo especial énfasis en el uso de vacunas vivas atenuadas, aclarando sobre las ventajas y restricciones de las mismas.

Palabras claves: Argentina, babesiosis, anaplasmosis, diagnóstico, epidemiología, control.

SUMMARY

BOVINE BABESIOSIS AND ANAPLASMOSIS. DIAGNOSIS, EPIDEMIOLOGY AND CONTROL

In Argentine bovine babesiosis is caused by *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* while anaplasmosis is caused by *Anaplasma marginale*. Nearly 22.500.000 cattle (35% of the country livestock) live in the endemic area.

The etiological agents, its transmission, the clinical syndrome and the post-mortem findings are described. The importance of the correct diagnosis of the diseases to control outbreaks and to adopt preventives measures is emphasized. The factors conditioning the epidemiology of these diseases and its application to prevent these diseases are also analyzed. Finally, it is described the prevention methods emphasizing the use of lives attenuated vaccines.

Key words: Argentine, babesiosis, anaplasmosis, diagnosis, epidemiology, control.

I. INTRODUCCION

Las garrapatas y las enfermedades que ellas transmiten constituyen uno de los problemas sanitarios de mayor importancia económica en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo. La mayoría de los países en desarrollo, donde

* INTA EEA-Mercedes; CC 38; 3470 Mercedes, Corrientes.

¹ Dirección actual: INTA EEA-Rafaela; CC 22; 2300 Rafaela, Santa Fe.
Ingresó para su publicación el 15-9-94.

la ganadería es una importante fuente de ingresos y uno de los principales recursos alimenticios, están ubicados en esas regiones.

Impulsados por la necesidad económica de incrementar la producción ganadera, nuevas prácticas de manejo están siendo aplicadas en establecimientos ubicados en el área endémica, en el norte de nuestro país. Dentro de las alternativas para aumentar la productividad comercial aparece la incorporación y adaptación local de razas de alta productividad, las cuales provienen de áreas donde la enfermedad no está presente. La garrapata, babesiosis y anaplasmosis constituyen factores importantes que afectan la esperada performance de esos animales y en consecuencia limitan la posibilidad de aumentar la producción; sin embargo, aun cuando se logre el control de este artrópodo y las enfermedades asociadas, todavía persistirán las limitaciones climáticas y alimenticias.

El éxito logrado en los Estados Unidos de América en eliminar la babesiosis a través de la erradicación de la garrapata vectora (*Boophilus annulatus*) todavía aparece como un hecho aislado. Muchos países ubicados en el área tropical y subtropical, dentro de ellos la Argentina, siguieron este ejemplo. La campaña de erradicación (Ley Nº 12566) iniciada en nuestro país constituye el único caso en el mundo donde se logró liberar una amplia zona infestada con *Boophilus microplus*, pero aún existe una importante superficie infestada que alberga a unos 10.000.000 de cabezas, aproximadamente el 18% del total del país.

Entre los obstáculos que debieron superarse figuran el desarrollo de resistencia a los acaricidas, primero los arsenicales y clorados y más recientemente los organofosforados. La falta de infraestructura adecuada en algunas zonas y el costo de las drogas modernas con relación a la rentabilidad de la empresa ganadera también constituyen obstáculos que dificultan la ampliación del área de lucha y erradicación.

La erradicación de la garrapata en todo el país seguramente no se va a lograr a corto plazo y el control manteniendo cargas bajas que no produzcan mayores pérdidas en los animales contribuirá a incrementar la producción pero aumentará el riesgo de brotes de babesiosis. En este contexto la inmunización de los animales susceptibles aparece como la medida de control más efectiva.

El conocimiento de los métodos de diagnóstico y la aplicación de conceptos epidemiológicos básicos, adquieren relevancia para la implementación de las medidas de prevención más adecuadas.

II. AGENTES ETIOLOGICOS

Historia

En el año 1888, el investigador rumano Víctor Babes concluyó que la causa de la enfermedad conocida como hemoglobinuria enzoótica de los bovinos era un pequeño microorganismo intraeritrocitario al cual denominó *Haematococcus bovis*. Posteriormente, en 1893, Starcovici propuso el nombre de *Babesia bovis*.

En 1889, en los Estados Unidos de América, T. Smith informó que el agente responsable de la fiebre de Texas era un protozoario. En 1893, Smith y Kilborne

propusieron el nombre de *Pyrosoma bigeminum* (posteriormente *Babesia bigemina*), pero lo más importante fue que por primera vez se estableció que el protozooario era transmitido por garrapatas (*Boophilus annulatus*) y que además pasaba a la descendencia. La presencia de un artrópodo en la transmisión introdujo un nuevo concepto en epidemiología, lo cual sirvió de base para el control de muchas enfermedades.

En nuestro país los primeros trabajos sobre la "Tristeza de los bovinos" fueron realizados por Lignières, quien en 1903 reconoció dos tipos diferentes de *Babesia*: una forma larga similar a la descrita por Smith y Kilborne y otra más pequeña, a menudo difícil de encontrar en extendidos de sangre, pero fácil de ver en capilares de órganos, la que en 1910 denominó *Piroplasma argentina* y posteriormente *Babesia argentina*. Estudios serológicos utilizando la técnica de inmunofluorescencia indirecta (Callow *et al*, 1976) mostraron que no hay diferencias entre *B. argentina* (Australia) y *B. argentina* (Bolivia) y entre *B. argentina* (Australia) y *B. argentina* (Norte de Africa). Por otra parte, Goldman y Rosemberg (1974) sólo observaron pequeñas diferencias entre *B. berbera* (Israel), *B. bovis* (Nigeria) y *B. argentina* (Australia). El nombre *B. bovis* tiene prioridad, por lo tanto, en función de las evidencias acumuladas se decidió adoptar esta denominación por ser precedente.

En Sudáfrica, Theiler (1910) describió a un pequeño agente en los eritrocitos de bovinos afectados de anemia aguda y lo diferenció de la entidad patológica fiebre de Texas. De acuerdo con sus características tintoriales, para este microorganismo carente de citoplasma y ubicado en el margen del eritrocito propuso el término *Anaplasma marginale*.

En 1911 describió una nueva especie de *Anaplasma*, al cual por su ubicación dentro del eritrocito, preferentemente central, denominó *A. centrale*. Posteriormente, varios investigadores comenzaron a describir la presencia de proyecciones o colas en extendidos de sangre con *A. marginale* teñidos con Giemsa; entre los que figuran Quevedo (1914) en la Argentina, Gómez de Farías (1928) en la Argentina pero trabajando con un aislamiento proveniente de Brasil, Descaseaux (1924) en Chile y Franklin y Redmond (1958) en los EUA. Otros investigadores no observaron la presencia de prolongaciones en extendidos teñidos con Giemsa pero sí cuando utilizaron la solución de Toisson (Boynton, 1932) o nuevo azul de metileno (Schalm *et al*, 1962). También fueron observadas con contraste de fases e inmunofluorescencia (Ríos *et al*, 1988). En Corrientes fue observado en un aislamiento proveniente de un caso clínico utilizando la tinción con nuevo azul de metileno (Vanzini, obs. pers.), Kreier y Ristic (1963 a, b, c) lo estudiaron más detalladamente mediante técnicas de tinciones especiales, inmunofluorescencia, contraste de fases y microscopía electrónica y observaron una formación oval con una proyección o cola.

Clasificación

La clasificación taxonómica de los protozoarios ha sido revisada en 1980 por un comité científico de la sociedad internacional de protozoólogos (Levine *et al*, 1980). En la nueva clasificación el género *Babesia* aparece dentro del sub-reino:

protozoa; phylum: apicomplexa; clase: sporozoa; sub-clase: piroplasmia; orden: piroplasmida; familia: babesidae. *Babesia* sp. son parásitos intraeritrocitarios obligados no pigmentados de forma piriforme, oval, bacilar o ameboide. Transmitidos por garrapatas. Reproducción asexual y sexual con merogonia en vertebrados y esporogonia y gametogonia en invertebrados (Melhorn y Schein, 1984).

Existen dudas respecto de la clasificación de *Anaplasma*; sin embargo, se lo considera dentro del orden rickettsiales, familia anaplasmataceae (Ristic y Kreier, 1984). Este microorganismo carece de retículo endoplasmático y membrana nuclear, lo cual lo diferencia de los protozoos. Por otra parte, es Gram negativo (Amerault *et al*, 1973), como la mayoría de las rickettsias. En los vertebrados se comporta como un organismo intraeritrocitario obligado. *Anaplasma* infecta a los rumiantes domésticos y numerosos salvajes (Kuttler, 1984).

Se reproduce por fisión binaria. El corpúsculo inicial invade el glóbulo rojo y luego se divide varias veces y forma un corpúsculo de inclusión formado por 4-8 corpúsculos iniciales.

En la lista de nombres de bacterias reconocidas, publicadas en el International Journal of Systematic Bacteriology (Ristic y Kreier, 1984), se incluyen sólo dos especies de *Anaplasma*: *A. marginale*, responsable de la anaplasmosis bovina y *A. ovis*, agente causal de la anaplasmosis ovina y caprina. Esta separación está basada en la falta de inmunidad cruzada y diferencias entre los antígenos de superficie (Palmer *et al*, 1988).

Tradicionalmente *A. centrale* fue considerado una especie separada de *A. marginale*, sin embargo las diferencias antigénicas y genéticas no parecen lo suficientemente marcadas como para justificar esta separación (Ambrosio y Potgieter, 1987; Kuttler, 1967; Palmer *et al*, 1988), y, al menos por ahora, se lo considera como una variante de *A. marginale*.

Kreier y Ristic (1963a, b, c), tomando como base la presencia de una estructura (apéndice, cola), sugirieron la creación de un nuevo género al cual denominaron *Paranaplasma caudatum*. Los corpúsculos de inclusión de *P. caudatum* tienen apéndices generalmente en forma de cola, que puede ser visualizado solamente mediante el uso de técnicas especiales. A diferencia de *A. marginale*, los ovinos y ciervos son refractarios a la infección (Kreier y Ristic, 1963c). Estudios de inmunidad cruzada entre *A. marginale* y *P. caudatum*, mostraron que terneros inmunes a *A. marginale* no lo eran a la infección con *P. caudatum*. A pesar de que existen algunas diferencias antigénicas con *A. marginale* no parece que sean tan marcadas como para ser considerado como nueva especie, por lo tanto no ha sido aceptada como una especie diferente, en consecuencia en este trabajo se considerará como una variante morfológica de *A. marginale*.

III. TRANSMISION

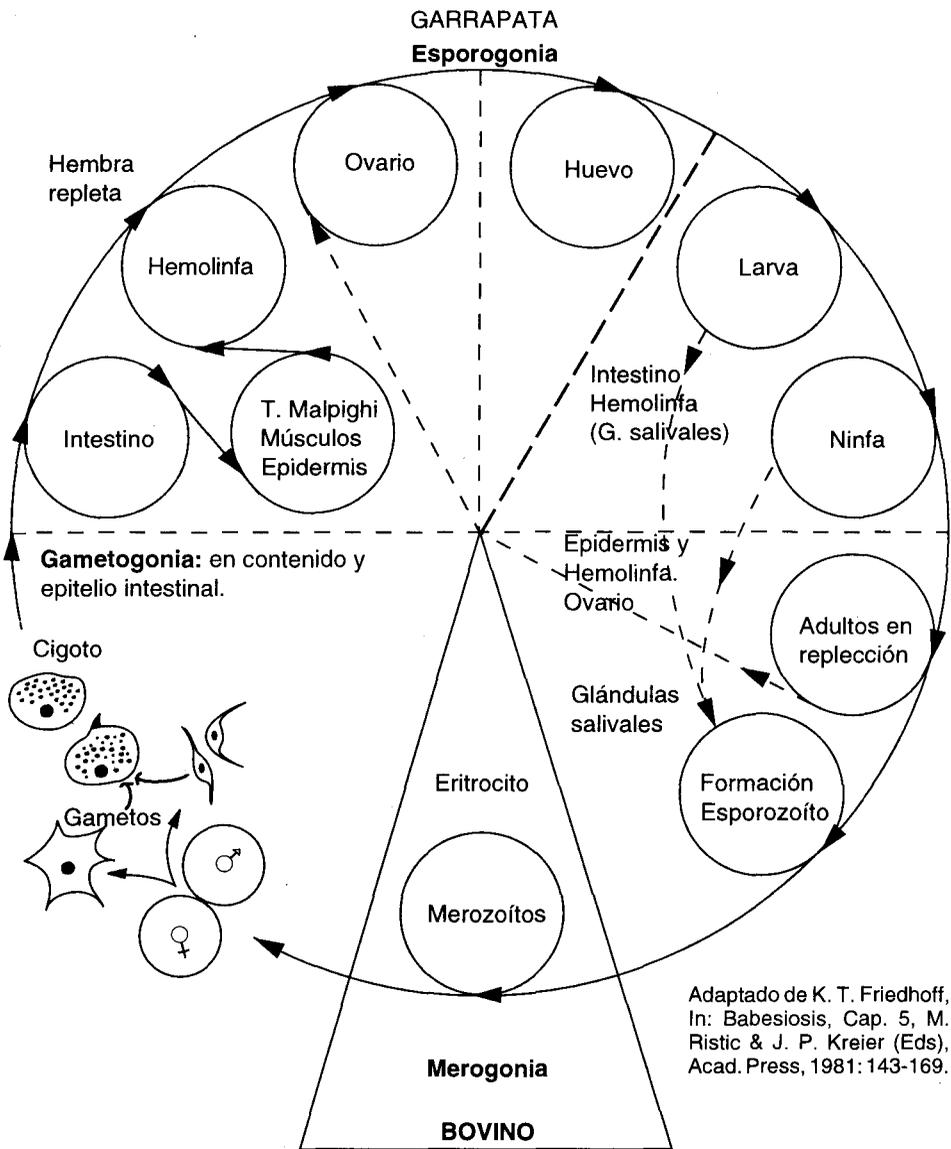
Babesiosis

Agente	Vector	Estadio
<i>B. bovis</i>	<i>B. microplus</i>	Larva
<i>B. bigemina</i>	<i>B. microplus</i>	Ninfa/adultos

La babesiosis es transmitida en la naturaleza exclusivamente por garrapatas. La transmisión transplacentaria o infección iatrogénica tienen poca o ninguna importancia epidemiológica. El desarrollo y transmisión de *B. bovis* y *B. bigemina* fue estudiado por Rosembusch y González (1924), Rosembusch (1927), Riek (1964, 1966) y revisado por Friedhoff y Smith (1981).

En la Argentina, la garrapata común del bovino, *Boophilus microplus*, es el único vector reconocido. El área de distribución está situada, aproximadamente, al norte del paralelo 30 lat. Sur. La superficie infestada es de alrededor de 613.300 km² con

Figura 1
Hipotético ciclo de vida de Babesia



una población ganadera estimada en 10.000.000 de bovinos, aproximadamente el 18% del stock nacional.

El ciclo de *Babesia* dentro de la garrapata comienza cuando ésta ingiere sangre infectada de un animal portador. Callow (1968) observó que la infección de la garrapata con *B. bigemina* se produce durante la etapa de ingurgitación, en las últimas 16-24 horas antes de abandonar el huésped y se presume que algo similar puede ocurrir con *B. bovis*.

Posteriormente, y luego de un complicado ciclo, las babesias se reproducen sexualmente (gametogonia) en la luz del intestino, los cigotos invaden la pared intestinal; luego inician ciclos de múltiple fisión en varios órganos de la garrapata y llegan al ovario a través de la hemolinfa. Seguidamente, se introducen en los huevos antes que se recubran con una membrana de quitina e invaden las células del intestino del embrión.

La transmisión transovarial de *B. bigemina* se inicia a las 80-96 horas post-replección (Friedhoff and Smith, 1981). Riek (1964) observó kinetos en hemolinfa a partir de las 72 horas. Esto significa que los huevos infectados con *B. bigemina* aparecen después que la garrapata ha depositado entre el 13-53% del total de la puesta. Cafrune (1993) estudió la dinámica de infección de huevos de *B. microplus* por *B. bovis* y observó que durante las primeras 72 horas de aove los huevos no presentaban infección.

La multiplicación de *Babesia* en huevos y larvas en desarrollo fue descrito por Rosebusch y González (1924), Rosebusch, (1927) y Riek (1964, 1966). Los kinetos ingresan a las células del epitelio intestinal y se dividen por fisión originando numerosas células hijas que se distribuyen en la hemolinfa de la larva emergente.

Cuando la larva sube y se fija al bovino, los kinetos se dirigen a la glándula salival, invaden las células epiteliales y se vuelven a dividir por fisión dando lugar a numerosas formas infectantes que ingresan al huésped junto con la saliva, a través de la picadura.

La infección del bovino con *B. bovis* se produce a los 2-3 días después de la picadura (Riek, 1966). Las larvas pierden la infección por *B. bovis* (pero retienen la de *B. bigemina*) una vez que la transmisión se ha producido, en consecuencia, las ninfas y adultos que se originan de esas larvas no estarán infectadas con *B. bovis* (Mahoney y Mirre, 1979).

Babesia bigemina es transmitida entre 8-10 días después de adherida la larva, es decir, cuando alcanza el estadio de ninfa (Riek, 1964) o bien en estadios posteriores (Guglielmone *et al*, 1981). Estas condiciones fueron utilizadas con éxito para el aislamiento de cepas puras de *B. bovis* y *B. bigemina* con diferentes estadios de *Boophilus microplus* (Mahoney y Mirre, 1974; Dalgliesh *et al*, 1978; Guglielmone *et al*, 1981; Dalgliesh y Stewart, 1983).

Después de ingresar al eritrocito, única célula que parasita en el bovino, la típica *Babesia* se multiplica y origina dos células hijas, las cuales incorporan todo el citoplasma de la célula madre. Las células hijas tienen forma piriforme y se las denomina merozoitos. Los merozoitos permanecen dentro de los eritrocitos y no producen pigmentos o depósitos de hierro ni dejan restos celulares. Este tipo de reproducción asexual (merogonia) continúa en forma indefinida en el huésped hasta tanto esterilice la infección.

Anaplasmosis

Agente	Vector	Transmisión
Anaplasma	* Insectos hematófagos	Mecánica
	* Hombre	Mecánica
	* Garrapata	Transestadial

La anaplasmosis presenta una dinámica de transmisión más compleja que la babesiosis y en muchos aspectos menos conocida. *A. marginale* es transmitido cíclicamente por algunos géneros de garrapatas y en forma mecánica por la picadura de insectos hematófagos y el hombre.

La distribución geográfica de la enfermedad en nuestro país es de alrededor de 1.000.000 de km² en los que se encuentran 22.600.000 bovinos, equivalentes a un 35% de la población del país.

La situación referente a la aparición de brotes en el campo, en regiones tropicales y subtropicales, no está totalmente aclarada porque no existe información completa respecto de sus transmisores, formas de transmisión, vectores y reservorios.

En realidad, las garrapatas desempeñan un rol importante en la transmisión de la anaplasmosis, sin embargo la magnitud del mismo debe ser cuidadosamente examinado de acuerdo al género.

Dermacentor es uno de los géneros donde se realizaron avances sustanciales acerca del estudio del desarrollo y transmisión de *A. marginale*. Esta garrapata no está presente en la Argentina y sólo es importante para América del Norte.

Kocan *et al* (1980a, b) demostraron la presencia de *A. marginale* en las células epiteliales del intestino de ninfas repletas y adultas de *D. andersoni* y *D. variabilis*; también comprobaron la presencia de *Anaplasma* con apéndice en el intestino de ninfas de *D. andersoni* (Kocan *et al*, 1984).

Otro hallazgo significativo fue la determinación de las características morfológicas de las colonias de *A. marginale* en las glándulas salivales de *D. andersoni*, *D. variabilis* y *D. occidentalis* (Stiller *et al*, 1989). En Sudáfrica, Potgieter *et al* (1983) observaron colonias de *A. marginale* en el intestino medio de *Rhipicephalus simus*.

Todos estos estudios condujeron a clarificar la forma de transmisión de *Anaplasma* por *Dermacentor* sp. Se comprobó la existencia de transmisión transestadial en *D. andersoni* y *D. variabilis* (Kocan *et al* 1980b; 1981); intraestadial por machos de *D. albipictus* y *D. occidentalis* (Stiller y Johnson, 1983) pero no pudo demostrarse la existencia de transmisión transovarial en *D. andersoni* y *D. variabilis* (Kocan *et al* 1981; Stich *et al* 1989). También es importante señalar que no todos los aislamientos de *A. marginale* son transmitidos por *Dermacentor* sp. (Kocan *et al* 1984).

El hecho de que no se haya podido demostrar transmisión transovarial sin dudas reduce en parte la importancia de este género en la epidemiología de la enfermedad.

Este tipo de investigaciones aún no se han llevado a cabo en *Boophilus* a pesar de su amplia distribución mundial y reconocida importancia económica. En nuestro país *Boophilus microplus* es la especie más importante que poseemos. A esta garrapata se la ha incriminado como un transmisor de suma importancia, sin

embargo, debe tenerse presente que *Boophilus* es una garrapata de un solo huésped, lo cual significa que todas las etapas de desarrollo (larva, ninfa, adulto) ocurren sobre el mismo animal, de manera que debería transmitir *Anaplasma* por vía transovarial.

La transmisión transovárica de *Anaplasma* en *Boophilus* ha sido señalada por muy pocos autores (Theiler, 1912; Rosebusch y González, 1924). Contrariamente, son numerosos los trabajos que indican que la transmisión transovárica no se produce en este género de garrapata (Lignières, 1920; Gómez de Farías, 1928; Connel y Hall, 1972; Leatch, 1973; Thompson y Roa, 1978; Samish *et al*, 1986).

Se ha comprobado la existencia de transmisión transestadial (Potgieter, 1981; Samish *et al* 1986; Dalglish y Stewart, 1983) e intraestadial (Potgieter, 1979). Por ser *Boophilus* una garrapata de un solo huésped este tipo de transmisión carecería de importancia, sin embargo, se ha demostrado que si los animales son mantenidos bajo condiciones de confinamiento en establos, se transfieren garrapatas de un animal a otro (Connell y Hall, 1972), pero se desconoce si este fenómeno ocurre y en qué magnitud, bajo condiciones de campo.

Con respecto a esto último Guglielmo y Mangold (en prensa) observaron durante ocho días la transferencia de *B. microplus* en bovinos mantenidos bajo condiciones de campo en INTA-Salta. Los autores ubicaron 11 novillos Holando Argentino infestados naturalmente con *B. microplus* (4.950 hembras en los 11 animales) junto con 6 no infestados en un potrero de 17 ha (1 animal/ha). Como resultado se observó que 5 novillos continuaron libres de garrapata y sólo 1 mostró una hembra. Estos resultados nos lleva a pensar que el fenómeno de transferencia de *Boophilus microplus* entre bovinos no es tan frecuente bajo condiciones de campo, pero sin dudas es indispensable realizar más estudios y coleccionar información para determinar la importancia, si es que tiene alguna, de *B. microplus* en la epizootiología de *A. marginale*.

Durante un año Ríos *et al* (1990) estudiaron la relación entre la proporción de reactores serológicos, la parasitemia por *A. marginale* y la infestación por *B. microplus* en terneros de dos establecimientos adyacentes, uno de los cuales presentaba infestación por garrapata en la mayoría de los meses del año, mientras que en el otro se observaban infestaciones esporádicamente. La tasa de reactores y la parasitemia no estuvo relacionado con la infestación de *B. microplus*.

El rol de *Boophilus* en la transmisión de la anaplasmosis todavía no ha sido aclarado y es evidente que existen otros medios tan o más importantes razón por la cual la enfermedad se extiende hasta el sur de Entre Ríos (34 °S), Santa Fe (32 °S) y Córdoba (31 °S), donde la garrapata no está presente.

Existen numerosas evidencias experimentales y epidemiológicas que confirman que los dípteros hematófagos son importantes transmisores de la anaplasmosis (Sanborn *et al*, 1930; Stiles, 1946). En los Estados Unidos de América, Howell *et al* (1940) señalaron que siete especies de tábanos fueron capaces de transmitir la anaplasmosis experimentalmente: *Tabanus sulcifrons*, *T. venustus*, *T. equalis*, *T. erythraeus*, *T. americanus*, *T. oklahomensis* y *T. avactor*. Sanders (1933) señaló a *T. fumipennis* como vector y Morris *et al* (1936) transmitió la enfermedad con *T. atratus*.

Howell *et al* (1941) señalaron que se requieren pocas picaduras para lograr la

transmisión si el animal está en faz aguda de la infección, es decir, con alta parasitemia. También observaron que no debían transcurrir más de cinco minutos entre la picadura a un bovino infectado y el susceptible. Más recientemente (Hawkins *et al*, 1982) informaron que *Tabanus* fue capaz de transmitir *A. marginale* hasta dos horas después de haber picado a un animal infectado y sugirieron la posibilidad de que la infección se pueda diseminar a distancias mayores a las consideradas normalmente.

La transmisión por insectos hematófagos se efectúa en forma mecánica, es decir, mediante la transferencia de glóbulos rojos infectados a un animal susceptible. La transferencia debe tener lugar en unos pocos minutos, es decir, mientras la sangre permanece fresca en el aparato bucal del díptero (Ristic, 1968). Las especies más eficientes son *T. abactor* y *T. sulcifrons*, quienes atacan inmediatamente después que se le interrumpe la alimentación (Howell, 1957).

Howell *et al* (1940) fueron los primeros en demostrar la transmisión por mosquitos. Utilizando mosquitos *Psorophora columbia* y *P. ciliata* lograron transmitir la enfermedad. En un segundo experimento donde además utilizaron *Aedes aegypti* también obtuvieron resultado positivo.

Existen otros dípteros que pueden ser considerados como potenciales transmisores en función de su condición de hematófagos, dentro de ellos *Stomoxys sp.* y *Haematobia irritans* (Howell, 1957). Sanders (1933) observó transmisión en animales con *Stomoxys calcitrans*.

La probabilidad de transmisión de la anaplasmosis por dípteros hematófagos, los cuales actúan como simples vectores mecánicos, está influenciada por la proximidad de animales infectados y susceptibles, la población de insectos y la capacidad transmisora del mismo (Ristic, 1968). También debe considerarse que por la escasa cantidad de glóbulos rojos que puede transferir un díptero en su aparato sucto-picador, la proporción de eritrocitos infectados del portador tiene relación con la probabilidad de transmisión.

La importancia del hombre como vehículo de la anaplasmosis fue señalada hace mucho tiempo (Rees, 1930). Este tipo de transmisión es mecánica y se produce durante la realización de tareas donde se utiliza instrumental con el que se puede transferir sangre de un animal infectado a otro susceptible. Existen algunas tareas que por el volumen de sangre presente adquieren relevancia en la transmisión. El descornado (Stiles, 1936, 1946; Hilts, 1938; Moe *et al*, 1940) es una práctica donde se produce abundante pérdida de sangre, lo cual favorece la transmisión. Otros procedimientos importantes son la castración, señalado en las orejas con pinzas y la sujeción de animales mediante el uso de mochetas (Stiles, 1946). La transmisión mediante agujas contaminadas con sangre de animales enfermos o portadores fue demostrada por Rees (1930). Este tipo de transmisión adquiere importancia especialmente en el área endémica dedicada a la cría de bovinos donde las prácticas de vacunaciones o desparasitado se realizan en un elevado número de animales sin que se tome la precaución de desinfectar las agujas entre animales. En tal sentido hemos observado en un establecimiento la aparición de casos 40-60 días después de la vacunación antiaftosa tres años consecutivos.

Otra forma de transmisión de la anaplasmosis es la transplacentaria. Este tipo

de transmisión vertical ha sido observada en varias oportunidades (Zaugg y Kuttler, 1984; Zaugg, 1985; Norton *et al*, 1983). Su implicancia en la epidemiología de la enfermedad todavía no se la conoce con precisión, aunque es probable que sea una forma de transmisión importante (Potgieter y Van Rensburg, 1987).

Swift y Paumer (1976) observaron que *A. marginale* traspasó placenta en 2/5 (40%) de las hembras inoculadas con sangre de un portador en el último trimestre de gestación. Posteriormente, Swift *et al* (1978) inocularon 12 hembras en el segundo trimestre pero todos los terneros nacidos fueron seronegativos, lo cual les hizo suponer que la transmisión no ocurre en todas las etapas de la gestación. Por el contrario, Potgieter y Van Rensburg (1987) observaron que vacas portadoras crónicas o con infecciones primarias durante el 1º, 2º o 3º trimestre de gestación parieron terneros infectados (15,6% de incidencia sobre 77 terneros).

Lo presentado sobre transmisión de la anaplasmosis intenta reflejar que no es acertado considerar a *Boophilus microplus* como el transmisor más importante, por lo menos en la Argentina y prueba de ello es que la enfermedad se extiende mucho más al sur del área infestada. Si bien en un estudio serológico realizado en el noroeste argentino, Habich y col. (1982) observaron una estrecha relación entre la prevalencia de reactores a *B. bovis* y *A. marginale* es muy probable que otros vectores (insectos hematófagos), que tienen una estacionalidad similar a *Boophilus*, estén actuando conjuntamente.

IV. SINDROME CLINICO

Los tres agentes son anemizantes, cursan con hipertermia e ictericia. Por lo general afectan a animales mayores de seis meses de edad, se la observa con mayor frecuencia en animales mayores de un año de edad. La gravedad de la infección aumenta con la edad del animal. Las hembras preñadas abortan frecuentemente.

Babesiosis

El período prepatente (tiempo transcurrido entre la inoculación y observación de parásitos en sangre) para *B. bovis* oscila entre 6 a 15 días luego de la infestación con larvas infectadas de *B. microplus* (Riek, 1966; Mahoney, 1977). Uno de los signos iniciales que se observa en muchos casos de babesiosis es que el animal se aísla del rodeo y busca la sombra. La fiebre aparece temprano y la temperatura suele ser elevada, 41°C o más (especialmente cuando la infección es por *B. bovis*).

Normalmente no se observa hemoglobinuria en infecciones por *B. bovis* y la anemia no es tan marcada. Haciendo un examen más profundo se puede observar ictericia la cual no es muy evidente. *Babesia bovis* se localiza con mayor frecuencia en pequeños capilares de varios órganos, entre otros, cerebro, cerebelo, riñón y músculo cardíaco; donde los eritrocitos infectados se aglomeran y producen un verdadero bloqueo de los mismos (Wright y Goodger, 1988). Es común observar agresividad marcada, ataxia, trastornos del equilibrio e incoordinación (Vanzini, obs. pers.). Generalmente la babesiosis cerebral es irreversible y no responde al tratamiento.

Otros signos son anorexia, depresión, aumento de la frecuencia respiratoria, cese de la rumiación. Los animales en estado avanzado de la enfermedad son muy susceptibles al "stress" y a veces se desploman y mueren mientras se los conduce a corrales o cuando los enlazan en el campo. Los animales adultos gordos son más propensos a morir que los flacos.

En infecciones por *B. bigemina* el período prepatente es de unos 15 días (Guglielmone *et al*, 1981). La hemoglobinuria constituye uno de los rasgos más característicos y en los bovinos enfermos se observa una intensa anemia. La elevación de la temperatura no es tan marcada como en infecciones por *B. bovis* y no se observan síntomas nerviosos.

Aun cuando parezca sencillo diferenciar por medio de la sintomatología una infección por *B. bovis* o *B. bigemina*, la identificación precisa del agente causal se realiza en el laboratorio a través del examen microscópico de extendidos de sangre. En ocasiones las infecciones son mixtas.

Anaplasmosis

El período de incubación dependerá de la cantidad de *Anaplasma* que ingresa al animal, pero siempre es más largo que la babesiosis y oscila entre 3-4 o más semanas (Ristic, 1968). Sanborn *et al* (1932) observó períodos de 30-73 días en transmisiones realizadas con *Tabanus*. La temperatura rectal se eleva más lentamente que en babesiosis, pero suele superar los 40.5°C y la enfermedad clínica es más prolongada y se extiende por un lapso de 10-21 días. La anemia es muy pronunciada y alcanza su máxima expresión entre los 7-10 días de observado *Anaplasma* en extendidos de sangre. Es común observar valores de volumen globular inferiores al 10%. La depresión y anorexia se van intensificando a medida que la enfermedad progresa. En las mucosas se advierte ictericia y palidez intensa después de la etapa aguda. No hay hemoglobinuria pero la orina frecuentemente presenta color marrón, debido a la presencia de pigmentos biliares. La coprostasia es bastante frecuente.

Los animales afectados son a menudo irritables y tienden a atacar. También se observa un marcado desmejoramiento con pérdidas de peso de hasta 50 kg. Las vacas gestantes frecuentemente abortan.

En síntesis, podría definirse a una infección por *B. bovis* a la que cursa con síntomas nerviosos y moderada anemia; una por *B. bigemina* cuando hay hemoglobinuria, intensa anemia sin síntomas nerviosos y por *A. marginale* cuando hay anemia, coprostasia e ictericia sin hemoglobinuria.

V. HALLAZGOS POST-MORTEM

Babesiosis

En casos agudos hay ictericia, el bazo aparece agrandado (esplenomegalia) y de consistencia pulposa, especialmente en infecciones por *B. bovis*. Los riñones aparecen congestivos. Se observan petequias en epi y endocardio. La sangre usualmente es anémica.

Las meninges, cerebro y cerebelo aparecen muy congestionados en infecciones por *B. bovis*, pero no en las de *B. bigemina*. En infecciones por *B. bigemina* lo común es encontrar la vejiga repleta de orina rojo-oscura, por la presencia de hemoglobina; en infecciones por *B. bovis* este último hallazgo no es común de observar.

Anaplasmosis

Los hallazgos más evidentes consisten en adelgazamiento, ictericia y palidez de los tejidos. La sangre presenta un color rojo claro debido a la intensa anemia. El bazo agrandado, aunque no tan blando como ocurre en babesiosis. Hay hepatomegalia y el hígado suele presentar un color anaranjado, la vesícula biliar aparece repleta y la bilis espesa, con grumos. Ocasionalmente, la orina es más oscura debido a los pigmentos biliares. A diferencia de babesiosis no se observa congestión de la masa encefálica ni hemoglobinuria.

VI. DIAGNOSTICO

El examen de extendidos de sangre constituye el método más preciso para el diagnóstico de babesiosis y/o anaplasmosis. Una vez realizado el diagnóstico clínico, el profesional puede tratar a los animales pero debe necesariamente confirmar y determinar por microscopía qué agente (s) está (n) actuando, para luego poder tomar las medidas de control más apropiadas. Se requiere la obtención de sangre periférica para realizar los extendidos, que puede extraerse por punción de la punta de la cola u oreja.

Toma de muestras

Animal vivo	• Extendidos de sangre	Finos Gruesos
Animal muerto	• Extendidos de sangre (cola-oreja-extremidades) • Improntas de: riñón, músculo cardíaco, bazo, hígado, cerebro/cerebelo (materia gris)	Finos Gruesos
Animal en recuperación	• Extendidos de sangre • Suero	Finos Gruesos

En animales en estado de putrefacción a veces se puede extraer una muestra de sangre cortando los músculos flexores o el rodete coronario. En varias oportunidades se logró diagnosticar babesiosis y anaplasmosis a partir de material extraído de los vasos sanguíneos de metatarso y metacarpo, enviados para diagnóstico de carbunco (Vanzini, obs. pers.).

Se puede evitar la apertura de la cabeza para efectuar extendidos de materia gris tomando la muestra a través del agujero occipital (Hadani *et al*, 1982); este método debe ser elegido en las zonas donde está presente la rabia pareasiente.

En infecciones por *A. marginale*, es común que el volumen globular sea inferior al 10% y debido a la escasa cantidad de glóbulos rojos en cada campo microscó-

pico resulta difícil determinar el nivel de parasitemia; resulta útil centrifugar una muestra de sangre y luego extraer una alícuota del paquete globular con una pipeta Pasteur para hacer el frotis.

Interpretación de los resultados

Mediante la observación microscópica (100 x, inmersión) de extendidos de sangre teñidos con colorante de Giemsa, es posible reconocer y diferenciar a los agentes causales de la "Tristeza de los bovinos"; *sin embargo, la sola presencia de los mismos no siempre es indicativo de enfermedad*, porque en los animales portadores crónicos ocasionalmente puede observarse parásitos pero de ninguna manera significa que estén enfermos.

Para realizar un diagnóstico preciso es muy importante que se correlacionen los datos anamnésticos, diagnóstico clínico y los resultados de los análisis hematológicos (volumen globular y extendidos de sangre).

En caso de hallar parásitos en sangre es importante determinar la proporción aproximada de eritrocitos infectados (EI) para asociarlos como causal de enfermedad. El nivel de parasitemia durante la fase clínica de la infección guarda relación con la especie de *Babesia*. En infecciones por *B. bovis*, de gravedad leve a moderada, la parasitemia oscila entre 0,01% a 0,2% y hasta el 1% en el caso de *B. bigemina* (Mahoney, 1977). Para la interpretación de los resultados de la observación de extendidos de sangre se sugiere utilizar el siguiente criterio:

Animal vivo	• <i>B. bovis</i>	Parasitemia superior al 0,2% de EI en frotis finos.
	• <i>B. bigemina</i>	Parasitemia superior al 1% de EI en frotis finos.
	• <i>A. marginale</i>	Parasitemia superior al 3% de EI en frotis finos.
Animal muerto	• <i>B. bovis</i>	Presencia de parásitos en frotis de sangre. Acúmulo de parásitos en capilares de órganos. Frotis corteza cerebro o cerebelo.
	• <i>B. bigemina</i>	Porcentaje superior al 1% de EI en frotis finos.
	• <i>A. marginale</i> ¹	Más del 3% de EI en frotis finos.

¹ En ocasiones puede observarse una parasitemia inferior al 3% por la anemia extrema (hematocrito < 10%). Esto se debe a la destrucción de eritrocitos infectados y no infectados como consecuencia de un fenómeno de autoinmunidad.

Diagnóstico diferencial con otras enfermedades

La infección por *B. bovis* suele ir acompañada de una agresividad inusual en el animal y puede ser confundida con rabia pasesiante. Se aconseja realizar extendidos de materia gris obteniendo material a través del agujero occipital para evitar la apertura de la cabeza.

También se observa confusión en casos de carbunco, porque cuando identifican

a los enfermos mueren pronto o no responden al tratamiento específico. La falta de respuesta terapéutica es frecuente en el caso de babesiosis cerebral. En animales muertos por *B. bovis*, el bazo suele presentar una coloración oscura y aparece reblandecido. En varias oportunidades en el laboratorio se diagnosticó babesiosis a partir de sangre obtenida de capilares de los huesos largos (metatarso o metacarpo) remitidos para diagnóstico de carbunco.

La leptospirosis también provoca hemoglobinuria aunque generalmente va acompañada de abortos en adultos y muertes en terneros. Se la observa con bastante frecuencia en el Noreste Argentino (NEA). La hemoglobinuria bacilar tiene relación con infestaciones por *Fasciola hepática* que pueden generar condiciones favorables para el desarrollo de esta enfermedad.

Botulismo bovino (Mal del Aguapey), enfermedad frecuente en el NEA, caracterizada por debilidad en miembros posteriores y posteriormente parálisis. No se observa hipertermia. En el inicio el cuadro es confundido con anaplasmosis.

La deficiencia de cobre produce anemia, pero no se observa hipertermia ni ictericia. El pelaje aparece despigmentado.

VII. TRATAMIENTO

El éxito en el tratamiento de casos clínicos de babesiosis o anaplasmosis se basa en la rapidez del diagnóstico e inmediata administración de un tratamiento específico para controlar la multiplicación de los agentes. Es importante tener presente que bajo condiciones de producción extensiva es preciso que toda la medicación que se desee aplicar se administre en una sola oportunidad porque la excitación que se produce al sujetar a los animales puede provocarle una crisis cardíaca y la muerte del mismo; en consecuencia, debe evitarse el traslado a corrales para el tratamiento o encerrarlo al día siguiente para administrar más medicamentos.

Babesiosis

Un elevado número de compuestos químicos fueron utilizados para el tratamiento de la babesiosis, con variado suceso, dependiendo de la especie de *Babesia* y la tolerancia del animal.

Además de un compuesto babesicida siempre debe considerarse la posibilidad de administrar un tratamiento de apoyo, incluyendo vitaminas del complejo B y hierro, para estimular a la hematopoyesis.

La transfusión de sangre es de utilidad para mejorar rápidamente la oxigenación de los tejidos a través de una inmediata reposición de eritrocitos funcionales, pero es una técnica limitada a unos pocos animales y de difícil ejecución bajo condiciones de campo, en consecuencia se justifica sólo en animales de alta calidad y/o productividad. En animales de difícil manejo no es aconsejable porque la excitación que se produce al sujetarlo lo puede conducir a la muerte del mismo.

La sangre a transfundir debe obtenerse de animales sanos para evitar la transmisión de enfermedades y debe recogerse en recipientes estériles con citrato de sodio

como anticoagulante o solución ACD (ácido cítrico, citrato de sodio y dextrosa), que permite preservarla por varios días en heladera a 2-8 °C. En casos severos se han obtenido buenos resultados administrando 1 litro de sangre cada 50 kg de peso, hasta un máximo de 8 litros, además del tratamiento específico (O'Neil, 1979).

Si el tratamiento específico es administrado en la fase inicial de la enfermedad, como regla general, la mayoría de los animales se recuperan, pero si el animal presenta síntomas nerviosos (*B. bovis*), generalmente es refractario al tratamiento. Si los animales son difíciles de manejar por su temperamento, es conveniente que se realice un tratamiento con productos muy activos y dosis elevadas porque en algunas ocasiones la excitación que produce el enlazado o tránsito a la manga le producen un shock que lleva a la muerte.

El tratamiento específico de la babesiosis está generalmente dirigido a moderar los síntomas clínicos: fiebre, hemoglobinuria y anemia asociado con alta parasitemia. Algunos componentes son tan efectivos y específicos que una sola dosis puede eliminar totalmente al agente causal, pero la esterilización del animal puede ser indeseable. Callow *et al* (1974a) esterilizaron animales con infectados con *B. bovis* y observaron diferencias en la inmunidad estéril en función del tiempo de duración de la infección. Si el tratamiento elimina la infección en el curso inicial la inmunidad estéril es menos intensa. Después de la esterilización el animal va perdiendo la inmunidad y se vuelve susceptible progresivamente. El tratamiento debe estar dirigido a controlar la infección, permitir la supervivencia de unos pocos parásitos y establecer una infección crónica (Mahoney, 1977).

Existen varios compuestos químicos para el tratamiento de la babesiosis, pero en nuestro país actualmente hay sólo dos compuestos disponibles en el mercado: diminazene e imidocarbo.

El diminazene (4,4' diamidinodiazaminobenceno diaceturato) integra el grupo de compuestos conocidos como diamidinas. Este grupo también tiene acción sobre tripanosomas. Actúa directamente sobre el ácido nucleico al cual le distorsiona la estructura helicoidal (Aliu, 1983).

La dosis indicada es de 3-3,5 mg/kg de peso vía intramuscular. Sobre *B. bigemina* es muy activa aun en dosis menores de 1 mg/kg (FAO, 1988). Ocasionalmente puede esterilizar infecciones por *B. bigemina* a la dosis indicada de 3,5 mg/kg, pero esta acción no es constante aun en dosis de 5 mg/kg de peso (Uilemberg, 1970).

La actividad sobre *B. bovis* es menor pero la dosis de 3,5 mg/kg de peso cura cerca del 90% de los casos.

Según las experiencias recopiladas en el laboratorio de sanidad animal de INTA Mercedes, en bovinos bajo condiciones de producción extensiva es aconsejable administrar 5 mg/kg de peso en una sola oportunidad, porque es muy difícil localizar al animal para administrar una segunda dosis. El margen terapéutico de esta droga es muy amplio y es bien tolerado por el bovino a la dosis de 20 mg/kg sin efectos colaterales (Denning, 1974).

El imidocarbo (3,3' bis [2-imidazolin-2-L] carbanilida) es uno de los productos más recientes y ha demostrado ser muy efectivo contra *Babesia sp*, tanto como agente terapéutico o profiláctico. El modo de acción no está debidamente aclara-

do, pero se sabe que actúa directamente sobre el parásito, produciendo una vacuolización del citoplasma y cariorrexis en el núcleo (Aliu, 1983).

En nuestro país se comercializa como sal de dipropionato al 12% y la dosis recomendada es de 1,2 mg/kg de peso. Al igual que el diminazene esta droga es más activa contra *B. bigemina* que contra *B. bovis*. Se ha observado que puede esterilizar infecciones de *B. bigemina* a la dosis de 0,6 mg/kg y *B. bovis* a 2 mg/kg (Callow y McGregor, 1970).

Administrado juntamente con una cepa vacunal de *B. bovis* es capaz de controlar la infección con una dosis de 0,15 mg/kg y esterilizarla con 0,3 mg/kg (Taylor y McHardy, 1979). Inoculado junto a una cepa atenuada de *B. bigemina* se logró el control con 0,025 mg/kg y la esterilización con 0,05 mg/kg (FAO, 1988).

Utilizado a las dosis indicadas por vía intramuscular o subcutánea es bien tolerado por el bovino. Se han observado signos de toxicidad a partir de 3-5 mg/kg de peso. Las reacciones más comunes son salivación, lagrimeo, descarga nasal serosa y diarrea. Estas reacciones colaterales pueden ser evitadas administrando atropina.

El imidocarbo no es metabolizado por el organismo y su eliminación es muy lenta, por lo tanto los residuos permanecen en los tejidos por mucho tiempo. Para el ganado de carne se debe evitar faenar los animales antes de transcurridas 4 semanas postratamiento. Tampoco debe ser utilizado en ganado lechero cuya producción esté destinada a la industrialización o consumo humano porque se elimina por leche (FAO, 1988).

Resumiendo, el diminazene tiene rápida y efectiva acción contra *B. bigemina* y adecuada actividad contra *B. bovis* a la dosis normal. Ocasionalmente puede esterilizar *B. bigemina* en algún animal a la dosis indicada de 3,5 mg/kg. Bajo condiciones de producción extensiva es recomendable utilizar una dosis única de 5 mg/kg por razones de manejo de los animales. El imidocarbo es muy activo contra las dos babesias que afectan al bovino y utilizado en la forma indicada no presenta signos de toxicidad. Siempre debe considerarse la posibilidad de esterilización de la infección por *Babesia*, lo cual en ocasiones puede ser indeseable. Su utilización presenta restricciones desde el punto de vista de la salud pública por la persistencia de residuos en los tejidos.

Tetraciclinas. Jansen (1953) sugirió que las tetraciclinas tenían efecto en el tratamiento de la babesiosis equina por *B. equi*. En nuestro país, Ibáñez *et al* (1978) lograron la remisión de síntomas en casos clínicos de babesiosis, en equinos con oxitetraciclina, aunque no aclararon la especie de *Babesia* involucrada. Kuttler (1981) observó que terneros que ingirieron clortetraciclina (11 mg/kg/día) fueron refractarios a la infección por inoculación de *B. bigemina*; sin embargo, no fue efectiva para el tratamiento de babesiosis aguda. Similares observaciones sobre inhibición del desarrollo utilizando oxitetraciclina de acción prolongada (LA) fueron observadas en *B. divergens* (Taylor *et al*, 1986) y *B. bovis* (Purnell y Van der Merwe, 1983; Pipano *et al*, 1985a-b; 1987; Vanzini *et al*, 1988). Si bien las tetraciclinas inhiben el desarrollo de *B. bovis* y *B. bigemina*, en ningún caso reemplazan a los tratamientos específicos citados más arriba.

Anaplasmosis

Por muchos años las tetraciclinas fueron el único tratamiento efectivo contra *A.*

marginale, pero hace unos años también se ha sumado el imidocarbo.

Simpson (1975) observó que la oxitetraciclina altera la membrana que rodea a los corpúsculos iniciales de *A. marginale* y aglutina las nucleoproteínas. Se sugiere que estas alteraciones se deben a la acción inhibitoria de la síntesis de proteínas.

Al igual que en babesiosis, los tratamientos de apoyo son importantes para obtener una recuperación más o menos rápida del animal, pero se insiste en la necesidad de realizarlos en el momento de administrar la medicación específica cuando se trabaja con ganado de carne bajo condiciones extensivas. En muchos casos y debido a la intensa anemia se debe considerar la posibilidad de realizar una transfusión de sangre, aunque esta medida está limitada a animales de valor por la dificultad de ejecución.

La dosis indicada de oxitetraciclina es de 10-15 mg/kg 1 a 3 días cuando se utiliza la formulación simple (5%, 10%). El desarrollo de la formulación de acción prolongada (LA) introdujo un cambio en el enfoque terapéutico de las enfermedades, entre ellas la anaplasmosis. La oxitetraciclina de larga acción contiene un vehículo orgánico (2-pirrolidona), que retarda la liberación del antibiótico. La presentación LA ofrece una ventaja apreciable frente a las soluciones simples porque permite administrar toda la droga en una sola inoculación, lo cual facilita el manejo, especialmente en bovinos de carne mantenidos bajo condiciones extensivas, los cuales por el sistema de producción son más irritables.

Magonigle *et al* (1978) y Wilson *et al* (1979) indicaron que una dosis de 20 mg/kg IM de oxitetraciclina LA (20%) equivale a 2 dosis de 10 mg/kg y Kuttler y Simpson (1978) sostienen que corresponde a 3 dosis de 10 mg/kg.

Existen restricciones en el uso de la oxitetraciclina en animales de carne, los cuales no deben faenarse para consumo humano hasta transcurridos 10 días, cuando son tratados con soluciones al 5%, 14 días con soluciones al 10% y 28 días si se utilizó la presentación de acción prolongada. No debe destinarse a consumo humano la leche de los 3 días posteriores al tratamiento con soluciones de oxitetraciclina al 5% y 10%. Si se utiliza la presentación de acción prolongada debe descartarse la leche los 5 días posteriores al tratamiento.

El imidocarbo es otro fármaco de utilidad para el tratamiento de la anaplasmosis. Dosis de 2,5 mg/kg (Roby, 1972) a 3,5 mg/kg (Wilson *et al*, 1979) resultaron eficaces para el control de la infección en terneros esplenectomizados y vacas, respectivamente. Cuando se lo administra durante el período prepatente no evita el establecimiento de la infección (Roby, 1973).

De la presentación al 12% de la sal dipropionato presente en el mercado de nuestro país, se indica una dosis de 3 mg/kg de peso. Las restricciones de uso y toxicidad ya fueron citadas precedentemente. Cuando se decide la utilización de esta droga para el tratamiento combinado de babesiosis y anaplasmosis debe tenerse presente que a la dosificación indicada de 3 mg/kg se esterilizan las infecciones por *B. bovis* y *B. bigemina*.

Esterilización de portadores. Los bovinos que superan la enfermedad permanecen como portadores por mucho tiempo y constituyen verdaderos reservorios de la enfermedad.

La esterilización de *A. marginale* en bovinos de la zona enzoótica generalmente no es deseable, porque la permanencia del microorganismo en el animal garantiza la persistencia de la inmunidad por largos períodos, pero cuando aparecen casos clínicos en un área donde la ocurrencia era desconocida siempre debe considerarse la posibilidad de erradicarla.

La primera medida antes de iniciar la erradicación es obtener información acabada de la prevalencia serológica del rodeo afectado y de establecimientos vecinos. Los datos obtenidos permitirán conocer si hubo anaplasmosis, la cual pudo haber pasado desapercibida por no manifestarse clínicamente, y la proporción de animales infectados.

Otra medida es analizar las posibles causas que ocasionaron la introducción de *A. marginale* para prevenirla en el futuro.

Una vez que se conoce que no existe la enfermedad en la zona y que se puede evitar la introducción, se puede decidir sobre la conveniencia de erradicarla.

Cuando no es posible eliminar los portadores, que resultaría una medida simple, se puede indicar la esterilización mediante el uso de fármacos. La oxitetraciclina de acción prolongada (oxitetraciclina LA), administrada a razón de tres dosis con 3-4 días de intervalo de 20 mg/kg de peso/IM resulta eficaz para lograr la esterilización de *A. marginale* (Magonigle y Newby, 1982; Swift y Thomas, 1983; Newby, 1983). Roby *et al* (1978) obtuvieron el mismo resultado aplicando 2, 3 ó 4 dosis de 20 mg/kg con 7 días de intervalo.

En nuestro país, Anziani y Abdala (1986) eliminaron la infección en vacas con 2 dosis separadas por 7 días.

También se puede esterilizar una infección por *A. marginale* con imidocarbo administrando 2 dosis de 5 mg/kg de peso con 14 días de intervalo (Roby y Mazzola, 1972).

VIII. EPIDEMIOLOGIA

En áreas enzoóticas bajo condiciones ideales la sola presencia de *Boophilus-Babesia*-Bovino, conduce a una situación de equilibrio, de manera tal que prácticamente no ocurren brotes de la enfermedad en los animales nativos. La interrelación entre los integrantes del sistema es compleja y con relativa facilidad puede alterarse este equilibrio.

Babesia es el componente más frágil del sistema porque depende de *Boophilus* y del bovino para mantenerse en el ambiente; en segundo lugar, está la garrapata que depende del bovino para su propagación (Guglielmone, 1991).

El hombre no está exento de responsabilidades en la ruptura del equilibrio enzoótico porque con la intención permanente de incrementar la productividad, suele aplicar medidas de manejo que contribuyen a incrementar aun más el desequilibrio.

Factores que condicionan la transmisión de Babesia

La transmisión de *B. bovis* y *B. bigemina* por la garrapata *Boophilus microplus* está influenciada por numerosos factores. Las alteraciones que puede sufrir el

ciclo de transmisión condicionan la epidemiología de la enfermedad y guarda relación con la aparición de brotes de la enfermedad.

Algunos de los factores serán analizados a continuación.

a) *infección del huésped vertebrado*

La persistencia y la probabilidad de infección de los bovinos pueden influir en la transmisión de *Babesia*. Los animales que logran recuperarse de una infección primaria adquieren inmunidad contra la enfermedad, pero sufren un número variable de recrudescencias con niveles de parasitemia detectables por microscopía. Aparentemente *B. bigemina* es más rápidamente controlada por el sistema inmunitario que *B. bovis*. El huésped elimina la infección de *B. bigemina* aproximadamente a los doce meses y la de *B. bovis* a los dos o más años (Mahoney, 1969). El estado de portador en los bovinos en el área enzoótica persiste debido a las múltiples inoculaciones que reciben a través de la picadura de garrapatas.

En animales de 6-24 meses de edad criados en zonas enzoóticas, la presencia de parásitos en sangre es casi continua (Mahoney, 1962; Mahoney y Ross, 1972). Esta condición se debería a que los animales están expuestos a cepas antigénicamente diferentes de *Babesia* las cuales inducirían pequeños picos de parasitemia sin provocar síntomas clínicos (Callow, 1964; Curnow, 1973a, b; Mahoney, 1962, 1977).

En nuestro país, Aguirre *et al* (1990) estudiaron la infección natural por *B. bovis* y *B. bigemina* en tres razas diferentes y observaron que los bovinos Nelore (*Bos indicus*) mostraron un menor grado de extendidos de sangre positivos antes y después del destete comparado con bovinos Hereford y Criolla (*Bos taurus*). Los autores sugieren que esto estaría relacionado con la resistencia del ganado *Bos indicus* a la parasitación por *B. microplus*.

b) *temperatura*

Es un elemento importante y puede alterar el ciclo de desarrollo de *Babesia* y su posterior transmisión, tal como lo sugieren numerosos ensayos de laboratorio. Riek (1964, 1966) observó que temperaturas inferiores a 20°C inhiben completamente la infección alimentaria y la transmisión transovarial de *B. bigemina* y *B. bovis* por *B. microplus*. En cambio, fueron capaces de sobrevivir en huevos infectados mantenidos a 20°C y en larvas a 5°C, las cuales transmitieron la infección al huésped vertebrado.

En larvas de *Boophilus microplus* no alimentadas mantenidas a 14°C durante tres a cinco semanas y luego expuestas a 37°C, se observó un incremento de infectividad por *B. bovis* y en menor medida, con *B. bigemina* (Dalglish y Stewart, 1976, 1979, 1982). La infección en larvas infectadas con *B. bovis*, mantenidas a 27°C fue más baja que en las almacenadas a 14°C (Friedhoff, 1988). Si bien luego de la exposición a 37°C por 2-3 días larvas no alimentadas pasan a ser infectivas, parece que el shock térmico sólo no es tan efectivo como combinado con la alimentación (Dalglish y Stewart, 1982).

c) *cepa de garrapata*

Riek (1964, 1966), mediante la observación de la presencia de vermículos en

hemolinfa, observó diferente susceptibilidad a la infección con *B. bigemina* y *B. bovis* en tres "cepas" de *B. microplus*. Otra observación relevante fue que la "cepa" más sensible a *B. bigemina* también lo era a *B. bovis*.

d) *poder patógeno de Babesia para la garrapata*

En ensayos bajo condiciones de laboratorio se ha observado que elevadas concentraciones de parásitos en la sangre del portador son perjudiciales para la supervivencia de la garrapata. Riek (1964, 1966) observó que cuando *B. microplus* ingirió sangre con una parasitemia superior al 5% con *B. bovis* y 20% con *B. bigemina*, un alto porcentaje de teleoginas morían y la hemolinfa adquiría un color rojizo debido a la perforación del intestino por los parásitos. Guglielmone *et al* (1985) observó un 70% de mortalidad de hembras de *B. microplus* desprendidas de un bovino con 3,5% de parasitemia por *B. bigemina* y 1,5% de *B. bovis*. Los resultados obtenidos por Guglielmone *et al* (1989) en infecciones naturales no son coincidentes con los hallazgos bajo condiciones de laboratorio porque en esta oportunidad no observaron efectos deletéreos para la garrapata aun en infecciones severas (21 a 110 kinetos por campo microscópico de hemolinfa). Los autores sugieren una tolerancia adaptativa entre *Boophilus* y *Babesia* bajo condiciones de campo adquirida a lo largo de muchas generaciones. Esta condición se perdería cuando la cepa de garrapata es mantenida libre de infección bajo condiciones de laboratorio y quizás los altos porcentajes de mortalidad observados en varios ensayos con cepas de laboratorio en la naturaleza no ocurran.

e) *edad de la larva*

Dalgliesh y Stewart (1979) observaron que *B. bovis* es viable en larvas de *B. microplus* durante 65 días a 14°C y 95% de humedad relativa ambiente, pero no por 76 días. Esto indicaría que bajo ciertas condiciones climáticas las larvas de *B. microplus*, aun cuando puedan sobrevivir, son capaces de perder la infección por *Babesia* después de cierto tiempo.

f) *inmunidad*

Callow y Stewart (1978) estudiaron el grado de infestación y producción de garrapatas *B. microplus* adultas en bovinos infectados o no con *B. bovis*. Los animales infectados produjeron mayor cantidad de garrapatas que los no infectados. Los autores sugieren que este fenómeno está asociado a una inmunosupresión producida por *B. bovis* que disminuye la inmunidad contra la infestación por *B. microplus*. Annable y Ward (1974) observaron una disminución del nivel de complemento sérico en ratas infectadas con *B. rodhaini*. Además, demostraron la presencia de depósitos de IgG y la tercera fracción del complemento en el glomérulo renal de los animales infectados. Goodger *et al* (1981) también observaron una disminución del C3, opsoninas y congulinas en una infección aguda por *B. bovis*.

Hay evidencias de que altas infestaciones por *Boophilus microplus* o la inoculación de extracto de glándulas salivales de esta garrapata, pueden producir recrudescencias de infecciones por *B. bigemina* (Hoffman *et al*, 1971).

g) *razas*

Mientras la utilización de razas resistentes ofrece una atractiva posibilidad

para el control biológico de la garrapata en áreas enzoóticas, emergen muchas preguntas respecto de la relación *B. microplus-Babesia sp.* La introducción de sangre Brahman (*Bos indicus*) en rodeos *Bos taurus* produce una significativa reducción del nivel de parasitemia por *Babesia* comparado con rodeos de razas británicas (Aguirre *et al*, 1990). *Bos indicus* son más resistentes que *Bos taurus* a la infección por *B. bovis* (Johnston, 1967; Aguirre *et al*, 1990) y la frecuencia de las recrudescencias de la parasitemia durante la faz crónica de la infección es menor (Mahoney, 1977).

Por otra parte, *Bos indicus* y sus cruzas también es más resistente a la infestación por *Boophilus* (Mangold *et al*, 1986; Guglielmone *et al*, 1990). Estudios realizados con la raza Criolla (*Bos taurus*), Hereford (*Bos taurus*) y Nelore (*Bos indicus*) mostraron que el 28%, 23% y 8% respectivamente, de las teleoginas obtenidas estaban infectadas con *Babesia* (Guglielmone *et al*, 1989). Todos estos factores hacen que el número de garrapatas infectadas y la probabilidad de infección en ganado *Bos indicus* sea menor que en ganado *Bos taurus*, lo cual puede llevar, en algunos casos, a un desequilibrio enzoótico.

h) *resistencia del bovino a la infestación por garrapata*

Sutherst y Utech (1981) observaron que entre el 74% y 90% de las larvas de *B. microplus* que suben a un bovino susceptible no completan su ciclo parasitario. En el ganado resistente estos porcentajes son aun más altos y alcanzan el 94-99%.

El desarrollo de resistencia a la infestación por garrapatas es un fenómeno conocido (Hewetson, 1968; Willadsen, 1980). Los bovinos adquieren inmunidad parcial contra la garrapata a través de una exposición natural prolongada. Este fenómeno motivó a muchos investigadores a trabajar en busca de una vacuna contra *Boophilus microplus* (Agbede y Kamp, 1986; Johnston *et al*, 1986; Willadsen *et al*, 1989).

Estabilidad e inestabilidad enzoótica

En función de la frecuencia con que se observan casos clínicos en área enzoótica, es posible dividirla en dos entidades epidemiológicas diferentes:

1. **Area enzoótica estable.** Caracterizada por la presencia de un número suficiente de garrapatas que transmiten la infección a la mayoría de los bovinos a edad temprana (ej., antes del año de edad), cuando todavía son relativamente resistentes. En este caso la prevalencia de infección por *Babesia* en los animales es elevada y sólo se observan casos clínicos aislados.
2. **Area enzoótica inestable o marginal.** Caracterizada por variaciones en la población de garrapatas entre años o estaciones que trae como consecuencia que una elevada proporción de animales no se infecte durante el período de mayor resistencia y lo hace cuando son adultos. En este caso la probabilidad de aparición de brotes es elevada.

La inestabilidad puede deberse a causas naturales como por ejemplo la situación que se observa en los "campos de malezal" en Corrientes los cuales presentan dificultad de drenaje y campos bajos en Chaco que se inundan con frecuencia. En

años con muchas precipitaciones se inundan y la garrapata tiende a desaparecer. En años menos lluviosos, cuando no se inundan la población de garrapatas, aumenta drásticamente con la consecuente aparición de brotes de babesiosis.

Otro ejemplo de inestabilidad, pero generado por el hombre, es lo que ocurre en los campos en los que se cultiva arroz. Luego de unos años de cultivo se los deja en reposo para la recuperación del suelo y se los destina nuevamente a la ganadería. El reingreso de la garrapata generalmente va acompañado de brotes de babesiosis. Este tipo de manejo adquiere relevancia en la zona endémica debido al incremento del área sembrada en Corrientes y más recientemente en Formosa.

También se pueden crear zonas marginales reduciendo la población de garrapatas con acaricidas a niveles bajos durante meses o años. Si se abandona o reduce el control y se deja que vuelva a niveles anteriores es probable que se observen brotes de babesiosis. Esta situación es similar a la que ocurre cuando se reinfestan zonas liberadas de garrapatas por algún accidente durante campañas de erradicación.

Modelo epidemiológico para babesiosis

El objetivo de un modelo epidemiológico es hacer predicciones sobre la incidencia o prevalencia de una enfermedad, a partir de la simulación de distintas situaciones biológicas. Para arribar a esta instancia se requieren vastos conocimientos epidemiológicos descriptivos de la enfermedad en cuestión.

El acúmulo de conocimientos sobre la interacción entre *Boophilus*-bovino-*Babesia* (Mahoney, 1962, 1969; Mahoney y Ross, 1972) permitió el desarrollo de un modelo epidemiológico para babesiosis a partir del desarrollado por McDonald (1950a,b) para malaria, el cual parte de la asunción de que en una situación de enfermedad endémica el riesgo es constante durante un período limitado.

Un importante concepto epidemiológico es la tasa de inoculación (h). La misma puede ser definida como la probabilidad diaria que tiene un animal de infectarse con *Babesia* (Mahoney y Ross, 1972). El conocimiento de este parámetro es esencial para la evaluación del status epidemiológico del rodeo y predecir la probabilidad de ocurrencia de brotes.

La tasa de inoculación (h) es el producto del promedio de picaduras por día que recibe el animal, la proporción de larvas infectadas y la proporción de picaduras que logran infectar al animal.

$$h = (m) (a) (b) \quad \text{donde:}$$

m = número de picaduras que recibe el animal por día;

a = la proporción de garrapatas infectadas con *Babesia*;

b = el número de picaduras necesarias para infectar al huésped.

Los valores críticos de estas mediciones son el número de garrapatas sobre el animal y la proporción de garrapatas infectadas. (b) representa la habilidad para transmitir *Babesia* y este parámetro puede ser influenciado por la resistencia del hospedador. En *Bos taurus* es igual a 1; por lo tanto $h = (m) (a)$.

En el modelo desarrollado por Mahoney y Ross (1972) también se prevé el cálculo de la tasa de infección en el bovino por medio de pruebas serológicas.

Como la prevalencia de reactores es acumulativa a través del tiempo, la proporción de animales infectados puede ser expresada como una función exponencial:

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

I = proporción de animales infectados;

h = tasa de inoculación;

t = edad promedio en días;

e = base de ln (2.7182818).

Sustituyendo los términos en la ecuación anterior se puede calcular (h), conociendo la prevalencia serológica (I), utilizando la siguiente fórmula:

$$h = \frac{-\ln(1-I)}{t}$$

También podría calcularse (a) y (m):

$$a = \frac{\ln(1-I)}{t \cdot m} \quad m = \frac{h}{a}$$

La determinación de (a) por cálculo no parece adecuado según puede observarse en la información presentada por Mahoney *et al* (1981) ya que no siempre existe concordancia entre lo calculado y lo observado, pero, por otra parte, la medición directa es una técnica tediosa y poco práctica si se observan los resultados obtenidos por Mahoney y Mirre (1971), quienes hallaron sólo el 0,04% de larvas infectadas con *B. bovis* y el 0,23% con *B. bigemina*.

Para tener precisión, las mediciones deberían realizarse en varias oportunidades debido a fluctuaciones estacionales en la población de garrapatas; otra razón sería la variación térmica estacional que, según trabajos de Dalglish y Stewart (1982), afecta la tasa de infección de larvas.

Descartada la posibilidad de determinar (a) en forma directa, una forma más apropiada es medir la proporción de animales infectados (I) a través de la observación directa de parásitos en sangre tal como lo sugirió Mahoney (1962, 1969) y Mahoney y Ross (1972).

Este método presenta la misma restricción que la observación de parásitos en larvas respecto de su laboriosidad, especialmente cuando la proporción de bovinos infectados es baja. Por otra parte, Mahoney y Ross (1972) sugieren la posibilidad de subestimar la tasa de infección real en infestaciones de garrapata leves.

Otra forma de averiguar (I) es determinando la prevalencia serológica en los bovinos mediante técnicas inmunológicas, obviamente esta metodología tiene una clara ventaja respecto de la simplicidad de ejecución comparado con la observación directa de extendidos. Es muy importante que el test serológico que se utilice sea capaz de distinguir entre especies de *Babesia*.

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es una prueba adecuada, aunque los antígenos y sueros controles deben estar estandarizados. Para *B. bovis* se considera adecuado utilizar como dilución predeterminada 1:40 ó 1:60. Respecto de *B. bigemina* es conveniente utilizar una dilución superior (1:80 ó 1:100) porque suelen observarse con frecuencia reacciones positivas entre este antígeno y el suero anti-*B. bovis*.

Es probable que a corto plazo el test de ELISA que ya está estandarizado para *B. bovis* (T. de Echaide, S. com. pers.) reemplace a la IFI. Los test serológicos deben realizarse en bovinos mayores 3-4 meses de edad, cuando los anticuerpos calostrales han desaparecido (Mahoney y Ross, 1972).

Interpretación de los resultados serológicos

Con la proporción de reactores serológicos y la edad promedio de los bovinos se puede calcular (h) utilizando la fórmula:

$$h = \frac{-\ln(1-l)}{t}$$

Los valores de (h) obtenidos permitirán clasificar a los rodeos en tres categorías, de acuerdo al grado de riesgo de ocurrencia de brotes de babesiosis:

- a) **estabilidad enzoótica.** Cuando la tasa de inoculación es de 0,005 o superior. Significa que el 75% o más del rodeo se infectará antes de los nueve meses de edad y aproximadamente el 85% o más antes del año. Estas infecciones son generalmente subclínicas e inducen inmunidad duradera que se va renovando con nuevas picaduras infectantes. De esta manera, sólo una pequeña proporción de animales se infectará a una edad más avanzada y es poco probable que se observen brotes.
- b) **inestabilidad de bajo riesgo.** Si la tasa de inoculación es menor de 0,0005 la probabilidad de aparición de brotes es baja, al menos que aumente la población de vectores. En estos casos la infección por *Babesia* puede prácticamente desaparecer. En rodeos grandes aunque la proporción de casos sea muy baja, puede ocurrir que el número justifique desde el punto de vista económico la implementación de medidas preventivas como ser la vacunación de la reposición antes del año de edad (Mahoney y Ross, 1972).
- c) **inestabilidad con riesgo alto.** Con tasas de inoculación entre 0,0005 y 0,005 la probabilidad de aparición de brotes es elevada. En este caso a los nueve meses de edad tendremos un porcentaje de bovinos infectados que variará entre el 12% y 75% y una elevada proporción de animales quedarán expuestos a contraer la infección cuya severidad se irá incrementando con la edad de los animales. En estas condiciones está plenamente justificado el control de la enfermedad y la vacunación es una alternativa simple que da buenos resultados.

Conociendo la tasa de inoculación (h) es posible transformarla en número de picaduras por día que recibe el animal.

Número de picaduras	T. Inoc. (h)	Porcentaje de infección a distintas edades (meses)							
		3	6	9	12	18	24	36	48
1 c/4 días	0.0001	0.9	1.8	2.7	3.5	5.5	7.5	11.4	15.5
1 por día	0.0004	3.5	6.9	10.2	13.4	19.4	25.0	35.1	43.8
5 por día	0.002	16.4	30.2	41.7	51.1	66.0	76.3	88.4	94.3
10 por día	0.004	30.2	51.3	66.0	76.3	88.5	94.3	98.7	99.7
12 por día	0.0048	35.1	57.8	72.6	82.2	92.5	96.8	99.4	99.9
15 por día	0.006	41.7	66.0	80.2	88.5	96.1	98.7	99.8	100
20 por día	0.008	51.3	76.3	88.4	94.3	98.6	99.6	100	100
25 por día	0.01	59.3	83.4	93.2	97.2	99.5	100	100	100

Adaptación de Mahoney y Ross, 1972.

* Asumiendo una proporción de larvas infectadas de 0.0004 y la infección producida por la picadura de una larva infectada.

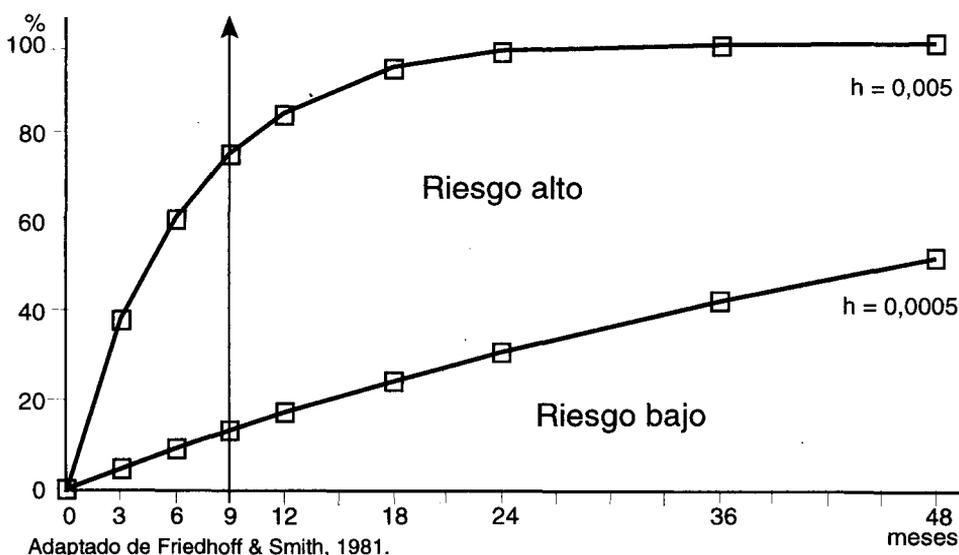
Epidemiología de la anaplasmosis

Los conceptos de estabilidad e inestabilidad enzoóticas analizados anteriormente se basaron exclusivamente en babesiosis, en cuya transmisión interviene la garrapata *Boophilus microplus*.

En el caso de anaplasmosis no interviene la garrapata *B. microplus* o su importancia es ínfima, pero no existen restricciones para utilizar el parámetro epidemiológico "tasa de inoculación" para determinar el riesgo de brote de la enfermedad.

En este caso se parte del criterio adoptado para malaria por McDonald (1950a), quien definió la tasa de inoculación como la proporción de la población humana que

Gráfico 1
Efecto de la tasa de inoculación (h) sobre la prevalencia de *Babesia bovis*



recibió un inóculo infectivo en una unidad de tiempo determinada. En consecuencia, puede estimarse el riesgo de ocurrencia de la enfermedad calculando (h) a partir de la prevalencia de la infección. En tal sentido existen experiencias realizadas en el exterior (Teclaw *et al*, 1985) y otras realizadas en el país (Habich *et al*, 1982) y las que se están llevando a cabo en esta estación experimental (Vanzini, 1992).

Para determinar la proporción de reactores serológicos la prueba de aglutinación en placa resulta un instrumento adecuado (Teclaw *et al*, 1985). Se considera oportuno remarcar sobre la precaución respecto del origen del antígeno, los sueros controles positivo y negativo y el factor bovino, para no alterar la sensibilidad y especificidad de la prueba.

Aplicación de principios epidemiológicos en el control de babesiosis y anaplasmosis

En lugares donde se producen cambios en la población de vectores eventualmente puede producirse inestabilidad enzoótica. La aplicación de medidas de control para prevenir la ocurrencia de babesiosis y/o anaplasmosis debe estar sustentada por un estudio del status epidemiológico en la población de animales susceptibles.

Si bien se dispone de quimioterápicos de reconocida eficacia para el tratamiento de babesiosis y/o anaplasmosis los mejores resultados se obtienen cuando el animal enfermo es medicado en la faz inicial del proceso, aunque esto no evita que pierda una considerable cantidad de kilos, que según observaciones realizadas en casos de babesiosis alcanza hasta un 12% del peso del animal (Vanzini, obs. pers.). La prevención es un medio eficaz para reducir la incidencia de estas dos enfermedades.

Con la erradicación de la garrapata se lograría eliminar la babesiosis pero no la anaplasmosis. Hasta el presente sólo un país, Estados Unidos de Norteamérica, ha logrado erradicar la garrapata (*B. annulatus*), lo cual muestra el grado de dificultad para alcanzar esta meta. Existen otros antecedentes, pero son islas de escasa superficie.

El control de la garrapata mediante el uso de productos químicos y/o la incorporación de razas resistentes permite reducir la población hasta niveles en los que no produce mayores pérdidas económicas, pero esta situación lleva al rodeo a la inestabilidad enzoótica y la prevención por vacunación constituye la alternativa de elección. El control y/o erradicación de los vectores de la anaplasmosis es imposible con las técnicas actuales.

El uso de vacunas como medida preventiva es una herramienta de mucha utilidad; sin embargo, antes de iniciar un programa de control mediante la inmunización de los animales susceptibles conviene que se evalúe la incidencia mediante la comprobación de los agentes causales en extendidos de sangre en animales enfermos. También es importante que se determine la importancia económica de la enfermedad en el establecimiento, así como la prevalencia serológica en animales jóvenes, entre los 6-10 meses de edad.

Una vez que se conoce la prevalencia serológica puede determinarse el grado de riesgo de aparición de brotes y en función de esto implementar un plan de prevención. Una sola dosis de vacuna a todos los animales antes de los 12 meses de edad permite inducir inmunidad específica persistente (Mahoney y Ross, 1972; Mahoney, 1977; Vanzini *et al*, 1993). En situaciones de alto riesgo los animales jóvenes pueden ser

vacunados cuando la inmunidad pasiva todavía está presente (hasta los 3-4 meses de edad) para evitar pérdidas económicas. La inmunidad pasiva (anticuerpos colostrales) no interfiere en la inmunización con vacunas vivas (Mahoney, 1977).

IX. METODOS DE CONTROL

Estas dos enfermedades pueden ser controladas mediante el tratamiento específico de los animales enfermos o evitar durante períodos limitados la aparición de síntomas clínicos en animales susceptibles mediante quimioprofilaxis. La vacunación ofrece la posibilidad de inducir inmunidad específica duradera. La erradicación de los vectores es sólo practicable para la babesiosis.

A continuación se describen brevemente algunos de los métodos disponibles.

- a) **Quimioterapia.** Debe ser considerada más bien como un método de emergencia cuando no se ha aplicado ningún método de control o ha fallado el utilizado. A diferencia de los métodos de control (vacunación, control de vectores), que son planeados y aplicados en forma periódica, la aplicación de tratamiento únicamente en los animales que enferman requiere de una constante vigilancia. En rodeos pequeños la probabilidad de detectarlos cuando están en la faz inicial de la enfermedad es elevada y generalmente la proporción de muertes es baja. Cuando los rodeos son grandes, normalmente la morbilidad y mortalidad es mayor. La situación es aún más seria cuando los animales se encuentran bajo condiciones extensivas donde es casi imposible un control individual adecuado.

En caso de brotes de babesiosis en rodeos grandes los mejores resultados se obtienen cuando se administra tratamiento a todos los animales, con y sin síntomas clínicos. Según experiencias personales en animales con sintomatología se administra diminazene (3,5-5 mg/kg) o imidocarbo (1,2 mg/kg) y en aquellos que no exhiben síntomas, diminazene 1,5-2 mg/kg de peso. Utilizando esta estrategia los brotes pueden ser controlados en 36-48 horas. En otra oportunidad, se identificaron y trataron únicamente a aquellos animales que presentaban síntomas, pero esta estrategia resultó menos efectiva porque la mortalidad fue más alta, se necesitó mayor cantidad de personal para vigilancia y el brote se prolongó por 10-15 días (Vanzini, obs. pers.). En todos los casos lo antes que se pueda debe eliminarse la garrapata mediante baños o aplicación de garrapaticidas "pour-on". Los animales que rehusan o tienen dificultad para desplazarse es preferible que sean medicados en el lugar, para evitar que mueran por shock.

- b) **Quimioprofilaxis.** Las drogas no pueden ser administradas periódicamente durante toda la vida del animal, en consecuencia esta medida tiene sentido en el área enzoótica si se puede lograr una infección asintomática con inducción de inmunidad específica, ya sea por transmisión natural de los agentes o mediante la inoculación de vacunas. Teniendo en cuenta que la infección natural no ocurre en todos los animales mientras existe un nivel profiláctico de droga, se recomienda que los animales sean vacunados hacia el final del período de poder residual.

El imidocarbo es la droga con mayor tiempo de protección para las dos especies de *Babesia*. Una dosis de 2 mg/kg de peso previene la infección por *B. bigemina* por aproximadamente cuarenta días (Callow y McGregor, 1970). *B. bovis* es

inhibida en menor medida, Callow y McGregor (1970) observaron que una dosis de 2 mg/kg fue capaz de esterilizar una infección establecida de *B. bovis*, pero no evitó el establecimiento de una nueva infección por más de dos semanas.

Cuando está previsto vacunar a los animales, especialmente con cepas atenuadas de *B. bovis* y *B. bigemina*, es preciso tener precaución con el uso de imidocarbo. Taylor y McHardy (1979) observaron en animales que recibieron 3 mg/kg de imidocarbo y vacunados a los 21 y 61 días con *B. bovis* y *B. bigemina* que todos desarrollaron inmunidad contra las dos especies de *Babesia*. Por otra parte, De Vos *et al* (1986) observaron que la dosis profiláctica de 3 mg/kg es capaz de inhibir el establecimiento de la infección por *B. bovis* por seis semanas y recién a las ocho lograron infectar a todos los animales. Con 1,2 mg/kg a las cuatro semanas ya infectaron a todos los animales. En los dos casos la inmunidad fue menor.

El diminazene es otra droga con efecto residual, aunque de menor actividad que el imidocarbo. Es mucho más útil cuando se lo utiliza en dosis reducidas para moderar reacciones durante la vacunación de animales adultos que como quimioprofiláctico. Administrando 5 mg/kg de peso previene la infección por *B. bigemina* por 15 días y sólo 5 días la de *B. bovis* (Pipano y Hadani, 1984). Bermúdez *et al* (1987) observaron una protección de 15 días en el 80% de los bovinos contra *B. bovis* utilizando la misma dosis. De Vos (1979) observó un poder de protección de 2 semanas para *B. bovis* y 4 semanas para *B. bigemina*, pero no indicó la dosis ni cómo llegó a esa conclusión.

En resumen, cuando esté previsto realizar la vacunación de los animales se debe prestar mucha atención con el uso de imidocarbo por su prolongado poder residual, en su lugar puede utilizarse diminazene, que no interfiere en el desarrollo de las cepas vacunales luego de transcurrido el período de protección. La dificultad en el uso de diminazene aparece en la frecuencia en que debe administrarse.

- c) **Vacunación.** A principios de siglo en nuestro país, que en esos momentos ocupaba un lugar importante en el estudio de babesiosis y anaplasmosis, se iniciaron las investigaciones para desarrollar una vacuna contra estas dos enfermedades. En tal sentido se destacaron los trabajos de Lignières (1903, 1920), a quien puede considerarse como pionero de la investigación en la Argentina y el mundo.

Por varias décadas se creyó que la inducción y persistencia de la inmunidad contra babesiosis y anaplasmosis estaba asociada a la exposición y presencia de los organismos en el huésped; a este estado se lo conocía como premunición o inmunidad co-infecciosa (Sergent *et al*, 1924; Sergent y Sergent, 1956). Este concepto perdió vigencia a partir de los trabajos de Hall (1960, 1963), quien demostró la transferencia de anticuerpos anti-*B. bovis* de la madre al ternero a través del calostro, los de Mahoney (1967) con la inducción de inmunidad específica al inocular una suspensión no viable de *B. bovis*, los de Mahoney *et al* (1973) sobre persistencia de la inmunidad contra *B. bovis* y *B. bigemina* luego de una infección natural y los de Callow *et al* (1974a-b), quienes estudiaron la persistencia de la inmunidad luego de la quimio-esterilización de *B. bovis* y *B. bigemina*.

El uso de parásitos totalmente virulentos, primero obtenidos de animales portadores crónicos recuperados de una infección natural, más tarde de animales inoculados y finalmente de terneros esplenectomizados inoculados con cepas conocidas, fue el único método disponible para producir vacuna hasta mediados de la década del 60.

En 1965, investigadores australianos produjeron un significativo avance en los procesos de elaboración de vacunas mediante la atenuación de *B. bovis* por pasajes seriados rápidos en terneros esplenectomizados (Callow y Mellors, 1966). Posteriormente, también lograron la atenuación de *B. bigemina* (Dalglish *et al*, 1981). En nuestro país a partir de 1985 en las estaciones experimentales de INTA Salta, Rafaela y Mercedes se inició la producción de vacunas atenuadas siguiendo esta metodología.

Uno de los hallazgos más importantes para avanzar en la investigación sobre vacunas contra babesiosis, fue el desarrollo de métodos de cultivo *in vitro* para *Babesia* (Erp *et al*, 1978; Levy y Ristic, 1980; Vega *et al*, 1985). El cultivo *in vitro* ofrece la posibilidad de producir antígeno en forma continua y podría ser adaptado para la producción en gran escala, lo cual permitiría reemplazar al bovino; al tiempo que se pueden obtener antígenos más puros, permite un control estricto de enfermedades potencialmente transmisibles por sangre. Lamentablemente, aún no se tuvo éxito con *Anaplasma*.

El sistema de cultivo *in vitro* ofrece por lo menos dos fuentes de antígeno:

- a) Merozoítos.
- b) Exoantígenos solubles.

Vacunas contra babesiosis

- a) **muertas.** Parásitos muertos y extractos particulados o solubles de eritrocitos infectados han sido utilizados para inducir inmunidad contra infecciones por *Babesia sp.* Mahoney (1967) informó que bovinos adultos resultaron protegidos después de ser vacunados con una suspensión no viable de *B. bovis*, emulsionada en adyuvante completo de Freund. La vacuna fue capaz de evitar una reacción clínica pero no evitó el establecimiento de la infección luego del desafío con la cepa homóloga. Mahoney y Wright (1976) confirmaron este hallazgo e indicaron que el antígeno muerto de *B. bovis* inducía protección contra cepas heterólogas con un nivel de inmunidad comparable con el resultante de una infección subclínica. Kuttler y Johnson (1980) observaron inmunidad protectora en un grupo de animales adultos intactos y terneros esplenectomizados, luego de vacunarlos con un antígeno particulado de *B. bigemina* emulsionado en adyuvante completo de Freund.

Una dificultad obvia del método es lo engorroso que resulta la separación del material antigénico de los eritrocitos y el trabajo para producir grandes volúmenes de glóbulos rojos infectados.

En los últimos años la investigación con antígenos provenientes de parásitos estuvo dirigida a identificar fracciones con capacidad para producir inmunidad específica con el propósito de producirlo en grandes cantidades mediante la ayuda de la biotecnología. Se obtuvieron antígenos solubles a partir de

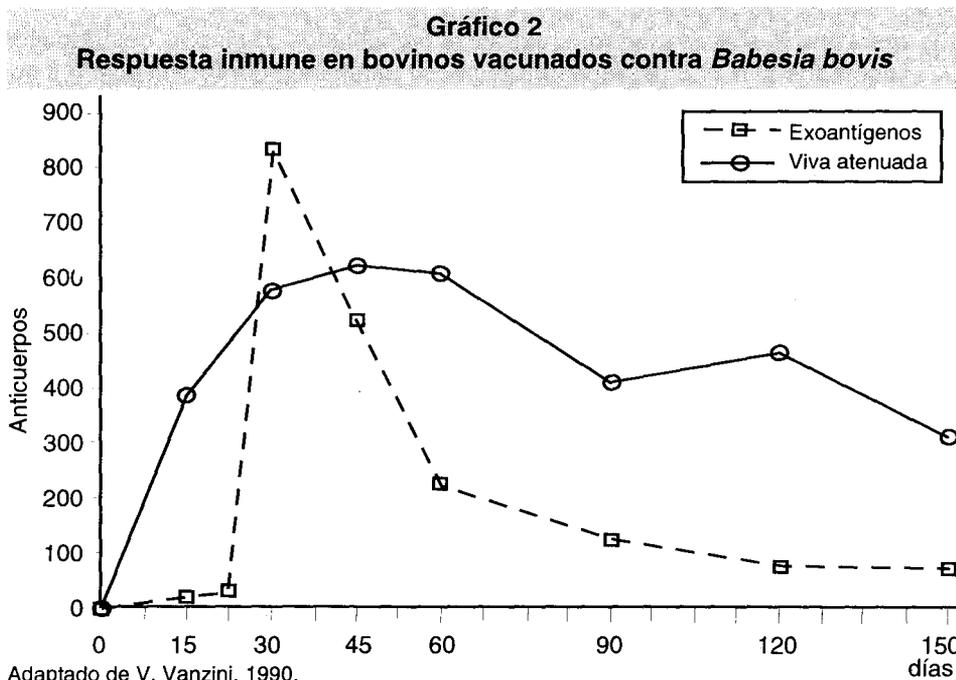
eritrocitos infectados desintegrados por oscilación sónica y separados por ultracentrifugación (Mahoney *et al*, 1981). Del material se extrajeron dos fracciones inmunogénicas; una de las cuales mostró baja contaminación con antígenos de eritrocitos. Goodger *et al* (1983) indicó que los antígenos previamente encontrados por Mahoney también pueden ser hallados en un simple lisado de eritrocitos infectados. También fueron aislados antígenos similares utilizando anticuerpos monoclonales (Wright *et al*, 1983).

A partir del desarrollo de la técnica de cultivo *in vitro* se realizaron numerosos estudios tendientes a elaborar vacunas utilizando exoantígenos. Los exoantígenos son productos liberados de los eritrocitos infectados al plasma de los animales vivos o en el sobrenadante de los medios de cultivos.

En general, los exoantígenos son sustancias de naturaleza proteica, sensibles a las enzimas proteolíticas tripsina y papaína (James *et al*, 1981). Análisis químicos del sobrenadante de cultivos *in vitro* indican que el material contiene al menos tres tipos de antígenos de naturaleza glicoproteica (Kuttler *et al*, 1982). Estos antígenos inducen la producción de anticuerpos específicos que reaccionan directamente con el parásito produciendo aglomeración y lisis de los mismos (Smith *et al*, 1981).

En la mayoría de los estudios que se han realizado con exoantígenos de *B. bovis*, se ha podido observar que inducen una respuesta de anticuerpos humorales (James *et al*, 1981; Vanzini, 1990) y una persistente inmunidad mediada por células (Timms *et al*, 1984). Si se compara con la vacuna viva, la respuesta humoral declina con mayor rapidez y a los 5-6 meses los niveles de anticuerpos específicos tienden a desaparecer (Timms *et al*, 1984; Vanzini, 1990).

En el siguiente gráfico se compara la dinámica de la respuesta inmune contra *B.*



bovis en bovinos Holando. Todos fueron vacunados el día 0 con vacuna viva atenuada congelada con DMSO como crioprotector o exoantígenos solubles.

Brevemente, el inmunógeno fue preparado a partir del sobrenadante de un cultivo *in vitro* de *B. bovis* en faz activa de crecimiento. El material fue colectado a las 48 y 72 horas y la parasitemia era del 11%. El sobrenadante fue mezclado, centrifugado a 1.700 g por 30 minutos a 4°C y el fluido fue filtrado (membrana de 0,45 µm) para remover las células. Cada dosis fue obtenida a partir de 6,7 ml del material filtrado, el cual fue liofilizado y conservado a 4°C. Antes del uso fue diluido con 2 ml de una solución conteniendo 2 mg de Quil-A saponina e inoculado por vía subcutánea. Los animales vacunados con exoantígenos fueron revacunados a las tres semanas.

Si bien se han publicado resultados donde se indica un elevado nivel de protección de antígenos no viables de *B. bovis*, frente a cepas heterólogas de distintos países de América latina (Montenegro-James, *et al*, 1985), muchos trabajos de investigación concluyen que el nivel de protección frente a cepas heterólogas es parcial (Timms *et al*, 1984) y en otros realizados en la Argentina con *B. bovis* y *B. bigemina* se señala un nivel de protección parcial y nulo, respectivamente (Echaide, *et al*, 1993a; Echaide, *et al*, 1993b).

Resumiendo, las divergencias en las observaciones son marcadas. La mayoría de los autores observaron una respuesta de anticuerpos específicos más elevada cuando se inoculan exoantígenos comparado con parásitos vivos, pero la declinación del nivel de anticuerpos circulantes es mucho más rápida que la de los animales vacunados con vacunas vivas.

La persistencia de la respuesta inmune en animales vacunados con parásitos vivos se debe probablemente a una continua estimulación antigénica durante el estado de portador crónico, en cambio los antígenos muertos desaparecen más rápidamente del organismo.

El futuro para las vacunas no viables es promisorio, pero la capacidad protectora de estos antígenos deberá ser evaluada cuidadosamente antes de ser usados en forma masiva. El uso de vacunas no viables sería deseable teniendo en cuenta que no crean portadores lo cual evitaría la diseminación de organismos en el ambiente y reduciría el número de reservorios; sin embargo, factores concernientes a inmunidad frente a cepas heterólogas, duración de la inmunidad, dosis mínima inmunizante, eficacia de una vacuna combinada (*B. bovis* - *B. bigemina*), estabilidad e inmunopotenciación con adyuvantes, deberán ser exhaustivamente investigados.

Es probable que se obtenga una vacuna comercial basada en DNA recombinante, síntesis peptídica o hibridación viral, pero mientras tanto las vacunas vivas atenuadas producidas en terneros esplenectomizados o, mejor aún, a partir de cultivos *in vitro*, son las únicas que inducen inmunidad efectiva y persistente.

b) **Vivas.** La vacunación contra la babesiosis y anaplasmosis todavía está basado en el principio de premunición o inmunidad coinfecciosa definido por Sargent *et al* (1924). Se inocula sangre parasitada para causar la infección del animal receptor, el cual al recuperarse adquiere resistencia frente a los desafíos con las mismas especies que se transmiten bajo condiciones naturales.

Las vacunas deben contener parásitos vivos en cantidad suficiente y ser capaces de inducir inmunidad contra cepas heterólogas. Aquí es donde radica

el problema en producir una vacuna segura y efectiva.

En nuestro país las primeras vacunaciones de que se tiene referencia, se realizaban con sangre colectada de bovinos supuestamente infectados con los tres microorganismos. Posteriormente, se comenzaron a preparar “animales dadores” mediante múltiples inoculaciones de sangre obtenida de animales infectados naturalmente y se introdujo el concepto de conservar la sangre refrigerada durante varios días con el propósito de reducir la virulencia de los agentes (Lombardero *et al*, 1978). Este método todavía es utilizado pero presenta algunas desventajas:

- a) existe alto riesgo de diseminar enfermedades bacterianas o virales;
- b) la virulencia de los parásitos puede variar según el donante;
- c) al no conocerse el número de organismos por dosis pueden ocurrir reacciones muy tempranas cuando hay exceso o ausencia de reacción por falta de parásitos.

Las vacunas preparadas por estos métodos son inmunogénicas, pero las respuestas posvacunales impredecibles. A menudo severas reacciones por *Babesia* o *A. marginale* causan muertes antes de que el tratamiento específico sea administrado. Si se eligen estos métodos deben estar disponibles adecuadas reservas de drogas específicas e inocular animales jóvenes (ej.: < 9 meses).

A partir del año 1978, INTA comenzó a producir vacuna en terneros esplenectomizados mantenidos bajo condiciones de laboratorio con sanidad controlada. Los terneros eran inoculados con cepas de *B. bovis*, *B. bigemina* y *A. marginale* conocidas, mantenidas congeladas en nitrógeno líquido.

En 1981 se inició la producción de vacuna en la EEA-Mercedes utilizando la misma metodología pero al poco tiempo se reemplazó *A. marginale* por *A. centrale*. Los resultados en los primeros años fueron alentadores pero cuando la demanda comenzó a incrementarse comenzaron a observarse “fallas de inmunización” en los animales vacunados. Después de un estudio exhaustivo se llegó a la conclusión de que el problema estaba relacionado con la infectividad de la vacuna, especialmente *Babesia*, que en ocasiones era deficiente y no se lograba infectar a todos los animales. Estas observaciones eran coincidentes con las observadas en Australia (Callow y Tammemagi, 1967). La falla parcial del sistema llevó al desarrollo de una vacuna altamente infectiva y reducida virulencia en terneros esplenectomizados utilizando cepas de *B. bovis* y *B. bigemina* atenuadas.

Vacuna contra anaplasmosis

- a) **muerta.** En los Estados Unidos se desarrolló una vacuna no viable a base de eritrocitos infectados combinados con un adyuvante oleoso (Brock *et al*, 1965; Wilson y Trace, 1966). Esta vacuna no previene la infección natural por *A. marginale*, pero atenúa su severidad. Se requieren dos dosis iniciales con seis semanas de intervalo entre ambas y una de refuerzo anual. Ensayos realizados en Colombia indican que sólo confiere inmunidad parcial y, por lo tanto, no se aconseja su uso en climas tropicales, donde ocurren severos desafíos naturales durante todo el año (Kuttler, 1982). Como efecto no deseado, se observó isoeritrolisis neonatal en terneros nacidos de vacas vacunadas durante el período de gestación (Dennis *et al*, 1970).

No parece adecuado la utilización de este tipo de vacunas en el norte argentino, en bovinos de cría bajo condiciones extensivas, sobre los cuales no se tiene un control estrecho y donde la incidencia de la enfermedad es alta. Por otra parte, la necesidad de revacunar anualmente restringe la posibilidad de uso frente a las vacunas vivas que se aplican en dosis únicas.

- b) **Vivas.** En nuestro país, para la prevención de la anaplasmosis se utilizó exclusivamente *A. marginale* hasta 1981. Con éste se obtiene el mayor nivel de protección pero siempre existe el riesgo de que ocurran severas reacciones aun en animales jóvenes, lo cual restringe su uso a terneros menores de un año; además, se crean nuevos reservorios lo que contribuye a diseminar aun más la enfermedad. Con el uso de tetraciclina se ha facilitado la tarea de inmunizar animales de mayor edad, pero es necesario vigilar individualmente el curso de la infección y aplicar el tratamiento cuando el volumen globular es inferior al 22%. En estas condiciones, el método es eficaz, pero el número de animales a inocular por vez es limitado, por los controles que deben aplicarse.

A fines de la década del 70 ingresó al país una vacuna desarrollada en los Estados Unidos de América a base de *A. marginale* atenuado por pasajes seriados en ovinos, pero los resultados observados en el país mostraron que cuando se inoculaba ganado lechero, las reacciones eran tan severas como las producidas por cepas locales de campo (Anziani *et al*, 1981).

La vacuna que más se ha utilizado en todo el mundo es a base de *A. centrale*, especie que produce una infección generalmente benigna y que confiere inmunidad cruzada contra *A. marginale*. Fue introducido al país por Peviani (1956), quien realizó trabajos de premunición en las provincias de Buenos Aires y Salta y luego no se tuvo más información sobre su existencia en el país hasta que fue re-aislado en Corrientes (Vanzini *et al*, 1984) y desde ese momento se lo incluye en la vacuna.

La inmunidad que induce *A. centrale* no es absoluta pero el nivel de protección que confiere en general es suficiente para prevenir los síntomas o muertes que puede ocasionar la infección natural por *A. marginale* (Potgieter y Van Rensburg, 1983; Vanzini *et al*, 1984; Anziani *et al*, 1987; Aguirre *et al*, 1988; Abdala *et al*, 1990).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos durante doce años de uso, se observa que el número de animales que ha enfermado o muerto de anaplasmosis luego del traslado a zona enzoótica es reducido, en consecuencia se lo considera como el inmunógeno de elección para prevenir la anaplasmosis.

Vacunas vivas atenuadas contra babesiosis y anaplasmosis

Aun cuando las vacunas vivas, atenuadas contra babesiosis y *A. centrale* contra anaplasmosis no cumplan con todos los criterios que debe reunir una vacuna ideal, es evidente que confieren un nivel inmunitario adecuado y su elaboración es relativamente sencilla, razón por la cual muchos países en el mundo, entre los cuales figura la Argentina, han iniciado su producción. Las vacunas con antígenos no viables hasta el presente no están en condiciones de reemplazar este tipo de vacunas, aunque en el futuro es probable que esto ocurra.

La decisión de iniciar la elaboración de este tipo de vacunas en esta estación

experimental no fue aleatoria, sino que estuvo sustentada en la necesidad de producir un inmunógeno capaz de superar el problema de baja infectividad que exhiba la vacuna producida en terneros portadores crónicos.

a) **Aspectos salientes.** Las vacunas que contienen *B. bovis* y *B. bigemina* atenuadas y *A. centrale* obtenidas de terneros con alta parasitemia, ofrecen una serie de ventajas, frente a los métodos tradicionales, que merecen ser destacados:

1. **Alta infectividad.** Cada dosis debe contener al menos 1×10^7 organismos viables, lo que representa alrededor de 100 veces la dosis mínima infectiva (Callow, 1977). En estas condiciones existe una alta posibilidad de lograr la infección con una sola inoculación. Como el número de organismos va disminuyendo diariamente, la vacuna producida en INTA Mercedes contiene al momento de ser elaborada 2×10^7 glóbulos rojos infectados de manera que pueda ser usada con un margen de seguridad hasta 7 días después de elaborada.
2. **Reducida virulencia.** Los parásitos atenuados (*B. bovis* - *B. bigemina*) y *A. centrale* producen reacciones leves en los animales inoculados disminuyendo el riesgo de muerte y los tratamientos específicos. Además, permite inocular grupos numerosos a la vez.
3. **Dosis estandarizada.** Al contener un número controlado de organismos viables, el usuario sabe con cierto grado de exactitud en qué momento pueden ocurrir reacciones (si las hubiere) y controlarlas a tiempo.
4. **Sanidad controlada.** Los animales utilizados son sometidos a severas medidas de control sanitario, para reducir la posibilidad de transmisión accidental de enfermedades virales, entre otras IBR, BVD, leucosis bovina y aftosa; o bacterianas: leptospirosis, brucelosis. Diariamente se realizan extendidos de sangre con el propósito de detectar infecciones por *A. marginale*, *Tripansoma* o *Eperythrozoon*. Los animales destinados a la producción de vacuna permanecen aislados para evitar alguna infección accidental. Aun cuando se tomen todas las medidas señaladas siempre existe riesgo de transmisión accidental y la implementación de cultivos *in vitro* favorecería aun más el control.

b) **Reacciones posvacunales.** Cuando se utilizan vacunas de virulencia reducida y dosis medidas, las reacciones se pueden prever en tiempo e intensidad, pero al estar manejando un producto biológico, estas predicciones no siempre son exactas.

Cuando se inocula vacuna triple la primera reacción está relacionada con la multiplicación de las babesias. *B. bigemina* reacciona primero (día 7-10) porque se multiplica más rápido y luego (día 10-12) comienza *B. bovis*. Como medida de precaución es conveniente que los animales sean controlados entre los días 7 al 20 posvacunación.

Cuando se inoculan terneros, las reacciones posvacunales por *Babesia* pasan casi desapercibidas y sólo se observa una reacción febril transitoria.

Si se inoculan bovinos mayores de 1 año, se debe tener presente que pueden ocurrir reacciones posvacunales más notorias. Cuando el número de animales es

elevado, que hace imposible un control individual adecuado, existe la posibilidad de modular las reacciones mediante la administración de diminazene a todo el lote (Todorovic *et al*, 1975; Thompson *et al*, 1978; De Vos, 1979; Vanzini, 1985). De acuerdo a las experiencias obtenidas, aplicando una dosis reducida de 1,2-1,5 mg/kg se puede detener la multiplicación de los parásitos, dándole tiempo al animal para que elabore anticuerpos específicos y controle la reacción.

El momento en que se aplica el tratamiento es importante, porque si se realiza al inicio del período de parasitemia la respuesta inmune es deficiente (Callow *et al*, 1974a). Según nuestras observaciones, el tratamiento debe realizarse entre los días 9-11 posvacunación, momento en que hay suficiente cantidad de parásitos en sangre. Transcurridas 48 horas es muy poco probable que se observen reacciones clínicas.

Es importante dejar aclarado que el uso de dosis reducidas de diminazene es una herramienta y no debe constituirse en una medida rutinaria para evitar los controles posvacunales, sino que debe utilizarse sólo en los casos estrictamente necesarios. La vacuna atenuada produce reacciones posvacunales leves y cuando se la utiliza en la categoría de animales para la cual está indicada (bovinos < 10 meses) no se requieren tratamientos para el control de reacciones, excepto casos aislados.

Cuando se inoculan lotes reducidos de animales adultos y es posible un control individual, es aconsejable realizar tratamientos en los casos necesarios. La intensidad de la reacción febril es útil como elemento de control. Cuando un animal presente hipertermia ($> 40,5^{\circ}\text{C}$) por dos días consecutivos se considera prudente administrar diminazene para controlar la reacción. Si la sintomatología es muy manifiesta debe utilizarse la dosis terapéutica (3,5 mg/kg); en cambio si sólo se observa una respuesta febril persistente la aplicación de una dosis menor lleva a la remisión de la misma en 24 horas.

Si no se utiliza diminazene, con una sola dosis se infecta a la mayoría de los animales, pero si se decidió modular las reacciones, es aconsejable la revacunación porque aun cuando esta droga no tenga efectiva capacidad esterilizante, no se puede estar totalmente seguro de eso teniendo en cuenta que se trabaja con parásitos atenuados. Al revacunar un animal la respuesta inmune que se obtiene es más intensa que con una sola dosis. Si se decide aplicar una segunda dosis, ésta debe ser administrada una vez finalizada la reacción de *A. centrale*, es decir, a partir de los 60 días posteriores a la primera dosis.

Cuando se utiliza diminazene para controlar reacciones, los animales deben ser revacunados

La multiplicación de *A. centrale* es más lenta y comienza a desarrollar parasitemia a partir del día 35-40 posinoculación. La reacción generalmente pasa desapercibida y cursa sin elevación de la temperatura, pero se observa una anemia de mediana intensidad. Si algún animal presenta síntomas, un tratamiento con oxitetraciclina (10 mg/kg) es suficiente. Cuando se trabaja con ganado de carne es excepcional el control de reacciones, pero en ganado

lechero se debe prestar mucha atención para evitar pérdidas en la producción.

Como la inmunidad producida por A. centrale es lenta en afianzarse, es conveniente que los animales no sean expuestos antes de los tres meses de vacunados.

- c) **Conservación de la vacuna.** La efectividad de la vacuna depende de su infectividad. La viabilidad de los parásitos es preservada por más tiempo si se mantiene la vacuna refrigerada entre 4-8 °C. Si se congela, o queda a temperatura ambiente por más de 24 horas, conviene descartarla porque su efectividad es dudosa.

Mantenida en condiciones adecuadas, la vacuna tiene una vida útil de una semana después de elaborada, esta es sin dudas una de las limitaciones que posee la vacuna refrigerada y que puede ser superada mediante la elaboración de inmunógenos congelados en nitrógeno líquido.

Razones para vacunar

La decisión de aplicar vacunas contra babesiosis y/o anaplasmosis debe estar plenamente justificada y para esto es necesario obtener información sobre la incidencia del o los parásitos. Se debe realizar un diagnóstico preciso mediante extendidos de sangre y de esta manera determinar cuáles son las pérdidas que provoca la enfermedad. También se puede determinar la proporción de animales susceptibles a la infección mediante pruebas serológicas en aquellos que no estén enfermos y estimar la probabilidad de que el ganado de ese establecimiento contraiga babesiosis y/o anaplasmosis. De esta manera se puede decidir sobre la necesidad o no de realizar una vacunación preventiva de los animales.

Existen por lo menos tres situaciones en las que es necesario proteger a los bovinos mediante vacunas:

- a. protección de animales totalmente susceptibles que van a ser trasladados a zonas donde la enfermedad es enzoótica.
- b. para prevenir muertes durante la reinfestación de zonas donde la garrapata ha desaparecido. En el caso de Corrientes, en los campos destinados a la producción de arroz que ingresan a un período de descanso del suelo y se destinan a ganadería.
- c. protección de animales en áreas enzoóticas, donde la población de garrapatas no es suficiente como para que se infecten durante los primeros meses de vida, cuando todavía son relativamente resistentes.

En nuestro país hasta hace pocos años la razón más común por la que se inmunizaban bovinos (especialmente toros) contra babesiosis y anaplasmosis era para su posterior envío desde la zona libre de garrapatas a la infestada, sin embargo en los últimos años se nota un creciente aumento de la demanda de vacuna para prevenir la babesiosis y/o anaplasmosis en bovinos nacidos en el área enzoótica. En las provincias de Corrientes y Chaco se están observando muchos brotes de babesiosis y anaplasmosis en ganado nacido y criado en zona enzoótica.

En los establecimientos estudiados se observó inestabilidad en la población de garrapatas provocada por inundaciones. También se observa un incremento en la vacunación preventiva contra anaplasmosis en el sur de la provincia de Entre Ríos.

Consideraciones durante una inmunización

Existe una serie de factores que inciden en el curso e intensidad de la reacción posvacunal y otros que deben ser tenidos en cuenta antes de iniciar una inmunización:

- **Edad.** La severidad de la reacción se incrementa con la edad. Levy *et al* (1982) observaron que en la sangre de animales jóvenes existe uno o más factores que inhiben la multiplicación *in vitro* de *B. bovis*. El o los factores son independientes de los anticuerpos y estuvo presente en todos los terneros estudiados. Ellos sugieren que estos factores son los responsables por la resistencia de los animales jóvenes a babesiosis severas. Otro elemento a considerar es la inmunidad pasiva a través de anticuerpos calostrales, la cual persiste hasta los 3-4 meses de edad. También debe tenerse en cuenta que el animal en crecimiento tiene mayor capacidad que el adulto para elaborar glóbulos rojos y de esa manera puede controlar la anemia que produce la multiplicación de los parásitos con mayor facilidad.
- **Raza.** Los animales de raza cebú (*Bos indicus*) y sus cruzas son más resistentes a la infección que los de razas europeas (*Bos taurus*). A su vez, dentro de estos últimos, la raza Holando es una de las más sensibles.
- **Gestación.** Como regla general debe evitarse la inoculación de hembras preñadas pero si no existe otra alternativa puede realizarse siempre que se tomen severas medidas de control para evitar abortos. Si se decide inocular bovinos preñados (menos de 3 meses de gestación) se debe modular la reacción con diminazene dentro de los dos primeros días de respuesta febril por *Babesia* y con tetraciclinas cuando el volumen globular sea inferior a 22% durante la reacción de *A. centrale*. Si el animal está en el último trimestre de gestación la inmunización está contraindicada porque la multiplicación parasitaria producirá anemia y coincide con el momento de mayor desarrollo fetal, de tal manera que se puede afectar el mismo y los riesgos de aborto son elevados.

A los bovinos con gestación avanzada es preferible mantenerlos libres de garrapatas (piretoides "pour-on" cada 10-12 días hasta el parto) y administrar imidocarbo como quimioproláctico (2 mg/kg) cada 27 días. Separar los animales (+100 metros) del resto del rodeo para reducir la posibilidad de transmisión de *A. marginale*. Una vez que el animal haya parido se iniciarán las tareas de inmunización teniendo la precaución de vacunar a los animales una vez que hayan transcurrido 30 días después de la última dosis de imidocarbo. Es conveniente que los animales sean revacunados porque la actividad de esta droga sobre *B. bigemina* se extiende hasta unos 60 días.
- **Estado sanitario.** Evitar inocular animales caquéticos o con enfermedades crónicas (ej.: tuberculosis), o aquellos que se encuentran en mal estado, producto de severas parasitosis.
- **Vacunaciones.** Suspender la administración de vacunas con organismos vivos

capaces de originar reacciones febriles (ej.: carbunco), que pueden crear confusión respecto de la causa de la misma.

- **Alimentación.** Deberá ser lo mejor que se pueda. No es conveniente que se efectúen cambios bruscos que puedan producir estrés en el animal. Se debe asegurar también una apropiada provisión de agua.
- **Medicamentos.** Evitar la utilización de tetraciclinas para el tratamiento de cualquier afección del animal durante la incubación de *A. centrale*. Tampoco deben administrarse corticoides, que producen disminución de las defensas y pueden exacerbar la severidad de la infección, especialmente la de *Babesia*.

Elección del lugar de vacunación

Lo más común es inmunizar los animales antes de ser enviados a la zona endémica. Esta práctica presenta la ventaja de que los animales no tienen riesgo de infectarse naturalmente y en consecuencia no se necesita el control de transmisores. Para el caso de las cabañas productoras de reproductores machos presenta la ventaja que la primera inoculación pueden realizarla luego del destete, después de la primera selección, es decir, cuando tienen entre 8 a 10 meses de edad aprovechando la relativa resistencia de los animales jóvenes. Al momento de la venta cada animal recibe al menos dos inoculaciones.

Para los establecimientos que producen hembras para venderlas preñadas, una ventaja obvia es que la inmunización la pueden realizar antes del servicio. En este caso no se aprovecha el factor edad, porque la decisión de inmunizar hembras para una futura venta es tomada a partir del excedente, luego de realizada la reposición, es decir, que se inmunizan animales mayores de 18 meses de edad.

La vacunación en el establecimiento de origen tiene como inconveniente que no se le brinde una adecuada atención al animal en su nuevo destino resultando en "fallas de vacunación", cuando en realidad muchas de las pérdidas guardan relación con "fallas de manejo", especialmente en ganado *Bos taurus*. Por otra parte, las ventas de reproductores se realizan con "garantía de inmunización", lo cual también incide en el cuidado de los mismos, porque en caso de muerte el vendedor debe reponer el toro o en su defecto el comprador no efectúa el pago del animal.

Otra alternativa es la vacunación en destino. Esto tiene como ventaja que los vacunos reciben una atención especial, partiendo de un estricto control de garrapata mientras el animal se va adaptando a las nuevas condiciones alimenticias y climáticas. Por otra parte, el productor extiende los controles sobre los animales por un período que excede al de la inmunización en razón de que no está amparado por garantía alguna.

El principal inconveniente de la vacunación en destino aparece cuando se incorporan hembras con gestaciones que superan los cuatro meses, en las cuales está contraindicado la vacunación. En este caso la prevención de la infección natural con garrapaticidas combinado con quimioprofilaxis resulta costoso.

Cuando el bovino es inmunizado en el lugar de destino es preciso que se tomen una serie de recaudos para evitar infecciones naturales:

- 1) Prevenir infestación con garrapatas; se puede lograr con los garrapaticidas que

se encuentran en el mercado. Un baño cada 10-12 días evitará que se fijen larvas. Si no cuentan con instalaciones adecuadas se pueden utilizar garrapaticidas "pour-on".

- 2) Aislar los animales del resto del rodeo; para evitar la transmisión de *A. marginale*, que es mecánica. Este aislamiento debe mantenerse por tres meses hasta que se consolide la inmunidad conferida por *A. centrale*.
- 3) Proveer adecuada alimentación y protegerlos del estrés.

Manejo de animales inmunizados

Los bovinos de alta productividad provenientes de la zona templada no siempre expresan su máximo potencial productivo cuando son introducidos en el área enzoótica en el norte del país debido principalmente a la pobre adaptación al clima subtropical y la calidad de las pasturas disponibles para la alimentación. Aun cuando el factor alimentación pueda ser controlado, todavía restan las enfermedades producidas por hematozoarios y la acción directa de la garrapata al bovino.

La vacunación contra babesiosis y anaplasmosis provee protección satisfactoria a la mayoría de los animales, sin embargo existen razones para pensar que la inmunidad no es tan sólida como la que posee un animal nativo que tiene la posibilidad de recibir múltiples inoculaciones con cepas diferentes, de manera que los primeros meses son de suma importancia para la adaptación y supervivencia de los animales introducidos en zonas enzoóticas.

Existen una serie de elementos que merecen ser tenidos en cuenta para obtener mejores resultados:

- 1) Los reproductores, especialmente machos, son criados en zonas donde la calidad de las pasturas es muy superior a la de las de la zona infestada, además muchos (sino la mayoría) de los cabañeros administran concentrados balanceados. Cuando son trasladados sufren un brusco cambio en la alimentación que produce estrés e inclusive puede haber disminución de las defensas.
- 2) La compra de reproductores generalmente se realiza en los meses de julio y agosto, de manera que prácticamente llegan a destino e ingresan en el inicio del servicio, lo que les produce un marcado agotamiento, a lo que debe agregarse el estrés de adaptación.
- 3) Cuando un animal no está acostumbrado a la garrapata la infestación es mayor que los nativos (Hewetson, 1968). La garrapata hembra, al ingurgitarse extrae una considerable cantidad de sangre, que el animal debe reponer y su picadura produce molestias resultando en un menor tiempo de pastoreo. Además, se debe tener presente que las garrapatas inyectan toxinas con su saliva, las cuales, entre otras cosas, producen anorexia.

En síntesis, cualquiera sea el lugar donde se realiza la vacunación, resulta muy importante que el animal ingresado reciba un adecuado manejo hasta lograr la adaptación a las nuevas condiciones. De esta manera se puede contribuir para reducir sensiblemente las "fallas de inmunización".

Programa de vacunación

Una de las incógnitas que a menudo se plantean en los establecimientos es determinar cuándo se debe vacunar a los animales. A continuación se hacen algunas sugerencias, según se trate de establecimientos ubicados en áreas libres o zonas enzoóticas inestables.

a. Establecimientos en zonas libres

Las cabañas productoras de reproductores en su mayoría están ubicadas en áreas libres de estas enfermedades y es necesario que vacunen los animales para luego poder acceder al mercado del norte del país, donde la babesiosis y anaplasmosis son enzoóticas.

Aun cuando las vacunas atenuadas producen reacciones leves, debe quedar claro que no son totalmente inocuas y la severidad de las mismas se incrementa con la edad del animal. Aunque ésta no es una limitante, es aconsejable que se inicie la vacunación cuando los animales son jóvenes, es decir, cuando todavía son relativamente resistentes.

Ejemplo: se puede vacunar a los animales a partir de los 30 días después del destete, luego de la primera selección, es decir, entre los 8-10 meses de edad y luego se los revacuna cada año tratando de que la revacunación previa al traslado a zona enzoótica ocurra aproximadamente 30-40 días antes.

En Corrientes la mayoría de las cabañas inician la vacunación en los meses de septiembre-octubre, es decir, cuando las pasturas han iniciado el rebrote de primavera, y de esta manera hacen coincidir la inmunización con una adecuada provisión y calidad de forraje.

El productor debe estar informado de que para realizar una inmunización completa necesita 90 días, porque la inmunidad que induce *A. centrale* se consolida lentamente.

Si el traslado se efectúa antes de los tres meses se deben tomar precauciones para evitar la infección natural con *A. marginale* en el lugar de destino hasta que se haya cumplido el plazo indicado. La separación de los animales del resto del rodeo (unos 100 metros) ubicándolos cerca de las instalaciones resulta útil porque permite el control mientras se van acostumbrando al nuevo hábitat.

b. Establecimientos en zonas enzoóticas

En este caso lo importante es determinar en qué época y cuál (es) agente (s) es(son) responsable(s) del brote para aplicar la vacuna con suficiente antelación. Las observaciones realizadas en el NEA indican que no existe una época adecuada para todos los establecimientos porque la aparición de brotes está íntimamente relacionado a las medidas de manejo de cada establecimiento. De todos modos, siempre se debe vacunar a los animales susceptibles antes del año de edad. Se pueden vacunar los terneros al pie de la madre aun cuando todavía están presentes los anticuerpos calostrales, ya que éstos no interfieren con el desarrollo de un estado inmunitario sólido.

X. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

I. Preparación de extendidos

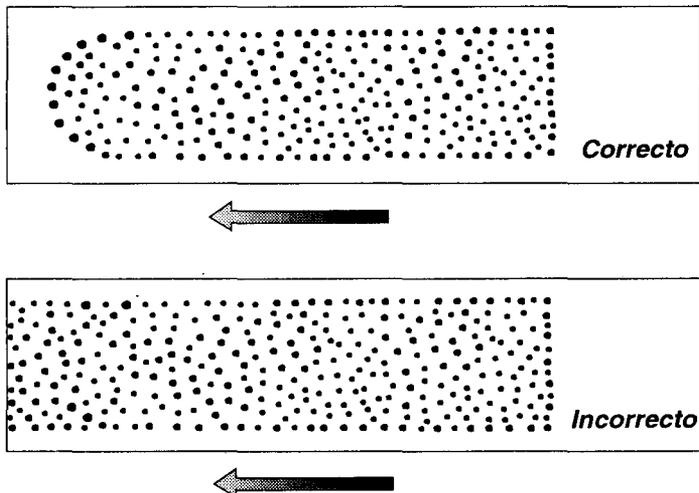
El extendido (frotis) de sangre es fácil de realizar y constituye el elemento esencial para confirmar el diagnóstico de una infección por *Babesia* y/o *Anaplasma* y estimar la gravedad de la misma para implementar las medidas terapéuticas y de control más adecuadas.

1) Frotis finos

Se utilizan para diferenciar parásitos (*Babesia*, *Anaplasma*, *Eperythrozoon*, etc.) y para estimar el nivel de parasitemia, la cual debe ser tenida en cuenta en la interpretación de los resultados de la observación microscópica.

Es importante señalar que si el frotis está bien realizado, es decir, presenta una capa delgada de glóbulos y termina con una "cola" redondeada se facilita la observación. Esto depende del tamaño de la gota de sangre, y el ángulo y estado del borde del portaobjeto que se utiliza para extenderla.

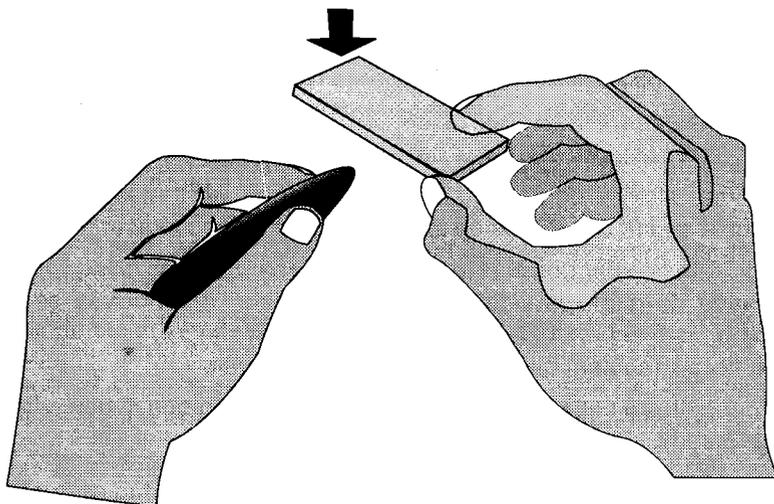
Los portaobjetos a utilizar para la confección de extendidos deben estar limpios y desengrasados.



Frotis fino

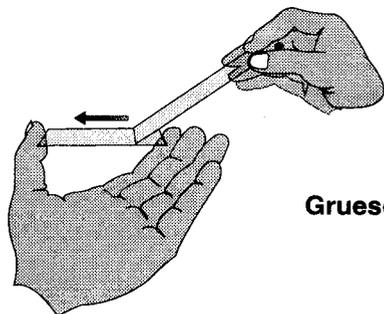
Para realizar extendidos es conveniente de que se tome una muestra de sangre periférica. *B. bovis* presenta la particularidad de concentrarse más en sangre capilar que en los vasos más grandes, en cambio con *B. bigemina* y *Anaplasma sp.* ocurre lo contrario. Sangre periférica puede ser obtenida por punción de la punta de la cola o borde de la oreja.

- a) Para obtener la muestra de la punta de la cola se doblan hacia atrás los pelos, se cortan únicamente los de la punta (al soltar la cola los pelos cubren la punta y se evitan miasis) y se limpia la zona que generalmente está cubierta de desechos y grasa (no utilizar alcohol, agua, etc., porque si la superficie queda húmeda la sangre fluye en una capa fina entre los pelos y no forma la gota), posteriormente se realiza una punción con una aguja limpia y presionando con los dedos se obtiene una gota de sangre.



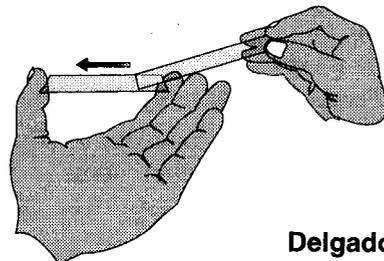
Nota: para evitar la transmisión, especialmente *Anaplasma* sp, la aguja debe ser sumergida en alcohol antes de reutilizarla.

- b) La gota de sangre es "levantada" con el portaobjetos y luego extendida con otro, de manera que se obtenga una película fina terminada en forma de "cola". Esto es particularmente importante porque los parásitos se acumulan al final del frotis, lo cual facilita la observación microscópica.



Grueso

- c) El frotis debe secarse rápidamente mediante flameado en el aire. Los días de elevada humedad el secado es muy lento, y al menos que se disponga de una fuente de calor, se produce deterioro o lisis de los glóbulos rojos, lo cual dificulta la posterior observación.



Delgado

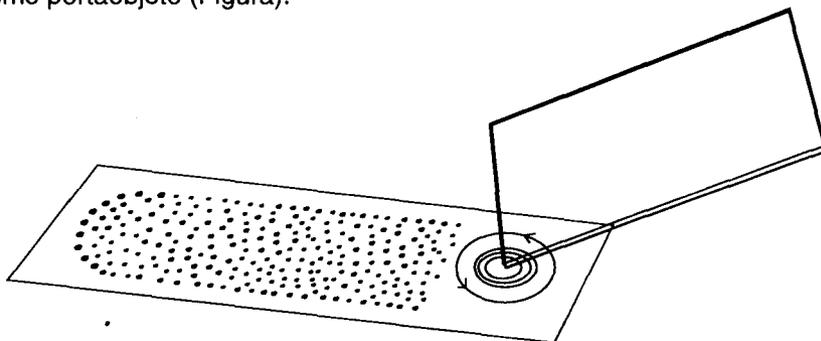
- d) Una vez que los extendidos están secos deben ser fijados en alcohol metílico o en su defecto alcohol etílico, tan pronto como sea posible, durante 30 o más segundos. Si los extendidos no son coloreados

enseguida, es conveniente que se los acondicione con papel y se los mantenga en lugar seco. Para identificarlos puede utilizarse un lápiz común de grafito y escribir sobre el extendido, tomando la precaución de no hacerlo en la "cola" del mismo porque es el lugar de mayor utilidad para la observación. Se puede identificar antes o después de fijarlo en alcohol.

2) Frotis grueso

Los frotis gruesos de sangre (Thick blood film. Mahoney y Saal, 1961) son de suma utilidad para la detección de parasitemias muy bajas de *Babesia*, aunque no es simple identificar la especie. Para *Anaplasma* esta técnica carece de utilidad.

Cuando son muy gruesos o no están completamente secos se desprenden del portaobjeto durante la coloración. Siempre se los debe acompañar con un frotis fino. Cuando el operador adquiere cierta práctica puede realizar ambos en un mismo portaobjeto (Figura).



Los frotis gruesos no deben fijarse con alcohol metílico.

- a) Colocar una gota de sangre capilar del tamaño de una cabeza de fósforo en el portaobjeto, tocar suavemente la gota con el borde del portaobjeto y más adelante hacer el extendido fino.
- b) Mediante movimiento circular, esparcir el resto de la gota de sangre con el ángulo de otro portaobjeto durante 15-30" de manera que quede una gota de 0,5-1 cm de diámetro.
- c) Mantener el frotis horizontal hasta que esté seco. Para que el proceso sea más rápido se lo puede introducir en una estufa a 40°C.
- d) Fijar con alcohol metílico sumergiendo **UNICAMENTE** el frotis fino.
- e) Teñir con Giemsa.

3) Improntas de órganos

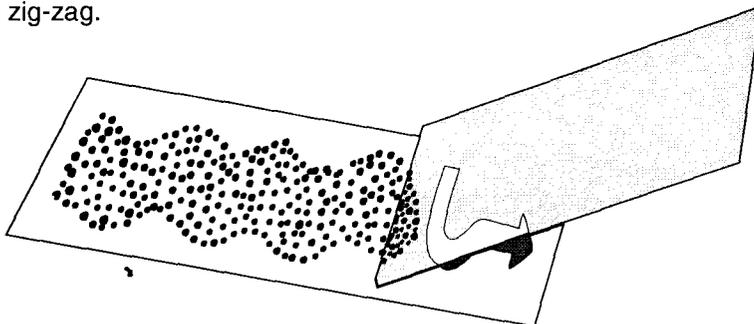
Cuando se realizan frotis de órganos (excepto cerebro y cerebelo) se practica un corte y se toca suavemente la superficie de corte con un portaobjeto para preparar un frotis de impresión (impronta). Otra alternativa es presionar el órgano (riñón,

músculo cardíaco), para obtener un poco de sangre capilar y luego se sigue la metodología de frotis fino.

Antes de ser fijados en alcohol metílico deben estar bien secos. La fijación es conveniente prolongarla a 1-3 minutos especialmente cuando hay mucho material.

4) Extendidos de cerebro y cerebelo

Frotis de cerebro y/o cerebelo son ampliamente utilizados para el diagnóstico diferencial post-mortem entre *B. bovis* que se encuentra en elevado número y *B. bigemina* que no se encuentra en este órgano. Durante la necropsia se extrae el cerebro y se toma una pequeña muestra de la superficie externa (materia gris); la muestra es aplastada con otro portaobjeto y luego distribuida mediante movimientos en zig-zag.



Los extendidos se dejan secar bien, se fijan 1-3 minutos en alcohol metílico y se colorean con Giemsa 10%.

Para evitar la apertura del cráneo, se puede extraer una muestra de cerebelo a través del agujero occipital y luego hacer un extendido de materia gris. Esta medida es de particular importancia en las zonas donde se registran casos clínicos de rabia parésiante.

II. Coloración de extendidos

Para la tinción de extendidos se utiliza corrientemente la coloración de Giemsa. También pueden utilizarse la de Leishmann o May Grunwald-Giemsa.

El colorante de Giemsa se adquiere como solución madre concentrada. Existen muchas marcas comerciales y la mayoría son adecuadas pero es conveniente familiarizarse con una de ellas respecto de la dilución del colorante, pH del diluyente, tiempo de tinción y coloración diferencial, elementos que varían entre marcas y aun entre partidas dentro de una misma marca.

La solución madre se diluye en el momento de ser utilizada con una solución salina tamponada de pH 6.8-7.0, el excedente de colorante diluido debe descartarse. El tiempo de coloración es proporcional a la concentración de colorante. La dilución corrientemente utilizada es 10% durante 30 minutos. Si se desea colorear un elevado número de extendidos puede utilizarse una solución al 5% durante 45 minutos lo cual reducirá el costo. Como elemento orientativo respecto de la cantidad de colorante a preparar, se puede estimar que con 2.5-3 ml de solución colorante por portaobjeto es suficiente.

Metodología

- 1) Secar el frotis al aire o en días húmedos en estufa a 37-40°C.
- 2) Fijar en alcohol metílico. **Frotis grueso NO deben fijarse.**
- 3) Cubrir el portaobjeto con Giemsa 10% durante 30 minutos.
- 4) Lavar con agua. Dejar secar al aire o estufa a 37°C.
- 5) Los extendidos de sangre se observan con objetivos de inmersión de 100 X de aumento. Para la observación de frotis de cerebro es útil usar objetivos de pocos aumentos (10 X) para localizar los capilares y luego pasar a mayor aumento para observar con detalle.

Solución salina tamponada

PO ₄ H Na ₂ . 2H ₂ O	4.8 g
PO ₄ H ₂ K	5.5 g
H ₂ O destilada c.s.p.	100 ml
pH 6.8-7.0	

XI. BIBLIOGRAFIA

- Abdala, A. A.; Pipano, E.; Aguirre, D. H.; Gaido, A. B.; Zurbriggen, M. A.; Mangold, A. J. and Guglielmone, A. A.;** 1990. Fresh and frozen vaccines in the protection of cattle against *Anaplasma marginale* infection. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.* 43: 155-158.
- Agbede, R. I. S. and Kemp, D. H.;** 1986. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: histopathology of ticks feeding on vaccinated cattle. *Int. J. Parasitol.* 16: 34-41.
- Aguirre, D. H.; Bermúdez, A. C.; Mangold, A. J.; y Guglielmone, A. A.;** 1990. Infección natural con *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* en bovinos de raza Hereford, Criolla y Nelore en Tucumán, Argentina. *Rev. Med. Vet.* 71: 54-60.
- Aguirre, D. H.; Gaido, A. B.; Abdala, A. A.; Ríos, L. G. de; Mangold, A. J. y Guglielmone, A. A.;** 1988. Evaluación de la protección conferida contra *Anaplasma marginale* por una vacuna de *Anaplasma marginale* muerto, una de *Anaplasma centrale* vivo y una combinación de ambas en bovinos Holando Argentino. *Rev. Med. Vet.* 69: 13-19.
- Aliu, Y. U.;** 1983. Tick-borne diseases of domestic animals in Nigeria: current procedures (Review article). *Vet. Bull.* 53: 233-251.
- Amerault, T. E.; Mazzola, V. and Roby, T. O.;** 1973. Gram-staining characteristics of *Anaplasma marginale*. *Am J. Vet. Res.* 34: 552-555.
- Ambrosio, R. E. and Potgieter, F. T.;** 1987. The genome of *Anaplasma*: DNA base composition and DNA/DNA hybridation. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 54: 63-65.
- Annable, C. R. and Ward, P. A.;** 1974. Immunopathology of the renal complications of babesiosis. *J. Immunol* 112: 1-8.
- Anziani, O.;** 1979. Anaplasmosis en áreas libres de garrapatas. Reunión Anual Inf. Téc. INTA-EERA Rafaela. pp 63-68.
- Anziani, O. y Abdala, A. A.;** 1986. Administración de una oxitetraciclina de larga acción a

- bovinos portadores crónicos de *Anaplasma marginale*. *Therios* 8: 209-213.
- Anziani, O.; Hadani, A.; Ford, C.; Guglielmone, A.; Bermúdez, A.; Mangold, A.; Suárez, C. y Tarabla, H.;** 1981. Observaciones de campo y laboratorio sobre la inoculación de bovinos Holando Argentino con una cepa de *Anaplasma marginale* modificada y atenuada. *Gac. Vet.* 43: 962-974.
- Anziani, O. S.; Tarabla, H. D.; Ford, A. C.; Galleto, C.;** 1987. Vaccination with *Anaplasma centrale*: response after an experimental challenge with *Anaplasma marginale*. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 19: 83-87.
- Babes, V.;** 1888. Sur l'hémoglobinurie bacterienne de boeufs. *C. P. Acad. Scie.* 107: 692.
- Bermúdez, A. C.; Gómez, M. R.; Hadani, A.; Mangold, A. J.; Ríos, L. G. de, y Guglielmone, A. A.;** 1987. Evaluación preliminar del diminazene como quimio-profiláctico de la babesiosis por *Babesia bovis* (= *B. argentina*) a novillos Holando Argentino. *Rev. Med. Vet.* 68: 304-307.
- Boynton, W. H.;** 1932. Further investigations on anaplasmosis. *Cornell Vet.* 22: 10-28.
- Brock, W. E.; Kliever, I. O. and Pearson, C. C.;** 1965. A vaccine for anaplasmosis. *J. A. V. M. A.* 147: 948-951.
- Cafrune, M. M.;** 1993. Evaluación de la dinámica de la infección de huevos de *Boophilus microplus* por *Babesia bovis* bajo condiciones experimentales. Tesis. Univ. Nac. de Salta. pp. 111.
- Callow, L. L.;** 1964. Strain immunity in babesiosis. *Nature.* 204: 1213-1214.
- Callow, L. L.;** 1968. The infection of *Boophilus microplus* with *Babesia bigemina*. *Parasitol.* 58: 663-670.
- Callow, L. L.;** 1977. Vaccination against bovine babesiosis in Australia. Workshop on Hemoparasites (Babesiosis and anaplasmosis). E. A. Wells (Ed). Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. March 1975. Series CE-12 pp 63-71.
- Callow, L. L. and McGregor, W.;** 1970. The effect of imidocarb against *Babesia argentina* and *Babesia bigemina* infections of cattle. *Aust. Vet. J.* 46: 195-200.
- Callow, L. L.; McGregor, W.; Parker, R. J. and Dalgliesh, R. J.;** 1974a. The immunity of cattle to *Babesia argentina* after drug sterilization of infections of varying duration. *Aust. Vet. J.* 50: 6-11.
- Callow, L. L.; McGregor, W.; Parker, R. J. and Dalgliesh, R. J.;** 1974b. Immunity of cattle to *Babesia bigemina* following its elimination from the host, with observations on antibody levels detected by the indirect fluorescent antibody test. *Aust. Vet. J.* 50: 12-15.
- Callow, L. L. and Mellors, L. T.;** 1966. A new vaccine for *Babesia argentina* infection prepared in splenectomised calves. *Aust. Vet. J.* 42: 464-465.
- Callow, L. L.; Quiroga, Q. C. & McCosker, P. J.;** 1976. Serological comparison of Australian and South American *Babesia argentina* and *Anaplasma marginale*. *Int. J. Parasitol.* 6: 307-310.
- Callow, L. L. and Stewart, N. P.;** 1978. Immunosuppression by *Babesia bovis* against its tick vector, *Boophilus microplus*. *Nature.* 272: 818-819.
- Callow, L. L. and Tammemagi, L.;** 1967. Vaccination against bovine babesiosis. *Aust. Vet. J.* 43: 249-256.
- Connell, M. L. and Hall, W. T. K.;** 1972. Transmission of *Anaplasma marginale* by the cattle tick *Boophilus microplus*. *Aust. Vet. J.* 48: 477.
- Curnow, J. A.;** 1973a. Studies on antigenic changes and strain difference in *Babesia argentina* infections. *Anat. Vet. J.* 49: 279-283.
- Curnow, J. A.;** 1973b. The use of slide agglutination test to demonstrate antigenic differences between *Babesia bigemina* parasites. *Aust. Vet. J.* 49: 290-293.
- Dalgliesh, R. J.; Callow, L. L.; Mellors, L. T. and McGregor, W.;** 1981. Development of a highly infective *Babesia bigemina* vaccine of reduced virulence. *Aust. Vet. J.* 57: 8-11.

- Dalgliesh, R. J. & Stewart, N. P.;** 1976. Stimulation of the development of infective *Babesia bovis* (= *Babesia argentina*) in unfed *Boophilus microplus* larvae. *Aust. Vet. J.* 54: 543.
- Dalgliesh, R. J. & Stewart, N. P.;** 1977. Tolerance to imidocarb induced experimentally in tick transmitted *Babesia argentina*. *Aust. Vet. J.* 53: 176-180.
- Dalgliesh, R. J. & Stewart, N. P.;** 1979. Observations on the morphology and infectivity for cattle of *Babesia bovis* parasites in unfed *Boophilus microplus* larvae after incubation at various temperatures. *Int. J. Parasitol.* 9: 115-120.
- Dalgliesh, R. J. & Stewart, N. P.;** 1982. Some effects of time, temperature and feeding on infection rates with *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in *Boophilus microplus* larvae. *Int. J. Parasitol.* 12: 323-326.
- Dalgliesh, R. J. & Stewart, N. P.;** 1983. The use of tick transmission by *Boophilus microplus* to isolate pure strains of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale* from cattle with mixed infections. *Vet. Parasitol.* 13: 317-323.
- Dalgliesh, R. J.; Stewart, N. P. and Callow, L. L.;** 1978. Transmission of *Babesia bigemina* by transfer of adult male *Boophilus microplus*. *Aust. Vet. J.* 54: 205-206.
- Dennis, R. A.; O'Hara, P. J.; Young, M. F. and Dorris, K. D.;** 1970. Neonatal isoerythrolysis anemia and icterus of calves. *J. A. V. M. A.* 156: 1861-1869.
- Denning, H. K.;** 1974. Chemotherapy of protozoal tick-borne diseases. *Bull. Off. Int. Epizoot* 81: 103-121.
- Descaseaux, J.;** 1924. L' anaplasmosse au Chili. *Bull. Soc. Path. Exot.* 17: 639-642.
- De Vos, A. J.;** 1979. Epidemiology and control of bovine babesiosis in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 50: 357-362.
- De Vos, A. J.; Dalgliesh, R. J. and McGregor, W.;** 1986. Effect of imidocarb dipropionate prophylaxis on the infectivity and immunogenicity of a *Babesia bovis* vaccine in cattle. *Aust. Vet. J.* 63: 174-177.
- Echaide, I. E.; Echaide, S. T. de; Mangold, A. J. and Guglielmone, A. A.;** 1993a. Live and soluble antigens from *in vitro* culture to vaccinate cattle against *Babesia bovis*. Proc. IX Int. Vet. Hemoparasite Dis. Conf. Mérida, Yucatán, México. Oct. 6-9, 1993.
- Echaide, I. E.; Echaide, S. T. de and Guglielmone, A. A.;** 1993b. Live and soluble antigens for cattle protection to *Babesia bigemina*. *Vet. Parasitol.* 51: 35-40.
- Erp, E. E.; Gravely, S. M.; Smith, R. D.; Ristic, M.; Osorno, B. M. and Carson, C. A.;** 1978. Growth of *Babesia bovis* in bovine erythrocytes cultures. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 27: 1061-1064.
- FAO;** 1988. Acción y toxicidad de los fármacos utilizados contra la *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*. *Veterinaria* 24: 15-24.
- Franklin, T. E. and Redmond, H. E.;** 1958. Observations on the morphology of *Anaplasma marginale* with reference to projections or tails. *Am. J. Vet. Res.* 19: 252-253.
- Friedhoff, K. T.;** 1988. Transmission of Babesia. Chapter 2. In: Babesiosis of Domestic Animals and Man. M. Ristic (Ed.) CRC Press, Boca Raton, Florida. p. 23-52.
- Friedhoff, K. T. & Smith, R. D.;** 1981. Transmission of Babesia by ticks. In: Babesiosis. Chapter 9. Ristic, M. & Kreier, J. P. Editors. Academic Press, NY. 267-321.
- Gómez de Farías, J.;** 1928. Estudios sobre la Tristeza de los bovinos. Piroplasmosis y anaplasmosis. *Rev. Inst. Bacteriol. Dep. Nac. Hig. (Arg.)* 4: 429-469.
- Goldman, M. & Rosemberg, A. S.;** 1974. Immunofluorescence studies of the small Babesia species of cattle from different geographical areas. *Res. Vet. Scie.* 16: 351-354.
- Goodger, B. V.; Wright, I. G. and Mahoney, D. F.;** 1981. Changes in conglutinin, immunoconglutinin complement C3 and fibronectin concentrations in cattle acutely infected with *Babesia bovis*. *J. Exp. Biol. Med. Sci.* 59: 531.
- Goodger, B. V.; Wright, I. G. and Waltisbuhl, D. H.;** 1983. The lysate from bovine erythrocytes infected with *Babesia bovis*. Analysis of antigens and a report on their immunogenicity when polymerized with glutaraldehyde. *Z. Parasitenkd.* 69: 473-482.

- Guglielmono, A. A.;** 1991. Epizootiología de las enfermedades hemoparasitarias de los vacunos. FAO RLAC/91/31 GAN-35 pp 54.
- Guglielmono, A. A.; Bermúdez, A.; Hadani, A.; Mangold, A. J.; Vanzini, V. R.; Luciani, C.; Ríos, L. G. de y Galletto, C.;** 1981. Aislamiento de una cepa de *Babesia bigemina* por la parasitación de un ternero con *Boophilus microplus* adultos. *Gac. Vet.* 43: 341-347.
- Guglielmono, A. A. y Mangold, A. J.;** Anaplasmosis. Capítulo III. Epizootiología. Ed. Hemisferio Sur (en prensa).
- Guglielmono, A. A.; Mangold, A. J.; Bermúdez, A. C. y Hadani, A.;** 1985. Detección de merozoítos grandes (vermiculos) de *Babesia* en teleoginas de *Boophilus microplus* alimentadas sobre terneros con diferentes niveles de parasitemia de *Babesia bigemina* y *Babesia bovis* (*Babesia argentina*). *Rev. Iber. Parasitol.* 45: 303-311.
- Guglielmono, A. A.; Mangold, A. J.; Aguirre, D. H.; Gaido, A. B. and De Olsen, A. A.;** 1989. The effect of infection by *Babesia* sp. on some biological parameters of engorged females of *Boophilus microplus*. *Folia Parasitol.* 36: 1-6.
- Guglielmono, A. A.; Mangold, A. J.; Gaido, A. B. y Aguirre, D. H.;** 1990. Parasitismo natural de bovinos Hereford, Criolla y Nelore y sus cruzas Hereford x Nelore. *Rev. Med. Vet.* 71: 108-116.
- Habich, E. G.; Ríos, L. G. de; Hadani, A.; Condron, R. S.; De Haan, L. y Broadbent, D. W.;** 1982. Estudios sobre sanidad animal en el noroeste argentino. VIII. Prevalencia de animales con anticuerpos séricos contra *Babesia bovis* y *Anaplasma marginale* en tambos de Catamarca, Salta y Tucumán. *Rev. Méd. Vet. Buenos Aires, Argentina*, 61: 9-19.
- Hadani, A.; Guglielmono, A. A.; Ríos, L. G. de; Bermúdez, A.; Mangold, A. J. and Barnett, S. F.;** 1982. Use of cerebellar brain smears in the diagnosis of babesiosis (*Babesia bovis*) in cattle. *Trop. Anim. Health Prod.* 14: 242-246.
- Hall, W. T. K.;** 1960. The immunity of calves to *Babesia argentina* infection. *Aust. Vet. J.* 36: 361-366.
- Hall, W. T. K.;** 1963. The immunity of calves to tick-transmitted *Babesia argentina* infection. *Aust. Vet. J.* 39: 386-389.
- Hawkins, J. A.; Love, J. N. and Hidalgo, R. J.;** 1982. Mechanical transmission of anaplasmosis by tabanids (*Diptera: Tabanidae*). *Am. J. Vet. Res.* 43: 732-734.
- Hewetson, R. W.;** 1968. Resistance of cattle to cattle tick *Boophilus microplus*. II. The inheritance of resistance to experimental infestations. *Aust. J. Agric. Res.* 19: 497-505.
- Hilts, W. G.;** 1938. Anaplasmosis in cattle following dehorning. *Cornell Vet.* 18: 330.
- Hoffman, G.; Schein, E. and Muller, B.;** 1971. Citado por Freidhoff, K. T. and Smith, R. D.; 1981. In: Babesiosis, Ch. 9. Ristic, M. & Kreier, J. P. Editors. Academic Press, N. Y.; 267-321.
- Howell, D. E.; Stiles, G. W. and Moe, L. E.;** 1940. Citado por Stiles G. W., Circular No. 154, Feb. 1931. Revised. Aug. 1946. U. S. D. A. Washington DC pp 1-11.
- Howell, D. E.; Sanborn, C. E.; Rozeboom, L. E.; Stiles, G. W. and Moe, L. H.;** 1941. The transmission of anaplasmosis by horse flies (*Tabanidae*). *Bull. Okl. Agric. Exp. Stn.* 11: 5-23.
- Howell, D. E.;** 1957. Anaplasmosis in cattle. Porc. 3rd. Natl. Conf. Manhattan, Kansas pp 14-16.
- Ibáñez, E. A.; Giménez, L.; Matta, H. y Zenocrati, L. G. R.;** 1978. Posibilidades de esterilización en piroplasmosis equina. *Gac. Vet.* 40: 563-564.
- Jansen, B. C.;** 1953. The parasiticidal effect of Aureomycin (Lederle) on *Babesia equi* (Laveran 1899) in splenectomized donkeys. *Onderst. J. Vet. Res.* 26: 175-182.
- James, M. A.; Levy, M. G. and Ristic, M.;** 1981. Isolation and partial characterization of

- culture-derived soluble *Babesia bovis* antigens. *Infect. Immunol.* 31: 358-361.
- Johnston, L. A. Y.;** 1967. Epidemiology of bovine babesiosis in Northern Queensland. *Aust. Vet. J.* 43: 427-432.
- Johnston, L. A. Y.; Kemp, D. H. and Pearson, R. D.;** 1986. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: effects of induced immunity on tick populations. *Int. J. Parasitol.* 16: 27-34.
- Kocan, K. M.; Hair, J. A. and Ewing, S. A.;** 1980a. Ultraestructure of *Anaplasma marginale* Theiler in *Dermacentor andersoni* Stiles and *Dermacentor variabilis* (Say). *Am. J. Vet. Res.* 41: 1966-76.
- Kocan, K. M.; Hsu, K. C.; Hair, J. A. and Ewing, S. A.;** 1980b. Demostration of *Anaplasma marginale* Theiler in *Dermacentor variabilis* (Say) by ferriting-conyugated antibody technique. *Am. J. Vet. Res.* 41: 1977-1981.
- Kocan, K. M.; Hair, J. A.; Ewing, S. A. and Stratton, L. G.;** 1981. Transmission of *Anaplasma marginale* Theiler by *Dermacentor andersoni* (Stiles) and *Dermacentor variabilis* (Say). *Am. J. Vet. Res.* 42: 15-18.
- Kocan, K. M.; Ewing, S. A.; Hair, J. A. and Barrow, S. J.;** 1984. Demostration of the inclusion appendage of *Anaplasma marginale* in nymphal *Dermacentor andersoni*. *Am. J. Vet. Res.* 45: 1800-1807.
- Kreier, J. P. and Ristic, M.;** 1963a. Anaplasmosis. X. Morphologic characteristics of the parasites present in the blood of calves infected with the Oregon strain of *Anaplasma marginale*. *Am. J. Vet. Res.* 24: 676-687.
- Kreier, J. P. and Ristic, M.;** 1963b. Anaplasmosis. XI. Immunoserologic characteristics of the parasites present in the blood of calves infected with the Oregon strain of *Anaplasma marginale*. *Am. J. Vet. Res.* 24: 688-696.
- Kreier, J. P. and Ristic, M.;** 1963c. Anaplasmosis. XII. The growth in deer and sheep of the parasites present in the blood of calves infected with the Oregon strain of *Anaplasma marginale*. *Am. J. Vet. Res.* 24: 697-702.
- Kuttler, K. L.;** 1967. Serological relationship of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma centrale* as measured by the complement fixation and agglutination tests. *Res. Vet. Sci.* 8: 207-211.
- Kuttler, K. L.;** 1981. Chemotherapy of Babesiosis: a review. In: Babesiosis. Chapter 3. M. Ristic and J. P. Kreier. Eds. Academic Press N. Y. 65-85.
- Kuttler, K. L.;** 1982. Examen de las técnicas de inmunización contra anaplasmosis y babesiosis. *Salud Animal. Publicación científica N° 1 IICA, Costa Rica.* p. 280-301.
- Kuttler, K. L.;** 1984. Anaplasma infections in wilds and domestics ruminants: a review. *J. Wildlife Dis.* 20: 12-20.
- Kuttler, K. L.;** 1988. World-wide impact of babesiosis. In: Babesiosis of domestics animals and man. Chapter I. M. Ristic Ed. CRC Press. Boca Raton, Florida. 1-22.
- Kuttler, K. L. and Johnson, L. W.;** 1980. Immunization of cattle with *Babesia bigemina* antigen in Freund's complete adjuvant. *Am. J. Vet. Res.* 41: 536-538.
- Kuttler, K. L.; Levy, M. G.; James, M. A. and Ristic, M.;** 1982. Efficacy of a nonviable culture-derived *Babesia bovis* vaccine. *Am. J. Vet. Res.*, 43: 281-284.
- Kuttler, K. L. and Simpson, J. E.;** 1978. Relative efficacy of two oxytetracycline formulations and doxycycline in the treatment of acute anaplasmosis in splenectomized calves. *Am. J. Vet. Res.* 39: 347-349.
- Leatch, G.;** 1973. Preliminary studies on the transmission of *Anaplasma marginale* by *Boophilus microplus*. *Aust. Vet. J.* 49: 16-19.
- Levine, N. D.; Corliss, J. O; Cox, F. E. G.; Deroux, G. et al;** 1980. A newly revised classification of the Sporozoa. *J. Protozool.* 27: 37-58.
- Levy, M. G.; Clabaugh, G. and Ristic, M.;** 1982. Age resistance in bovine babesiosis: role of blood factors in resistance to *Babesia bovis*. *Infect. Immunol.* 37: 1127-1131.

- Levy, M. G. and Ristic, M.;** 1980. *Babesia bovis*: continuous cultivation in a microaerophilus stationary phase culture. *Science* 207: 1218-1220.
- Lignières, J.;** 1903. La piroplasmose bovine. Nouvelles recherches et observations sur la multiplicité des parasites, leur évolution, la transmission naturelle de la maladie et vaccination. *Arch. Parasitol.* 7: 398.
- Lignières, J.;** 1910. La profilaxie et la pathologie des maladies protozaires (piroplasmoses, trypanosomoses, etc.) avec démonstration des parasites spécifiques et des animaux transmetteurs (tiques, moustiques, etc.). Trans. 9th Int. Vet. Congr. (The Hague, 1901) 1. Citado por: Kuttler, K. (1988). CRC Press. Chapter I, Boca Raton, Florida. 1-22.
- Lignières, J.;** 1920. Piroplasmes, Anaplasmes y granulaciones cromáticas. *Rev. Med. Vet.* 5: 61-68.
- Lombardero, O. J.; Schiffo, H. P. y Bettinotti, C. M.;** 1978. "Tristeza" y Premunición. Primer simposio de actualización veterinaria del Nordeste. Corrientes, octubre 1975. *Veterinaria* 2: 7-38.
- Magonigle, R. A. and Newby, T. J.;** 1982. Elimination of naturally acquired chronic *Anaplasma marginale* infections with long-acting oxytetracycline injectable. *Am. J. Vet. Res.* 43: 2170-2172.
- Magonigle, R. A.; Simpson, J. E. and Frank, F. W.;** 1978. Efficacy of a new oxytetracycline formulation against clinical anaplasmosis. *Am. J. Vet. Res.* 39: 1407-1410.
- Mahoney, D. F. & Saal, J. R.;** 1961. Bovine babesiosis: Thick blood films for the detection of parasitemia. *Aust. Vet. J.* 37: 44-47.
- Mahoney, D. F.;** 1962. Epidemiology of babesiosis in cattle. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 24: 310-313.
- Mahoney, D. F.;** 1967. Bovine babesiosis. The immunization of cattle with killed *Babesia argentina*. *Exp. Parasitol.* 20: 125-129.
- Mahoney, D. F.;** 1969. Bovine babesiosis: A study of factors concerned in transmission. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 6: 1-14.
- Mahoney, D. F.;** 1977. *Babesia* of domestic animals. In: Parasitic Protozoa. Vol. 4, Ed. J. P. Kreier. Academic Press N. Y. 1-52.
- Mahoney, D. F. and Mirre, G. B.;** 1971. Bovine babesiosis: estimation of infection rates in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 65: 309-317.
- Mahoney, D. F. and Mirre, G. B.;** 1974. *Babesia argentina*: the infection of splenectomised calves with extracts of larval ticks (*Boophilus microplus*). *Res. Vet. Sci.* 16: 112-114.
- Mahoney, D. F. and Mirre, G. B.;** 1979. A note on the transmission of *Babesia bovis* (Syn. *Babesia argentina*) by the one-host tick, *Boophilus microplus*. *Res. Vet. Sci.* 26: 253-254.
- Mahoney, D. F. and Ross, D. R.;** 1972. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. *Aust. Vet. J.* 48: 292-298.
- Mahoney, D. F. and Wright, I. G.;** 1976. *Babesia argentina*: Immunization of cattle with a killed antigen against infection with a heterologous strain. *Vet. Parasitol.* 2: 273-282.
- Mahoney, D. F.; Wright, I. G. and Mirre, G. B.;** 1973. Bovine babesiosis. The persistence of immunity to *Babesia argentina* and *Babesia bigemina* in calves (*Bos taurus*) after naturally acquired infection. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 67: 197-203.
- Mahoney, D. F.; Wright, I. G. and Goodger, B. V.;** 1981. Bovine babesiosis: the immunization of cattle with fractions of erythrocytes infected with *Babesia bovis* (Syn. *B. argentina*). *Vet. immunol. immunopathol.* 2: 145-156.
- Mangold, A. J.; Aguirre, D. H.; Bermúdez, A. C.; Kuhne, G. I. y Guglielmone, A. A.;** 1986. Infestaciones naturales de bovinos de raza Hereford, Criolla y Nelore con *Boophilus microplus*. *Vet. Arg.* 3: 238-246.

- McDonald, G.**; 1950a). The analysis of infection rates in diseases in which superinfections occurs. *Trop. Dis. Bull.* 47: 907-915.
- McDonald, G.**; 1950b. The analysis of malaria parasites rates in infants. *Trop. Dis. Bull.* 47: 915-937.
- Melhorn, H. and Schein, E.**; 1984. The piroplasms: life cycle and sexual stages. *Adv. Parasitol.* 23: 37.
- Moe, L. H.; Stiles, G. W. and Howell, D. E.**; 1940. Anaplasmosis transmitted by tipping horns of cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 97: 450-451.
- Montenegro-James, S.; Toro Benítez, M.; León, E.; López, R. and Ristic, M.**; 1985. Heterologous strain immunity in bovine babesiosis using a culture-derived *Babesia bovis* immunogen. *Vet. Parasitol.* 18: 321-337.
- Morris, H.; Martin, J. A. and Oglesby, W. T.**; 1936. *J. A. V. M. A.* 89: 169-175. Citado por: Ristic, M.; 1968. Infections blood diseases of man and animals. Weinman, D.; Ristic, M. Eds. Vol. II. Ch. 23: 473-542.
- Newby, T. J.**; 1983. Long-acting oxytetracycline injectable for the elimination of chronic bovine anaplasmosis under field conditions. *Agri-Practice*, 4: 5-7.
- Norton, J. M; Parker, R. J. and Forbes-Faulkner, J. C.**; 1983. Neonatal anaplasmosis in a calf. *Aust. Vet. J.* 60: 348.
- O' Neil, A. R.**; 1979. Blood transfusions in cattle with particular reference to "Redwater" (Babesiosis) *Ir. Vet. J.* 33: 1. Citado por: Kuttler, K. L.; Chemotherapy of babesiosis. Ch. 14. In: Babesiosis of Domestic Animals and Man. Ristic, M. (Ed). CRC Press. Florida, USA (1988), 227-243.
- Palmer, G. H.; Barbet, A. F.; Musoke, A. J.; Rurangirwa, F.; Pipano, E.; Skhap, V.; Davis, W. C. and McGuire, T. C.**; 1988. Recognition of conserved surface protein epitopes on *Anaplasma centrale* and *Anaplasma marginale* isolates from Israel, Kenya and the United States. *Int. J. Parasitol.* 18: 33-38.
- Peviani, F.**; 1956. *Anaplasma centrale* en la premunición contra *Anaplasma marginale*. *Anales Soc. Rural Argentina* 90: 474-478.
- Pipano, E. and Hadani, A.**; 1984. Control of bovine babesiosis. In: Malaria and Babesiosis. Edited by Ristic, M.; Amboise-Thomas, P. and Kreier, J. P. Martinus Nijhoff Publishers. 15: 262-303.
- Pipano, E.; Kriegel, Y. and Markovics, A.**; 1985a. Oxytetracycline-induced resistance to *Babesia bovis* infection in splenectomised calves. *Trop. Anim. Health Prod.* 17: 153-154.
- Pipano, E.; Kriegel, Y.; Markovics, A.; Rubinstein, M. and Frank, M.**; 1985b. Mitigation of the response of Friesan calves to live *Babesia bovis* vaccine by treatment with long acting oxytetracycline. *Vet. Rec.* 117: 413-414.
- Pipano, E.; Markovics, A.; Kriegel, Y.; Frank, M. and Fish, L.**; 1987. Use of long-acting oxytetracycline in the immunization of cattle against *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. *Res. Vet. Scie.* 43: 64-67.
- Potgieter, F. T.**; 1979. Epizootiology and control of Anaplasmosis in South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 50: 367-372.
- Potgieter, F. T.**; 1981. Tick transmission of anaplasmosis in South Africa. In: Tick Biology and Control. Proc. Int. Conf. Grahamstonen, S. A. Tick. Res. Unit Rhodes Univers. pp 53-56.
- Potgieter, F. T.; Kocan, K. M.; McNew, R. W. and Ewing, S. A.**; 1983. Demonstration of colonies of *Anaplasma marginale* in the midgut of *Rhipicephalus simus*. *Am. J. Vet. Res.* 44: 2256-2261.
- Potgieter, F. T. and Van Rensburg, L.**; 1983. Infectivity virulence and immunogenicity of *Anaplasma centrale* live blood vaccine. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 50: 29-31.
- Potgieter, F. T. and Van Rensburg, L.**; 1987. The persistence of colostral *Anaplasma*

- antibodies* and incidence of in utero transmission of Anaplasma infections in calves under laboratory conditions. *Onderstepoort: J. Vet. Res.* 54: 557-560.
- Purnell, R. E. and Van Der Merwe, L.;** 1983. The use of terramycin L. A. for the protection of susceptible calves moved into an area of South Africa where redwater and heartwater are endemic. Proceedings of the 2nd. International Conference on Malaria and Babesiosis. Annecy, France. p. 169.
- Quevedo, J. M.;** 1914. Notas sobre la Tristeza. *Rev. Centro Estud. Agron. y Vet. Univ. de Buenos Aires* 7: 10-16.
- Rees, C. W.;** 1930. Experimental transmission of bovine anaplasmosis and piroplasmosis by means of infected lancet. *North Am. Vet.* 11: 17-20.
- Riek, R. F.;** 1964. The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith and Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Aust. J. Agric. Res.* 15: 802-821.
- Riek, R. F.;** 1966. The life cycle of *Babesia argentina* (Lignières, 1903) (Sporozoa: Piroplasmidea) in the tick vector *Boophilus microplus*. *Aust. J. Agric. Res.* 17: 247-254.
- Ríos, L. G. de; Pipano, E.; Mangold, A. J.; Aguirre, D. H.; Gaido, A. B. y Guglielmone, A. A.;** 1988. *Anaplasma marginale* con apéndices aislados en el noroeste argentino. *Rev. Méd. Vet.* 69: 248-252.
- Ríos, L. G. de; Aguirre, D. H. et Gaido, A. B.;** 1990. Infection naturelle par *Anaplasma marginale* chez deux troupeaux de bovins avec different niveaux d'infestation par la tique *Boophilus microplus*. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.* 43: 447-452.
- Ristic, M.;** 1968. Anaplasmosis. In: Infections blood diseases of Man and animals. Weinman, D.; Ristic, M. Eds. Vol. II Ch. 23. pp 473-542.
- Ristic, M. Kreier, J. P.;** 1984. Family III: Anaplasmataceae. In: Krieg, N. R. and Holt, J. G. Ed. Bergey's Manual of Systematic bacteriology. Vol 1. Williams & Wilkins Co., Baltimore, USA, pp 719-722.
- Roby, T. O.;** 1972. The inhibitory effect of imidocarb on experimental anaplasmosis in splenectomized calves. *Res. Vet. Sci.* 13: 519-522.
- Roby, T. O.;** 1973. The therapy of bovine anaplasmosis with imidocarb. Proc. 6th Natl. Anaplasmosis Conf. Las Vegas, Nevada, p. 100-103.
- Roby, T. O. and Mazzola, V.;** 1972. Elimination of carrier state of bovine anaplasmosis with imidocarb. *Am. J. Vet. Res.* 33: 1931-1933.
- Roby, T. O.; Simpson, J. E. and Amerault, T. E.;** 1978. Elimination of the carrier state of bovine anaplasmosis with a long acting oxytetracycline. *Am. J. Vet. Res.* 39: 1115-1116.
- Rosembusch, F.;** 1927. Estudios sobre la tristeza. Evolución del *Piroplasma bigeminum* en la garrapata *Boophilus microplus* (Can. Lah.). 2ª Reunión de la Sociedad de Medicina Veterinaria. Buenos Aires. 239-252.
- Rosembusch, F. y González, R.;** 1924. Garrapatización y Tristeza. *Rev. Med. Vet.* 6: 684-703.
- Samish, M.; Krigel, Y.; Pipano, E.; Bin, H. and Hadani, A.;** 1986. The transmission of anaplasmosis to cattle by the tick *Boophilus microplus*. *Isr. J. Vet. Med.* 42: 58-59.
- Sanborn, C. E.; Stiles, G. W.; Moe, L. H. and Orr, H. W.;** (1926-1930). Transmission of anaplasmosis by flies. Rep. Okl. Agric. Exp. Stn. pp. 254-256.
- Sanborn, C. E.; Stiles, G. W. and Moe, L. H.;** 1932. Preliminary experiments in the transmission of anaplasmosis by horse flies. Bull. Oklahoma Agric. Exp. Stn. 204. pp 15.
- Sanders, D. A.;** 1933. Notes and the experimental transmission of bovine anaplasmosis in Florida. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 83: 799-805.
- Schalm, O. W.; Osebold, J. W. and Murphy, F. A.;** 1962. Observations with New methylene blue stains as applied to *Anaplasma marginale*. *Calif. Vet.* 16: 36-37.
- Sergent, E. D.; Parrot, L. and Donatien, A.;** 1924. Une question de terminologie: Immunizer ou premunir. *Bulletin Société Pathologie Exotique.* 17: 37-38.

- Sergent, E. D. and Sergent, E. T.;** 1956. Historique du concept de l'immunité relative ou prémunition correlative d'une infection latente. *Arch. Inst. Pasteur d'Algerie*. 34: 52-89. Citado por Pipano, E. and Hadani, A.; 1984.
- Simpson, C. F.;** 1975. Morphologic alterations of *Anaplasma marginale* in calves after treatments with oxytetracycline. *Am. J. Vet. Res.* 36: 1443-1446.
- Smith, T.;** 1889. Preliminary observations on the microorganism of Texas Fever. *Med. News Philadelphia*. 55: 689. Citado por: Kuttler, K.; 1988. CRC Press. Chapter I, Boca Raton, Florida. 1-22.
- Smith, R. D.; James, M. A.; Ristic, M.; Aikawa, M. and Vega y Murgia, C.;** 1981. Bovine babesiosis: protection of cattle with culture-derived soluble *Babesia bovis* antigen. *Science*, 212: 335-338.
- Smith, T. and Kilborne, F. L.;** 1893. Investigations into the nature, causation and prevention of Texas southern cattle fever. *Bull. Bur. Anim. Ind. U. S. D. A.* 1: 1.
- Stich, R.; Kocan, K. M.; Palmer, G. H.; Ewing, S. A.; Hair, J. A. and Barrow, S. J.;** 1989. Transstadial and attempted transovarial transmission of *Anaplasma marginale* by *Dermacentor variabilis*. *Am. J. Vet. Res.* 50: 1377-1380.
- Stiles, G. W.;** 1936. Mechanical transmission of anaplasmosis by unclean instruments. *North Am. Vet.* 17: 39-41.
- Stiles, G. W.;** 1946. Anaplasmosis in cattle. Circular N° 154, Feb. 1931, Revised Aug. 1946. USDA, pp. 1-11.
- Stiller, D. and Johnson, L. W.;** 1983. Experimental transmission of *Anaplasma marginale* Theiler by adults of *Dermacentor albipictus* (Packard) and *Dermacentor occidentalis* Marx (Acari: Ixodidae), Proceedings. 87th Annu. Meet. U. S. Anim. Health Assoc. 59-65.
- Stiller, D.; Kocan, K. M.; Edwards, W.; Ewing, S. A.; Hair, J. A. and Barrow, S. J.;** 1989. Detection of colonies of *Anaplasma marginale* in salivary glands of three *Dermacentor spp* infected as nymphs or adults. *Am. J. Vet. Res.* 50: 1381-1385.
- Sutherst, R. W. and Utech, K. B. W.;** 1981. Controlling livestock parasites with host resistance. In: CRC Handbook of Pest Management in Agriculture. Vol. 1. Ed. Pimentel, Boca Raton, Florida. USA CRC Press Inc. pp 385-407. (citado por Guglielmo, 1991).
- Swift, B. L. and Paumer, R. J.;** 1976. Vertical transmission of *Anaplasma marginale* in cattle. *Theriogenology* 6: 515-519.
- Swift, B. L.; Settlemire, J. J. and Thoms, G. M.;** 1978. Inoculation of pregnant beef heifers at midgestation with *Anaplasma marginale*. *Theriogenology* 10: 481-485.
- Swift, B. L. and Thomas, G. M.;** 1983. Bovine anaplasmosis: elimination of the carrier state with injectable long-acting oxytetracycline. *J. A. V. M. A.* 183: 63-65.
- Taylor, S. M.; Elliot, C. T. and Kenny, J.;** 1986. Inhibition of *Babesia divergens* in cattle by oxytetracycline. *Vet. Rec.* 118: 98-102.
- Taylor, R. J. and McHardy, N.;** 1979. Preliminary observations on the combined use of imidocarb and *Babesia bovis* vaccine in cattle. *J. of S. A. Vet. Ass.* 50: 326-329.
- Teclaw, R. F.; Romo, S.; García, Z. and Wagner, G. G.;** 1985. A serological survey for anaplasmosis in cattle in the Mexican States of Nuevo Leon, Tamaulipas and Coahuila using the card test. *Prev. Vet. Med.* 3: 417-425.
- Theiler, A.;** 1910. "*Anaplasma marginale*". The marginal points in the blood of cattle suffering from specific disease. *Govt. Vet. Bacteriol., Transvaal. South Africa.* pp 6-64.
- Theiler, A.;** 1911. Further investigations into anaplasmosis of South African cattle. *So. Afr. Dept. Agric., First Rep. of the Div. of Vet. Res.* 7-46.
- Theiler, A.;** 1912. Übertragung der Anaplasmosis mittels Zecken. *Z. Infektions Krankh., Parasit. Krankh. Hyg. Haustiere* 12: 105-106.
- Thompson, K. C.; Todorovic, R. A.; Mateus, G. and Adams, L. G.;** 1978. Methods to improve

- the health of cattle in the tropics: infections. *Trop. Anim. Health Prod.* 10: 75-81.
- Thompson, K. C. y Roa, J. C.** 1978. Transmisión de *Anaplasma marginale* por la garrapata *Boophilus microplus*. *Rev. ICA, Colombia* 13: 131-134.
- Timms, P.; Rodwell, B. J.; Stewart, N. P. and Barry, D. N.;** 1984. Immune response of cattle following vaccination with living and non-living *Babesia bovis* antigens. *Vet. Parasitol.* 16: 243-251.
- Todorovic, R. A.; González, E. F. and Adams, L. G.;** 1975. *Babesia bigemina*, *Babesia argentina* and *Anaplasma marginale*: coinfectious immunity in bovines. *Exp. Parasitol.* 37: 179-192.
- Uilemberg, G.;** 1970. Notes on babesiosis and anaplasmosis of bovines in Madagascar. III Treatments trials. *Rev. Elev. Med. Pays Trop.* 23: 15-41.
- Vanzini, V. R.;** 1985. Métodos de diagnóstico e inmunización para anaplasmosis y babesiosis bovina aplicables por el veterinario rural. Xº Congreso Panamericano de Veterinaria y Zootécnica. Buenos Aires. Res. Nº 083.
- Vanzini, V. R.;** 1990. Immunological response to live and non-viable *Babesia bovis* vaccine. Thesis. The Hebrew University. Jerusalem, Israel. pp 49.
- Vanzini, V. R.;** 1992. Control de babesiosis y anaplasmosis en áreas endémicas. Informe Actividad Priorizada. INTA-Mercedes.
- Vanzini, V. R. y Ramírez, L. M.;** 1993. Poder inmunógeno de dos cepas atenuadas de *Babesia bovis* en bovinos Hereford. *Rev. Méd. Vet.* 74: 58-62.
- Vanzini, V. R.; S. de Fere, G. R.; Zurbriggen, M. A.; Homse, A.; D. de Benítez, M. G. y Meana Colodrero, D.;** 1984. Aislamiento de una cepa de *Anaplasma centrale* en la provincia de Corrientes, Argentina. *Veterinaria Argentina.* 1: 673-677.
- Vanzini, V. R.; Zurbriggen, M. A.; Ramírez, L. M.; Draghi de Benítez, M. G.; Homse, A. C.; Hadani, A. y Somma de Fere, G. R.;** 1988. Actividad de la oxitetraciclina de acción prolongada sobre *Babesia bovis* en terneros. *Vet. Arg.* 5: 402-410.
- Vega, C. A.; Buening, G. M.; Green, T. J. and Carson, C. A.;** 1985. *In vitro* cultivation of *Babesia bigemina*. *Am. J. Vet. Res.* 46: 416-420.
- Willadsen, P.;** 1980. Immunity to ticks. *Adv. Parasitol.* 18: 293-313.
- Willadsen, P.; Riding, G.; McKenna, R. V.; Kemp, D. H.; Tellam, R. L.; Nielsen, J. N.; Lahnstein, J.; Cobon, G. S. and Gough, J. M.;** 1989. Immunologic control of a parasitic arthropod. Identification of a protective antigen from *Boophilus microplus*. *J. Immunol.* 143: 1346-1351.
- Wilson, A. J.; Parker, R.; Parker, M.; Hall, W. T. K. and Trueman, K. F.;** 1979. Chemotherapy of acute anaplasmosis. *Aust. Vet. J.* 55: 71-73.
- Wilson, J. S. and Trace, J. C.;** 1966. A new inactivated vaccine for bovine anaplasmosis. *Bull. Off. Int. Epiz.* 897-902.
- Wright, I. G.; White, M.; Tracey-Patte, P. D.; Donaldson, R. A.; Goodger, B. V.; Waltlsbuhl, D. J. and Mahoney, D. F.;** 1983. *Babesia bovis*: isolation of protective antigen using monoclonal antibodies. *Infect. Immun.* 41: 244-250.
- Wright, I. G. & Goodger, B. V.;** 1988. Pathogenesis of babesiosis. In: Babesiosis of domestic animals and man. Chapter 6. Ristic, M. (Ed). CRC Press, Boca Raton, Florida pp 99-118.
- Zaugg, J. L.;** 1985. Bovine anaplasmosis: transplacental transmission as it relates to stage of gestation. *Am. J. Vet. Res.* 46: 570-572.
- Zaugg, J. L. and Kuttler, K. L.;** 1984. Bovine anaplasmosis: in utero transmission and immunologic significance of ingested colostral antibodies. *Am. J. Vet. Res.* 45: 440-443.