UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Identificación molecular y factores asociados a infecciones por hemoparásitos en ganado bovino de la subregión Sierra de Tabasco, México.

Tesis

Que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL

Presenta:

M.V.Z. Abel Antulio Salazar Tapia

Directores:

Dr. Oswaldo Margarito Torres Chablé
Dra. Claudia Virginia Zaragoza Vera

Villahermosa, Tabasco, febrero de 2024

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

JEFATURA DE POSGRADO

Villahermosa, Tabasco a 14 de marzo de 2022
Of. No. 084/JP/2022
Asunto: Autorización de impresión de Tesis

C. ABEL ANTULIO SALAZAR TAPIA
EGRESADO DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN Y SALUD ANIMAL
P R E S E N T E

Por medio de la presente y de acuerdo con su solicitud de autorización de impresión de su trabajo bajo la modalidad de tesis, le informo que sobre la base del Artículo 77 del reglamento de estudios de Posgrado vigente 2022 de esta Universidad, y atendiendo a las indicaciones de su Comité Sinodal, esta Dirección a mi cargo, le autoriza la impresión de su tesis titulada: **"Identificación molecular y factores asociados a infecciones por hemoparásitos en ganado bovino de la subregión de la Sierra de Tabasco, México"**.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un afectuoso saludo.

A T E N T A M E N T E

U.J.A.T.
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN

MVZ. JORGE ALFREDO THOMAS TELLEZ
D I R E C T O R

c.c.p. Dr. Miguel Hernández Hernández – Jefe de Posgrado-DACA
RACG'MHH'emi

CARTA DE AUTORIZACIÓN

El que suscribe, Abel Antulio Salazar Tapia del programa de estudios de posgrado de la Maestría en Ciencias en Producción y Salud Animal, con número de matrícula 092C12001 adscrito a la División Académica de Ciencias Agropecuarias, manifiesto ser autor intelectual y titular de los Derechos de Autor del presente Trabajo de Tesis denominada "Identificación molecular y factores asociados a infecciones por hemoparásitos en ganado bovino de la subregión Sierra de Tabasco, México", y autorizo a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice el presente trabajo con fines Académicos y de Investigación ya sea de forma física o digital para su difusión y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la Ciudad de Villahermosa, Tabasco; a los dieciséis días del mes de marzo del año 2022.

ATENTAMENTE

Abel Antulio Salazar Tapia

Matricula: 092C12001

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN. 5

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. 7
1.2. JUSTIFICACIÓN. 8
1.3. OBJETIVO GENERAL. 10
1.3.1. Objetivos específicos. 10

2. REVISIÓN DE LITERATURA. 11

2.1. GÉNERO *ANAPLASMA*. 12
2.1.1. Descripción taxonómica. 12
2.1.2. Características microbiológicas. 12
2.2. ESPECIES DE *ANAPLASMA* QUE INFECTAN A LOS BOVINOS. 13
2.2.1. Anaplasma marginale. 14
2.2.2. Anaplasma centrale. 16
2.2.3. Anaplasma bovis. 16
2.2.4. Anaplasma phagocytophilum. 17
2.2.5. Anaplasma ovis. 17
2.3. GÉNERO *BABESIA*. 18
2.3.1. Descripción taxonómica. 18
2.3.2. Características del protozoario. 19
2.4. ESPECIES DE *BABESIA* QUE INFECTAN A LOS BOVINOS. 20
2.4.1. Babesia bovis. 20
2.4.2. Babesia bigemina. 21
2.4.3. Babesia microti. 22
2.4.4. Babesia divergens. 23
2.4.5. Babesia venatorum. 23
2.5. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS REPORTADAS PARA *ANAPLASMA* SPP. Y *BABESIA* SPP. EN ESTUDIOS RECIENTES. 24
2.6. TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *BABESIA* SPP. Y *ANAPLASMA* SPP. 26
2.6.1. Frotis sanguíneo. 26
2.6.2. Reacción en Cadena de la Polimerasa. 27

3. MATERIALES Y MÉTODOS. 29

3.1. ÁREA DE ESTUDIO 29
3.2. DETERMINACIONES EN GANADO BOVINO DE LA SUBREGIÓN SIERRA, TABASCO, MÉXICO. 30
3.2.1. Descripción del muestreo. 30
3.2.2. Clasificación de las variables colectadas mediante la encuesta. 30
3.2.3. Toma de muestra de sangre en los bovinos. 30
3.3. EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO A PARTIR DE SANGRE DE BOVINOS. 31
3.4. REACCIÓN DE PCR PARA IDENTIFICAR ADN DE *ANAPLASMA* SPP. Y *BABESIA* SPP. 31
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO. 32

4. RESULTADOS. 34

5. DISCUSIÓN. 39

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco México

6. CONCLUSIONES. 42
7. REFERENCIAS. 43

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Lista de Cuadros.

1.- Aspectos epidemiológicos reportadas para *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en estudios recientes……. 21

2.- Cebadores específicos para la identificación de las especies de *Babesia* y *Anaplasma* que infectan al ganado bovinos de la región Sierra de Tabasco…….. 33

3.- Datos generales de las unidades de producción pecuaria (UPP) empleadas en el presente estudio……... 34

4.- Evaluación de la asociación de las variables estudiadas a la infección causada por *A. marginale* en bovinos de la zona Sierra de Tabasco… 35

5.- Asociación de las variables estudiadas a la infección causada por *B. bovis* en bovinos de la zona Sierra de Tabasco…… 37

6.- Asociación de las variables estudiadas a la infección causada por *B. bigemina* en bovinos de la zona Sierra de Tabasco……. 38

Lista de figuras.

1.- Subregión Sierra del estado de Tabasco…… 29

2.- Gel de agarosa. Se observa el producto de la electroforesis en el diagnóstico de *Anaplasma marginal*…… 35

3.- Gel de agarosa. Se observa el producto de la electroforesis en el diagnóstico de *Babesia bovis*…… 36

4.- Gel de agarosa. Se observa el producto de la electroforesis en el diagnóstico de *Babesia bigemina*…… 37

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

1. INTRODUCCIÓN.

Existen entre los bovinos domésticos y salvajes enfermedades causadas por microorganismos hemoparásitos, las cuales son trasmitidas por vectores invertebrados. Entre estas enfermedades se encuentran las causadas por bacterias como *Anaplasma spp.*, por protozoarios como *Babesia spp.* y *Theileria spp.*, e inclusive las causadas por virus como el de la leucosis bovina (Verde, 2019). En México solo se han encontrado en la literatura casos reportados de anaplasmosis y babesiosis bovina (Bilgiç *et al*. 2013, Rodríguez-Vivas *et al*. 2017).

La anaplasmosis bovina y la babesiosis bovina son enfermedades infecciosas producidas por microorganismos intracelulares que infectan a los eritrocitos (González *et al*., 2019). Estos microorganismos son trasmitidos por ectoparásitos vectores, que infestan a los animales domésticos y salvajes, y en ocasiones a humanos (Zintl *et al*., 2014; González *et al*., 2019).

Los signos comunes que caracterizan ambas enfermedades son fiebre, anorexia, anemia, depresión, ictericia y en ocasiones la muerte. En infecciones por *Anaplasma spp.*, además de los signos en común, son evidentes la disminución en la producción de leche y pérdida de peso. Mientras en infecciones por *Babesia spp.*, además de los signos comunes se pueden también observar hemoglobinemia, hemoglobinuria, abortos y muerte (Jabbar *et al*., 2015). Sin embargo, se ha demostrado que ambas infecciones frecuentemente coexisten en un solo hospedador (Adjou-Moumouni *et al*., 2015).

La anaplasmosis es causada por una bacteria del orden de las rickettsias, pertenecientes al género *Anaplasma*. En el ganado bovino es causada más comúnmente por *Anaplasma marginale* y *Anaplasma centrale* (Mosby, 2010).

La babesiosis bovina es producida por microorganismos protozoarios pertenecientes al género *Babesia*. Actualmente, se han reportado seis especies: *B. bigemina*, *B. bovis*, *B. divergens*, *B. major*, *B. jakimovi*, *B. ovata* y *B. caballi* (Cuy-Chaparro *et al*., 2019). En América, *B. bovis* y *B. bigemina* han sido las

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

únicas reportadas en el continente. Estas dos especies de *Babesia* que infectan a los bovinos domésticos (*Bos taurus* y *Bos indicus*), también han sido reportadas en otras especies de rumiantes como el ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*), el bisonte americano (*Bison bison*), el búfalo de agua (*Bubalus bubalis*), y el reno (*Rangifer tarandus*) que habitan en grandes áreas de Norteamérica (Mosby, 2010).

La babesiosis bovina es una de las enfermedades trasmitidas por garrapatas de mayor importancia en el mundo debido a las pérdidas económicas que esta ocasiona con la disminución de la productividad del ganado, tratamiento de la enfermedad y la pérdida de animales que mueren por la infección (Mamoudou *et al*., 2017).

Las garrapatas consideradas vectores de anaplasmosis y babesiosis pertenecen a la familia *Ixodidae* y principalmente a los géneros *Dermacentor* y *Rhipicephalus*. De este último, el subgénero *Boophilus* (*B. annulatus, B. microplus* y *B. decoloratus*), es el mayormente identificado como vector del patógeno (Amorim *et al*., 2014).

Por lo anterior, las enfermedades provocadas por *Anaplasma spp.* y *Babesia spp.* en los bovinos se mencionan como enfermedades de bovinos trasmitidas por garrapatas (bovine tick-borne disease, en inglés) y se considera que tienen una distribución mundial (Bilgiç *et al*., 2013; Jabbar *et al*., 2015).

La ganadería bovina es la segunda actividad productiva de mayor importancia en México. Sin embargo, la mayor parte del país se encuentra dentro de las regiones de trópico húmedo y seco, en donde las condiciones ambientales existentes propician la proliferación de garrapatas vectores (INEGI 2017, SIAP 2019).

La magnitud del riesgo dependerá de la región geográfica, la presencia de los agentes etiológicos y vectores, las condiciones socioeconómicas de la unidad de producción y el manejo sanitario del hato (Iriso-Calle *et al*., 2017).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

La detección de los agentes etiológicos *de Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. mediante técnicas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) han contribuido significativamente en la identificación de infecciones y en investigaciones epidemiológicas que involucran vectores y hospederos en diversos ambientes debido a su mayor sensibilidad. Así también, la PCR y otras herramientas moleculares de diagnóstico pueden contribuir en la identificación de infecciones subclínicas de *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. (Mosqueda-Gualito *et al*., 2012; Amorim *et al*., 2014; Battilani *et al*., 2017).

El objetivo del presente estudio fue identificar molecularmente y describir los factores asociados a las infecciones causadas por *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en bovinos de la subregión Sierra de Tabasco.

1.1. Planteamiento del problema.

Las infecciones ocasionadas por *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en bovinos están presentes en el trópico mexicano, aunque su importancia ha sido relegada desde hace dos décadas (Rodríguez-Vivas *et al*., 2017). Estas infecciones provocan pérdidas económicas por aplicación de garrapaticidas, costos ocasionados por el tratamiento de las infecciones, disminución de la producción de carne y leche, y por muerte de animales infectados. Sin embargo, en México no existen datos confiables que contribuyan a calcular el daño económico de estas infecciones, debido a la falta de reportes y estudios que identifiquen infecciones clínicas y subclínicas, así como datos epidemiológicos en el ganado bovino (Rodríguez-Vivas *et al*., 2017).

Por otra parte, la presencia de estos patógenos en garrapatas con capacidad antropofílica genera un riesgo potencial de zoonosis poco dimensionada en México. No obstante, estas infecciones son consideradas un problema de salud pública en Canadá, Estados Unidos y algunos países de Sudamérica (González *et al*., 2019).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Actualmente, no existen estudios reportados que indiquen la presencia de infecciones causadas por *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp., que identifiquen molecularmente las especies de *Anaplasma* y *Babesia* que infectan al ganado bovino criado en la región tropical húmeda de México o que describan la epidemiología de estas infecciones asociadas a los sistemas de producción en esta región.

1.2. Justificación.

México es considerado uno de los países con gran capacidad para mantener una agricultura y ganadería sustentable. Aun así, la falta de desarrollo de estos sectores contribuye a que el 8.9% de su población se encuentre inmersa en problemas de seguridad alimentaria debido al abastecimiento (FAO, 2019).

En México, el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) calcula un aproximado de 33 millones de bovinos, y aproximadamente el 60% vive en áreas tropicales y subtropicales, donde hay presencia de garrapatas que pueden transmitir patógenos capaces de afectar su productividad. Tabasco, ubicado en la región tropical húmeda cuenta con una producción aproximada de 70 mil toneladas de carne de bovino y 105 millones de litros de leche (SIAP, 2019) convirtiendo así, a la ganadería en una actividad económica preponderante en la entidad.

Las infecciones causadas por *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en bovinos del estado de Tabasco podrían ocasionar grandes pérdidas económicas y poner en riesgo la salud de las personas que laboran en las unidades de producción. Es por esta razón que en continentes como Europa, Asia, África y países cercanos como Canadá, Estados Unidos y algunos de Sudamérica, estas infecciones son consideradas como un problema de salud re-emergente (González *et al*., 2019).

La información generada en estudios de vigilancia epidemiológica como el que se propone, es de vital importancia para la elaboración de planes y programas de control enfocados a evitar las infecciones en el ganado bovino y más aún, para la

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

implementación de medidas de bioseguridad para el personal que labora en las unidades de producción.

Por lo anterior, resulta necesario un mayor conocimiento de las condiciones epidemiológicas que guardan las infecciones por *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en la subregión de la Sierra de Tabasco; ya que ambas, infección e infestación, están presentes en la ganadería de la región.

En este escenario es de gran utilidad el uso de pruebas de diagnóstico molecular (Adjou-Moumouni *et al*., 2015; El-Ashker *et al*., 2015; Jaimes-Dueñez *et al*., 2017; Hamzah y Hasso, 2019).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

1.3. Objetivo general.

Identificar molecularmente y describir los factores asociados a las infecciones causadas por *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en bovinos de la subregión Sierra de Tabasco.

1.3.1. Objetivos específicos.

Identificar molecularmente las especies de *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. que afectan al ganado bovino en la subregión Sierra de Tabasco.

Determinar la prevalencia de *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en bovinos de la subregión Sierra de Tabasco.

Identificar los factores ambientales, de manejo y del hospedador asociados a las infecciones por *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en bovinos de la subregión Sierra de Tabasco.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

2. REVISIÓN DE LITERATURA.

Las enfermedades causadas por los microorganismos de los géneros *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en los bovinos son llamadas comúnmente enfermedades trasmitidas por garrapatas, están presentes en todas las regiones tropicales y subtropicales en donde se encuentran sus vectores y causan pérdidas económicas por enfermedad y muerte (Medina-Naranjo *et al*., 2017).

El cuadro clínico que se presenta en ambas enfermedades tiene grandes similitudes; como lo son la fiebre, anemia, decaimiento, postración, aumento de la frecuencia respiratoria y cardiaca, disminución en la producción de carne y leche, y la muerte (Medina-Naranjo *et al*., 2017). Sin embargo, existen diferencias como la presencia de sangre en las heces, la cual se relaciona con la anaplasmosis y la hemoglobinuria que es característica de la babesiosis. Estos signos solo se presentan en el 34% de los casos aproximadamente (El-Ashker *et al.*, 2015). Algunos estudios han reportado índices de hasta 24% de coinfección de ambas enfermedades en un mismo hospedador bovino (Amorim *et al*., 2014).

Vacunas trivalentes que contienen eritrocitos infectados con organismos atenuados de *Anaplasma centrale, Babesia bovis* y *Babesia bigemina* han sido utilizados para inducir inmunidad cruzada en animales con infecciones clínicas (Florin-Christensen, 2014). Las vacunas disponibles en la actualidad no ofrecen resultados satisfactorios, ya que el nivel de protección es variable (Ferrerira y Martínez, 2017).

Los animales que se recuperan naturalmente de estas enfermedades quedan como persistentemente infectados y son fuente de contagio para los demás animales del hato y la fauna silvestre (Bilgiç *et al.*, 2013; Fallquist *et al*., 2019), por lo que además de hospedadores se consideran reservorios.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

2.1. Género *Anaplasma*.

El género bacteriano *Anaplasma* tiene una de distribución mundial, puede causar infecciones en animales de producción, compañía, silvestres y en seres humanos (Silaghi *et al.*, 2017); y se ha reportado en coinfección con otros patógenos como *Babesia*, *Mycoplasma* y *Theileria*, ya que comparten vectores (Ybañez e Inokuma, 2016).

Las especies de *Anaplasma* poseen una amplia distribución geográfica, tropismo por diferentes células de sus hospedadores, gran variedad de vectores y diferentes grados de patogenicidad (Battilani *et al.*, 2017).

2.1.1. Descripción taxonómica.

Anaplasma es un género de bacteria perteneciente al filo Proteobacteria, a la clase Alphaproteobacteira, al orden Rickettsiales y familia Anaplasmaceae (Silaghi *et al*., 2017). Se reconocen seis especies de este género: *A. ovis, A. marginale, A. centrale, A. platys, A. bovis* y *A. phagocytophilum* (Ybañez e Inokuma, 2016). Recientemente, se han identificado tres nuevas especies que están en proceso de incluirse: *A. odocoilei* relacionada con el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus),* otra más en Japón, en el ciervo sica (*Cervus nippon*); esta nueva especie posee genes no identificados en ninguna otra especie de *Anaplasma*, y finalmente *A. capra,* detectada en China, infectando cabras (*Capra hircus)* y humanos (Battilani *et al.*, 2017; Silaghi *et al*., 2017).

2.1.2. Características microbiológicas.

Los microorganismos del género *Anaplasma* se caracterizan por ser intracelulares obligados (Ybañez e Inokuma, 2016) no móviles, cocoides o elipsoidales. A pesar de ser bacterias gram negativas se observan mejor con tinciones tipo Romanowsky (Battilani *et al.*, 2017). *Anaplasma* spp. se puede observar en el citoplasma de las células de su hospedador mamífero, en vacuolas

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

hechas de su propia membrana, en cuerpos de inclusión denominados mórulas (Fallquist *et al*., 2019; Silaghi *et al*., 2017).

El ciclo biológico de *Anaplasma* spp. empieza cuando entra al torrente circulatorio del hospedador mamífero infectando eritrocitos, forma una vacuola y en ella se multiplica por fisión binaria hasta formar de cuatro a ocho unidades llamadas corpúsculos iniciales. Los cuales salen del eritrocito por exocitosis, sin provocar lisis celular; nuevamente al torrente circulatorio y así infectar nuevos eritrocitos (Battilani *et al*., 2017). Donde continúa reproduciéndose, causando cambios de estructura y función en la membrana celular; lo que resulta en un proceso autoinmune que termina con la eritrofagocitosis mediada por anticuerpos (Medina-Naranjo *et al*., 2017). Hepatomegalia y esplenomegalia resultan de la invasión de las células reticuloendoteliales en estos órganos. La destrucción masiva de eritrocitos causa anemia hemolítica extravascular (Battilani *et al*., 2017).

Las garrapatas son el principal vector de *Anaplasma spp.*, estas al alimentarse de un animal enfermo ingieren a la bacteria ubicada dentro de los eritrocitos. Esta bacteria se reproduce dentro de las garrapatas y mediante un proceso mediado por receptores, invade las células del intestino medio. Donde realiza ciclos de reproducción para posteriormente, migrar vía hemolinfa a las glándulas salivales; en las cuales también se reproduce, para después pasar a un nuevo hospedador mamífero durante su alimentación (Brayton 2012; Battilani *et al*., 2017)

La transmisión mecánica por otros artrópodos hematófagos o fómites es considerada de importancia, sobre todo en lugares libres de garrapatas (Silaghi *et al.*, 2017). La transmisión vertical también ha sido reconocida en la cadena epidemiológica de las infecciones por *Anaplasma* spp. (Lozina *et al*., 2018).

2.2. Especies de *Anaplasma* que infectan a los bovinos.

Las especies de *Anaplasma* que tienen importancia a nivel mundial en la ganadería son *A. marginale* y *A. centrale.* Adicionalmente *A. bovis, A.*

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

phagocytophilum y *A. ovis* están presentes con una importancia variable y una amplia gama de hospedadores dentro y fuera de la ganadería (OIE 2015a).

2.2.1. *Anaplasma marginale*.

Es la especie que con mayor frecuencia infecta a bovinos ocasionando anemia (desde leve hasta severa) y un cuadro febril (Mamoudou *et al.,* 2017). Tiene una distribución mundial, aunque es más prevalente en la áreas tropicales y subtropicales (Ybañez e Inokuma, 2016).

Se ha demostrado la transmisión de *A. marginale* de forma biológica, mecánica y transplacentaria, pero no transovárica (Battilani *et al.*, 2017). Al infectar los eritrocitos, forma vacuolas con su propia membrana, en las cuales se alojan de cuatro a ocho bacterias. También pueden invadir células endoteliales (Lozina *et al*., 2018).

El periodo prepatogénico puede durar de siete a 60 días, dependiendo de la dosis infectante y la edad del hospedador. Posteriormente, se manifiestan fiebre, pérdida de peso, ictericia, letargia, aborto y muerte (Battilani *et al.*, 2017).

Esta especie de *Anaplasma* presenta en la membrana externa seis polipéptidos denominados “proteínas principales de superficie” o “MSP” (surface main proteins, por sus siglas en inglés), las cuales están relacionadas con la interacción entre las células del vector y el hospedador (Jaimes-Dueñez *et al.*, 2018). Estas proteínas de superficie han servido para la clasificación de las cepas de esta especie en estudios moleculares y también, son éstas proteínas contra las cuales se dirige la respuesta inmune del hospedador mamífero (Ferrerira y Martínez, 2017). Existe además otra proteína denominada “proteína asociada al apéndice del plasma” o “Aaap” (*Anaplasma* appendage associated protein, por sus siglas en inglés), esta sale de la membrana citoplasmática de la vacuola, la cual se cree está relacionada con la patogenicidad (Fallquist *et al.*, 2019).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

En países de zonas tropicales se ha reportado la prevalencia de infecciones por *A. marginale*, utilizando diversas pruebas diagnósticas. En Brasil se reportó 63.1% empleando PCR (Amorim *et al.*, 2014), en Camerún Mamoudou *et al*., (2017) reportaron 62% de prevalencia mediante frotis sanguíneo con tinción de Giemsa, en Ecuador Medina-Naranjo *et al.*, (2017) encontraron 65% de prevalencia utilizando una prueba de ELISA. En México, en los estados de Veracruz y Tabasco se reportó una seroprevalencia de hasta 25.4% en búfalos de agua (Lira-Amaya *et al.*, 2017).

Las garrapatas consideradas los principales vectores de *A. marginale* para Estados Unidos pertenecen al género *Dermacentor* spp. mientras que en Latinoamérica las garrapatas vectores pertenecen al género *Rhipicephalus* spp. (Medina-Naranjo *et al.*, 2017). Se ha postulado la transmisión mecánica por moscas (Medina-Naranjo *et al.*, 2017) y la vía transplacentaria está presente para terneros (Costa *et al.*, 2016).

En Brasil, los factores de riesgo de importancia para la presencia de la infección de *A. marginale* fueron la presencia de garrapatas y la edad del bovino (Amorim *et al.*, 2014). Un estudio llevado a cabo en Yucatán, México reportó como factores de riesgo relacionados a la infección la densidad de los bovinos en la unidad de producción, el tipo de acaricida utilizado, el intervalo entre los tratamientos y el uso de equipos e instrumentos veterinarios (Rodriguez-Vivas, *et al.*, 2004).

La inmunización contra *A. marginale* se ha realizado mediante la vacunación con eritrocitos infectados con *A. centrale* que produce una infección de menor gravedad, obtenidos a partir de becerros esplenectomizados, con lo que se busca inmunidad cruzada (Lozina *et al*., 2018), o por antígenos de superficie específicos de origen proteico, sin embargo, se han tenido resultados que van desde protección completa, incompleta o ninguna protección (Ferrerira y Martínez, 2017); por lo que se busca en los antígenos subdominantes el desarrollo de nuevas vacunas.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

2.2.2. *Anaplasma centrale*.

Esta especie causa una infección leve que puede ser subclínica, razón por la cual se ha usado como vacuna contra *A. marginale* en algunos países. En los frotis se puede observar que se localiza en cuerpos de inclusión en el centro del eritrocito, lo cual la diferencia de *A. marginale* (Ybañez e Inokuma, 2016). Su principal vector es *Rhipicephalus simus,* aunque también se ha encontrado en *Haemaphysalis puncata* y *Amblyomma* spp. (Battilani *et al.*, 2017).

Esta especie de *Anaplasma* afecta principalmente a los eritrocitos de bovinos, pero recientemente se ha reportado en ovinos domésticos (*Ovis aries*), ciervo sika (*Cervus nippon*), ñu negro (*Connochaetes gnou*), ñu azul (*Connochaetes taurinus*), antílope acuático (*Kobus ellipsipyrymnus*) y antílope eland (*Taurotragus oryx*) por lo que seguramente afecta a un mayor número de animales ungulados (Battilani *et al*., 2017). Se ha reportado en Sudáfrica, Sudamérica, Medio oriente y Asia (Silaghi *et al.*, 2017).

2.2.3. *Anaplasma bovis*.

Se encuentra en África, Europa, Asia y América (Ybañez e Inokuma, 2016). Infecta monocitos y macrófagos principalmente de bovinos (*Bos* spp.*)* y búfalos (*Bubalus* spp.*)*, y otros rumiantes entre los que se encuentran cabras domésticas, ciervo rojo (*Cervus elaphus*), ciervo sika (*Cervus nippon*), venado de agua koreano (*Hydropotes inerimis arguropus)*, un ciervo brasileño llamado corzuela parda (*Mazama gouazoubira*), ciervo de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*), perros, leopardos, mapaches y conejos. Provoca signos clínicos que van desde fiebre ondulante, debilidad, anorexia, congestión de membranas mucosas, escurrimiento nasal, diarrea, emaciación hasta signos nerviosos. La infección deriva en anemia, trombocitopenia y eventualmente la muerte (Battilani *et al.*, 2017).

El vector más importante es la garrapata *Haemaphysalis megaspinosa* para el ganado y *Haemaphysalis longicornis* para la fauna silvestre (Ybañez e Inokuma, 2016). Sin embargo, también se reconocen *Hyalomma* spp., *Haemaphysalis*

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

puncata, H. concinna, H. langragei, H. leporispalustris; en el género *Dermacentor*: *D. andersoni D. occidentalis, y en el género Rhipicephalus: R. sanguineus, R. appendiculatus, R. turanicus* y *R. evertsi* (Silaghi *et al.*, 2017).

2.2.4. *Anaplasma phagocytophilum*.

La enfermedad causada por esta especie de *Anaplasma* está presente en las regiones tropicales de todo el mundo. Se distingue por ser adaptativa con respecto a vectores, hospederos y variaciones estacionales. Infecta también a humanos y caballos (Jiang *et al*., 2020). Es trasmitida por garrapatas *Ixodes*, como *I. ricinus, I. persulcatus, I. pacificus, I. scapularis, I. ovatus; Dermacentor variabilis, D. occidentalis, D. salivarum; Haemaphysalis megaspinosa*, *H. formosensis* y *H. longicornis* (Silaghi *et al.*, 2017). Sin embargo, se estudia su capacidad de trasmisión transovárica, lo que podría convertir a *Dermacentor* spp. no solo en vector, sino en reservorio (Battilani *et al.*, 2017).

Es una especie intragranulocítica obligada; en los rumiantes afecta principalmente a los neutrófilos provocando fiebre, debilidad, anorexia y abortos; se desarrolla bacteriemia y leucopenia (neutropenia, linfopenia y trombocitopenia), lo que conduce a inmunosupresión y consecuentemente a infecciones oportunistas (Battilani *et al*., 2017).

2.2.5. *Anaplasma ovis*.

Esta especie de *Anaplasma* infecta principalmente a cabras y borregos, aunque en menor medida también puede infectar a bovinos domésticos y salvajes como renos y venados. Además, recientemente se ha reportado la infección en humanos (Yousefi *et al.*, 2017).

La bacteria infecta a los eritrocitos, causando generalmente una infección leve que puede agravarse en presencia de estrés o coinfecciones, causando fiebre, anorexia, depresión, debilidad, abortos y muerte (Battilani *et al*., 2017).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Los vectores relacionados son *Dermacentor marginatus, D. andersoni, D. occidentalis, D. niveus, Haemaphysalis concinna, H. punctata, Hyalomma* spp. (Silaghi *et al.*, 2017).

2.3. Género *Babesia*.

Los microorganismos pertenecientes al género *Babesia* producen una enfermedad en la cual parasitan los glóbulos rojos de animales de producción, compañía y salvajes, y últimamente la enfermedad ha cobrado importancia como zoonosis. Es trasmitida por garrapatas y se considera la de mayor morbilidad y mortalidad para los bovinos en el mundo (Gray *et al.,* 2019). Bovinos adultos y jóvenes son susceptibles a la enfermedad, aunque los jóvenes tienen una mayor resistencia innata (Giglioti *et al.*, 2016). En general, se desarrollan en climas templados y tropicales, y su principal vector es *Riphicephalus microplus* (Medina-Naranjo *et al.*, 2017).

La clasificación de *Babesia* se ha realizado de acuerdo al animal que parasita (*B. bovis, B. canis, B. equi, B. felis,* etc.); en relación a su tamaño durante la etapa de merozoito, en cortas y largas y de acuerdo a su morfología (*B. bigemina, B. major, B. ovate*). Recientemente, estudios moleculares han descubierto nuevas especies, algunas infectando a un mismo hospedador y son idénticas en la observación al microscopio electrónico (Lempereur *et al*., 2017).

2.3.1. Descripción taxonómica.

Babesia es un género de microorganismos perteneciente al sub reino Protozoa, filo Aplicomplexa, clase Aconoidasida, a la subclase Piroplasmia, orden Piroplasmida, familia Babesiidae. El género *Babesia* tiene dos especies de interés en la ganadería: B. *bovis* y *B. bigemina*. Además, se conocen las especies *B. microti y B. divergens* que causan infección en humanos, *B. cati, B. duncani, B. equi, B. felis, B. canis, B. gibsoni, B. herpailuri, B. jakimovi, B. major, B. ovate, B. venatorum*, entre otras aproximadamente 100 especies de menor interés clínico y zootécnico (Sun *et al.*, 2014; Lempereur *et al*., 2017; Gray *et al*., 2019).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

2.3.2. Características del protozoario.

Entre las *Babesias* existen especies largas (~ 3-5 µm) y cortas (~ 0.5 - 2.53 µm), según el largo en la fase de merozoito (Lempereur *et al.*, 2017). Se caracterizan por poseer un complejo apical, el cual tiene una función secretora relacionada con su capacidad de invadir eritrocitos (Medina-Naranjo *et al*., 2017).

Babesia spp. es un protozoario intracelular que reconoce receptores de membrana específicos en los eritrocitos y de esta forma los invade en una etapa del ciclo, en la cual recibe el nombre de esporozoito. Una vez dentro del eritrocito comienza a reproducirse por división binaria, en esta etapa se llama merogonia. Posteriormente, se da lugar a la formación de dos merozoitos, los cuales salen del eritrocito produciendo la lisis y la consecuente liberación de hemoglobina al plasma. También produce un proceso autoinmune por cambios en la membrana celular del eritrocito, lo que provoca una eritrofagocitosis, como consecuencia de ambos procesos el hospedador desarrollará anemia (Cuy-Chaparro *et al.*, 2019; Medina-Naranjo *et al.*, 2017).

Las garrapatas son vectores de diferentes especies de *Babesias* y adquieren los protozoarios al alimentarse de sangre en un hospedador mamífero infectado con *Babesia* spp*.* La garrapata ingiere tanto eritrocitos infectados como merozoitos libres en el plasma; los merozoitos infectan las células del intestino medio de la garrapata, donde los gametos se fusionan y dan lugar a cigotos, los cuales viajan a las glándulas salivales convertidos en oocinetos, en estas glándulas mutan a esporogonias y posteriormente a esporozoitos, los cuales son inyectados durante la alimentación de la garrapata a un nuevo hospedador mamífero completando el ciclo (Cuy-Chaparro *et al.*, 2019; Sivakumar *et al.*, 2016).

La enfermedad se manifiesta clínicamente cuando la cantidad de eritrocitos enfermos es mayor a la capacidad del organismo para reemplazarlos. Sobreviene entonces la anemia y la respuesta inmune complica el cuadro clínico; causando vía citoquinas efectos vasculares como vasodilatación, baja presión sanguínea, edema y coagulación intravascular diseminada. Los capilares cerebrales también

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

pueden resultar afectados, lo que ocasionalmente desencadena signología nerviosa (Gray *et al.*, 2019).

2.4. Especies de *Babesia* que infectan a los bovinos.

Las especies que revisten mayor importancia en los bovinos son *B. bovis* y *B. bigemina*, la primera generalmente más patógena y la segunda un poco más extendida geográficamente (OIE 2015b). Otras especies como *B. divergens, B. major, B. occultans* y *B. jakobsoni* tienen considerablemente menores prevalencias. Los principales vectores en bovinos son *Rhipicephalus* spp. e *Ixoides* spp. (Cuy-Chaparro *et al.*, 2019).

2.4.1. *Babesia bovis*.

Esta especie de *Babesia* es clasificada como corta, mide 1.0 - 1.5 µm en sus estadios redondos y de 1.5 - 2.4 µm cuando es piriforme (Lempereur *et al.*, 2017), es el principal agente causal de la enfermedad en bovinos y también afecta a búfalos. Se asocia generalmente con los cuadros clínicos más graves y es de distribución mundial en zonas tropicales y subtropicales (Cuy-Chaparro *et al.*, 2019).

Los signos principales de la infección por *B. bovis* son anemia, fiebre, ataxia e incoordinación, depresión, anorexia, hemoglobinuria (la coloración de la orina es diferencial de anaplasmosis, ya que es color rojo o café), suele presentarse signología nerviosa y trastornos en la coagulación (Antonio-Alvarez *et al.*, 2019).

En Brasil se reportó una prevalencia de 20.4% de prevalencia en bovinos domésticos (Amorim *et al.*, 2014), y en Camerún con 24.1% de prevalencia (Mamoudou *et al.*, 2017). En México, en los estados de Veracruz y Tabasco se encontraron prevalencias de 31.7 y 78.4%, respectivamente, en búfalos de agua (Lira-Amaya *et al*. 2017). Así también, se reportó una prevalencia de 59.9% en venados de cola blanca de los estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas (Cantu *et al*., 2009).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Los principales vectores de *B. bovis* son *Rhipicephalus microplus* y *R. annulatus*, en menor proporción *R. geigyi* (Alvarez *et al.*, 2019). La transmisión transplacentaria se comprobó nuevamente como vía de contagio en Brasil (Costa *et al.*, 2016).

Los animales que se recuperan de la infección con *B. bovis* se clasifican como infectados de por vida, por lo que se consideran también reservorios (Antonio-Alvarez *et al.,* 2019).

2.4.2. *Babesia bigemina*.

Se clasifica entre las de tamaño grande, mide 2.5 – 3.5 µm en los estadios redondos y 2.5 – 4.5 µm cuando es piriforme. Llega a alcanzar un nivel de parasitemia cercano al 40%. En su forma individual es elongada o ameboide con un filamento citoplasmático; al encontrarse en pares, son piriformes y se acomodan en ángulo (Lempereur *et al.*, 2017).

B. bigemina infecta principalmente ganado bovino doméstico, búfalos de agua, búfalos africanos y venados de cola blanca. Los signos clínicos más importantes de la infección son fiebre, hemoglobinuria, signos nerviosos y anemia (OIE 2015b).

Las infecciones con *B. bigemina* han sido reportadas en todas las zonas tropicales y subtropicales en el mundo y su principal vector es *Rhipicephalus microplus*, aunque también participan *R. annulatus*, *R. decoloratus*, *R. geigyi* y *R. eversti* (Alvarez *et al.,* 2019; Ribeiro *et al*., 2009). La transmisión transplacentaria de *B. bigemina* también se comprobó en Brasil (Costa *et al.*, 2016).

En Camerún, Mamoudou *et al.*, (2017) reportaron 5% de prevalencia detectado con la técnica de frotis y en Brasil se obtuvo 34% de prevalencia usando PCR (Amorim *et al*., 2014). En el sureste de México, las prevalencias en búfalos domésticos variaron entre 31.7 y 90.2% usando la prueba de inmunofluorescencia (Lira-Amaya *et al.,* 2017), asimismo se determinó en 5.4% en venados de cola blanca silvestres en estados del noreste de México (Cantu *et al.*, 2009).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Los animales que se recuperan de la infección, podrán volver a presentar periodos de parasitemia y la signología clínica si su sistema inmunológico se ve comprometido, además serán portadores por un periodo de alrededor de dos años, por lo que se consideran reservorios (Antonio Alvarez *et al*., 2019).

2.4.3. *Babesia microti*.

Se reconoce como una *Babesia* pequeña, mide de 1.0 - 2.5 µm, se presenta en las formas características redonda y piriforme, solitaria o en pares y alcanza hasta un 4.5% de parasitemia (Lempereur *et al.*, 2017). Infecta humanos por medio de la picadura de garrapatas y por transfusiones sanguíneas (Moritz *et al.*, 2016) también infecta roedores, los cuales fungen como reservorio (Dunn *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2015) y tiene distribución mundial (González *et al.*, 2019).

La presentación de los casos en humanos tiene un periodo prepatente de una a ocho semanas, con cuadros clínicos que pueden variar desde asintomáticos hasta fatales (Moritz *et al.*, 2016), ya que por la infección los pacientes pueden desarrollar anemia hemolítica (Dunn *et al.,* 2014). Los síntomas reportados en humanos son cefaleas, mialgia, artralgia; y se manifiestan hepatomegalia, esplenomegalia, ictericia, neutropenia y trombocitopenia (Moritz *et al.*, 2016).

Con respecto al vector, fue encontrada en 3.6% de las garrapatas *Ixodes* en Suecia (Karlsson y Andersson, 2016). En Estados Unidos, en donde se reportan la mayoría de los casos (Andersson *et al*., 2016) es frecuente la coinfección con *Borrelia burgdorfeli* tanto en humanos como en ratones, ya que comparten el mismo vector y esta coinfección, al parecer incrementa la infectividad y supervivencia de *B. microti* (Dunn *et al.*, 2014; Knapp y Rice, 2015).

B. microti es trasmitida por *Ixodes ricinus, Ixodes scapularis*, *Haemaphysalis longicornis* y *Rhipicephalus haemaphysaloides.* En estas especies puede sobrevivir el cambio de estadio, de larva a ninfa, pero no sobrevive más de un mes, por lo que no se ha comprobado la vía de transmisión transovárica en las garrapatas (Gray *et al.*, 2019).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

2.4.4. *Babesia divergens*.

Se clasifica como una *Babesia* pequeña ya que mide de 1.5 - 1.8 µm en su forma redonda y de 1.5 - 1.9 µm por 0.5 - 1.1 µm cuando es piriforme. Puede alcanzar de 30 a 45% de parasitemia. Los estadios redondos se caracterizan por presentar vacuolas grandes con cinco a ocho microorganismos (Lempereur *et al*., 2017).

Babesia diverges se localiza en Europa y África del Norte y su principal vector es *Ixodes ricinus* (Alvarez *et al.,* 2019; Jabbar *et al.*, 2015), aunque países como Hungría, Irlanda y Noruega han reportado la disminución de casos casi hasta su ausencia (Hornok *et al.*, 2014). Así también se reportó con una baja prevalencia (0.2%) en garrapatas de Suecia (Karlsson y Andersson, 2016). Generalmente, se reporta con bajas prevalencias cercanas al 1% y en coinfección con *Babesia bovis* (Aktas y Ozubek, 2015). En venado rojo (*Cervus elaphus*) se ha reportado con una prevalencia de 2.6% en Suiza, 29% en Irlanda y 16% en Eslovenia (Michel *et al.*, 2014).

Esta especie de *Babesia* también infecta humanos, por lo que su importancia se ha incrementado en el área de la salud pública (Michel *et al*., 2014; González *et al*., 2019) y generalmente los casos están detectados en gente relacionada con la ganadería (Andersson *et al.,* 2016).

El vector más importante para *B. divergens* es *Ixodes ricinus* (Hornok *et al.*, 2014) y las garrapatas infectadas podrán trasmitirla a su descendencia cuando menos por una generación (Gray *et al*., 2019).

2.4.5. *Babesia venatorum*.

Es clasificada como pequeña midiendo de 1.0 - 2.5 µm en su forma redonda, la cual es más común, generalmente su ubicación es periférica (Lempereur *et al*., 2017). La presentación piriforme es menos frecuente (Sun *et al.*, 2014).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Solo ha sido reportado recientemente causando enfermedad en cabras (Gray *et al.* 2019) y humanos en Europa (Andersson *et al.*, 2016), mayormente en Italia, Austria, Alemania, Inglaterra (Gray *et al.* 2019) y en China (Lempereur *et al.*, 2017). Las infecciones causadas por *B. venatorum* pueden alcanzar entre 1 y 30% de parasitemia (Lempereur *et al.*, 2017) y las principales manifestaciones en humanos son fiebre, anemia, trombocitopenia, mialgia, artralgia y cefalea (Jiang *et al.*, 2015), dificultad respiratoria y debilidad progresiva (Sun *et al*., 2014; González *et al.*, 2019).

El reservorio principal es el venado corzo europeo (*Capreolus* capreolus), recientemente se ha mencionado que aves pueden ser vectores de *B. venatorum* al cargar a *Ixodes ricinus* durante sus migraciones (Hasle *et al*., 2011, Gray., *et al.* 2019). Se sabe que infectan también a gamuzas (*Rupicapra rupicapra*), ibexs (*Capra ibex*) y renos (*Rangifer* spp.), entre otros rumiantes de vida libre (Andersson *et al*., 2016). Su prevalencia fue de 1% en garrapatas de Suecia (Karlsson y Andersson, 2016).

2.5. Características epidemiológicas reportadas para *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en estudios recientes.

A pesar de que estas infecciones han sido estudiadas desde hace mucho tiempo, en realidad existe poca información en cuanto a la epidemiología de estas infecciones, especialmente en México. Algunos aspectos generales como son los vectores reconocidos para cada microorganismo, sus hospedadores domésticos y salvajes, las células o tejidos que son los sitios blanco de la infección y su distribución geográfica pueden observarse en el Cuadro 1.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Cuadro 1.- Aspectos epidemiológicos reportadas para *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp. en estudios recientes.

Especie	Vectores	Hospedadores	Célula blanco	Distribución geográfica	Signos principales	Referencia
Anaplasma marginale	*Dermacentor* spp. *Rhipicephalus* spp.	Rumiantes domésticos y salvajes	Eritrocitos, células endoteliales*	Regiones tropicales de todo el mundo	Anemia, fiebre	Silaghi *et al*., 2017 Lozina *et al*., 2018
Anaplasma centrale	*R. simus* *H. puncata** *Amblyomma* spp.*	Bovinos	Eritrocitos	Sudáfrica, Sudamérica Australia, sureste de Asia	Subclínica	Silaghi *et al*., 2017 Battliani *et al*., 2017
Anaplasma bovis	*Haemaphysalis* spp. *Hyalomma* spp.* *Dermacentor* spp.* *Rhipicephalus* spp.*	Rumiantes domésticos y salvajes, conejos y algunos carnívoros	Monocitos Macrófagos	Mundial excepto Australia	Fiebre ondulante, congestión de mucosas	Silaghi *et al*., 2017 Battliani *et al*., 2017
Anaplasma phagocytophilum	*Ixodes* spp. *Haemaphysalis* spp. *Dermacentor* spp.	Rumiantes domésticos y salvajes, caballos, perros, gatos y humanos.	Neutrófilos Eosinófilos* Basófilos*	Regiones tropicales de África, Europa, América y Asia	Fiebre, anorexia, abortos	Silaghi *et al*., 2017 Battliani *et al*., 2017
Anaplasma ovis	*Dermacentor* spp. *Haemaphysalis* spp. *Hyalomma* spp. *Rhipicephalus* spp. *Ixodes rinicus*	Pequeños rumiantes domésticos y salvajes, y humanos*	Eritrocitos	Regiones tropicales de todo el mundo	Fiebre, depresión, abortos	Silaghi *et al.,* 2017
Babesia bovis	*Rhipicephalus* spp.	Bovinos domésticos y búfalos.	Eritrocitos	Regiones tropicales de todo el mundo	Anemia, fiebre incoordinación Hemoglobinuria	Lempereur *et al.,* 2017 Cuy-Chaparro *et al.,* 2019 Álvarez *et al*., 2016
Babesia bigemina	*Rhipicephalus* spp.	Bovinos domésticos, búfalos y venados.	Eritrocitos	Regiones tropicales de todo el mundo	Anemia, fiebre, signos nerviosos	Lempereur *et al.,* 2017 Alvarez *et al*., 2019; Ribeiro *et al*., 2009
Babesia microti	*Ixodes* spp. *H. longicornis* *R. haemaphysaloides*	Humanos y roedores.	Eritrocitos	Mundial	Anemia ictericia	Lempereur *et al*., 2017 González *et al.,* 2017 Karlsson y Andersson, 2016
Babesia divergens	*Ixodes ricinus*	Bovinos, venados y humanos	Eritrocitos	Europa y África del norte		Alvarez *et al.,* 2019 Lempereur *et al.,* 2017
Babesia venatorum	*Ixodes ricinus*	Humanos, ovejas, perros y gatos	Eritrocitos	Inglaterra, Italia, Austria, Alemania y China	Fiebre anemia, trombocitopenia	Lempereur *et al.,* 2017 Andersson *et al.*, 2016

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

2.6. Técnicas para la identificación de *Babesia* spp. y *Anaplasma* spp.

La prueba tradicional para la detección de estos hemoparásitos es el frotis sanguíneo (Bolívar, 2013; Bernardo *et al*., 2016). El cultivo *in vitro* ha contribuido en el diagnóstico e investigación de *Babesia* spp*.* Este se realiza en medios enriquecidos con líneas celulares y suero de bovino. Sin embargo, es difícil la estandarización de la concentración de los elementos disueltos (Rojas-Martínez *et al.,* 2016).

La prueba de oro (prueba de máxima confiabilidad) para anaplasmosis, es la inoculación de eritrocitos sospechosos de infección en animales susceptibles. El procedimiento no es práctico, es tardado y ofrece poca información acerca del grado de parasitemia del enfermo (Corona-González *et al.*, 2014).

Las pruebas serológicas como la prueba de ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en Ingles), fijación del complemento, inmunofluorescencia o inmunocromatografía son útiles, pero necesitan la presencia de anticuerpos en el plasma sanguíneo del animal infectado, los cuales alcanzan un incremento detectable mediante estas pruebas a la segunda semana postinfección (Jiang *et al.,* 2020). Además, estas pruebas diagnósticas requieren equipo especializado, son tardadas y corren el riego de reportar falsos positivos por reacciones cruzadas (Alvarez *et al.*, 2019; Bilgiç *et al.*, 2013).

De manera experimental, la prueba de ELISA recombinante presentó una sensibilidad de 96% y especificidad de 90% en la detección de *A. marginale* (Medina-Naranjo *et al.*, 2017).

2.6.1. Frotis sanguíneo.

La observación al microscopio de frotis sanguíneo o impronta de órganos teñidos con Giemsa, es el método más comúnmente utilizado para el diagnóstico de anaplasmosis y babesiosis (Bernardo *et al*., 2016; Lempereur *et al.*, 2017), esta

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

se realiza tomando una muestra de sangre que se fija en el momento, o es tomada con anticoagulante para transportarla al laboratorio.

El frotis sanguíneo es la técnica más barata que existe, adaptable a cualquier laboratorio y puede ser realizada inclusive durante el trabajo de campo. Un aspecto importante a considerar es que la sensibilidad y especificidad dependen de la experiencia y habilidad de quien realiza la prueba (Lempereur *et al.*, 2017). En la fase aguda de las enfermedades cuando la parasitemia es alta, es más fácil detectar los parásitos. Sin embargo, en fases crónicas esta técnica es poco útil (Amorim *et al.*, 2014; Silaghi *et al.,* 2017).

Para la detección microscópica de estos microorganismos se utiliza preferentemente la tinción de Giemsa en frotis sanguíneos de gota fina tomados de animales vivos. También se pueden tomar muestras de sangre, de hígado, riñón, bazo y pulmón durante la necropsia. En el caso de anaplasmosis se pueden observar en los eritrocitos, cuerpos de inclusión de 0.3 - 1.0 µm, teñidos en azul (Ybañez e Inokuma, 2016).

La preparación de los frotis se debe hacer inmediatamente de la colección de sangre, aunque se pueden tomar muestras con anticoagulante. Se podrán hacer improntas con pulmón, hígado, riñón, bazo, corazón y vasos sanguíneos (Silaghi *et al.*, 2017).

2.6.2. Reacción en Cadena de la Polimerasa.

La prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), consiste en copiar millones de veces una secuencia de ADN (ácido desoxirribonucleico) por medio de una ADN polimerasa. Para esto se desnaturaliza la cadena de ADN, se hibrida la cadena con los cebadores y finalmente la taq-polimerasa cataliza la creación de las nuevas cadenas de ADN. Todo lo anterior sucede en ambientes enriquecidos y en condiciones de temperatura controlada. Finalmente, se procede a analizar el producto en gel de agarosa por medio de electroforesis para obtener una imagen del resultado (Costa, 2004; Tamay De Dios *et al.*, 2013).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Esta técnica es altamente eficaz en la detección de enfermedades infecciosas por su alta sensibilidad y especificidad (Jiang *et al.*, 2015), detecta directamente la presencia de los hemoparásitos, inclusive cuando el nivel de parasitemia es muy bajo, lo que demuestra su utilidad inclusive para detectar infecciones en animales que no presentan signología (Amorim *et al.,* 2014). El uso de esta técnica ha alcanzado el incremento de la sensibilidad hasta un 100% y la especificidad hasta un 93.67% en la detección de *B. bovis* y *B. bigemina* en bovinos (Shams *et al*., 2013).

Otra ventaja de la técnica de PCR más allá de la identificación del agente, es la diferenciación entre especies del mismo género (Bilgiç *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2015). Estudios recientes de secuenciación genética han descubierto nuevas especies de microorganismos, inclusive entre los que son indistinguibles por microscopía o que parasitan a un mismo hospedador (Lempereur *et al.*, 2017).

Se han desarrollado ensayos de PCR que realizan detecciones múltiples para el diagnóstico de diferentes especies de *Babesia*, *Anaplasma* y otros agentes de importancia clínica y zootécnica en bovinos, donde se obtuvieron resultados similares en sensibilidad y especificidad y se detectaron infecciones individuales y mixtas (Bilgiç *et al.*, 2013; Lempereur *et al*., 2017; Silaghi *et al.,* 2017).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la subregión Sierra del estado de Tabasco, México (Figura 1), ubicado entre las coordenadas 18° 39' - 17° 19' de latitud Norte, 90° 57' - 94° 8' de longitud Oeste y una altura de entre 10 y 75 msnm. El clima es tropical húmedo con abundantes lluvias en verano (af). La temperatura promedio en la zona es de 26 °C, con mínimas de 15 y máximas de 44 °C y una humedad relativa de 80% (INEGI 2020).

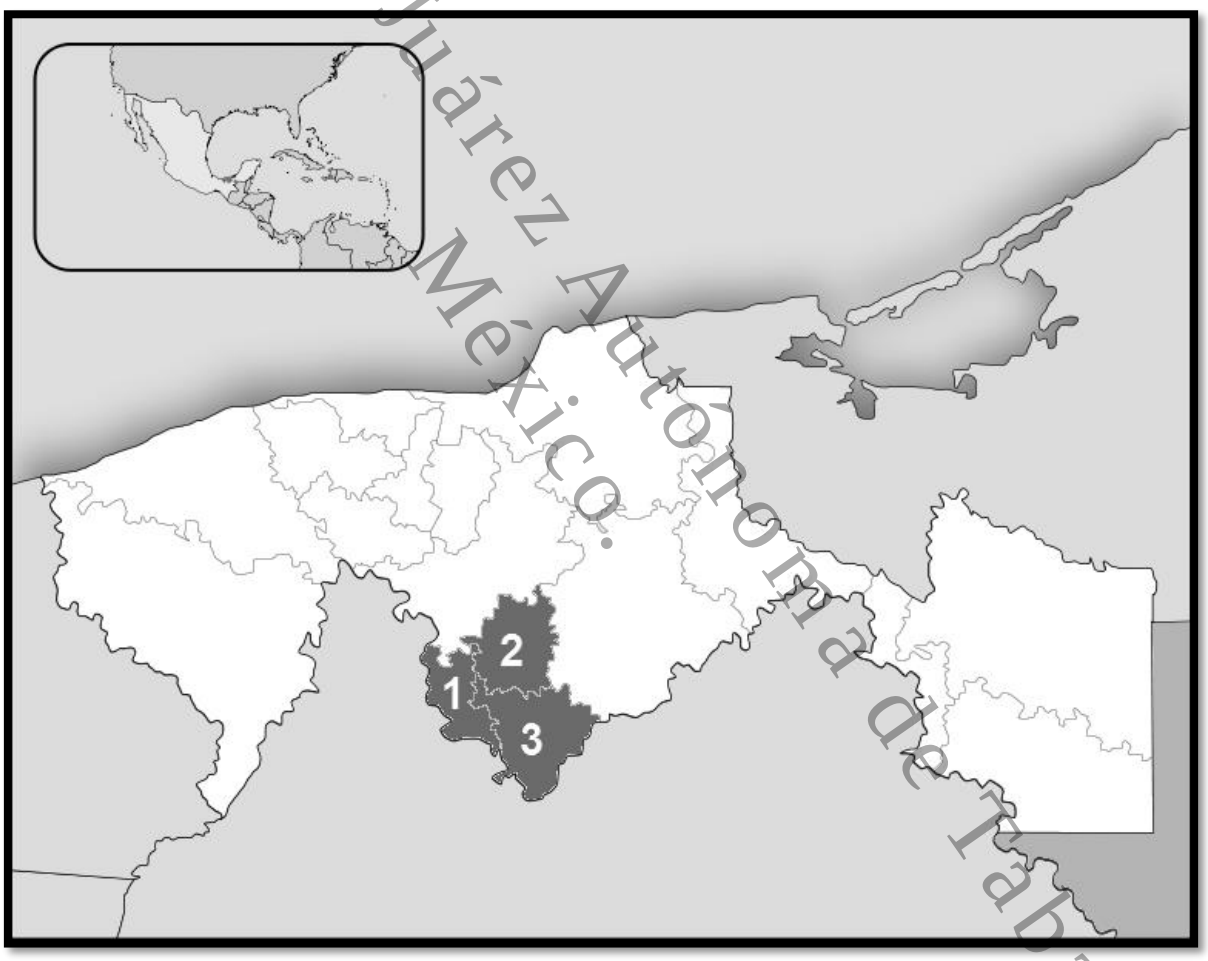


Figura 1. Subregión Sierra del estado de Tabasco.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

3.2. Determinaciones en ganado bovino de la subregión Sierra, Tabasco, México.

3.2.1. Descripción del muestreo.

Se obtuvieron muestras de sangre durante el periodo de julio a septiembre de 2019 en ocho unidades de producción pecuaria (UPP) localizadas en la región Sierra del estado de Tabasco. Se colectaron muestras de bovinos mayores a ocho meses de edad, con diversas características fenotípicas, genotípicas y sistemas de crianza o manejo por parte de los dueños. Además, se colectaron datos relacionados con las UPP y con los animales que integraban cada hato. Cabe mencionar que el número de animales muestreados en cada hato varió dependiendo del número total de animales (de 15 a 35 animales) y de las facilidades proporcionadas por cada propietario para la realización del trabajo en campo, por lo que el tipo de muestreo que se realizó fue por conveniencia (178 muestras).

3.2.2. Clasificación de las variables colectadas mediante la encuesta.

Una encuesta fue estructurada para recolectar información asociada al ambiente, manejo, genotipo y fenotipo de los bovinos evaluados. La información colectada fue ordenada de la siguiente manera: orografía (zona alta o zona baja), tamaño del hato (pequeño <100 o grande >100), género del animal (macho o hembra), raza (Brahman, Simbrah, Suizo, etc.), garrapatas (presencia o ausencia), moscas (presencia o ausencia), edad del animal en años (1, 2, 3, etc.), frecuencia de baños garrapaticidas y mosquicidas (nunca, semanal, quincenal, mensual). Las variables fueron empleadas para determinar su posible asociación con la presencia de infecciones causadas por hemoparásitos en los bovinos muestreados.

3.2.3. Toma de muestra de sangre en los bovinos.

Las muestras de sangre fueron colectadas de la vena coccígea de los animales mediante catéteres Vacutainer® y tubos con ácido

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

etilendiaminotetracético (EDTA) como anticoagulante. Cada muestra fue identificada y colocada en un contenedor de plástico con refrigerantes y transportadas al Laboratorio de Enfermedades Tropicales y Transmitidas por Vectores de la DACA-UJAT, para realizar las determinaciones correspondientes.

3.3. Extracción de ADN genómico a partir de sangre de bovinos.

Para llevar a cabo la extracción del ADN de sangre de los bovinos muestreados se siguió el procedimiento de extracción mediante sales descrito por Miller (1988), y modificado por (Torres-Chable *et al.,* 2018).

3.4. Reacción de PCR para identificar ADN de *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp.

El ADN obtenido a partir de la sangre de los bovinos muestreados se diluyó para estandarizarlo a 10 ng/µl para realizar la amplificación en igualdad de condiciones. Los cebadores que se utilizaron para la identificación de ADN de *Babesia* spp. fueron: BJ1 (5´-GTC TTG TAA TTG GAA TGA TGG-3´) y BN2 (5´-TAG TTT ATG GTT AGG ACT ACG-3´) los cuales amplifican un fragmento de ~ 411 a 452 pb común en todas las especies de *Babesia* (Casati *et al*, 2006). Los cebadores que se emplearon para detectar ADN de *Anaplasma* spp. fueron: EE1 (5´-TCCTGGCTCAGAACGAACGCTGGCG-3´) y EE2 (AGTCACTGACCCAACCTTAAATGGCTG) los cuales amplifican un fragmento ~ 1430-1440 pb del gen 16S rRNA en todas las especies de *Anaplasma* (Yan *et al*., 2020). Las reacciones de PCR fueron realizadas empleando 2.5 µl de ADN genómico, 10 pM de cada cebador y 250µM de cada dinucleótido en solución buffer de PCR 1X (20 mM Tris-HCl pH 8.4, 50 mM KCl, 1.5 mM $MgCl_2$) en un volumen total de 25 µl.

Para la identificación de las especies se emplearon cebadores específicos que pueden ser observados en el Cuadro 2, las reacciones de PCR se realizaron siguiendo las indicaciones publicadas para cada cebador (Ybañez *et al*. 2013; Kawahara *et al*. 2006; Park *et al*. 2018).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

Los productos obtenidos de la PCR (10 µl), se examinaron en geles de agarosa al 1.5% y se compararon con un control positivo a *A. phagocytophilum* y un control positivo de *B. bovis* previamente identificado en el Laboratorio de Enfermedades Tropicales y Transmitidas por Vectores de la DACA-UJAT.

3.5.-Análisis estadístico.

Considerando el número total de muestras obtenidas y el número de muestras positivas a cada uno de los patógenos estudiados se determinó la prevalencia general de las infecciones de *Babesia* spp. y *Anaplasma* spp. empleando la fórmula de prevalencia:

$$P_t = \frac{C_t}{N_t}$$

Donde P_t es la prevalencia estimada en el tiempo justo que se realizó el estudio, C_t es el número total de casos que resultaron positivos durante ese periodo y N_t es el número total de individuos estudiados durante ese periodo de tiempo (Mateu y Casal, 2003). Cada una de las variables obtenidas se evaluó individualmente para identificar su posible asociación con la presencia de infecciones por *Babesia* spp. o *Anaplasma* spp. mediante un modelo de regresión logística univariado en el programa estadístico IBM SPSS versión 22. El programa obtendrá los Odds Ratio de cada variable, los cuales serán considerados significativos cuando se obtenga un valor de $P < 0.05$.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Cuadro 2.- Cebadores específicos para la identificación de las especies de *Babesia* y *Anaplasma* que infectan al ganado bovinos de la región Sierra de Tabasco.

Gen	Cebador	Técnica	Secuencia	Origen	Amplicón
SBP-4	BbSBP-4F1	PCR	F: 5´-AGTTGTTGGAGGAGGCTAAT-3´	*Babesia bovis*	907pb
	BbSBP-4R1		R: 5´-TCCTTCTCGGCGTCCTTTTC-3´		
	BbSBP-4F2	nPCR	F: 5´-GAAATCCCTGTTCCAGAG-3´		503pb
	BbSBP-4R2		R: 5´-TCGTTGATAACACTGCAA-3´		
RAP-1a	BbigRAP-1a	PCR	5´-GAGTCTGCCAAATCCTTAC-3´	*Babesia. bigemina*	879pb
	BbigRAP-R1a		5´-TCCTCTACAGCTGCTTCG-3´		
	BbigRAP-F2a	nPCR	5´-AGCTTGCTTTCACAACTCGCC-3´		412pb
	BbigRAP-R2a		5´-TTGGTGCTTTGACCGACGACAT-3´		
Msp5	AM-49F1	PCR	5´GTGTTCCTGGGGTACTCCTATGTGAACAAG3´	*Anaplasma marginale*	547pb
	AM-595R1		5´AAGCATGTGACCGCTGACAAACTTAAACAG3´		
	AM-211F2	nPCR	5´AAGCACATGTTGGTAATATTCGGCTTCTCA3´		195pb
	AM-376R2		5´AATTCTCGCATCAAAAGACTTGTGGTACTC3´		
16S rRNA	AC1f	PCR	5′-CTGCTTTTAATACTGCAGGACTA-3´	*Anaplasma centrale*	426pb
	AC1r		5′-ATGCAGCACCTGTGTGAGGT-3´		
16S rRNA	AB1f	PCR	5´-CTCGTAGCTTGCTATGAGAAC-3´	*Anaplasma bovis*	551pb
	AB1r		5´-TCTCCCGGACTCCAGTCTG-3´		

Pb: Pares de bases.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

4. RESULTADOS.

Se muestrearon un total de 178 animales en ocho UPP, clasificadas para este estudio en pequeñas a medianas UPP con un número de animales que oscilaron en un rango de 40 a 120 bovinos. El número de muestras de sangre obtenidas y el número total de bovinos por cada UPP se muestran en el Cuadro 3. Se recopilaron también datos de la orografía de la UPP y se clasificó como zona alta (lomas, cerros) o baja (zona inundable). Así como el tipo de producción de bovinos, el cual se clasificó en producción de carne o leche.

Cuadro 3.- Datos generales de las unidades de producción pecuaria (UPP) empleadas en el presente estudio.

UPP	Número de muestras	Número total de animales	Orografía	Tipo de producción
1	21	90	Alto	Carne
2	25	110	bajo	Carne
3	15	120	Alto	Leche
4	22	75	Alto	Carne
5	29	45	Alto	Carne
6	15	100	Bajo	Leche
7	16	100	Bajo	Leche
8	35	110	Alto	Carne
Total	178	750		

En general, la prevalencia de *A. marginale* en los bovinos estudiados fue de 74.15% (132/178). Datos específicos relacionados con la prevalencia de *A. marginale* de acuerdo a cada una de las variables estudiadas en las UPP se pueden observar en el Cuadro 4. Una diferencia numéricamente notable fue encontrada en la variable género, la cual se ve influenciada por el bajo número de bovinos machos evaluados.

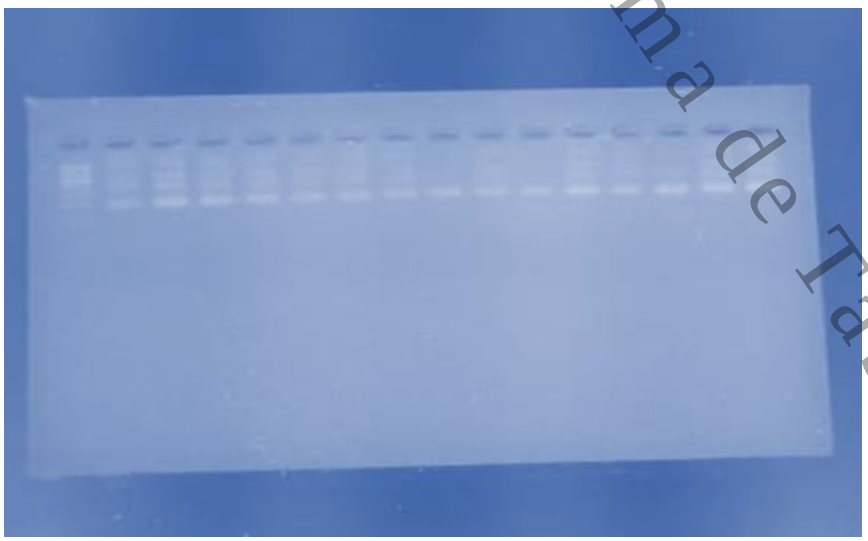
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Cuadro 4.- Evaluación de la asociación de las variables estudiadas a la infección causada por *A. marginale* en bovinos de la subregión Sierra de Tabasco.

Variable	PCR +	PCR -	Total	Prevalencia	OR	IC (*P*<0.05)
Tipo de producción						
Carne	102	30	132	77.27%	1.81	0.87-3.76
Leche	30	16	46	65.21%	0.55	0.26-1.16
Orografía						
Zona alta	92	30	122	75.40%	1.2	0.6-2.49
Zona baja	40	16	56	71.42%	0.81	0.4-1.66
Género						
Hembras	123	45	168	73.21%	0.3	0.03-2.46
Machos	9	1	10	90%	3.29	0.4-26.72
Frecuencia de baños						
1 por mes	34	10	44	77.27%	1.2	0.56-2.78
2 por mes	98	36	134	73.13%	0.8	0.35-1.78

OR: Odds Ratio, IC: Intervalo de confianza.

Las especies *A. centrale, A. phagocytophilum* y *A. bovis* no fueron detectadas mediante las pruebas de PCR realizadas en el presente estudio en ninguna de la ocho UPP.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Figura 2. Gel de agarosa. Se observa el producto de la electroforesis en el diagnóstico de *Anaplasma marginale*.

De las especies de *Babesia* investigadas tanto *B. bovis* como *B. bigemina* fueron identificadas, ambas con una prevalencia general de 11.23% (20/178).

Muestras de las placas de gel de agarosa obtenidos de la electroforesis del diagnóstico de *B bovis* y *B bigemina* se muestran en la figura 3 y figura 4, respectivamente.

Figura 3. Gel de agarosa. Se observa el producto de la electroforesis en el diagnóstico de *Babesia bovis*.

Dentro de los resultados resalta la asociación elevada de animales infectados en ranchos donde solo se efectúa un solo baño garrapaticida al mes (OR= 13.34), aunque las demás variables no presentaron valores de OR que representen una mayor probabilidad de infección.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

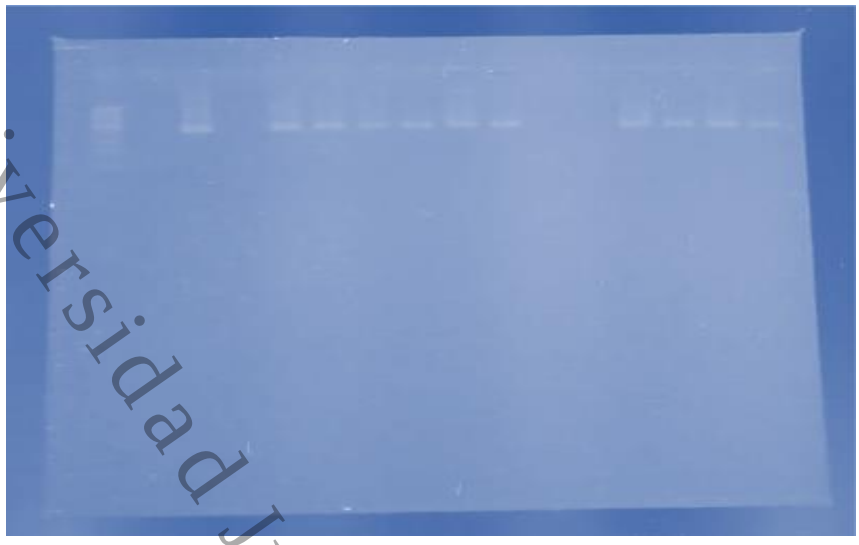


Figura 4. Gel de agarosa. Se observa el producto de la electroforesis en el diagnóstico de *Babesia bigemina*.

En el Cuadro 5, se puede observar la asociación de las variables estudiadas con la presencia de animales infectados con *B. bovis*.

Cuadro 5.- Asociación de las variables estudiadas a la infección causada por *B. bovis* en bovinos de la subregión Sierra de Tabasco.

Variable	**PCR +**	**PCR -**	**Total**	**Prevalencia**	**OR**	**IC (*P*< 0.005)**
Tipo de producción						
Carne	16	116	132	12.12%	1.44	0.45-4.57
Leche	4	42	46	8.69%	0.69	0.21-2.1
Orografía						
Zona alta	20	102	122	16.39%	-	-
Zona baja	0	56	56	0%	-	-
Género						
Hembras	19	149	168	11.3%	1.14	0.13-9.56
Machos	1	9	10	10%	0.87	0.10-7.26
Frecuencia de baños						
1 por mes	15	29	44	34.09%	13.34	4.48-39.66
2 por mes	5	129	134	3.73%	0.07	0.02-0.22

OR: Odds Ratio, IC: Intervalo de confianza.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Con respecto a la infección causada por *B. bigemina* en los animales estudiados, resalta una mayor asociación en animales criados bajo el sistema de producción de carne y en aquellos que pertenecen a zonas altas. Los resultados de prevalencia y asociación de variables con la infección de *B. bigemina* en los bovinos estudiados puede observarse en el Cuadro 6.

La variable tipo de garrapaticida que se emplea en cada UPP fue encuestada durante el presente estudio. Sin embargo, fue descartada debido a que en todas se emplea amitraz como sustancia activa (solo una de las UPP emplea el amitraz combinado con cumafós). Por lo cual, prácticamente en todas las UPP el uso de amitraz es común y no existe otra familia de garrapaticida con la cual puedan compararse los resultados obtenidos. Similarmente, la variable edad fue descartada debido a que en muchos animales esta variable no era conocida de acuerdo a los registros de los ganaderos. En las UPP donde el dato existía se observó demasiada variabilidad por lo que se formarían muchos grupos con pocas repeticiones y se decidió no incluirla en los análisis estadísticos.

Cuadro 6.- Asociación de las variables estudiadas a la infección causada por *B. bigemina* en bovinos de la subregión Sierra de Tabasco.

Variable	**PCR +**	**PCR -**	**Total**	**Prevalencia**	**OR**	**IC (*P*< 0.005)**
Tipo de producción						
Carne	17	115	132	12.87%	2.11	0.59-7.59
Leche	3	43	46	6.52%	0.47	0.13-1.69
Orografía						
Zona alta	17	105	122	13.93%	2.8	0.80-10.19
Zona baja	3	53	56	5.35%	0.34	0.09-1.24
Género						
Hembras	17	151	168	10.11%	0.26	0.06-1.11
Machos	3	7	10	30%	3.8	0.89-16.10
Frecuencia de baños						
1 por mes	0	44	44	0%	-	-
2 por mes	20	114	134	14.92%	-	-

OR: Odds Ratio, IC: Intervalo de confianza.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

5. DISCUSIÓN.

La anaplasmosis bovina es considerada endémica en México y se ha demostrado mediante diagnóstico serológico que más del 50% de los bovinos de las zonas tropicales y subtropicales se encuentran infectados (Rodríguez *et al*. 2009). Estudios previos de prevalencia molecular de *A. marginale* mediante PCR en bovinos de Veracruz reportaron 69.2% de prevalencia (Cossío-Bayúgar *et al*. 1997) y la seroprevalencia reportada en el estado de Yucatán fue de 69.75% (Rodríguez-Vivas *et al*. 2004), lo cual coincide con lo encontrado en el presente estudio. Otro reporte mediante la evaluación empleando PCR indica 100% de prevalencia en un hato de Nayarit y 36% de prevalencia en un hato de Jalisco (Castañeda-Ortiz *et al*. 2015). Datos reportados indican que en ganado criado en Colombia la prevalencia detectada mediante PCR se encuentra alrededor de 55% (Jaimes-Dueñez *et al*. 2018). Además, los estudios filogenéticos de las cepas localizadas en Colombia mostraron una relación cercana con cepas Mexicanas, Venezolanas y Brasileñas, con lo que puede demostrarse que este patógeno tiene una amplia distribución en el continente americano y las cepas muestran un genoma conservado especialmente entre las cepas mexicanas y brasileñas (Martínez-Ocampo *et al*. 2020).

En cuanto a los factores asociados a la infección de *A. marginale* en ganado de la subregión Sierra de Tabasco, se determinó que el ganado criado para la producción de carne presentó casi dos probabilidades más de ser infectado que el ganado para producción de leche, y los machos presentaron tres veces más probabilidades de ser infectados que las hembras. Sin embargo, el bajo número de machos muestreados podría estar afectando este resultado, que deberá ser evaluado con un mayor número de animales en futuros estudios. Al respecto los factores asociados en UPP de Yucatán fueron mantener cargas mayores a un animal por hectárea (OR= 10.94) y el uso de piretroides (OR= 3.8), mientras que la frecuencia de los baños de inmersión, y el uso de instrumentos veterinarios como agujas, tatuadoras, descornadoras y guantes no fueron asociados a la infección causada por *A. marginale* (Rodríguez-Vivas *et al*. 2004). Similarmente, el tipo de

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

producción para carne y la estación húmeda fueron los factores asociados a la infección en bovinos de Colombia (Jaimes-Dueñez *et al*. 2017). Se ha determinado que *A. marginale* es transmitida por *Dermacentor andersoni*, *Dermacentor variabilis* y especialmente, por *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Brayton 2012). No obstante, las moscas de establo *Stomoxys calcitrans* alojan *A. marginale* y al parecer son un vector mecánico en establos libres de garrapatas favoreciendo la circulación y mantenimiento del microorganismo en los hatos (Bautista *et al*. 2018).

A pesar que *A. centrale, A. phagocytophilum* y *A. bovis* han sido reportadas en rumiantes de varias partes del mundo (Kawahara *et al*. 2006; Ybañez e Inokuma 2016), estas no fueron detectadas mediante las pruebas de PCR realizadas en el presente estudio en ninguna de las ocho UPP estudiadas.

Por otra parte, la babesiosis bovina ha sido detectada desde 1980 mediante observación microscópica de extensiones sanguíneas (Thompson *et al*. 1980). Los trabajos de investigación y control de enfermedades transmitidas por garrapatas en la frontera de México y los Estados Unidos de Norteamérica han enfocado sus esfuerzos en el control de la babesiosis bovina y han logrado identificar que el venado de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) juega un papel importante en la dispersión de garrapatas *Rhipicephalus* (*Boophilus*) annulatus and *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* y la transmisión de *B. bovis*, *B. bigemina* en esta zona fronteriza. Así también, el ganado extraviado de origen mexicano capturado cruzando hacia el sur de Texas ha sido monitoreado mediante la técnica de PCR y ha sido reportado como portador de *B. bovis*, *B. bigemina* y *Borrelia theileri* (Scoles *et al*. 2021). En el sureste del país ha sido reportada seroprevalencia elevada de *B. bovis* y *B. bigemina* en ganado de Yucatán (Ramirez *et al*. 1998). Sin embargo, a pesar de que muchas publicaciones mencionan indirectamente que la prevalencia de *B. bovis* y *B. bigemina* es elevada en México (Genis *et al*. 2008; Genis *et al*. 2009; Esteve-Gasent *et al*. 2020), dato que es popularmente conocido entre criadores de ganado y veterinarios, a la fecha no se encuentran publicaciones en revistas científicas de alto impacto, estudios en los cuales se

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

indiquen datos como la prevalencia, factores asociados o de riesgo, vectores reconocidos y demás factores epidemiológicos que rodean a estas infecciones, principalmente, mediante el uso de técnicas moleculares. En países como Brasil existen estudios de identificación molecular tanto de *B. bovis* como de *B. bigemina*, reportando prevalencias de 29% y 16%, respectivamente (Vieira *et al*. 2019). En Colombia se han registrado prevalencias de 13.8% para *B. bovis* y 31.5% para *B. bigemina* (Jaimes-Dueñez *et al*. 2017).

Los factores evaluados en el presente estudio para determinar una posible asociación con la infección por *B. bovis* no resultaron con una asociación significativa a excepción de la variable “frecuencia de baño garrapaticida una vez al mes”. Sin embargo, posiblemente los baños garrapaticida se hayan incrementado en esas UPP en consecuencia del incremento en la presencia de garrapatas. Para el caso de *B. bigemina* los animales ubicados en UPP de zonas altas y dedicadas a la producción de carne presentaron dos veces más posibilidades de contraer la infección. En un estudio de seroprevalencia de *B. bovis* en ganado de Yucatán se reportó una mayor probabilidad de infección en bovinos que reciben baños de inmersión con un periodo mayor a 60 días (Solorio-Rivera *et al*. 1999). Sin embargo, en Malasia se reportó que la raza, la edad, el estadio fisiológico, y el rango de infestación de garrapatas fueron factores asociados a la infección de *B. bigemina* (Ola-Fadunsin *et al*. 2021).

Algunos de los factores estudiados en el presente estudio difieren de los reportados en otras partes del mundo y desafortunadamente en México no existen más estudios epidemiológicos que hayan determinado los factores asociados a la infección de *B. bovis* y *B. bigemina* en el país. Por lo tanto, futuros estudios más amplios, incluyendo más áreas geográficas del estado de Tabasco y del país, así como la inclusión de un mayor número de animales y factores de estudio deberán ser abordados a fin de mejorar el entendimiento de la epidemiología de estas infecciones que afectan al ganado bovino.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México

El presente estudio es el primer reporte de la presencia de *A. marginale*, *B. bovis* y *B. bigemina* en la subregión Sierra del estado de Tabasco. Las especies *A. centrale, A. phagocytophilum* y *A. bovis* reportadas en otras partes del mundo no fueron encontradas en los animales muestreados.

6. CONCLUSIONES.

La única especie de *Anaplasma* encontrada en el presente estudio fue *A. marginale* con una prevalencia de 74.15%. Las especies de *B. bovis* y *B. bigemina* se encontraron ambas con 11.23% de prevalencia. Los factores asociados deberán ser estudiados más ampliamente para poder definir su asociación a cada una de las infecciones. Las especies *A. centrale, A. phagocytophilum* y *A. bovis* no fueron encontradas en el presente estudio.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

7. REFERENCIAS.

Adjou Moumouni, P. F., G. O. Aboge, M. A. Terkawi, T. Masatani, S. Cao, K. Kamyingkird, C. Jirapattharasate, M. Zhou, G. Wang, M. Liu, A. Iguchi, P. Vudriko, A. P. Ybanez, H. Inokuma, R. Shirafuji-Umemiya, H. Suzuki, and X. Xuan. **2015**. Molecular detection and characterization of *Babesia bovis, Babesia bigemina, Theileria* species and *Anaplasma marginale* isolated from cattle in Kenya. Parasites and Vectors. 8: 1–14.

Aktas, M., Ozubek, S. 2015. Molecular and parasitological survey of bobine pirosplasmosis in the black sea region, including the first report of Babesiosis associatd whith *Babesia divergens* in Turkey. J. Med. Entomol. 52: 1334–1350.

Amorim, L. S., A. A. Wenceslau, F. S. Carvalho, P. L. S. Carneiro, and G. R. Albuquerque. **2014**. Bovine babesiosis and anaplasmosis complex: diagnosis and evaluation of the risk factors from Bahia, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Veterinária. 23: 328–336.

Andersson, M. O., U. A. Bergvall, J. Chirico, M. Christensson, P. Lindgren, J. Nordström, and P. Kjellander. **2016**. Molecular detection of *Babesia capreoli* and *Babesia venatorum* in wild Swedish roe deer , *Capreolus capreolus*. Parasit. Vectors. 13–15.

Antonio Alvarez, J., C. Rojas, and J. V. Figueroa. **2019**. Diagnostic tools for the identification of *Babesia sp.* In persistently infected cattle. Pathogens. 8.

Battilani, M., S. De Arcangeli, A. Balboni, and F. Dondi. **2017**. Genetic diversity and molecular epidemiology of *Anaplasma.* Infect. Genet. Evol. 49: 195–211.

Bautista, C. R., T. Rodríguez, C. Rojas, J. J. J. Lira, J. A. Ã€lvarez, D. Polanco, J. A. Álvarez, and D. Polanco. **2018**. Molecular detection of Anaplasma marginale in stable flies Stomoxys calcitrans (Diptera: Muscidae) feeding on a tick-free bovine herd. Vet. Mex. 5: 1–7.

Bernardo, F. D., F. L. da C. Freitas, A. F. da Silva-Neto, and C. Franciscato. **2016**. Importance of blood smear in the distinction of hemoparasites: A case

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

report of anaplasmosis. Rev. Bras. Hig. e Sanidade Anim. 10: 290–296.

Bilgiç, H. B., T. Karagenç, M. Simuunza, B. Shiels, A. Tait, H. Eren, and W. Weir. **2013**. Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Theileria annulata, Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in cattle. Exp. Parasitol. 133: 222–229.

Bolívar., A. M. 2013. Metodología diagnóstica para hemoparásitos dentro de la ganadería bovina con énfasis en la reacción en cadena de la polimerasa y su variante múltiple. Rev. Salud Anim. 35: 1–9.

Brayton, K. A. 2012a. Transmisión de *Anaplasma marginale* por garrapatas. Rev. Mex. Ciencias Pecu. 3: 41–50.

Brayton, K. A. 2012b. Transmisión de *Anaplasma marginale* por garrapatas. Rev. Mex. Ciencias Pecu.

Cantu, A., Ortega, A., García, C., Mosqueda, J. 2009. Epizootiology of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in free ranging white-tailed deer in northeastern México. J. Parasitol. 95: 536–542.

Casati, S., Sager, H., Gern, L., Piffaretti, J. 2006. Presence of potentially pathogenic *Babesia sp.* for human in Ixodes ricinus in Switzerland. Ann. Agric. Environ. Med. 13: 65–70.

Castañeda-Ortiz, E. J., M. W. Ueti, M. Camacho-Nuez, J. J. Mosqueda, M. R. Mousel, W. C. Johnson, and G. H. Palmer. **2015**. Association of *Anaplasma marginale* Strain Superinfection with Infection Prevalence within Tropical Regions. PLoS One. 10: e0120748.

Corona-González, B., Obregón, D., Alemán, Y., Alfonso, P., Vega, E., Díaz, A., Martínez, S. 2014. Tendencias en el diagnóstico de la anaplasmosis bovina. Rev. Salud Anim. 36: 73–79.

Cossío-Bayúgar, R., S. Rodríguez, M. A. García-Ortiz, D. GArcia-Tapia, and R. Aboytes-Torres. **1997**. Bovine anaplasmosis prevalence in northern Veracruz state, Mexico. Prev. Vet. Med. 32: 165–170.

Costa, J. 2004. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 22: 299–305.

Cuy-Chaparro LE.; Ricaurte-Contreras LA, Camargo-Mancipe AJ, M.-P., and DA. 2019. *Babesia bovis*: Actualidad del desarrollo de una vacuna. Rev. Investig. en Salud. 6: 1–24.

Dunn, J. M., P. J. Krause, S. Davis, E. G. Vannier, M. C. Fitzpatrick, L. Rollend, A. A. Belperron, S. L. States, A. Stacey, L. K. Bockenstedt, D. Fish, and M. A. Diuk-Wasser. **2014**. *Borrelia burgdorferi* promotes the establishment of Babesia microti in the northeastern United States. PLoS One. 9: e115494.

El-Ashker, M., H. Hotzel, M. Gwida, M. El-Beskawy, C. Silaghi, and H. Tomaso. **2015**. Molecular biological identification of *Babesia, Theileria,* and *Anaplasma* species in cattle in Egypt using PCR assays, gene sequence analysis and a novel DNA microarray. Vet. Parasitol. 207: 329–334.

Esteve-Gasent, M. D., R. I. Rodríguez-Vivas, R. F. Medina, D. Ellis, A. Schwartz, B. Cortés Garcia, C. Hunt, M. Tietjen, D. Bonilla, D. Thomas, L. L. Logan, H. Hasel, J. A. Alvarez Martínez, J. J. Hernández-Escareño, J. Mosqueda Gualito, M. A. Alonso Díaz, R. Rosario-Cruz, N. Soberanes Céspedes, O. Merino Charrez, T. Howard, V. M. Chávez Niño, and A. A. de León. **2020**. Research on Integrated Management for Cattle Fever Ticks and Bovine Babesiosis in the United States and Mexico: Current Status and Opportunities for Binational Coordination. Pathogens. 9.

Fallquist, H., Tao, J., Cheng, X., et al. 2019. Dynamics of repeat associated plasticity in the aaap gene in *Anaplasma marginale*. Gene X. 2.

FAO. **2019**. Datos sobre alimentacion y agricultura. (http://www.fao.org/faostat/es/#country/138).

Ferrerira, J; & Martínez, J. 2017. Antigenos subdominantes de *Anaplasma marginale*, nuevos candidatos vacunales. 58: 34–44.

Florin-Christensen, M., et al. **2014**. Vaccines against bovine babesiosis: where we are now and possible roads ahead. Parasitology. 28: 1–30.

Genis, A. D., J. J. Mosqueda, V. M. Borgonio, A. Falcón, A. Alvarez, M.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Camacho, M. De Lourdes Muñoz, and J. V Figueroa. **2008**. Phylogenetic Analysis of Mexican *Babesia bovis* Isolates Using msa and ssrRNA Gene Sequences. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1149: 121–125.

Genis, A. D., J. Perez, J. J. Mosqueda, A. Alvarez, M. Camacho, M. de L. Muñoz, C. Rojas, and J. V Figueroa. **2009**. Using msa-2b as a molecular marker for genotyping Mexican isolates of *Babesia bovis*. Infect. Genet. Evol. 9: 1102–1107.

Giglioti, R., H. N. Oliveira, C. H. Santana, A. M. G. Ibelli, T. A. Néo, T. B. Bilhassi, M. D. Rabelo, R. Z. Machado, L. G. Brito, and M. C. S. Oliveira. **2016**. *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection levels estimated by qPCR in Angus cattle from an endemic area of São Paulo state, Brazil. Ticks Tick. Borne. Dis. 7: 657–662.

González, L. M., K. Estrada, R. Grande, V. Jiménez-Jacinto, L. Vega-Alvarado, E. Sevilla, J. De La Barrera, I. Cuesta, Á. Zaballos, J. M. Bautista, C. A. Lobo, A. Sánchez-Flores, and E. Montero. **2019**. Comparative and functional genomics of the protozoan parasite *Babesia divergens* highlighting the invasion and egress processes. PLoS Negl. Trop. Dis. 13: 1–23.

Gray, A., P. Capewell, C. Loney, F. Katzer, B. R. Shiels, and W. Weir. **2019**. Sheep as host species for zoonotic *Babesia venatorum*, United Kingdom. Emerg. Infect. Dis. 25: 2257–2260.

Gray, J. S., A. Estrada-Peña, and A. Zintl. **2019**. Vectors of Babesiosis. Annu. Rev. Entomol. 64: 149–165.

Hamzah, K. J., and S. A. Hasso. **2019**. Molecular prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in sheep from Iraq. Open Vet. J. 9: 238–245.

Hasle, G., H. P. Leinaas, K. H. Røed, and Ø. Øines. **2011**. Transport of *Babesia venatorum*-infected *Ixodes ricinus* to Norway by northward migrating passerine birds. Acta Vet. Scand. 53: 1–5.

Hornok, S., A. Mester, N. Takács, I. G. Fernández De Mera, J. De La Fuente, and R. Farkas. **2014**. Re-emergence of bovine piroplasmosis in Hungary: Has

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

the etiological role of *Babesia divergens* been taken over by *B. major* and *Theileria buffeli*? Parasites and Vectors. 7: 1–4.

INEGI. **2017**. Encuesta Nacional Agropecuaria 2017. (https://www.inegi.org.mx/programas/ena/2017/).

INEGI. **2020**. Instituto Nacional de Estadistica y Geografia.

Iriso Calle, A., R. Bueno Marí, E. De las Heras, J. Lucientes, and R. Molina. **2017**. Cambio climático en España y su influencia en las enfermedades de transmisión vectorial. Rev. Salud Ambient. 17: 70–86.

Jabbar, A., T. Abbas, Z. U. D. Sandhu, H. A. Saddiqi, M. F. Qamar, and R. B. Gasser. **2015**. Tick-borne diseases of bovines in Pakistan: Major scope for future research and improved control. Parasites and Vectors. 8.

Jaimes-Dueñez, J., O. Triana-Chávez, and A. M. Mejía-Jaramillo. **2017**. Parasitological and molecular surveys reveal high rates of infection with vector-borne pathogens and clinical anemia signs associated with infection in cattle from two important livestock areas in Colombia, Ticks Tick. Borne. Dis. Elsevier GmbH.

Jaimes-Dueñez, J., O. Triana-Chávez, and A. M. Mejía-Jaramillo. **2018**. Genetic, host and environmental factors associated with a high prevalence of *Anaplasma marginale*. Ticks Tick. Borne. Dis. 9: 1286–1295.

Jiang, J., Y. Zheng, R. Jiang, H. Li, Q. Huo, B. Jiang, Y. Sun, N. Jia, Y. Wang, L. Ma, and H. Liu. **2015**. Epidemiological , clinical , and laboratory characteristics of 48 cases of *Babesia venatorum* infection in China. Lancet Infect. Dis. 15: 196–203.

Jiang, L., P. Ching, C. Chao, J. S. Dumler, W. Ching, I. D. Directorate, N. Medical, S. Spring, and N. Potomac. **2020**. Development of a sensitive and rapid recombinase polymerase.

Karlsson, M. E., and M. O. Andersson. **2016**. Babesia species in questing *Ixodes ricinus*, Sweden. Ticks Tick. Borne. Dis. 7: 10–12.

Kawahara, M., Y. Rikihisa, Q. Lin, E. Isogai, K. Tahara, A. Itagaki, Y.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Hiramitsu, and T. Tajima. **2006**. Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum, Anaplasma bovis, Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia sp*. in wild deer and ticks on two major islands in Japan. Appl. Environ. Microbiol. 72: 1102–1109.

Knapp, K. L., and N. A. Rice. **2015**. Human coinfection with Borrelia burgdorferi and *Babesia microti* in the United States. J. Parasitol. Res. 2015.

Lempereur, L., R. Beck, I. Fonseca, C. Marques, A. Duarte, M. Santos, S. Zúquete, J. Gomes, G. Walder, A. Domingos, S. Antunes, G. Baneth, C. Silaghi, P. Holman, and A. Zintl. **2017**. Guidelines for the detection of *Babesia* and *Theileria* parasites. Vector-Borne Zoonotic Dis. 17: 51–65.

Lira-Amaya, J. J., D. J. Polanco-martínez, R. O. Castañeda-arriola, A. Ramos-aragón, E. D. J. Lara-hernández, J. Francisco, P. Torre, C. Rojas-martínez, J. A. Álvarez-martínez, C. Ramón, and B. Julio. **2017**. Prevalencia serológica y molecular de *Babesia bovis , Babesia bigemina y Anaplasma marginale* en búfalos de agua en zonas de alta incidencia garrapatas. 627–632.

Lopo-Costa, S. C. L., V. de Magalhães, Carvalho, U. V. de Oliveira, F. S. Carvalho, C. P. de Almeida, R. Z. Machado, and A. D. Munhoz. **2016**. Transplacental transmission of bovine tick-borne pathogens: Frequency, co-infections and fatal neonatal anaplasmosis in a region of enzootic stability in the northeast of Brazil. Ticks Tick. Borne. Dis. 7: 270–275.

Lozina, L., E. Ríos, A. Barbieri, F. Del Río, E. Bogado, and G. Teibler. **2018**. Estandarización del modelo de infección experimental en bovinos con *Anaplasma centrale* para la producción de inmunógenos. Vet. 54: 37–42.

Mamoudou, A., N. Cyril, S. Lendzele, M. Kingsley, J. Njongui, and Z. Pagnah. **2017**. Bovine Babesiosis and Anaplasmosis in some cattle farms in the Vina division. Int. J. Livest. Res. 1.

Martínez-Ocampo, F., R. E. Quiroz-Castañeda, I. Amaro-Estrada, E. Dantán-González, J. F. P. de la Torre, and S. Rodríguez-Camarillo. **2020**. Whole-Genome Sequencing of Mexican Strains of *Anaplasma marginale*: An

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Approach to the Causal Agent of Bovine Anaplasmosis. Int. J. Genomics. 2020: 5902029.

Mateu, E y Casal, J. 2003. Tamaño de la muestra. Rev Epidemiol Med Prev. 8–14.

Medina-Naranjo, V. L., A. Reyna-Bello, L. M. Tavares-Marques, A. M. Campos, J. W. Ron-Román, J. C. Moyano, E. C. Jarrín-Porras, E. D. Sandoval-Morejón, and M. A. Chávez-Larrea. **2017**. Diagnosis of hemotropics *Anaplasma marginale, Trypanosoma spp*. and *Babesia spp*. by elisai and PCR techniques in three livestock farms of Pastaza Province, Ecuador. Rev. Cient. la Fac. Ciencias Vet. la Univ. del Zulia. 27: 162–171.

Michel, A. O., A. Mathis, and M. P. Ryser-Degiorgis. **2014**. *Babesia spp.* in European wild ruminant species: Parasite diversity and risk factors for infection. Vet. Res. 45: 1–11.

Moritz, E. D., C. S. Winton, L. Tonnetti, R. L. Townsend, V. P. Berardi, M. E. Hewins, K. E. Weeks, R. Y. Dodd, and S. L. Stramer. **2016**. Screening for *Babesia microti* in the U.S. blood supply. N. Engl. J. Med. 375: 2236–2245.

Mosby, B. P. 2010. Medicina interna en pequeños animales., 4ta ed. Elsevier, España.

Mosqueda Gualito, J. J., A. Falcón Neri, J. Alberto Ramos Aragón, G. Jorge Canto Alarcón, and M. Camacho-Nuez. **2012**. Genome and molecular strategies for bovine babesiosis control. Rev. Mex. Ciencias Pecu. 3: 51–59.

OIE. **2015a**. Anaplasmosis bovina. Version Adopt. by World Assem. Deleg. OIE May 2010. (http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.01_Anaplasmosis_bovina.pdf).

OIE. **2015b**. Babesiosis bovina. Version Adopt. by World Assem. Deleg. OIE May 2010. (http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.02_Babesiosis bovina.pdf).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Ola-Fadunsin, S. D., R. S. K. Sharma, D. A. Abdullah, F. I. Gimba, F. F. J. Abdullah, and R. A. Sani. **2021**. The molecular prevalence, distribution and risk factors associated with *Babesia bigemina* infection in Peninsular Malaysia. Ticks Tick. Borne. Dis. 12: 101653.

Park, H., S. Hong, K. Kim, S. Cho, W. Lee, Y. Kim, S. Lee, and Y. Park. **2015**. Characterizations of individual mouse red blood cells parasitized by *Babesia microti* using 3-D holographic microscopy. Nat. Publ. Gr. 1–11.

Park, J., D.-G. Han, J.-H. Ryu, J.-B. Chae, J.-S. Chae, D.-H. Yu, B.-K. Park, H.-C. Kim, and K.-S. Choi. **2018**. Molecular detection of *Anaplasma bovis* in Holstein cattle in the Republic of Korea. Acta Vet. Scand. 60: 15.

Ramirez, G. T., T. W. Jones, C. G. D. Brown, J. L. D. Dominguez, and N. Honhold. **1998**. Bovine babesiosis in dual purpose calves in the state of Yucatan, Mexico. Trop. Anim. Health Prod. 30: 45–52.

Ribeiro, M. F. B., C. V. Bastos, M. M. C. Vasconcelos, and L. M. F. Passos. **2009**. *Babesia bigemina*: In vitro multiplication of sporokinetes in *Ixodes scapularis* (IDE8) cells. Exp. Parasitol. 122: 192–195.

Rodríguez-Vivas, I., L. Grisi, A. A. Pérez De León, H. Silva Villela, J. F. D. J. Torres-Acosta, H. Fragoso Sánchez, D. Romero Salas, R. Rosario Cruz, F. Saldierna, and D. García Carrasco. **2017**. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review Evaluación del impacto económico potencial de los parásitos del ganado bovino en México. Revisión. Rev Mex Cienc Pecu. 8: 61–74.

Rodriguez-Vivas, I., Y. Mata-Mendez, E. Pérez-Gutierrez, and G. Wagner. **2004**. The effect of management factors on the seroprevalence of Anaplasma marginale in *Bos indicus* cattle in Mexican tropics. Tropical A: 135–143.

Rodríguez-Vivas, R. I., Y. Mata-Mendez, E. Pérez-Gutierrez, and G. Wagner. **2004**. The Effect of Management Factors on the Seroprevalence of *Anaplasma marginale* in *Bos indicus* cattle in the Mexican Tropics. Trop. Anim. Health Prod. 36: 135–143.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

Rodríguez, S. D., M. Á. García Ortiz, R. Jiménez Ocampo, and C. A. Vega y Murguía. **2009**. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico. Infect. Genet. Evol. 9: 1092–1101.

Rojas Martínez, C., I. Rodríguez–Vivas, J. V. Figueroa Millán, K. Y. Acosta Viana, E. J. y Gutiérrez Ruiz, and J. A. Álvarez Martínez. **2016**. In vitro culture of *Babesia bovis* in a bovine serum-free culture medium supplemented with insulin, transferrin, and selenite. Exp. Parasitol. 170: 214–219.

Scoles, G. A., K. H. Lohmeyer, M. W. Ueti, D. Bonilla, K. K. Lahmers, J. Piccione, and A. S. Rogovskyy. **2021**. Stray Mexico origin cattle captured crossing into Southern Texas carry *Babesia bovis* and other tick-borne pathogens. Ticks Tick. Borne. Dis. 12: 101708.

Shams, S., Ayaz, S., Ali, I., Khan, S., Gul, I., Gul, N., & Khan, S. N. 2013. Sensitivity and specificity of PCR & microscopy in detection of Babesiosis in domesticated cattle of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. Int. J. Adv. Res. Technol. 2: 37–41.

SIAP. **2019**. Infografia Agroalimentaria 2018.

Silaghi, C., A. S. Santos, J. Gomes, I. Christova, I. A. Matei, G. Walder, A. Domingos, L. Bell-Sakyi, H. Sprong, F. D. Von Loewenich, J. A. Oteo, J. De La Fuente, and J. S. Dumler. **2017**. Guidelines for the direct detection of *Anaplasma spp.* in diagnosis and epidemiological studies. Vector-Borne Zoonotic Dis. 17: 12–22.

Sivakumar, T., I. Igarashi, and N. Yokoyama. **2016**. *Babesia ovata*: Taxonomy, phylogeny and epidemiology. Vet. Parasitol. 229: 99–106.

Solorio-Rivera, J. L., R. I. Rodríguez-Vivas, E. Pérez-Gutierrez, and G. Wagner. **1999**. Management factors associated with *Babesia bovis* seroprevalence in cattle from eastern Yucatán, Mexico. Prev. Vet. Med. 40: 261–269.

Sun, Y., S. G. Li, J. F. Jiang, X. Wang, Y. Zhang, H. Wang, and W. C. Cao. **2014**. *Babesia venatorum* infection in child, China. Emerg. Infect. Dis. 20:

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

896–897.

Tamay de Dios, L.; Ibarra, C.; Velasquillo, C. 2013. Fundamentos de la reaccion en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. Investig. en Discapac. 2: 70–78.

Thompson, G. D., J. A. Medellin, G. S. Treviño, and G. G. Wagner. **1980**. Bovine babesiosis in northern Mexico. Trop. Anim. Health Prod. 12: 132–136.

Torres-Chable, O. M., C. M. Baak-Baak, N. Cigarroa-Toledo, B. J. Blitvich, Y. N. Brito-Argaez, L. G., Alvarado-Kantun, and C. I. Machain-Williams. **2018**. Molecular detection of *Dirofilaria immitis* in dogs and mosquitoes in Tabasco, Mexico. J. Vector Borne Dis. 55: 151.

Verde, J. P. 2019. Leucosis bovina : actualización sobre los mecanismos de transmisión y estrategias de control y erradicación.

Vieira, L. L., M. F. Canever, L. L. Cardozo, C. P. Cardoso, M. E. Herkenhoff, A. T. Neto, C. I. G. Vogel, and L. C. Miletti. **2019**. Prevalence of *Anaplasma marginale, Babesia bovis*, and *Babesia bigemina* in cattle in the Campos de Lages region, Santa Catarina state, Brazil, estimated by multiplex-PCR. Parasite Epidemiol. Control. 6: e00114.

Yan, Y., Y. Jiang, D. Tao, A. Zhao, M. Qi, and C. Ning. **2020**. Molecular detection of *Anaplasma spp.* in dairy cattle in southern Xinjiang, China. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports. 20: 100406.

Ybañez, & A. P., and H. Inokuma. **2016**. *Anaplasma* species of veterinary importance in Japan. Vet. World. 9: 1190–1196.

YBAÑEZ, A. P., T. SIVAKUMAR, B. BATTSETSEG, B. BATTUR, K. ALTANGEREL, K. MATSUMOTO, N. YOKOYAMA, and H. INOKUMA. **2013**. Specific Molecular Detection and Characterization of *Anaplasma marginale* in Mongolian Cattle. J. Vet. Med. Sci. 75: 399–406.

Yousefi, A., S. Rahbari, P. Shayan, Z. Sadeghi-dehkordi, and A. Bahonar. **2017**. Molecular detection of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma ovis* in sheep and goat in west highland pasture of Iran. Asian Pac. J. Trop. Biomed.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.

7: 455–459.

Zintl, A., G. McGrath, L. O'Grady, J. Fanning, K. Downing, D. Roche, M. Casey, and J. Gray. **2014**. Changing epidemiology of the tick-borne bovine parasite, *Babesia divergens.* Parasit. Vectors. 7: O8.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México.