

INMUNOLOGÍA DE LA BABESIOSIS

ANTONIO MORILLA GONZÁLEZ

Departamento de Inmunología

Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, S.A.R.H.

México, D. F .

1. Introducción	240
II. Patogenia	242
1. Ciclo de la babesia en el vertebrado	242
2. Signos clínicos y patogenia	242
a) Liberación de sustancias farmacológicamente activas	243
1) Alteraciones del sistema del complemento	243
2) Alteraciones del sistema de las cininas	246
3) Alteraciones de los sistemas de la coagulación y la fibrinólisis	247
b) Anemia	248
c) Probables causas de la muerte del animal	250
III. Resistencia del animal contra la babesia	251
1. Resistencia natural	251
a) Especificidad del hospedador	251
b) Raza	252
c) Edad	252
d) Sistema reticuloendotelial	252
e) Interferón	253
2. Resistencia específica	253
a) Antígenos de la babesia	254
b) Inmunidad humoral y celular	256
c) Fase de crisis	259

d) Formas de evasión de la respuesta inmune	259
e) Efecto de la inmunosupresión artificial sobre la infección	261
f) Efecto inmunosupresor de la babesiosis en el animal	261
IV. Inmunodiagnóstico	262
V. Premunición y vacunas	264
1. Vacunas elaboradas a partir de parásitos de la sangre atenuados	265
2. Vacunas inactivadas a partir de diferentes antígenos de la babesia	265
3. Utilización de drogas babesicidas	266
VI. Comentario final	267
Referencias	268

I. Introducción

El desarrollo de la ganadería en los países que poseen zonas tropicales con abundancia de pastos se ha visto impedido por la presencia de enfermedades que afectan a los bovinos en esas áreas. Este problema se manifiesta cuando se introducen animales de zonas frías o templadas hacia las zonas tropicales. En este caso los animales tienen gran susceptibilidad a los microorganismos y parásitos, por lo que se observa una morbilidad y mortalidad elevada. Dentro de la amplia gama de patógenos, la *babesia* es uno de los más importantes.

La babesiosis de los bovinos, o piroplasmosis, es causada por un protozoo del género *Babesia* y transmitida por garrapatas del género *Boophilus*, en México. La distribución de la enfermedad es idéntica a la que tienen éstos artrópodos. Para controlar la babesiosis se ha recurrido a la eliminación de su hospedador transmisor a través de baños periódicos de los animales con ixodicidas, dando excelentes resultados en las zonas donde este procedimiento es periódico. Sin embargo, debido a la experiencia que se ha tenido en el control de los mosquitos *Anopheles* para evitar la malaria en el hombre, se prevé que puedan aparecer cepas de garrapatas resistentes a los ixodicidas (114), lo que acarrearía la perpetuación de la babesiosis en el campo. En relación a este tipo de problemas, dentro de las investigaciones en el control de la malaria, además de tratar de obtener nuevos productos insecticidas en contra de los mosquitos, se han estado ensayando sistemas de protección inmunológica que permitan vacunar al hombre

contra los plasmodios (78). En el caso de la babesiosis bovina también se han estado investigando, por varios años, sistemas de protección inmunológica. Sin embargo, la búsqueda de un inmunógeno adecuado ha sido difícil, pues existen lagunas en el conocimiento acerca de la forma en que la babesia provoca la muerte del animal, y los mecanismos que éste desarrolla para protegerse contra el parásito.

El objetivo de este trabajo es presentar los conceptos que actualmente se tienen sobre la patogenia y la inmunidad en la babesiosis de las diferentes especies animales (cuadro 1), haciendo hincapié en la babesiosis bovina. Es de hacer notar que en algunos tópicos se han tomado ejemplos de lo que ocurre en otros hemoprotozoarios como los plasmodios y los tripanosomas, con objeto de ampliar el panorama acerca de la inmunidad de la babesiosis. Con respecto a otros temas acerca de la babesiosis, el lector puede consultar otros artículos que han aparecido recientemente (72, 73, 97, 98, 112).

CUADRO 1

ESPECIES DE *BABESIA* QUE AFECTAN A LOS ANIMALES DOMÉSTICOS (61)

<i>Babesia</i>	<i>Especie animal</i>	<i>Tamaño (micras)</i>	
		<i>pequeño</i>	<i>grande</i>
		(1-2.5)	(2.5-5)
<i>argentina</i>	Bovino	+	-
<i>berbera</i>	Bovino	+	-
<i>bigemina</i>	Bovino	-	+
<i>bovis</i>	Bovino	+	-
<i>divergens</i>	Bovino	+	-
<i>major</i>	Bovino	-	+
<i>caballi</i>	Equino	-	+
<i>equi</i>	Equino	+	-
<i>foliata</i>	Ovino	-	+
<i>motasi</i>	Ovino, Caprino	-	+
<i>ovis</i>	Ovino, Caprino	+	-
<i>taylori</i>	Caprino	-	+
<i>perroncitoi</i>	Suino	+	-
<i>trautmanni</i>	Suino	-	+
<i>canis</i>	Canino	-	+
<i>gibsoni</i>	Canino	+	-
<i>vogeli</i>	Canino	-	+
<i>felis</i>	Felino	+	-

II. Patogenia

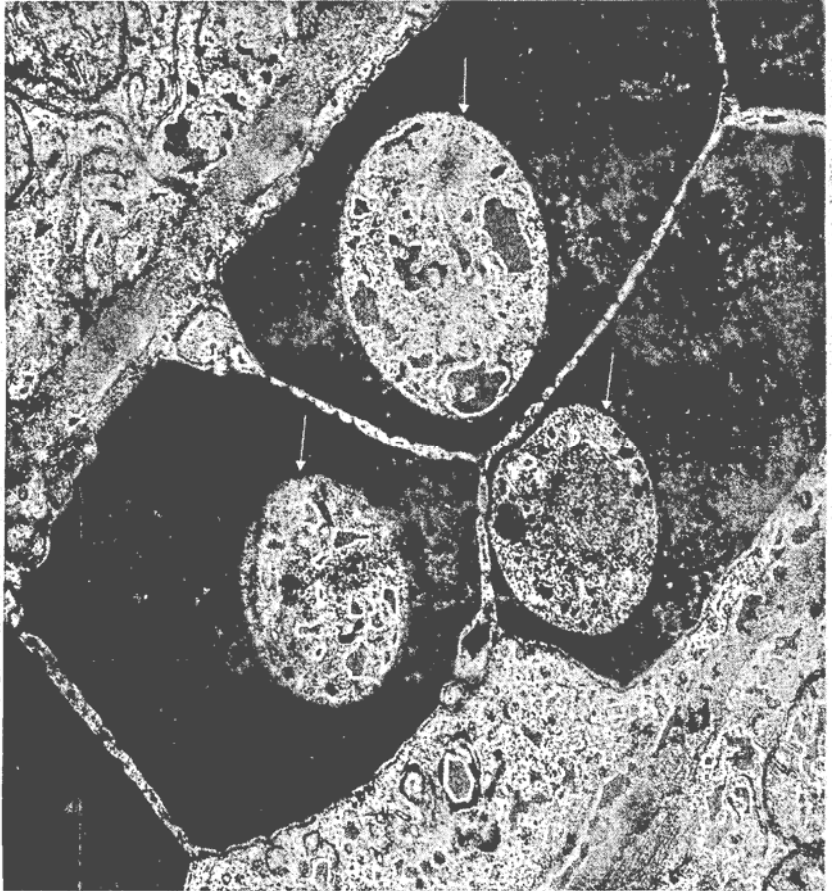
1. *Ciclo de la Babesia en el vertebrado*

Las fases de larva o ninfa de las garrapatas son las que inoculan los esporozoítos de la babesia a los animales. Se considera que el esporozoíto entra directamente al torrente circulatorio; infecta al glóbulo rojo, convirtiéndose en un trofozoíto que se multiplica, por gemación o división binaria formando dos o más merozoítos, según la especie de la *babesia*; éstos salen e infectan a otros eritrocitos y así sucesivamente. No se conoce hasta el momento que exista una fase reproductiva exoeritrocítica, como en malaria. (53): En los frotis sanguíneos es difícil encontrar merozoítos fuera de la célula pues parece ser que invaden en forma rápida los eritrocitos más cercanos. Según Rudzinska *et al.* (103.), la penetración ocurre por la parte anterior del merozoíto y al momento que toca un glóbulo rojo, inmediatamente se adhiere, la membrana se invagina para dar cabida al parásito y da origen a una vacuola que al cabo de cierto tiempo desaparece; la babesia queda libre en la hemoglobina, donde se divide y da origen a los merozoítos; éstos destruyen el glóbulo rojo y nuevamente invaden a otros eritrocitos. Se considera que existen receptores del merozoíto que reconocen al eritrocito y recientemente se ha reportado que en *B. rodhaini* y eritrocitos humanos es necesaria la presencia de Mg⁺ +., properdina, factor B, C3 y en menor cantidad C5, indicando que algunos de estos factores pueden intervenir como receptores(19)

2. *Signos clínicos y patogenia*

En los bovinos el periodo de incubación es aproximadamente de ocho a diez días. Los animales presentan fiebre que va acompañada por decaimiento general, anorexia, atonía del rumen, constipación, y en ocasiones hemoglobinuria; posteriormente, el animal se echa, observándose lacrimación, salivación y a veces contracciones musculares, manifestaciones de dolor, la mirada perdida, descenso en la temperatura y muerte del animal. En las infecciones por *B. argentina* pueden aparecer manifestaciones nerviosas debido a la embolia cerebral provocada por la aglutinación de eritrocitos en los capilares cerebrales (fotografía 3) (121, 122):

INMUNOLOGÍA DE LA BABESIOSIS



FOTOGRAFÍA 3. Capilar sanguíneo de un corte de corteza cerebral bovina, donde se observan eritrocitos parasitados con *B. argentina* (flechas). Obsérvese la modificación de la forma y membrana de los eritrocitos, así como su aglutinación. X 30 000. Microfotografía tomada por los Drs. Pablo Hernández-Jáuregui y el Dr. Francisco Ayala.

Los signos clínicos varían en intensidad, dependiendo de la virulencia de la cepa de babesia, la cantidad inoculada, la edad del animal, el *stress*, la raza y en los animales jóvenes de zonas enzoóticas, el grado de inmunidad transferida por el calostro. La parasitemia a menudo es menor de 0.01 % en bovinos infectados con *B. argentina* o de hasta 80-90% en perros esplenectomizados e infectados con *B. canis*. Las alteraciones clínicas que se observan en animales con parasitemias bajas, probablemente no sean provocadas por la destrucción de los eritrocitos debido a la entrada y salida de las babesias, sino a través de la activación de mecanismos fisiológicos del hospedador que provocan una inflamación generalizada y un choque. Según Mahoney (73) dos eventos son importantes en la patogenia de la babesiosis: el primero es una liberación de sustancias farmacológicamente activas que producen un choque, y el segundo es la anemia.

a) *Liberación de sustancias farmacológicamente activas*

Las alteraciones clínicas aparecen pronto en el curso de la infección antes de que los anticuerpos sean detectables. Este fenómeno se acentúa en los animales esplenectomizados e inoculados por vía intravenosa, en los que el periodo de incubación llega a ser de tres a cuatro días, indicando que los complejos antígeno anticuerpo no son los responsables de los signos clínicos, aunque pueden contribuir a ello. En este caso, se ha sugerido que las sustancias liberadas por el parásito que tengan actividad farmacológica o sean capaces de activar mecanismos fisiológicos que liberen sustancias farmacológicamente activas, sean las responsables del choque terminal. Los sistemas que se alteran son: el del complemento, el de las cininas, el de la coagulación y el de la fibrinólisis, ya que están relacionados entre sí, como puede apreciarse en las figuras 1a y 1b.

1) *Alteraciones del sistema del complemento.* El complemento al activarse es capaz de liberar sustancias vasoactivas a través de la formación de las anafilotoxinas (C3a, C5a) que al unirse a las células cebadas, provocan su desgranulación y la consiguiente liberación de heparina, histamina, sustancia de reacción lenta, serotonina, prostaglandinas, factores quimiotácticos de eosinófilos y un factor de agregación de plaquetas. Además, un fragmento del factor C2 tiene actividad semejante a las cininas (42). Otras actividades del complemento serían a través de los factores C3b y C5b que ayudarían a la fagoci-

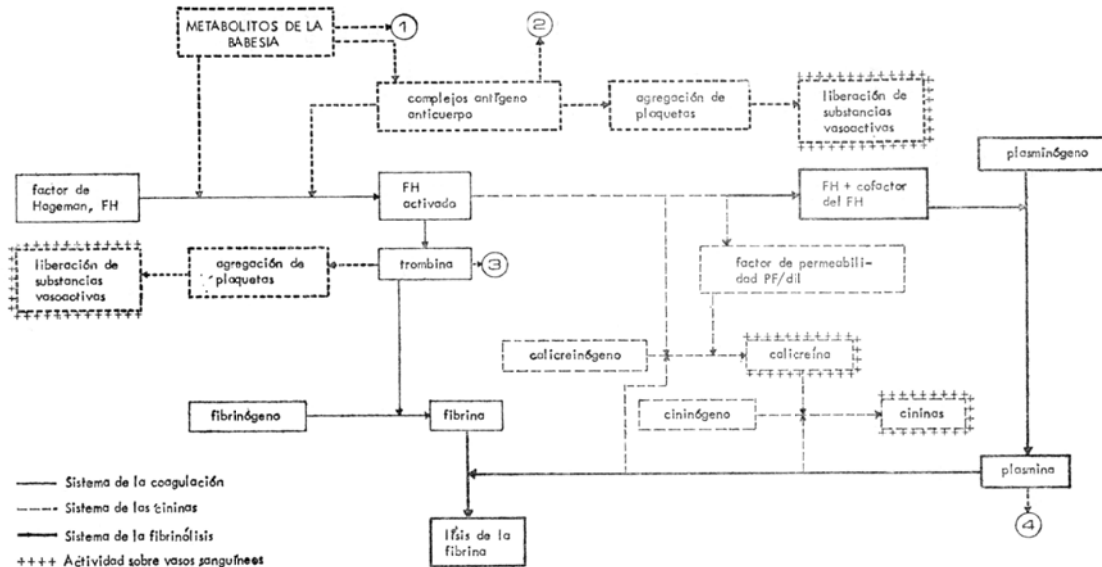


Fig. 1a. Esquema de las interrelaciones entre los metabolitos de la Babesia y los sistemas de la coagulación, generador de cininas, fibrinolítico y del complemento (77, 79, 129).

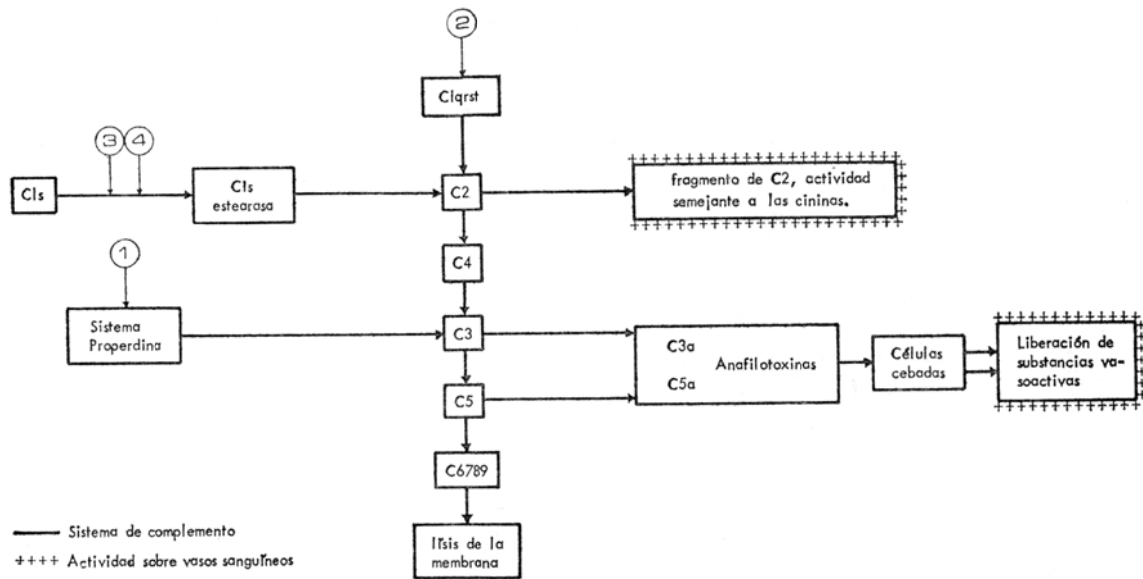


FIG. 1b. Esquema de las interrelaciones entre los metabolitos de la Babesia y los sistemas de la coagulación, generador de cininas, fibrinolítico y del complemento (77, 79, 129).

tosis de los glóbulos rojos. Los factores C567 provocarían la lisis inmunorreactiva en células vecinas, y con la fijación de C8 y C9 ocurriría la lisis de los eritrocitos.

En el curso de la infección de *B. rodhaini* en ratas, ocurre una hipocomplementemia que coincide con la anemia severa, intensidad de la parasitemia y depósito en los glomérulos del riñón de IgG y C3(18). La hipocomplementemia persiste por aproximadamente dos semanas después de la desaparición de los parásitos de la sangre periférica. Los niveles del complemento disminuyen en condiciones en las que se demuestran anticuerpos fijadores del complemento, seguramente relacionado con la formación de complejos inmunes circulantes. También es posible que otra parte de la activación del complemento sea a través de la vía alterna asociada con alteraciones tales como la destrucción de eritrocitos, trombocitopenia y formación de plasmina, entre otras; según Chapman y Ward (18), no hay evidencia de que la activación del complemento ocurra a través del paso alterno de la properdina.

2) *Alteraciones del sistema de las cininas* Las calicreínas y cininas actúan como agentes inflamatorios no específicos, provocando vaso dilatación y un incremento de la permeabilidad de las membranas endoteliales de los vasos sanguíneos que se asocia con la salida de moléculas grandes, como la albúmina y otras proteínas, junto con el líquido circulante. Este escape de líquidos provoca una estasis circulatoria y una obstrucción de la circulación local.

Wright y Mahoney (127) estudiaron la actividad de la calicreína en el plasma de los bovinos esplenectomizados e infectados con *B. argentina*. Estos autores reportaron que la velocidad de conversión de calicreinógeno a calicreína aumentó uno a dos días antes de que los parásitos aparecieran en la sangre periférica; el proceso continuó hasta que las reservas de calicreinógeno disminuyeron a menos del 10% de los niveles normales, 11 y 12 días después de la infección. Se considera que la calicreína desempeña un papel muy importante en el choque terminal que se observa en la infección por *B. argentina*.

La activación de la calicreína durante los estadios tempranos de la infección, antes de que aparezcan los parásitos en la sangre, puede ser debida a varias causas. Es posible que *B. argentina* libere un potente activador de la calicreína o libere sustancias semejantes a las endotoxinas o a una enzima proteolítica que active el factor de Hageman, y éste a su vez active el calicreinógeno (123). También es posible que sustancias del parásito o el parásito mismo provo-

quen la destrucción de tejidos, liberándose productos que activen la calicreína.

Mahoney y Wright (77) demostraron que pequeñas cantidades de extracto obtenido de *B. argentina* era capaz de activar el sistema de las calicreínas inmediatamente después de la inoculación intravenosa. Además, se ha podido purificar del extracto, una enzima, por medio de cromatografía de afinidad, que activa la calicreína del plasma *in vitro* (125).

Wright y Kerr (128) sugirieron que la baja inicial del hematócrito de *B. argentina* se debe a que la calicreína, al aumentar la permeabilidad vascular y la vasodilatación, provoca la estasis circulatoria que hace que disminuya la cantidad de eritrocitos circulantes, sin que ocurra su destrucción. Además, en animales infectados con babesia estudiaron el efecto del trasilol, que es un inhibidor de amplio espectro de proteasas; entre ellas, la calicreína, plasmina y trombina. Estos autores no encontraron diferencias marcadas entre los grupos tratados y los no tratados, indicando que en la patogenia de la babesiosis intervienen otras sustancias vasoactivas además de las que fueron inhibidas.

3) Alteraciones de los sistemas de la coagulación y la fibrinólisis.

Allen *et al.* (1) reportaron que la infección por *B. caballi* provoca alteraciones en los niveles de los factores de la coagulación en el equino durante la infección aguda. Además, hay disminución en el número de plaquetas al igual que en la infección por *B. argentina* o *B. canis* (82) que puede ser debida a una aglutinación intravascular, a anticuerpos contra plaquetas o a complejos inmunes que se le pegan a las plaquetas, y su subsecuente fagocitosis por el sistema reticuloendotelial. De esta manera las plaquetas liberarían factores de la coagulación y sustancias vasoactivas que agravarían el síndrome de choque.

Por otra parte, se han encontrado subproductos de la fibrina y el fibrinógeno, en el suero, en los capilares del pulmón, en el glomérulo renal y en los sinusoides hepáticos de bovinos infectados con *B. argentina*, indicando que existe una coagulación intravascular diseminada (33, 74).

b) Anemia

En la babesiosis de los bovinos hay anemia que la mayoría de los casos no es proporcional al número de eritrocitos parasitados, por lo que se ha sugerido que tenga un origen inmunológico. A este respecto, Schroeder *et al.* (150) encontraron hemaglutininas en el suero de ratas infectadas con *B. rodhaini* que reaccionaban con eritrocitos tratados con tripsina. La anemia ocurría invariablemente entre el undécimo y duodécimo día después de la inoculación sin importar el grado de parasitemia. Estos autores concluyen que la anemia era el resultado parcial de una autoinmunización y las hemaglutininas del suero actuaban como opsoninas en la eritrofagocitosis. Por otra parte, Wright y Kerr (128) reportaron que el descenso inicial del hematócrito se debe a la estasis circulatoria.

Los eritrocitos parasitados por *B. argentina* tienden a pegarse entre sí, provocando trombos en capilares pequeños (122), y cuando esto ocurre en el cerebro (fotografía 3), provoca en el animal signos clínicos nerviosos. Según Wright y Goodger(126) los eritrocitos se vuelven pegajosos debido a las alteraciones de la membrana provocadas por sustancias producidas por la babesia. Este fenómeno no ocurre en la infección por *B. bigemina*, en la que los signos clínicos en parte corresponden a una anemia hemolítica (121).

También se ha sugerido (31, 57, 83): que la anemia puede tener origen en otras causas (véase la figura 2) tales como):

1. El antígeno de la babesia se adhiere a la superficie de los eritrocitos, lo cual provoca que éstos sean reconocidos como cuerpos extraños y sean fagocitados por el sistema reticuloendotelial.

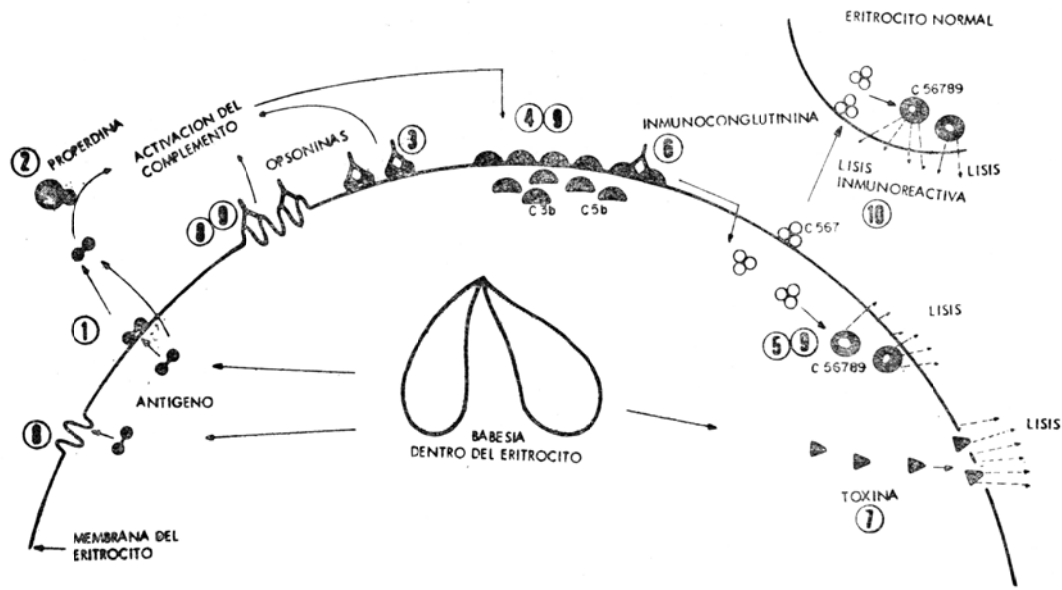
2. Es posible que el antígeno de la babesia active el sistema properdina, permitiendo la fijación del complemento hasta C3b Y C5b, que se pegarían en la superficie de los eritrocitos estimulando su fagocitosis.

3. Se pueden formar anticuerpos contra el antígeno que actuarían como opsoninas sobre los eritrocitos.

4. Los anticuerpos podrían fijar el complemento, produciéndose C3b y C5b, que ayudarían a la fagocitosis de los eritrocitos.

5. Los anticuerpos podrían fijar el complemento hasta C9, provocando la lisis de los eritrocitos.

6. Formación de inmunoconglutininas contra C3b adherido a los eritrocitos, que estimularía la fagocitosis. En rumiantes la presencia de conglutininas tendría la misma función.



○ = NUMEROS EN CIRCULO; VER DESCRIPCION EN EL TEXTO.

FIG. 2 a, b y c. Esquema de las probables causas de la anemia en la Babesiosis (31, 57, 126).

7. Se ha demostrado que en los tripanosomas existe una substancia hemolítica; en babesia esto podría ser una posibilidad, aunque no se ha demostrado.

8. Substancias de la babesia alterarían las características de la membrana, lo cual provocaría que se formaran anticuerpos que actuarían como opsoninas.

9. Estas opsoninas fijarían el complemento, y a través de C3b y C5b incrementarían la fagocitosis además de continuar la fijación hasta llegar a provocar la lisis.

10. O el complejo C567 provocaría la lisis inmunorreactiva en los eritrocitos cercanos.

La fagocitosis de los eritrocitos no infectados, probablemente se debe a que se les adhieren antígenos de la babesia, y también al incremento de la actividad del sistema reticuloendotelial, que ocurre durante la babesiosis, así como a los cambios de la membrana, que dan por resultado alteraciones en la forma y en el incremento de la fragilidad osmótica de los glóbulos rojos no infectados, en comparación con los infectados, lo cual, los predispondría a una lisis espontánea, particularmente en los capilares sanguíneos (124). Estos cambios probablemente se asemejan al proceso de envejecimiento normal que sufren los eritrocitos y que permite su eliminación de la sangre, por los macrófagos (73).

c) Probables causas de la muerte del animal

Según Maegraith *et al.* (66) y Wright (121), la causa aparente de la muerte del animal con babesiosis es el choque provocado a través de la inflamación generalizada que se debe a la activación de substancias vasoactivas a través de los mecanismos fisiológicos (figuras la y b). Esta activación, sería reforzada al formarse los anticuerpos, produciendo complejos inmunes en la circulación, que fijarían el complemento y se depositarían en diferentes órganos, pero principalmente en el riñón, provocando una glomérulonefritis que agravaría los síntomas (3). El cuadro clínico es semejante al del síndrome de la coagulación intravascular diseminada (CID) complicada con una trombosis pulmonar (33). Existe evidencia de que la CID ocurre debido a que hay trombocitopenia, leucopenia, disminución de los niveles de los factores de la coagulación del plasma, fibrinógeno del cual se encuentran productos de degradación. Esto se ha determinado por

medio de la prueba del sulfato de protamina, que precipita a los monómeros de fibrina y a los productos de degradación (34); además, hay formación de trombos de fibrina en los pulmones, riñones e hígado. Por otra parte, parece ser que la severidad de la CID no está determinada por el número de parásitos en la circulación periférica.

Apoyando la hipótesis de una inflamación generalizada, está la siguiente observación: es posible provocar una inmediata aunque temporal recuperación del choque, en perros infectados con *B. canis*, inyectándoles por vía intravenosa el antiinflamatorio noradrenalina, (66). El mismo efecto se logra con dexametasona en bovinos inoculados con *B. argentina* (84). Se considera que el efecto del antiinflamatorio se logra a través de una redistribución de la sangre que había sido encontrada periféricamente como resultado de la respuesta vasomotora del hospedador a las sustancias farmacológicamente activas. Los corticosteroides hacen desaparecer los signos clínicos por algunas horas, y cuando disminuye su efecto antiinflamatorio los animales mueren debido a que las babesias continúan viables. En el tratamiento de la malaria se utiliza la cloroquina y la quinina, que tienen un efecto antiinflamatorio además de actuar contra el parásito (80). En la babesiosis se utiliza el diacetato de 4,4' diazoaminobenzamida (Ganaseg) que actúa contra la babesia, pero tiene también un probable efecto antiinflamatorio (17, 38). Por último, también es posible que mueran los bovinos infectados con *B. argentina* al ocurrir la trombosis cerebral (122).

III. Resistencia del animal contra la babesia

1. Resistencia natural

Este tipo de resistencia se manifiesta con entera independencia del medio ambiente y de la exposición previa al parásito, y depende de los factores genéticos del huésped.

a) Especificidad del hospedador

En general, no ha sido posible infectar animales de laboratorio con babesia proveniente de animales domésticos. Esto indica que existe una gran selectividad hacia los eritrocitos de cada especie animal. Una excepción ha sido la utilización del hámster para el aislamiento de *Babesia spp.* a partir de sangre de individuos infectados (65).

Por otra parte, seres humanos se han infectado con babesia proveniente de bovinos y roedores (110). Callow (10) reportó la presencia de *B. bigemina* en caballos.

b) *Raza*

Según Johnston (58), los bovinos *Bos indicus* si se comparan con los *Bos taurus*, presentan cierta resistencia a la infección por *B. argentina* pues, a pesar de que hay brotes en bovinos, la frecuencia de las recaídas y las parasitemias son menores durante la fase crónica de la infección. Sin embargo, es posible que la resistencia del *Bos indicus* en el campo contra la babesia, sea una resistencia a las garrapatas, como se ha demostrado que ocurre, y esto no permitiría un gran volumen de inoculación de parásitos (96). En relación con otros animales domésticos, no se ha demostrado que exista una resistencia de raza.

c) *Edad*

En áreas enzoóticas, los becerros de menos de un año de edad rara vez muestran signos de enfermedad. Se ha reportado que becerros provenientes de hembras no inmunes, desde los ocho días de nacidos al infectarse con babesia desarrollan fiebre, parasitemia y signos clínicos (5, 50). Estas observaciones indican que no existe una resistencia natural en relación con la edad, como había sugerido Riek (97), basado en la observación de que los animales de menos de un año de edad de zonas enzoóticas rara vez muestran signos clínicos o mueren de babesiosis, sino que en esas áreas ocurre un grado variable de inmunidad que la madre es capaz de proporcionar a los becerros, dando la impresión de que por la edad éstos son más resistentes al parásito.

d) *Sistema reticuloendotelial*

Una de las primeras defensas del organismo contra la babesia es el sistema reticuloendotelial que a través de la fagocitosis se encarga de eliminar de la circulación a los parásitos y a los eritrocitos infectados. Cuando existe una activación del sistema reticuloendotelial a través del estímulo por otros microorganismos o parásitos, se puede inducir cierto grado de resistencia no específica contra la infección con babesia. Lohr (62) reportó que los animales que presentaban leucocitosis,

monocitosis y linfocitosis provocadas por abscesos de origen diverso, tenían signos clínicos de babesiosis menos severos. En forma semejante hay una débil resistencia de animales esplenectomizados e inoculados con *Theileria mutans* hacia la infección por *B. argentina*; ya que no existe una relación inmunológica entre ambos parásitos, la probable explicación es que los eritrocitos puedan estar alterados o que exista una activación no específica del sistema reticuloendotelial (72). Por otra parte, en el caso de infecciones mixtas, con *B. canis* y *Ehrlichia canis*, no se ha observado que ocurra una resistencia inespecífica (81),

Cuando se elimina el bazo en los humanos, bovinos y caninos, se aumenta considerablemente la susceptibilidad a la babesia (2). Esto no ocurre en el caso de *rodhaini* en ratas (99, 116). Las funciones del bazo que ayudarían en la protección contra la babesiosis, son principalmente; la fagocitosis, que elimina células viejas y opsonizadas (30), la capacidad de eliminar los parásitos de los glóbulos rojos de monos infectados con plasmodios (26); Y la producción de anticuerpos y factores desconocidos asociados con la resistencia de la especie animal a infecciones heterólogas. Además, al principio de la infección, el bazo es el principal órgano de la fagocitosis, interviniendo posteriormente, otros órganos tales como el hígado y la médula ósea (116).

e) *Interferón*

Brocklesby y Harradine (6) utilizaron ARN de doble cadena, de origen fungal, como inductor de interferón en ratones inoculados con *B. Rodhaini* y observaron que hubo un retraso de aproximadamente 24 horas en la aparición de la parasitemia. El mecanismo de acción se desconoce.

2. *Resistencia específica*

Este tipo de inmunidad se manifiesta como una respuesta a la exposición previa del hospedador a la babesia y se puede apreciar en los animales que se recuperan de una infección o en los bovinos de las zonas enzoóticas que debido al constante contacto con el parásito rara vez enferman de babesiosis. La resistencia no existe en animales de áreas libres de babesiosis y un elevado porcentaje de éstos al ser introducidos a zonas enzoóticas, enferman y mueren.

El estado de inmunidad en los animales se había asociado con la presencia del parásito en el organismo, fenómeno que Sergent *et al.* (106) denominaron inmunidad infecciosa; sin embargo, también existe una inmunidad estéril en la cual el microorganismo no necesita estar presente. En infecciones con *B. divergens*, *B. bigemina* y *B. argentina* se ha demostrado por medio de la subinoculación de sangre a animales susceptibles, que la inmunidad estéril puede durar hasta dos años y medio, después de haberse erradicado la infección (9, 11, 12, 59, 68). De acuerdo con Mahoney (73) este tipo de inmunidad indica una protección de por vida contra infecciones de la misma cepa, en comparación a la protección parcial, que se manifiesta con un menor grado de parasitemia y de intensidad de las signos clínicos (11, 62), o de ninguna protección, cuando se utilizan cepas diferentes o heterólogas (11, 31). Desafortunadamente, no existe la certeza de que la babesia haya sido eliminada completamente del organismo ya que la subinoculación de sangre no es un procedimiento completamente seguro para la detección de portadores, por lo cual algunos autores dudan que exista la inmunidad estéril.

a) Antígenos de la babesia

En el estudio y caracterización de los antígenos de la babesia existe el problema de su obtención en forma pura. Esto obedece a que babesia se encuentra dentro del eritrocito, y ha sido difícil su obtención en una forma libre por los métodos tradicionales de lisar los glóbulos rojos parasitados ya sea con agua destilada, congelación y descongelación, sonicación, o utilización de saponinas, entre otros. Recientemente se ha usado la técnica de sonicación de flujo continuo y se ha obtenido una alta preparación de parásitos libres de estroma de eritrocitos, lo cual permitirá efectuar estudios más completos de los antígenos (47). Por otro lado, para entender los mecanismos de resistencia del hospedador se debe tomar en cuenta que los antígenos de la babesia deben variar de acuerdo con los diferentes estadios del ciclo. Se considera que los primeros antígenos con los que el hospedador tiene contacto son los del esporozoíto inoculado por la garrapata; estos antígenos no han sido estudiados por la dificultad técnica de su purificación y obtención. Debida a que no se ha demostrado una fase reproductiva exoeritrocítica, como ocurre en la malaria, probablemente el siguiente estadio del ciclo sea el eritrocítico, en el cual la babesia dentro del glóbulo rojo se convierta en trofozoíto que

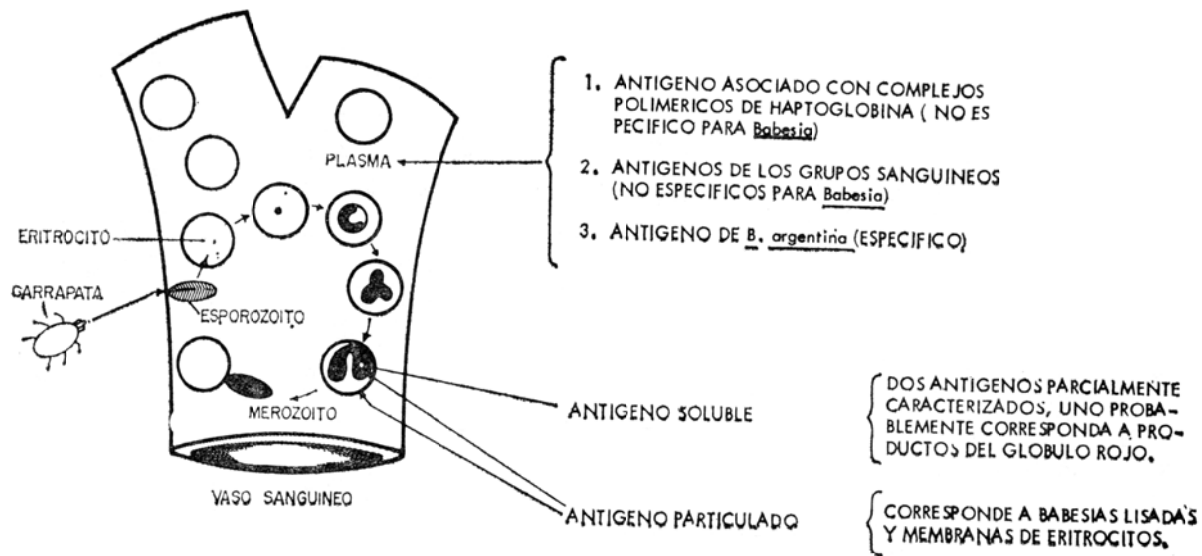


FIG. 4. Antígenos de *Babesia argentina* que se han obtenido del ciclo eritrocítico (43, 75).

se divide formando los merozoítos en número variable según la especie de babesia, y que salen del eritrocito para invadir a otros eritrocitos.

Cada fase debe estar constituida por un mosaico antigénico, siendo la más estudiada hasta el momento la fase eritrocítica, en que los antígenos se encuentran en el eritrocito o libres en el plasma (102). Un esquema del origen de los antígenos que se han identificado de la fase eritrocítica se encuentra en la figura 4. De estos antígenos llama la atención que el antígeno soluble que se obtiene de la babesia no se puede separar del fibrinógeno del hospedador. Se ha sugerido que el antígeno puede ser fibrinógeno al cual se le adhieren sustancias propias de la babesia o es fibrinógeno alterado por la actividad metabólica del parásito (45).

Por otra parte, se ha demostrado, con pruebas de aglutinación de eritrocitos infectados con *B. bovis*, que el parásito es capaz de cambiar continuamente los antígenos superficiales importantes (31, 32). De manera semejante, Frerichs *et al.* (39, 40) reportaron que *B. equi* modificaba la especificidad antigénica cuando se daban pases seriados en caballos, y Roberts y Tracey-Patte (100) demostraron este tipo de variación con *B. rodhaini*. La capacidad de variación antigénica también se ha descrito en la tripanosomiasis y la malaria, como un mecanismo de sobrevivencia del parásito en el hospedador, permitiendo que cada vez que aparezcan los anticuerpos una nueva variante antigénica se desarrolle; esta es la probable explicación de las recaídas que sufren los animales portadores (7, 8, 73). Se considera que la presión selectiva que producirían los anticuerpos sobre el parásito lo inducirían a seleccionar nuevas cepas antigénicas, como ha sido demostrado con el protozooario *Paramecium aurelia* (4).

4)

b) *inmunidad humoral y celular*

Existe el concepto de que la presencia de anticuerpos en el suero de un animal es indicación de que éste sufrió la enfermedad, pero no refleja su estado de inmunidad, por ello se ha sugerido que la resistencia no está basada exclusivamente en anticuerpos circulantes. Además, se ha reportado que la concentración de anticuerpos a menudo cae debajo de niveles detectables antes de que la inmunidad desaparezca (15, 39, 68, 104).

Por otra parte, Mahoney (72) ha indicado que los anticuerpos sí son importantes en la resistencia, y ésta es específica para cada

cepa. Esto se ha demostrado en bovinos por medio de la transferencia pasiva de anticuerpos, que en ocasiones ha dado protección, así como también por medio de la resistencia que poseen los becerros, contra la babesiosis y que es conferida por el calostro (51). Sin embargo, en este último caso, ya que probablemente existe transferencia de inmunidad celular, además de la humoral, de la madre al recién nacido (115), el ejemplo de que solamente los anticuerpos son importantes no es absolutamente válido.

Con el sistema *B. rodhaini* en ratas, se ha encontrado una relación directa entre la presencia de anticuerpos opsonizantes en el suero y el grado de protección que éste confiere a los animales. Esto se demostró incubando el suero inmune con eritrocitos infectados y posteriormente inoculando la mezcla a animales susceptibles (101). Recientemente, Green y Krier(48) encontraron que en la protección en *Plasmodium berghei* en ratas juegan un papel muy importante los anticuerpos citofílicos que primero se pegan al macrófago por su fragmento Fc, y posteriormente los sitios activos expuestos reconocen al antígeno de la babesia. También son importantes los anticuerpos opsonizantes que primero se pegan al parásito y luego se expone al fragmento Fc que es reconocido por el macrófago.

Por otra parte, en *Plasmodium* se ha determinado que los linfocitos T responden a un determinante común y los linfocitos B son estimulados por cada variante antigénica característica de la cepa que produce la infección produciendo anticuerpos específicos (8). Probablemente un fenómeno inmunológico similar ocurra con los antígenos de la babesia en el cual la célula T actuaría como cooperadora de la B, y a semejanza de la malaria, la protección ocurriría cuando una amplia gama de antígenos de la babesia estimularan a las células B. De esta manera se tendría un población de anticuerpos contra diferentes especificidades del parásito, lo que permitiría controlar la infección en último término.

No se conoce la forma de acción de los anticuerpos sobre la babesia. Es posible que los anticuerpos impidan la penetración de los merozoítos a nuevas células a través de la aglutinación y del bloqueo de receptores; que promuevan la fagocitosis de los glóbulos rojos a través de las opsoninas y anticuerpos citofílicos; que alteren la permeabilidad de la membrana del eritrocito y de esta manera el parásito pudiese ser afectado dentro de la célula, simplemente por el cambio de medio ambiente o por la entrada de anticuerpos que de alguna manera lesionaran al parásito; que neutralicen los productos tóxicos de la babesia, protegiendo al animal de que aparezcan los

signos clínicos. Por otro lado, no se conoce la función precisa del complemento en la protección contra la babesiosis (73).

En el caso de la respuesta inmune humoral, el bazo tiene como función el producir en forma inmediata anticuerpos contra la fase infectante de la babesiosis, y de esta manera tratar de evitar que aparezcan nuevas variantes antigénicas al controlar rápidamente la cepa original (86,87). En animales esplenectomizados, la respuesta humoral se retrasa y es menor en comparación con los animales intactos, ya que los órganos de producción de anticuerpos son los ganglios linfáticos, médula ósea y otros sitios extraesplénicos que tardan en producir el volumen de anticuerpos que produciría el bazo (72).

Con respecto a la respuesta humoral en base a la clase de inmunoglobulinas, éstas se han cuantificado en ratones inoculados con *B. microti* y se observó que tanto IgM e IgG aparecieron desde el principio de la infección y continuaron detectables durante todo el periodo de observación de 52 días, no encontrándose un cambio de secuencia de IgM a IgG (29). De manera contraria, en los bovinos, sí se ha reportado que ocurre el cambio de IgM a IgG (72). El significado biológico de la aparición simultánea de IgM e IgG en la babesiosis de ratones no se conoce.

Por otra parte, según Clark *et al.* (21, 22, 23, 24), existe un mediador soluble, que no es anticuerpo, y que es liberado en el suero por las células del hospedador y es capaz de penetrar a los eritrocitos infectados y de destruir al parásito intracelularmente. Esta hipótesis ha sido postulada con base en que los ratones a los que se les había inoculado *Corynebacterium bovis* (cepa BCG) o con *Corynebacterium parvum*, a las 24 horas eran resistentes a la infección con *B. Microti* o *B. rodhaini*. Los parásitos estaban lesionados dentro de los eritrocitos circulantes, y como la muerte ocurría antes de que los anticuerpos aparecieran, se postuló que existe un mediador soluble no específico que lesiona a la babesia. Se ha sugerido que las células que producirían el mediador serían los linfocitos T.

Con respecto a la respuesta inmune celular se conoce poco su papel en la protección. En el sistema *B. microti* y *Plasmodium yoelii* en ratones se ha demostrado que la curación espontánea depende de una proliferación masiva de células T en el bazo y que no se observa en las infecciones letales (20, 56). Cuando se trata a hámsters con suero antilinfocítico y luego se infectan con *B. microti* no ocurre la recuperación de la enfermedad, indicando que los linfocitos T son importantes (20, 120). Por otro lado, los linfocitos T tienen varias funciones y no se conoce hasta el momento cuál sería la función

importante en la protección contra la babesia. No hay evidencia de que los linfocitos T puedan lesionar a las babesias a través de la lisis por contacto o citotoxicidad directa, aunque se ha sugerido que son necesarios para la liberación de un mediador o linfocina que destruye a la babesia (22). Otra evidencia de que hay inmunidad celular en la infección por babesia es a través de la prueba de la inhibición de la migración de los macrófagos, utilizando células mononucleares circulantes de perros inoculados con *B. canis* (Morilla, datos no publicados) y bovinos inoculados con *B. argentina* (17). Por otra parte, no se ha reportado que el antígeno soluble de babesia, cuando es inoculado intradérmicamente, sea capaz de provocar una respuesta de hipersensibilidad retardada, la que sería una manifestación de inmunidad celular.

c) *Fase de crisis*

Cuando el animal presenta una crisis de enfermedad y se recupera, aparecen babesias dentro de los eritrocitos con morfología anormal y el núcleo en picnosis indicando que están lesionados; a estas formas se les ha denominado babesias en "fase de crisis". Hasta el momento no se ha negado a un acuerdo acerca de la forma en que el sistema inmune del hospedador es capaz de lesionar a la babesia y llegar a destruida (véase la sección **III**. 2. b. Inmunidad humoral y celular).

Por otra parte, se ha descrito en *B. caballi* una estructura tubular que comunica hacia la superficie del eritrocito (41); aunque no se conoce su función, se sospecha que sea una manera en que la babesia introduzca plasma para su alimentación. En este caso es posible que a través del plasma puedan ir anticuerpos u otras sustancias parasiticidas y que de alguna manera puedan destruir a la babesia. Esta estructura tubular también se puede observar en *B. argentina*, sugiriendo que este organelo pueda ser común a varias especies de babesia y que sería la forma en que el parásito intraeritrocítico estuviera en contacto con el plasma y de esta manera con el sistema inmune.

d) *Formas de evasión de la resp.uesta inmune*

Existen varias formas en que las babesias y otros hemoprotozoarios son capaces de evadir la respuesta inmune del hospedador: una

es a través de la variación antigénica que sufre el parásito y que se ha demostrado ocurre en la babesiosis, tripanosomiasis y malaria, y que provoca en el individuo o animal, recaídas, cada vez que aparecen las diferentes fases antigénicas (7, 8, 25, 31, 89); otro mecanismo de evasión que se ha demostrado ocurre en malaria y tripanosomiasis, y es a través de una inmunosupresión generalizada, asociada con niveles elevados de IgM no específicos. Se ha postulado que los parásitos a través de un mitógeno serían capaces de provocar una activación policlonal de células B *in vivo*, semejantes a la que ha sido demostrada *in vitro*. La consecuencia sería una eliminación progresiva de las células B específicas, permitiendo al parásito una mayor sobrevivencia en el vertebrado, al no tener éste una respuesta inmune adecuada. Es posible que esto ocurra también en la babesiosis (49, 54).

Otro mecanismo de evasión es la liberación masiva de antígenos solubles de la babesia y que formarían una "cortina de humo" para el sistema inmune en la localización de los antígenos inmunológicamente importantes (69, 108). Además, los antígenos provocarían la formación de complejos inmunes circulantes que podrían evitar el procesamiento del antígeno por los macrófagos y/o actuar directamente sobre los linfocitos sensibles a los antígenos, ya sea inhibiéndolos o estimulándolos inespecíficamente (119). También es posible que la inmunosupresión pudiera ocurrir como resultado de la competencia entre el antígeno soluble toleragénico y su forma inmunogénica en caso de que los dos estén presentes simultáneamente en el hospedador; o la presencia de antígenos solubles podría saturar el sistema retículoendotelial, lo cual provocaría una inmunosupresión inespecífica temporal como ha sido demostrado en malaria.

Otra probable forma de evasión de la respuesta inmune es la manera en que aparentemente ocurre la infección de la babesia, de un eritrocito a otro. Los merozoítos no están libres en el plasma sino que penetran directamente de una célula a otra, debido a que los eritrocitos infectados y normales, se encuentran adheridos íntimamente dentro de los capilares sanguíneos, fenómeno que sería semejante a la forma de infección de los eritrocitos en la anaplasmosis (103, 121, 122). Este fenómeno dificultaría al sistema inmune el reconocer los antígenos de penetración del merozoíto y montar una respuesta inmune adecuada.

e) *Efecto de la inmunosupresión artificial sobre la infección:*

Irvin *et al.* (55) irradiaron ratones con dosis de 300 a 900 rad. Los efectos fueron de daño al sistema hematopoyético, provocando el llamado síndrome hemopoyético. Hubo destrucción de leucocitos y linfocitos y una marcada disminución del peso del bazo debido a la reducción de la pulpa blanca. Cuando se inocularon estos animales con *B. rodhaini* se encontraron grados de parasitemia menores que en animales esplenectomizados. A pesar de haber ocurrido una inmunosupresión marcada, la explicación probable de que no ocurrió un incremento en la parasitemia es que *B. rodhaini* infecta preferentemente reticulocitos, y con la irradiación éstos no se produjeron. La administración de corticosteroides a animales esplenectomizados durante tres a cinco días antes de la infección con *B. bigemina* o *B. argentina* incrementa considerablemente la parasitemia, lográndose hasta un 25% de eritrocitos parasitados (84, 117). En roedores la administración de betametasona provoca parasitemias mayores y persisten por más tiempo (129).

g) *Efecto inmunosupresor de la babesiosis en el animal*

Existe un efecto de inmunosupresión en las infecciones por babesia. Ratones infectados con el nematodo *Trichuris muris* no pudieron expulsarlos cuando ocurría una infección con *B. microti* o *B. Hylomysci* (90). En forma semejante Cox (27, 28) reportó que en infecciones sobreimpuestas de *Trypanosoma musculi* en ratones infectados con *B. microti*, la parasitemia del tripanosoma se prolongaba e incrementaba, así como había una disminución del título de anticuerpos hacia los tripanosomas. Purvis (95) demostró que los ratones inoculados con *B. microti* poseían una capacidad disminuida de responder a los glóbulos rojos de borrego, coincidiendo con una disminución de los niveles de IgG e IgM. Sin embargo, la respuesta de inmunidad celular medida en sensibilidad por contacto así como por sobrevivencia de injertos de piel permaneció intacta. El aspecto de inmunosupresión en la babesiosis puede ser muy importante si ocurre en los bovinos, ya que podría interferir con las campañas de vacunación y podría predisponer a los animales a otras infecciones, como ha sido reportado que ocurre en la tripanosomiasis bovina (52).

IV. Inmunodiagnóstico

Para el diagnóstico de la babesiosis se han desarrollado varias pruebas serológicas que se enlistan en el cuadro 2. Por lo que toca a la prueba de fijación del complemento (FC), cuando se utiliza suero de los rumiantes existe una menor sensibilidad para detectar anticuerpos si se compara con otras especies animales. Los anticuerpos FC alcanzan un máximo a las dos o tres semanas después de la infección y luego disminuyen lentamente sin que lleguen a reconocer la recaída del animal que frecuentemente ocurre; además, los anticuerpos no son detectables antes de que la sangre pierda su infecciosidad. Ha sido posible detectar anticuerpos FC en *B. argentina* siete meses después de la infección. La especificidad de la prueba es elevada, ocurriendo de 1 a 2% de reacciones falsas en bovinos no infectados (67, 71).

La prueba de inmunofluorescencia indirecta es relativamente fácil de efectuar y permite la titulación de anticuerpos en los sueros. El inconveniente es la necesidad de sangre con parasitemia elevada como antígeno y esto es un problema en algunas especies animales, como el bovino. Los anticuerpos pueden ser detectados hasta por 24 meses en las infecciones por *B. bigemina*. Existe un pequeño grado de reacciones cruzadas entre *B. argentina*, *B. bigemina* y *B. canis* pero no con *B. rodhaini* (64, 102). Las pruebas de hemaglutinación pasiva (HP), difusión en gel, aglutinación con bentonita y partículas de látex, la de contrainmunolectroforesis y la de enzima inmunoensayo (ELISA) han sido útiles para la detección de anticuerpos y en algunos casos para su titulación (94, 109). En el caso de la HP, ésta puede efectuarse con relativa facilidad con antígeno soluble obtenido y purificado a partir de sangre con un elevado porcentaje de parásitos (43, 44). Desafortunadamente, a partir de parasitemias bajas, como ocurre en *B. argentina*, la obtención del antígeno se dificulta y la prueba tiene una baja sensibilidad. Por otra parte, la prueba de aglutinación capilar es poco sensible para la detección de animales portadores (63).

La prueba de aglutinación rápida se efectúa mezclando el plasma o suero con suspensiones de eritrocitos infectados. Tiene el inconveniente de que se presenta un alto grado de especificidad de cepa, lo que impide su utilización en el campo en el que hay heterogeneidad de cepas (32, 46, 117).

Dentro de las pruebas serológicas para el diagnóstico de la babesiosis en bovinos la más útil es la de la inmunofluorescencia indirecta pues es posible visualizar el antígeno, o sea, a la babesia dentro del glóbulo rojo, en forma inequívoca. Con respecto a las otras pruebas

CUADRO 2

PRUEBAS SEROLÓGICAS QUE SE UTILIZAN PARA EL
DIAGNÓSTICO DE LA BABESIOSIS

<i>Prueba</i>	<i>Antígeno</i>	<i>Referencias</i>
1. Fijación del complemento	Mezcla de parásitos y eritrocitos lisados	67
2. Inmunofluorescencia indirecta	Glóbulos rojos parasitados	102
3. Hemaglutinación pasiva	Antígeno soluble	107, 109
4. Aglutinación capilar	Antígeno particulado	63
5. Difusión en gel	Plasma y antígeno soluble	69
5. Aglutinación con bentonita y partículas de látex	Antígeno soluble	109
7. Contrainmunolectroforesis	Antígeno soluble	17
8. Aglutinación de parásitos	Suspensión de parásitos teñidos	31
9. Enzima Inmunoensayo (ELISA)	Antígeno soluble	94

serológicas se puede presentar el inconveniente de que los anticuerpos, además de detectar antígenos de la babesia, estén detectando antígenos propios del glóbulo rojo y por lo tanto falsos positivos. Esto es posible ya que el antígeno se obtiene a partir de babesias que se encuentran dentro de eritrocitos, por lo que contiene sustancias tanto de la babesia como del glóbulo rojo. Además, en animales recién recuperados se encuentran anticuerpos circulantes o linfocitos sensibilizados, contra antígeno soluble de glóbulos rojos normales; una probable explicación a este fenómeno es que por la rápida destrucción

de eritrocitos por el sistema reticuloendotelial y lisis por la babesia, se liberan antígenos ocultos y modificados de los eritrocitos, y el organismo responde produciendo anticuerpos y linfocitos sensibilizados (17,60, 91).

V. Premunición y vacunas

El método que mejor resultado ha dado para proteger a los animales de enfermar de babesiosis es la premunición, o inmunidad infecciosa (106). Consiste en inocular a los animales susceptibles con una pequeña cantidad de sangre que contenga babesias o poner sobre el animal unas cuantas larvas de garrapatas infectadas. Después de un periodo variable de incubación los animales pueden llegar a presentar signos clínicos y una vez tratados y recuperados, pueden ser introducidos a una zona enzootica donde prevalece la babesia.

El método de premunición, es costoso debido a la necesidad de utilizar personal especializado, al riesgo de perder animales por babesiosis (se calcula que alcanza el 5%), y a la posibilidad de introducir otros microorganismos patógenos tales como anaplasmas, tripanosomas o difundir la leucosis de un bovino donador. Los animales una vez expuestos a las babesias locales, pueden mostrarse protegidos o enfermar debido probablemente a que las cepas de babesia sean antigénicamente diferentes de las que se usaron para la premunición, como ha sido demostrado en Australia (11, 31). Para resolver este problema, lo más recomendable sería utilizar cepas locales para premunizar a los animales que se desean introducir, procedimiento que no es sencillo de efectuar. La premunición puede no proteger cuando el animal es expuesto a una dosis masiva de babesia u otro microorganismo; esto ocurre con frecuencia ya que los animales que se introducen a zonas tropicales son susceptibles a la infestación por garrapatas y por lo tanto probablemente reciben un mayor volumen de inóculo. En general, la premunición da buenos resultados cuando los animales se mantienen en buenas condiciones zootécnicas y con la higiene adecuada en las áreas tropicales donde son introducidos, Pero por otra parte, en esas condiciones de manejo, los animales que no son premunizados y continúan susceptibles, tienen un escaso contacto con garrapatas y babesias, por lo cual, con una atención constante los animales que llegan a presentar signos clínicos pueden ser tratados y quedar inmunes. O sea, que, en estos casos no se necesitaría la premunición en el lugar de origen.

Para evitar el riesgo de perder animales con la premunición, se han hecho intentos de establecer sistemas de protección más inocuos a base de vacunas como las que se describen en los siguientes subtítulos:

1. *Vacunas elaboradas a partir de parásitos de la sangre atenuados*

a) Vacuna hecha de sangre completa con parásitos atenuados a través de pases en becerros esplenectomizados y tratados con un corticoesteroide para incrementar la parasitemia. Se ha usado en Australia y Bolivia. La vacuna es de difícil manejo; la protección ha sido variable y llega a revertir a la patogenicidad provocando pérdidas menores del 1% de los animales. En ocasiones en que se han inoculado hembras repetidamente se han desarrollado anticuerpos contra grupos sanguíneos heterólogos y ha llegado a ocurrir la isoeritrolisis neonatal de los becerros. Además se necesitan varias cepas y se podría llegar a transmitir la leucosis bovina. (13, 14, 35).

b) Vacuna elaborada a partir de parásitos atenuados mediante irradiación con rayos X o ^{60}CO . Ha dado una protección variable siendo mejor cuando se utilizan cepas homólogas y ha sido de escasa a nula con cepas heterólogas. Por otra parte, el efecto de la irradiación es semejante al de dilución del parásito en que alarga el periodo de incubación pero no hay atenuación de la patogenicidad (16, 76, 88, 89).

c) Vacuna hecha a partir de parásitos atenuados químicamente *in vivo* con diaceturato de 4,4' diazoaminobenzamidina (Ganaseg). El periodo de inactivación parcial del parásito es corto, lo cual dificulta su control; además, la protección que proporciona ha sido variable (85).

2. *Vacunas inactivadas a partir de diferentes antígenos de la babesia*

a) Se han elaborado vacunas hechas a partir del estadio del parásito en la garrapata adulta (*Boophilus* spp) en forma de anillos y vermículos mezclados con adyuvante; que han proporcionado a los animales una protección variable. Existe la dificultad técnica de obtener los parásitos en cantidades adecuadas; además, no se conoce si este estadio es antigénicamente semejante al esporozoíto o fase infectante de la larva de la garrapata (113).

b) Vacuna elaborada a partir de babesias a las que se les han dado pases en un sistema de cultivo *in vitro* y mezclados con adyuvante. Estas preparaciones han dado protección variable. Los parásitos probablemente corresponden a los merozoítos que poseen antígenos importantes para la penetración de los eritrocitos. Este tipo de vacuna probablemente llegue a ser un excelente inmunógeno (111).

c) Vacuna elaborada con eritrocitos infectados, liofilizados y mezclados con adyuvante. El material soluble se pierde durante el lavado y lisis de los eritrocitos con las babesias. La protección obtenida ha sido variable. En *B. argentina* ha sido difícil la obtención de parasitemias elevadas así como el problema de que existen varias cepas (70,118).

d) Vacuna preparada a partir de antígenos del plasma en la fase aguda de la enfermedad. Estos antígenos que se mezclan con adyuvante, han proporcionado una protección variable. Ha sido difícil estandarizar la concentración de los antígenos y además están contaminados con proteínas del plasma (75, 108, 118).

3. Utilización de drogas babesicidas

En la protección contra la babesia se han usado drogas que permanecen cierto tiempo activas en el animal tratado, y durante ese periodo se le expone a la babesia ya sea en forma natural en el campo o en forma artificial, inoculándolo con sangre infectada. La droga que mejor resultados ha dado es el Imidocarb* y ha sido efectivo hasta un mes después de aplicado (15, 37).

Es de hacer notar que los problemas de las diferentes vacunas son similares ya que hay diferentes cepas, y además, no se han podido obtener los antígenos adecuados de la babesia en forma y cantidad suficientes y en algunos casos, están contaminadas con membranas de eritrocitos. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que los antígenos que inducirían anticuerpos protectores pueden ser exclusivos de una fase evolutiva, tales como los esporozoítos o merozoítos, y podrían ser estructuras que servirían como receptores para el glóbulo rojo o metabolitos que se sintetizarían sólo estando el parásito vivo. En este sentido, es probable que existan antígenos producidos por la babesia, de vida media corta con actividades farmacológicas o que sean capaces de activar el factor de Hageman, y éste a la vez, mecanismos fisio-

* Burroughs-Wellcome and Co.

lógicos y que serían responsables de la aparición de los signos clínicos, como se ha sugerido que ocurre en la malaria (93). Si este es el caso, una vacuna con parásitos muertos no incluiría los antígenos metabólicos importantes, por lo que los animales no estarían protegidos contra el desarrollo de signos clínicos. Según Mahoney (73), en animales inmunes cuando se inoculan con babesia hay una multiplicación limitada de los parásitos, siendo más acentuados cuando se utilizan diferentes cepas; sin embargo, los signos clínicos no son tan manifiestos. Esto podría ser indicación de que la inmunidad evitaría que se multiplique la babesia, o que ocurra, pero no se presenten los signos clínicos porque hay inactivación de sustancias tóxicas que provocan el choque.

VI. Comentario final

Para desarrollar un inmunógeno es importante conocer los mecanismos de patogenicidad de la babesia y la forma en que el sistema inmune del animal responde a la infección. Este conocimiento se ha ido incrementando, en los últimos años; sin embargo, quedan aún diversas incógnitas que en un futuro no lejano serán despejadas, a fin de encontrar una vacuna adecuada.

Por otra parte, en la utilización de una vacuna, se deberá tomar en cuenta la prevalencia de la enfermedad en las diversas áreas geográficas del país (36, 73, 92), ya que existirán zonas en que la prevalencia de la babesiosis sea muy baja y la enfermedad se pueda prevenir a través del control de la garrapata; en este caso, no se necesitaría utilizar una vacuna; en cambio, en zonas donde la prevalencia de la babesiosis es alta y llegan a ocurrir brotes, además del control de la garrapata, será necesario vacunar para incrementar la inmunidad del hato.

Agradecimiento

El autor desea expresar su agradecimiento al doctor Alejandro Escobar Gutiérrez, director del Centro de Investigaciones Inmunológicas de la S. S. A., por la revisión y crítica hecha al manuscrito; a los doctores Pablo Hernández Jáuregui y Francisco Ayala, quienes amablemente proporcionaron las fotografías tomadas con el microscopio electrónico. También desea agradecer a los señores Miguel

Alvarado Padilla, Pablo Peña Padilla y Felipe de Jesús García Martínez, por haber hecho las ilustraciones, y a la señorita Delia Sánchez Maldonado por el trabajo de escribir a máquina.

REFERENCIAS

1. Allen, P. C., W. M. Frerichs, and A. A. Holbrook. Experimental acute *Babesia caballi* infections. II. Response of platelets and fibrinogen. *Exp. Parasitol.*, 37: 373-379, 1975.
2. Anderson, A. E., P. B. Cassaday, and G. R. Healy. Babesiosis in man Sixth documented case. *Am. J. Clin. Pathol.*, 63: 612-618, 1974.
3. Bautista-Graffas, C. R. Comunicación personal hecha al autor, 1977.
4. Beale, G. H. Genetics of antigenic variation in *Paramecium*: a model system. En: *Parasites in the immunized host: Mechanisms of survival*. Ciba Foundation Symposium 25 (new series), Associated Scientific Publishers, Amsterdam, Holanda, pp. 21-27, 1974.
5. Brocklesby, D.W., E. Harness, and S. A. Sellwood. The effects of age on the natural immunity of cattle to *Babesia divergens*. *Res. Vet. Sci.*, 12:15-17, 1971.
6. Brocklesby, D.W., and D. L. Harradine. The effect of an interferon inducer on experimental mouse piroplasmiasis (*Babesia rodhaini* infections). *Res. Vet. Sci.*, 14:397c398, 1973.
7. Brown, K. N. Protective immunity to malaria parasites; a model for the survival of cells in an immunologically hostile environment. *Nature*, 230: 163-167, 1971.
8. Brown, K. N. Antigenic variation and immunity to malaria. En: *Parasites in the immunized host: Mechanisms of survival*. Ciba Foundation Symposium 25 (new series), Associated Scientific Publishers, Amsterdam Holanda. pp. 35-46, 1974.
9. Callow, L. L. Strain immunity in babesiosis. *Nature*. 204: 1213-1214, 1964.
10. Callow, L. L. *Babesia bigemina* in ticks grown on non-bovine hosts and its transmission to these hosts. *Parasitology*, 55: 375-381, 1965.
11. Callow, L. L. Sterile immunity, coinfectious immunity and strain differences in *Babesia bigemina* infections. *Parasitology*. 57:455-465, 1967.
12. Callow, L. L. A note on homologous strain immunity in *Babesia argentina* infections. *Aust. Vet. J.*, 44:268-269, 1968.
13. Callow, L. L. The control of babesiosis with a highly infective, attenuated vaccine. *World Vet. Congr.*, 19th. Vol. 1, pp. 357-360, 1971.
14. Callow, L., and L. T. Mellors. A new vaccine for *Babesia argentina* infection prepared in splenectomized calves. *Aust. Vet. J.*, 42: 464-465, 1966.
15. Callow, L. L., W. McGregor, R. J. Parker, and R. J. Dalgliesh: Immunity of cattle to *Babesia bigemina* following its elimination from the host, with observations on antibody levels detected by the indirect fluorescent antibody test. *Aust. Vet. J.*, 50:12-15, 1974.

16. Castro, E. R., Y F. Canabéz Propiedades biológicas y características de *Babesia bigemina*. Efectos de radiaciones iónicas sobre la infecciosidad de sangre total infectada. *Bol. Chileno Parasitol.*, 23: 30-33, 1969.
17. Chapa, R., y A. Morilla. Desarrollo de la respuesta inmune humoral y celular en la babesiosis bovina. En: *Resúmenes de la XIV Reunión Anual* (Sección Medicina Veterinaria) del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias de la SARH, 8 a 9 de diciembre, 1977. México, D. F.
18. Chapman, W. E., and P. A. Ward. Changes in C3 metabolism during protozoan infection (*Babesia radhaini*) in rats. *J. Immunol.*, 116:1248-1284, 1976, .
19. Chapman, W. E., and P. A. Ward. *Babesia radhaini*: Requirement of complement for penetration of human erythrocytes. *Science*, 196 (4285): 67-70, 1977.
20. Clark, I. A., and A. C. Allison. *Babesia microti* and *Plasmodium berghei yoelii* infections in nude mice. *Nature*, 252:328-329, 1974.
21. Clark, I. A., E. J. Wills, J. E. Richmond, and A. C. Allison. Immunity to intraerythrocytic protozoa. *The Lancet*, 7945: 1128-1129, 1975.
22. Clark, I. A., A. C. Allison, and F. E. Cox. Protection of mice against *Babesia* and *Plasmodium* with BCG. *Nature*, 259:309-311, 1976.
23. Clark, I. A., F. E. Cox, and A. C. Allison. Protection of mice against *Babesia* spp. and *Plasmodium* spp, with killed *Corynebacterium parvum*. *Parasitology*, 74: 9-18, 1977.
24. Clark, I. A., J. E. Richmond, E. J. Wills, and A.C. Allison. Intraerythrocytic death of the parasite recovering from infection with *Babesia microti*. *Parasitology*. 75: 189c196, 1977.
25. Cohen, S. Survival of parasites in the immunized host, En: *Immunology of Parasitic Infections*. Editado por S. Coheny E. H. Sadun, Blackwell Scientific Publications, Londres, pp. 35-46, 1976.
26. Conrad, M. E., and L. H. Dennis. Splenic function in experimental malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 17: 170-172, '1968.
27. Cox, F. E. G. Increased virulence of trypanosome infections in mice with malaria or piroplasmiasis: immunological considerations. En: *Second International Symposium on the Biochemistry of Parasites and Host Parasite Relationships*, editado por . H. van der Bossche, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, pp. 421-426, 1976.
28. Cox, F. E. G. Interactions between trypanosomes and piroplasms, andn mice. *Protozoology*, 3: 129-134, 1977.
29. Cox, F. E. G., and S. A. Turner. Antibody levels in mice infected with *Babesia microti*. *Ann; Trop. Med. Parasit.*, 64: 167-173, 1970.
30. Crosby, W. H. Normal functions of the spleen relative to red blood cells. *Blood*, 14:165-170, 1959.
31. Curnow, J. A. *In vitro* agglutination of bovine erythrocytes infected with *Babesia argentina*. *Nature*, 217:267-268, 1968.
32. Curnow, J. A. The use of a slide agglutination test to demonstrate antigenic differences between *Babesia bigemina* parasite. *Aust. Vet. J.*, 49: 290-293, 1973.
33. Dalgliesh, R. J., C .. K. Dimmock, . M. W. M. Hill, and L. T. Mellors. *Babesia argentina*: Disseminated intravascular coagulation in acute in-

- fections in splenectomized calves. *Exp. Parasitol.*, 40: 124-131, 1976.
34. Dalglish, R. J., C. K. Dimmock, M. W. M. Hill, and L. T. Mellors. The protamine sulphate test as a screening test for intravascular coagulation in experimental *Babesia bovis* infections. *Res. Vet. Sci.*, 25: 105-108, 1977.
 35. Dowsett, K. F., C. K. Corinne, and M. W. M. Hill. Haemolytic disease in newborn calves. *Aust. Vet. J.*, 54-65, 67, 1978.
 36. Estrada Correa, A., R. Chapa., M. Gallo de la Torre, C. R. Bautista y A. Morilla. Índice de infección de babesiosis bovina causada por *Babesia bovis* en el Centro Experimental Pecuario de Hueytamalco, Puebla, México. Trabajo enviado a revista *Veterinaria* (Méx).
 37. Euzeby, J. A. Control of piroplasmosis in bovines. En: *Curso de Actualización de Enfermedades Parasitarias del Ganado Bovino*, publicado por la División de Estudios Superiores, Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 1978.
 38. Eyre, P. Some pharmacodynamic effects of the babesicidal agents quinuronium and amicarbalide. *J. Pharm. Pharmacol.*, 19:509-519, 1967.
 39. Frerichs, W. M., A. A. Holbrook, and A. J. Johnson. Equine piroplasmosis. Complement fixation titers of horses infected with *Babesia caballi*. *Ain. J. Vet. Res.*, 30:697-702, 1969.
 40. Frerichs, W. M., A. A. Holbrook, and A. J. Johnson. Equine piroplasmosis: productions of antigens for the, complement fixation test. *Am. J. Vet. Res.*, 30: 1337-1341, 1969.
 41. Frierichs, W. M., and A. A. Holbrook. Feéding mechanisms of *Babesia equi*. *J. Protozool.*, 21: 707-709, 1974.
 42. Frick, O. L. Immediate Hypersensitivity. En: *Basic and Clinical Immunology*. Editado por H. H. Fudenberg, D. P. Stites, J. L. Caldwell y J. V. Wells. Lange Medical Publications, USA. 2a. edición, pp. 246-266, 1978.
 43. Goodger, B. V. Preparations and preliminary assessment of purified antigens in the passive haemagglutination test for bovine babesiosis. *Aust. Vet. J.*, 47:251-256, 1971.
 44. Goodger, B. V. Further studies of haemagglutinating antigens of *Babesia bigemina*. *Aust. Vet. J.*, 49:81-84, 1973.
 45. Goodger, B. V. *Babesia argentina*: studies on the nature of an antigen associated with infection. *Int. J. Parasit.*, 6:213-216, 1976.
 46. Goodger, B. V., and D.F. Mahoney. A rapid slide agglutination test for the herd diagnosis of *Babesia argentina* infection. *Aust. Vet. J.*, 50: 250-251, 1974.
 47. Gravely, S. M., and J. P. Kreir. *Babesia microti* (Gray strain): removal from infected hamster erythrocytes by continous-flow ultrasonication. *Tropénmed. Parasitology*, 25: 198-206, 1974.
 48. Green, J. T., and J. P. Krier. Demonstration of the role of cytophilic antibody in resistance to malaria parasites (*Plasmodium berghei*) in rats. *Infect. Immun.* 19: 138-145, 1978.
 49. Greenwood. B. N. Immunosuppression in malaria and trypanosomiasis. En: *Parasites in the immunized host: mechanisins of survival*. Ciba Symposillin 25 (new series), Elsevier Excerpta Medica, North Holland, pp. 137-i46, 1974.

50. Hall, W. T. K. The immunity of calves to *Babesia argentina* infection. *Aust. Vet. j.*, 36: 361,366, 1960.
51. Hall, W. T. K., L. Tammemagi, and L. A. Y. Johnston. Bovine babesiosis: The immunity of calves to *Ba.besia bigemina* infection. *Aust. Vet. J.* 44:259-264, 1968.
52. Holmes, P. H., E. Maromo, A. Thomson, P. A. Knight, R. Lucken, P. K. Murray, M. Murray, F. W. Jennings, and G. M. Urquhart. Immunosuppression in bovine trypanosomiasis. *Veto Rec.*, 27: 86-87, 1974.
53. Hoy te. H. M. D. Initial development of infections with *Babesia bigemina*. *J. Protozool.*, 8: 462-466, 1961.
54. Hudson, K. M., C. Eyner. J. Freemail, and R J .Terry. Immunodepression, high IgM levels and evasion of the immune response in murine trypanosomiasis. *Nature*, 264: 256-258, 1976.
55. Irvin, A. D., P. Omwoyo, and M. A. Ledger. Comparision of die effects of irradiation and splenectomy on *Babesia rodhaini* infection in mice. *Int. J. Parasitol.*, 3: 773-781, 1973.
56. Jayawardena, A. N., G. A. T. Target., E. Leucharse, R. L. Carter, M. J. Doenhoff, and A. J. J. Davies. T-cell activation in murine malaria. *Nature*, 258: 149-151, 1975.
57. Jennings, F. W. The anaemias of parasitic infections. En: *Pathophysiology of Parasitic Infections*. Editado por E. J. L. Soulsby, Academic' Press, Inc., Nueva York, Londres, pp. 41-67, 1976.
58. Johnston, L. A. Y. Epidemiology of bovine babesiosis in northern Queensland. *Aust. Veto J.*, 43:427-431, 1967.
59. Joyner, L. P., and S. F. Davies. Acquired resistance to *Babesia diuergens* in experimental calves. *J. Protozool.*, 14:260-262, 1967.
60. Krier, J. P.' Comunicaci3n personal hecha al autor.
61. Levine, N. D. Taxonomy of the Piroplasms. *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 90: 2-33, 1971.
62. Lohr, K. F. Immunity to *Babesia bigemina* iri experimentally infected cattle. *J. Protozool.*, 19: 658-660, 1972.
63. Lohr, K. F., and J. P. Ross. J. Ein Kapillarrohrchen-Agglutinationstest sum Nachweis von *Babesia bigemina* Antikorpen. *Z. Tropenmed. Parasitol.*, 20: 287-297, 1969.
64. Ludford, C. G. Fluorescent antibody staining of four *Babesia* species. *Exp. Parasitol.*, 24: 327-335, 1969.
65. Lykins, J. D., M. Ristic, R. M. Weisiger, and D. L. Huxsol. *Babesia microti*: Pathogenesis of parasite of human origin in the hamster. *Exp. Parasitol.*, 37: 388-397, 1975.
66. Maegraith, B. G., H. M. Gilles, and K. Devakul: Pathological processes in *Babesia canis* infections. *Z. Tropenmed. Parasitol.*, 8:485-514, 1957.
67. Mahoney, D. F. Bovine babesiosis: Diagnosis of infection by complement fixation test. *Aust. Vet. J.*, 38: 48-52, 1962.
68. Mahoney, D. F. Bovine babesiosis: An assesnient of the significance of complement fixing antibody based upon experimental infection. *Aust. Vet. J.*, 40:369-375, 1964.
69. Mahoney, D. F. Circulating antigens in cattle infected with *Babesia bigemina* or *B. argentina*. *Nature*, 211:422, 1966 .

70. Mahoney, D. F. Bovine babesiosis. The immunization with killed *Babesia argentina*. *Exp. Parasitol.*, 20: 125-129, 1967 ..
71. Mahoney, D. F. Bovine babesiosis: Preparation and assessment of complement fixing antigens. *Exp. Parasitol.*, 20: 232-241, 1967.
72. Mahoney, D. F. Immune response to hemoprotozoa. II. *Babesia* spp. En: *Immunity of Animal Parasites*. Editado por E. J. L. Soulsby. Academic Press, New York, USA, pp. 301-314, 1972.
73. Mahoney, D. F. *Babesia* of Domestic Animals. En: *Parasitic Protozoa*. Editado por J. P. Krier, Academic Press, New York, U&A. vol. IV, pp. 1-52, 1977.
74. Mahoney, D. F., and B. V. Goodger. *Babesia argentina*: serum changes in infected calves. *Exp. Parasitol.*, 24:375-382, 1969.
75. Mahoney, D. F., and B. V. Goodger. *Babesia argentina*: Immunogenicity of plasma from infected animals. *Exp. Parasitol.*, 32: 71-85, 1972.
76. Mahoney, D. F., I. G. Wright, and P. J. Ketterer. *Babesia argentina*: The infectivity and immunogenicity of irradiated blood parasites for splenectomized calves. *Int. Parasitol.*, 3:209-217, 1973.
77. Mahoney, D. F., and I. G. Wright. Datos no publicados que se mencionan en: Mahoney, D. F. *Babesia* of Domestic Animals. En: *Parasitic Protozoa*. Editado por J. P. Krier. Academic Press, New York, USA. vol. IV, pp. 1-52, 1977.
78. Maughll, T. H. Malaria: Resurgence in research brightens prospects. *Science*. 196 (4288): 413-416, 1977.
79. McClure, J. I. Endotoxic Shock. En: *The Veterinary Clinics of North America*. Symposium on shock, 6(20): 193-202, 1976.
80. Migasena, P., and B. G. Maegraith. Pharmacological action of antimalarial drugs. Action of chloroquine and hydrocortisone on blood-brain barrier in *plasmodium knowlesi* malaria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 61:6, 1967.
81. Morilla, A. *Pathogenesis of experimentally induced Tropical Canin, Pancytopenia*. Tesis de grado de M.S., University of Illinois, 1972.
82. Morilla, A., M. Gallo de la Torre, R. Chapa, C. R. Bautista, L. Ponce, E. Lozano, y P. Hernández-Jáuregui. Patogenia de la babesiosis bovina. En: *Resúmenes de la XIV Reunión Anual (Sección Medicina Veterinaria) del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias de la SARH*, 8 a 9 de diciembre, 1977. México, D. F.
83. Morilla González, A. Inmunología de la babesiosis bovina. En: *Memorias del Curso de Actualización de las Enfermedades Parasitarias del Ganado Bovino*. UNAM, pp. 41-56, 1978.
84. Morilla González, A., M. Gallo de la Torre, M. R. Chapa Ruiz, C. R. Bautista Graffas, R. Acosta Ruiz, y P. Hernández Jáuregui. Experiencias sobre el intento de incrementar la parasitemia en bovinos infectados con *Babesia argentina*. Trabajo remitido a *Técnica Pecuaria en México*.
85. Osorno, M., J. Melchor, y Z. Barrios. Inactivación química (*in vivo*) de *Babesia bigemina* y *Babesia argentina*. En: *Resúmenes de la XIII. Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias de la SARH*, 4 a 7 de mayo, 1976. México, D. F.
86. Phillips, R. S. *Babesia rodhaini* infections in the rat after acute primary parasitaemia. *Parasitology*, 59: 349-356, 1969.

87. Phillips, R. S. The protective activity of serum from immune rats against *Babesia rodhaini*. *Parasitology*, 59: 357-364, 1969.
88. Phillips, R. S. Immunity of rats and mice following injection of 60 Co. irradiated *Babesia rodhaini* infected red cells. *Parasitology*, 62: 221-231, 1971.
89. Phillips; R. A Antigen variation in *Babesia rodhaini* demonstrated by immunizing with irradiated parasites. *Parasitology*, 63: 315-322, 1971.
90. Phillips, R. S., and D. Wakelin. *Trichuris muris*: effect of concurrent infections with rodent protozoans on immune expulsion from mice. *Exp. Parasitol.*, 39: 95-100, 1976.
91. Playfair, J. H. L., and S. Marshall-Clarke. Cross-reactions between erythrocytes and the T-cell level. *Immunology*, 24:579-588, 1973.
92. Ponce, L. I., G. J. Cantó, M. Villarreal, R. Smith, y C. A. Vega. Determinación de la probabilidad diaria de infección de *Babesia* spp. de un hato de bovinos en el Centro Experimental Pecuario de Tizimin, Yucatán. En: *Resúmenes de la Reunión Anual de Investigación en Medicina Veterinaria*. diciembre de 1978, México, D. F.
93. Progresos en inmunología del paludismo. Informe de un grupo científico de la OMS. *Serie de Informes Técnicos No. 579*. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, p. 17, 1975.
94. Pumell, R. E., D. J. Hendry, P. Bidwell, and P. Turp. Microplate enzyme-linked immunosorbent assay for antibody to *Babesia divergens* in cattle. *Vet Rec.*, 99:102, 1976 .. ,1-
95. Purvis, A. C. Immunodepression in *Babesia microti* infections. *Parasitology*, 75: 197-205, 1977.
96. Quiroz Romero, H., y P. Jalil Domínguez. Susceptibilidad de bovinos Brahman y Charbray a garrapatas *Boophilus* y *Amblyomma* en clima subtropical. En: *Resúmenes de la Reunión Anual de Investigación en Medicina Veterinaria*, diciembre de 1978, México, D. F.
97. Riek, R. F. Babesiosis. En: *Infectious Blood Diseases of Man and Animals*. Editado por D. Weinman y M. Ristic. Academic Press, New York. Vol. II, pp. 219-268, 1968.
98. Ristic, M., and G. E. Lewis. Babesia in man and wild laboratory-adapted mammals. En: *Parasitic Protozoa*. Editado por J. P. Krier, Academic Press, New York. Vol. IV, pp. 53-76, 1977.
99. Roberts, J. A., J. D. Kerr, and P. Tracey-Patte. Function of the spleen in controlling infections of *Babesia rodhaini* in mice. *Int. J. Parasitol.*, 2: 217-226, 1972.
100. Roberts, J. A., and P. Tracey-Patte. *Babesia rodhaini*. Immuno-induction of antigenic variation. *Int. J. Parasitol.*, 5: 573-576, 1975.
101. Roberts, R. J. Serum opsonins and the passive transfer of protection in *Babesia rodhaini* infections of rats. *Int. J. Parasitol.*, 4: 197-201, 1974.
102. Ross, J. P. J., and K. F. Lohr. Serological diagnosis of *Babesia bigemina* infections in cattle by the indirect fluorescent antibody test. *Res. Vet. , Sci.*, 9 :557-562, 1968.
103. Rudzinska, M. A.W. Trager, S. Lewengrub, and E. Gubert. Invasion of *Babesia microti* into erythrocytes. *J. Protozool.*, 22: 28A-9A, 1975.
104. Schindler, R., G. Schroeder, R. Stieger, S. Wirahadiredja, and W. Kessler. Weitere Untersuchungen über Immunität und serologische

- Reaktion bei Hunden nach einer Infektion mit *Babesia canis*. Z. Tropenmed. Parasitol., 21 :182-190, 1970.
105. Schroeder, W. F., H. W. Cox, and M. Ristic. Anemia, parasitemia, erythrophagocytosis and hemagglutinins in *Babesia rodhaini* infection. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 60:31-38, 1966.
 106. Sergent, E. L. Parrot, and A. Donatien. Une question de terminologie. Immunizer et prémunir. *Bulletin Société Pathologie Exotique*, 17: 37-38, 1924.
 107. Sibinovic, K. H., R. MacLeod, M. Ristic, S. Sibinovic, and H. W. Cox. A study of some of the physical, chemical, and serological properties of antigens from sera of horses, dogs and rats with acute babesiosis. *J. Parasitol.*, 53: 919-923, 1967 ..
 108. Sibinovic, K H., S. Sibinovic, M. Ristic, and H. W. Cox. Equine babesiosis: Diagnosis by bentonite agglutination and passive hemagglutination test. *Am. J. Vet. Res.*, 30:691-695, 1969.
 109. Sibinovic, S., K. H. Sibinovic, and M. Ristic. Equine babesiosis: Diagnosis by bentonite agglutination and passive hemagglutination test. *Am. J. Vet. Res.* 30:691-695, 1969.
 110. Skrabalo, Z., and Z. Deanovic. Piroplasmosis in man. Report of a case. *Soc. Med. Geogr. Trop.*, 9:11-16, 1957. (Resumen: *Vet. Bull.*, 28:125, 1958.)
 111. Smith, R D. Comunicación personal hecha al autor, 1978.
 112. Smith, R D. Ciclo biológico de *Babesia* en la garrapata. En: *Ciencia Veterinaria*, Editado por R. Moreno Chan, UNAM, vol. 2., pp .. 233. 264, 1978.
 113. Smith, R, y M. Osorno. Inoculación de becerros con tejidos de garrapatas infectados con *Babesia* spp. *Memorias de la XII Reunión Anual del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias*. 4 a 7 de mayo, 1976, México, D. F.
 114. Stone, B. F. Brain cholinesterase activity and its inheritance in cattle tick (*Boophilus microplus*). Strains resistant and susceptible to organophosphorus acaricides. *Aust. J. Biol. Sci.*, 21:321-330, 1968.
 115. Tizard, I. R. *An introduction to veterinary immunology*, W. B. Saunders Co., Philadelphia, London, Toronto, 1977.
 116. Todorovic, R, D. Ferris, and M. Ristic. Roles of the spleen in acute plasmodial and babesial infections in rats. *Exp. Parasitol.*, 21: 354372, 1967.
 117. Todorovic, R. A., and K. L. Kuttler. A babesiosis card agglutination test. *Am. J. Vet. Res.*, 35: 1347-1350, 1974.
 118. Todorovic, R A., y E. F. González. Inmunización contra babesiosis bovina con vacuna a base de parásitos muertos. *Rev. ICA* (Colombia), 87-89, 1976.
 119. Wilson, R J. M. Soluble antigens as blocking antigens. En: *Parasites in the immunized host: mechanisms of survival*. Ciba Foundation Symposium 25 (new series) Elsevier Excerpta Medica-North Holland. pp. 185-203, 1974 ..
 120. Wolf, R. E. Effects of antilymphocyte serum and splenectomy on resistance to *Babesia microti* infection in hamsters. *Clin. Immun. Immunopath.*, 2: 381-394, 1974.

121. Wright, I. G. Studies an the pathagenesis of *Babesia argentina* and *Babesia bigemina* infections in splenectomized calves. *Z. Parasitenk.*, 39:85- 102, 1972.
122. Wright, I. G. An electron microscopic study of intravascular agglutination in the cerebral cortex due ta *Babesia argentina* infectian. *Int. J. Parasitol.*, 2: 209-215, 1972.
123. Wright, I. G. Plasma kallikrein levels in acute *Babesia argentina* infections in splenectomized and intact calves. *Z. Parasitenk.*, 41: 269-280, 1973.
124. Wright, I. G. Osmotic fragility of erythrocytes in acute *Babesia argentina* and *Babesia bigemina* infections in *splenectomized Bos taurus* calves. *Res. Vet. Sci.*, 15:299-305, 1973.
125. Wright, I. G. The probable role of *Babesia argentina* estearase in the *in vitro* activation of plasma prekallikrein. *Vet. Parasitol.*, 1 :91-96, 1975.
126. Wright, R. G., and B. V. Goodger. Protealytic enzyme activity in the intraerythrocytic parasites *Babesia, argentina* and *Babesia bigemina*. *Z. Parasitenk.*, 42: 213-220, 1973.
127. Wright, L. G., and D. F. Mahaney. The activation of kallikrein acute *Babesia argentina* infectians af splenectamized calves. *Z. Parasitenk.*, 43:271-278, 1974.
128. Wright, I. G., and J. D. Kerr. Effect of Trasylol on packed cell volume and plasma kallikrein activation in acute *Babesia argentina* infection of splenectamized calves. *Z. Parasitenk.*, 46: 189-194, 1975.
129. Yeung, A. S., and F.E. G. Cex. The effect ef betamethasene en *Babesia microti* and *B. rodhaini* infectiens in redents. *Parasitology*, 63: 447-453, 1971.