

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



ANAPLASMOSIS EN GANADO BOVINO

POR:

ELIEL PERALTA CASTRO

MONOGRAFIA:

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

JUNIO, 2013

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



ANAPLASMOSIS EN GANADO BOVINO

POR:

ELIEL PERALTA CASTRO

MONOGRAFIA:

ASESOR PRINCIPAL

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'S. Barraza Araiza', written over a horizontal line.

M.C. SERGIO I. BARRAZA ARAIZA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

JUNIO, 2013

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



ANAPLASMOSIS EN GANADO BOVINO

POR:

ELIEL PERALTA CASTRO

MONOGRAFIA:

ASESOR PRINCIPAL



M.C. SERGIO I. BARRAZA ARAIZA

COORDINACION DE LA DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO



**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

JUNIO, 2013

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

ANAPLASMOSIS EN GANADO BOVINO

MONOGRAFIA

Elaborada bajo la supervisión del comité particular y aprobada como requisito parcial
para obtener el título de:

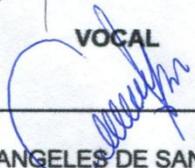
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESIDENTE DEL JURADO



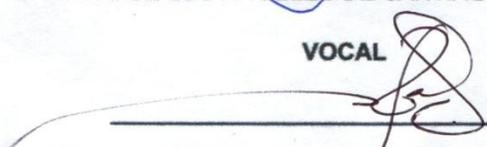
M.C. SERGIO I. BARRAZA ARAIZA

VOCAL



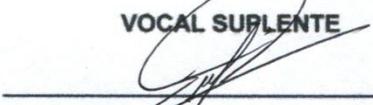
DRA. MA. DE LOS ANGELES DE SANTIAGO MIRAMONTES

VOCAL



M.C. JORGE ITURBIDE RAMIREZ

VOCAL SUPLENTE



MC. ERNESTO MARTINEZ ARANDA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

JUNIO, 2013

DEDICATORIA

A Dios:

Agradezco infinitamente que me haya dado la vida, salud y ánimos para poder salir adelante en la vida, así como la oportunidad de poder alcanzar mis metas.

A mis padres:

Jorge Peralta Lozano y Gisela Castro Trenado

A ustedes les dedico estas palabras como un pequeño reconocimiento por su esfuerzo y apoyo incondicional que me han brindado en el transcurso de mi vida y ser parte fundamental en el cumplimiento de mis metas, por haberme enseñado y guiado a ser una persona de bien y responsable con sus enseñanzas, y buenos ejemplos y todos sus consejos que me brindaron, por el amor que me dieron cuando lo necesitaba.

A mis hermanos:

Jorge Luis, Julián de Jesús, Lizeth e Iraí.

Por todo su apoyo y cariño que me han brindado cuando más lo necesitaba, ese apoyo moral y económico que cuando lo necesitaba ahí estaban echándome porras y ánimos diciendo serás el orgullo del viejo y su apoyo a lo largo de la vida y ser parte fundamental de haber logrado esta meta.

A mis abuelos:

Julián Peralta Jiménez, Eufrocina Lozano Olivares

Sixto Castro, Teresa Trenado Rangel.

Por todos sus consejos y apoyo brindado a lo largo de la vida y en especial a mi abuelo Julián Peralta Jiménez en paz descansa por ser quien me enseñó a trabajar y a ser responsable en todos los aspectos en la vida, gracias abuelo.

A mi hija y a su madre

Jade Gissel Peralta Ramírez y Yomara Ramírez Moreno

Quienes fueron mi inspiración para lograr esta una de mis mayores metas que gracias a su paciencia y consejos cuando más lo necesitaba,

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna “Mi alma terra Mater” por ser como mi casa y cobijarme y darme refugio para realizar mis sueños dándome la oportunidad de terminar mis estudios.

A mi Asesor

M.C. Sergio I. Barraza Araiza

Por haberme brindado su apoyo y asesoría para la realización de este trabajo profesional.

A mi maestra y amiga

Dra. Ma. De los Ángeles de Santiago Miramontes

Por haberme brindado su apoyo, asesoría y amistad en los momentos cuando más lo necesitaba y para poder llegar a cumplir mis objetivos y metas en esta etapa de mi vida.

A mis Amigos:

Vidal, Pedro Antonio, Jonathan, Guillermo, Ricardo, Leydi, al Médico Sergio Orlando Yong Wong, Gerardo, Gabino, Manuel, Joe. Por todos los momentos que pasamos juntos y su apoyo incondicional que me brindaron durante esta maravillosa etapa de mi vida.

ÍNDICE

DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xii
INTRODUCCIÓN	1
PANORAMA GENERAL DE LA ANAPLASMOSIS EN EL MUNDO.....	1
DEFINICIÓN DE LA ENFERMEDAD	2
DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD.	3
AGENTE ETIOLÓGICO	3
TRANSMISIÓN.....	5
CONTROL DE GARRAPATAS	7
PATOGENIA	11
SINTOMATOLOGIA.....	13
HALLAZGOS A LA NECROPSIA Y LESIONES	15
SIGNOS CLÍNICOS	18
PERIODO DE PRESENTACIÓN DE LA ENFERMEDAD	19
PERIODO DE INCUBACION	19
MORTALIDAD Y MORBILIDAD.....	19
PREDISPOSICION DE LAS RAZAS	19
DIAGNOSTICO DIFERENCIAL	21
DIAGNOSTICO DE LABORATORIO	21
Diagnóstico de la enfermedad.....	21
Identificación del agente.	22
Estándar de oro.	22
Tinción de gimsa a los frotis de sangre.	22
Elisa para detectar antígeno.....	23

Técnicas moleculares.....	24
Diagnósticos serológicos.....	26
Fijación de complemento.....	27
Pruebas de aglutinación.....	28
Inmunofluorescencia indirecta e anticuerpos (IFI).....	28
TRATAMIENTO.....	29
PREVENCION.....	30
CONTROL.....	30
IMPACTO ECONÓMICO.....	31
IMPACTO EN SALUD PÚBLICA.....	32
LITERATURA CITADA.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 Distribución de la anaplasmosis bovina en el mundo 2011 (38).....	1
Figura N° 2 Distribución de la anaplasmosis bovina en el sur de américa 2011 (38).	2
Figura N° 3 Enfermedades rickettsiales de interés veterinario transmitidas por vectores (Georg's Parasitology for Veterinarians) (27).....	4
Figura N° 4. <i>Anaplasma marginale</i> (flechas) en eritrocitos bovinos (Georg's Parasitology for Veterinarians) (27).....	5
Figura N° 5 Géneros de algunas garrapatas que transmiten la anaplasmosis. (Manual Bayer de la Garrapata) (33).....	6
Figura N° 6 Ciclo biológico de la garrapata (Investigadores del Campo Experimental Universidad Mesoamericana) (29).....	6
Figura N° 7 Daños directos que produce la garrapata (Daños producidos por las garrapatas y métodos de control del parásito) (34).	7
Figura N° 8 (Formas de aplicación de fármacos para controlar las garrapatas) (29)...	8
Figura N° 9 (algunos químicos que ayudan a controlar las garrapatas) (29).....	9
Figura N° 10 (Las principales familias de ixodíidas autorizados por la SAGARPA para el control de garrapatas en bovinos) (29).....	10
Figura N° 11 (Ciclo de vida Propuesto de <i>Anaplasma marginale</i> . Replicación de la rickettsia en las Células endoteliales) (36).	13
Figura N°12 (Ictericia de la mucosa conjuntival en terneros)(83).....	14
Figura N° 13 (Marcado dolor abdominal) (83)	15
Figura N° 14 (Anemia en casos crónicos) (39).....	15
Figura N° 15 Aspecto de bazo, hígado y riñones de un ternero muerto por anaplasmosis (83).	16
Figura N° 16 La medular está congestiva y el cáliz renal muy edematoso (83).	17
Figura N° 17 Hepatomegalia muy marcada (83).....	17

Figura N° 18 Hepatomegalia muy marcada, de color amarillento o anaranjado. Es un hígado duro y presenta una vesícula biliar muy aumentada de tamaño, edematosa y repleta de bilis densa y verdosa que forma ciertos grumos (83).....	17
Figura N°19 Razas cebú (<i>Bos indicus</i>) resistente a las garrapatas (84).....	20
Figura N° 20 Razas (<i>Bos Taurus</i>) con mayor predisposición de garrapatas (85)	20
Figura N°21 principales agentes infecciosos y enfermedades del bovino transmitidas por garrapatas en México. (Manual Bayer de la Garrapata) (33).....	32

RESUMEN

La anaplasmosis es una enfermedad infecciosa transmisible que afecta tanto al bovino como a otros rumiantes: ovinos, caprinos, venados, antílopes, jirafas y búfalos, causada por parásitos intraeritrocíticos obligados (*Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, o *Anaplasma ovis*). Reconocida por primera vez como una enfermedad específica en 1895. En el caso concreto de los bovinos, cuando son afectados desarrollan una rickettsemia intraeritrocítica acompañada de una severa anemia, pérdida de peso, baja de producción, retraso en el crecimiento, menor capacidad reproductiva y algunas veces la muerte. Por lo general estos signos son desapercibidos por el productor, sin embargo, no dejan de ser importantes. La anaplasmosis es responsable de grandes pérdidas económicas a nivel mundial, particularmente en regiones tropicales y subtropicales, estas debidas a muerte del ganado, pérdida de peso, abortos, costo de tratamientos, costo de medidas preventivas y costo del control de vectores.

Palabras claves: *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, rickettsemia, intraeritrocítica, vectores.

INTRODUCCIÓN

La anaplasmosis, antiguamente conocida como hidropesía, hace referencia tradicionalmente a una enfermedad de los rumiantes causada por bacterias intraeritocitarias obligadas del orden Rickettsiae, Familia anaplasmataceae, género anaplasma. El ganado vacuno, las ovejas, las cabras, el búfalo y algunos rumiantes salvajes pueden estar infectados por anaplasma intraeritocitaria (1).

PANORAMA GENERAL DE LA ANAPLASMOSIS EN EL MUNDO.

La anaplasmosis aparece en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (40° N a 32° S), incluyendo América del Sur y América Central, EE.UU., sur de Europa, África, Asia y Australia (1). Anaplasma centrale se describió por vez primera vez en Sudáfrica. Desde entonces el organismo ha sido importado en otros países – incluyendo Australia y algunos países de Sudamérica, Sudeste asiático y Oriente Medio (2).

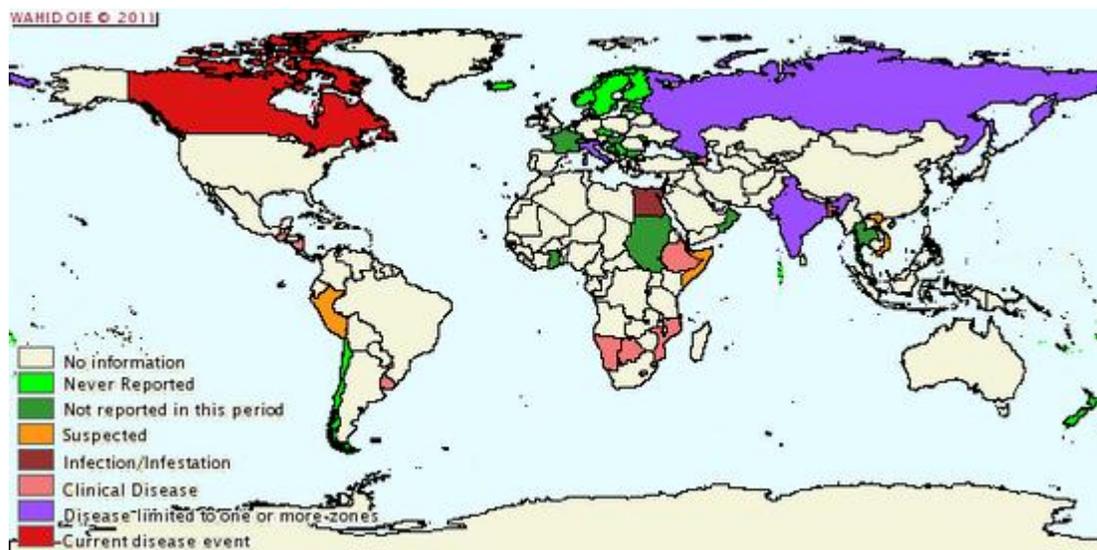


Figura N° 1 Distribución de la anaplasmosis bovina en el mundo 2011 (38).

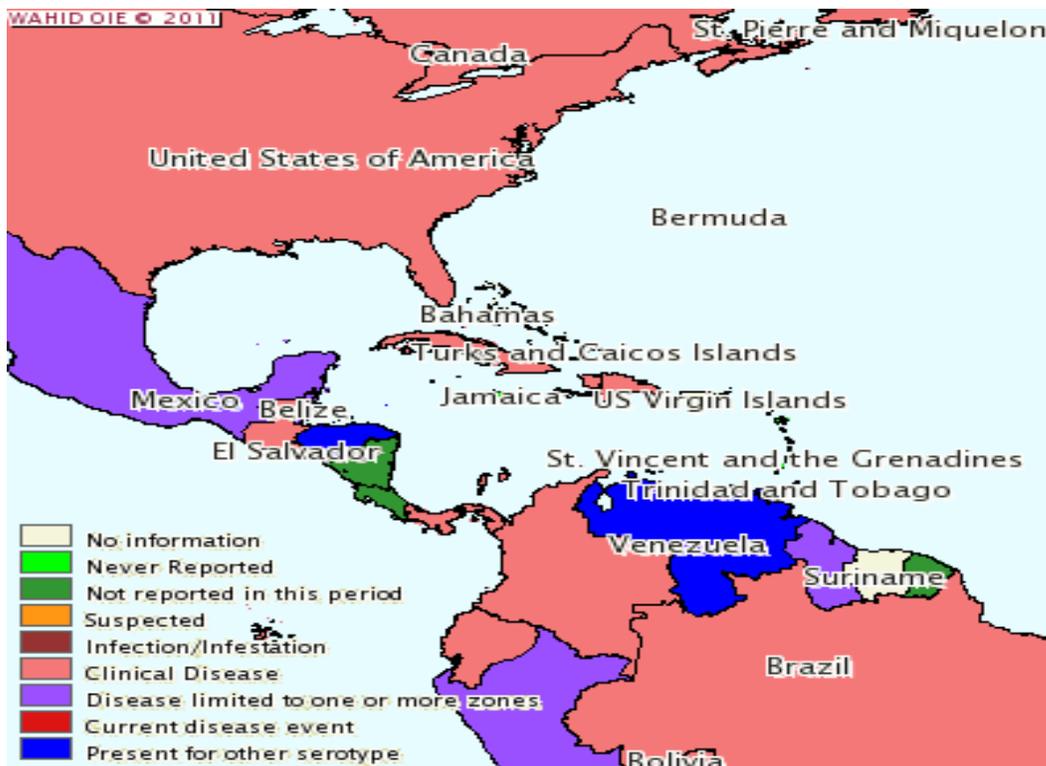


Figura N° 2 Distribución de la anaplasmosis bovina en el sur de américa 2011 (38).

DEFINICIÓN DE LA ENFERMEDAD

Enfermedad de ganado vacuno y ruminantes relacionados, caracterizada por fiebre, anemia e ictericia, causada por anaplasma marginale, que se transmite por garrapatas y otros artrópodos chupadores de sangre y por equipos quirúrgicos (25).

DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD.

La anaplasmosis es una infección no contagiosa del ganado bovino. Se caracteriza por anemia e ictericia asociada con la presencia de ciertos cuerpos en los eritrocitos, llamados anaplasmas.

La enfermedad es más frecuente en áreas donde el desarrollo de vectores tales como garrapatas, moscas y mosquitos es grande, como pantanos y riveras. La mayor parte de los casos se presenta en primavera, verano y principios de otoño, correspondiendo al periodo de actividad de los vectores, aunque se pueden presentar algunos casos durante todo el año.

La anaplasmosis afecta a todas las razas de bovinos y otros rumiantes, como antílopes, búfalos, camellos, venados, ovinos y cabras, que han sido reportados susceptibles a la enfermedad, aunque raras veces la desarrollan en forma aguda o fatal, los animales que sobreviven a la infección inicial de anaplasma permanecen como portadores de la enfermedad y por lo tanto, quedan como reservorios (4).

AGENTE ETIOLÓGICO

La anaplasmosis bovina clínica está causada normalmente por *A. marginale*. El ganado también se infecta con *A. centrale*, que generalmente produce una enfermedad leve. *A. bovis* puede causar enfermedad de leve a grave en ovejas, ciervos y cabras (1). *A. marginale* es un microorganismo sin forma definida, se establecieron tres categorías de acuerdo a su talla: el clásico cuerpo marginale, una forma intermedia cuerpo inicial y de tamaño pequeño conocido como cuerpo polihédrico (3). *A. marginale* presenta un ADN circular de doble cadena, cuya talla total oscila entre 1 200 y 1 250 kpb (3). Este parásito se describe en seis genes (*msp1 α* , *msp1 β* , *msp2*, *msp3*, *msp4* y *msp5*), que codifican para las proteínas

principales de superficie de los cuerpos iniciales, que constituyen blancos de la respuesta inmune del hospedero contra el patógeno (3).

TABLA 5-2
Enfermedades rickettsiales de interés veterinario transmitidas por vectores

Enfermedad	Agente etiológico	Vector primario	Reservorio
Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Dermacentor</i> spp.	Roedores
Tifus epidémico	<i>Rickettsia prowazekii</i>	<i>Pediculus humanus</i>	Personas, ardillas voladoras
Tifus endémico; tifus murino	<i>Rickettsia typhi</i>	<i>Xenopsylla cheopis</i> ; otras pulgas	Roedores, otros mamíferos
Enfermedad tipo tifus murino	<i>Rickettsia felis</i>	<i>Ctenocephalides felis</i>	Zarigüellas
Rickettsiosis pustulosa	<i>Rickettsia akari</i>	<i>Liponyssoides</i> spp.	Roedores
Fiebre Q	<i>Coxiella burnetii</i>	<i>Amblyomma</i> spp., otras garrapatas	Varios mamíferos
Tifus de los matorrales	<i>Orientia tsutsugamushi</i>	<i>Leptotrombidum</i> spp.	Roedores
Anaplasmosis bovina	<i>Anaplasma marginale</i>	<i>Dermacentor</i> spp.	Ganado bovino
Anaplasmosis canina	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Ixodes</i> spp.	Roedores, rumiantes
Ehrlichiosis canina	<i>Anaplasma platys</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Perros
	<i>Ehrlichia canis</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Perros
	<i>Ehrlichia ewingii</i>	<i>Amblyomma americanum</i>	Perros, ciervo de cola blanca
Hidropéricardio (<i>cowdriosis</i>)	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	<i>Amblyomma americanum</i>	Ciervo de cola blanca
	<i>Ehrlichia ruminantium</i>	<i>Amblyomma</i> spp.	Rumiantes
Intoxicación por salmón	<i>Neorickettsia helminthoeca</i>	<i>Nanophyetus salmincola</i>	Salmónidos
Fiebre equina del Potomac	<i>Neorickettsia risticii</i>	<i>Acanthatrium oregonense</i>	Murciélagos, tricópteros

Figura N° 3 Enfermedades rickettsiales de interés veterinario transmitidas por vectores (Georg's Parasitology for Veterinarians) (27)

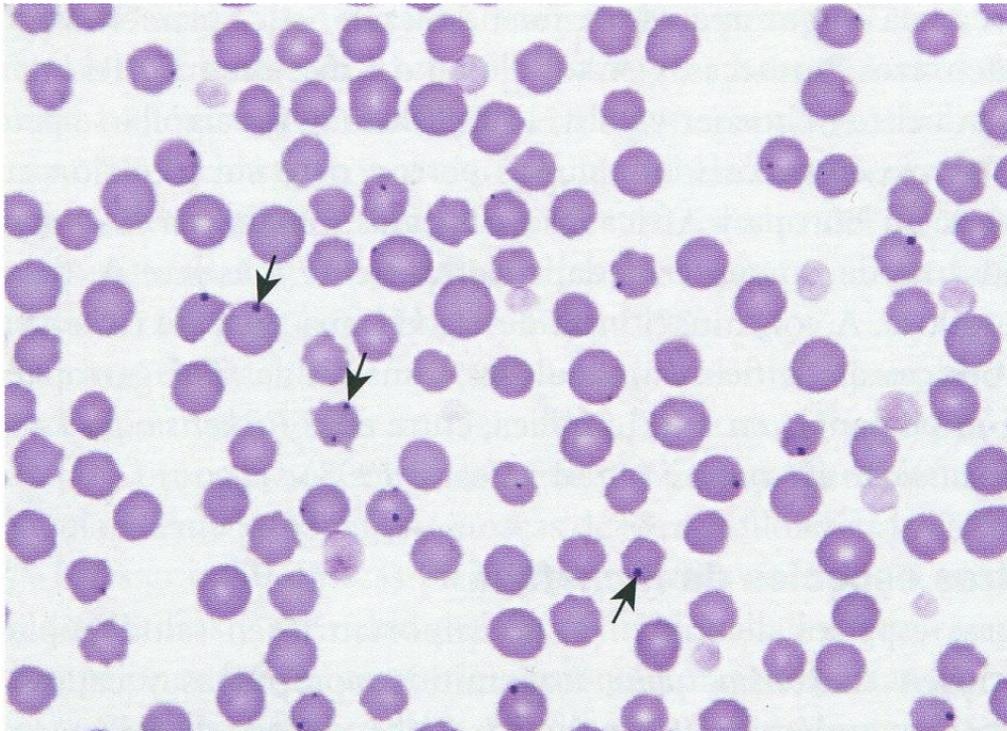


Figura N° 4. *Anaplasma marginale* (flechas) en eritrocitos bovinos (Georg's Parasitology for Veterinarians) (27).

TRANSMISIÓN

Tanto factores intrínsecos como extrínsecos inciden en la epidemiología de la anaplasmosis; su transmisión está determinada por factores dependientes de la relación hospedador-parásito-vector y su interacción con factores climáticos. Ocasionalmente, el hombre también contribuye, en su interacción con el ambiente ya través de prácticas ganaderas rutinarias (9).

Experimentalmente se han demostrado que numerosos artrópodos son capaces de transmitir la anaplasmosis; por lo menos, 19 especies de garrapatas la transmiten, la mayoría son únicamente vectores mecánicos: *Boophilus decoloratus*, *B. microplus*, *Dermacentor variabilis*, *Hyalomma lusitanicum*, *Hyalomma aegyptium*, *Ixodes ricinus*, *I. scapularis*, *Ornithodoros lahorensis*, *Rhipicephalus appendiculatus*, *R. bursa*, *R. evertsi*, *R. sanguineus* y *Argas persicus*. De igual manera moscas de los géneros *Tabanus* y *Stomoxys* y mosquitos *Psorophora* y *Aedes*. Sin embargo, *Boophilus annulatus*, *Dermacentor occidentalis* y *D. andersoni* son vectores biológicos (4).

También puede ocurrir transmisión transovárica, aunque esto es raro, incluso en las especies de *Boophilus spp* de hospedador único. Un ciclo replicativo ocurre en la garrapata infectada. La transmisión mecánica por dípteros picadores ocurre en algunas regiones (1) como pueden ser pulgas y mosquitos entre otros (7), aunque el protozoario que provoca la anaplasmosis lo pueden transmitir más de 25 especies de insectos (8). Se ha descrito la transmisión transplacentaria y normalmente está relacionada con la infección grave de la madre en el segundo o tercer trimestre de gestación (1). Una vaca afectada por anaplasmosis aguda antes del día 190 de la gestación puede transmitir *A. marginales* en el útero, pero la relevancia de esta transmisión a nivel de campo no ha sido establecida (6). La anaplasmosis también se

puede diseminar a través del uso de agujas contaminadas durante el manejo o con otros instrumentos quirúrgicos (1).

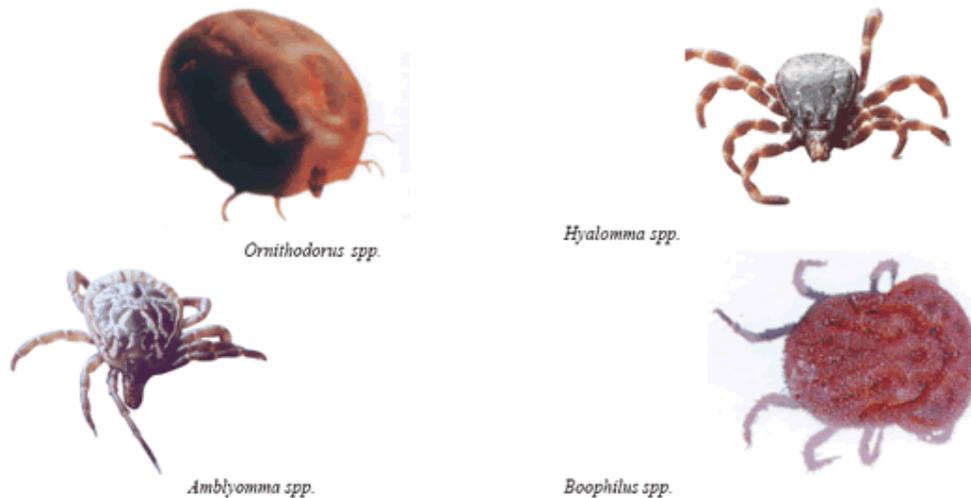


Figura N° 5 Géneros de algunas garrapatas que transmiten la anaplasmosis. (Manual Bayer de la Garrapata)(33).

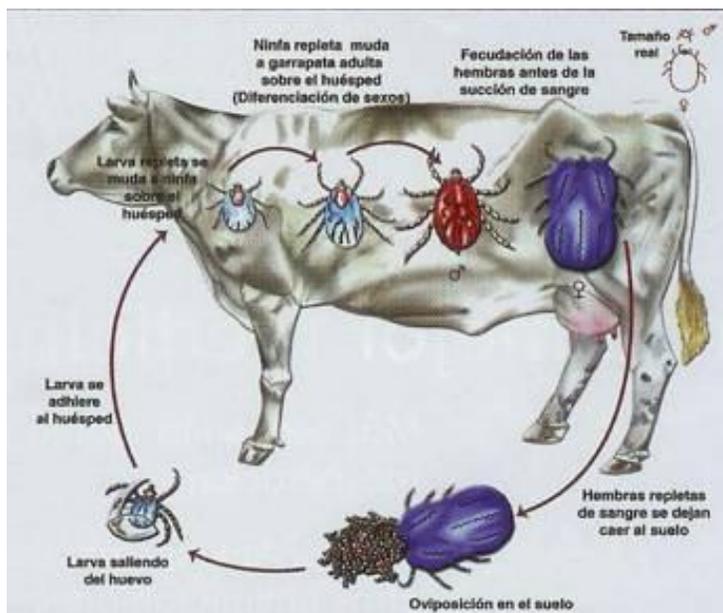


Figura N° 6 Ciclo biológico de la garrapata(Investigadores del Campo Experimental Universidad Mesoamericana)(29).

DAÑOS DIRECTOS				
Prurito, dolor y stress.	Destrucción de tejidos del hospedador.	Pérdida de sangre por parte del hospedador.	Daños provocados por las toxinas inoculadas.	Inmunosupresión del hospedador.
Provoca descensos en la producción.	Debida a la propia picadura y a la reacción inflamatoria generada por los componentes salivales de la garrapata.	Puede llegar a provocar anemia en los casos más severos.	Parálisis y <u>toxicosis</u> que pueden provocar la muerte de los animales jóvenes.	Favorece la transmisión de los patógenos asociados a las garrapatas.

Figura N° 7 Daños directos que produce la garrapata (Daños producidos por las garrapatas y métodos de control del parásito)(34).

CONTROL DE GARRAPATAS

El método más utilizado para el control de las garrapatas ha sido el uso de ixodicidas utilizados principalmente a través de baños de inmersión (son comunes para lograr una cobertura total, pero pueden ser caras e intensivas en mano de obra.) (31) y aspersion (mecánica y manual) y preparaciones tópicas, aplicados a intervalos específicos determinados por la región ecológica, especie a combatir y eficacia residual del producto (29).

Inmersión



Derrame Dorsal



Aspersión



Subcútea

Figura N° 8 (Formas de aplicación de fármacos para controlar las garrapatas)(29).

Dentro de los principales productos que se han empleado para controlar a las garrapatas se encuentran los: arsenicales, organofosforados, organoclorados, piretroides sintéticos, amidinas y las lactonasmacrociclicas. Estos ixodicidas han sido empleados con éxito para controlar a las garrapatas; sin embargo, su uso intensivo ha propiciado la aparición de garrapatas resistentes.



Figura N° 9 (algunos químicos que ayudan a controlar las garrapatas) (29).

Las principales familias de ixodicidas autorizados por la SAGARPA para el control de garrapatas en bovinos son las siguientes:

ORGANOFOSFORADOS			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Asuntol líquido [®]	Coumafos	Aspersión, Inmersión	Bayer
Asuntol polvo [®]	Coumafos	Aspersión, Inmersión	Bayer
Co-ral flowable [®]	Coumafos	Aspersión, Inmersión	Bayer
Dursban 24E [®]	Clorpirifos	Aspersión, Inmersión	Elanco
Ganafos [®]	Coumafos	Aspersión, Inmersión	Pfizer
Link [®]	Clorpirifos	Aspersión, Inmersión	Elanco
Supona CE [®]	Clorfenvinfos	Aspersión, Inmersión	Fort Dodge

PIRETROIDES			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Barricada CE [®]	Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Fort Dodge
Batestan plus [®]	Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Intervet
Batestop [®]	Deltametrina	Pour on	Intervet
Bayticol baño [®]	Flumetrina	Aspersión, inmersión	Bayer
Bayticol PO [®]	Flumetrina	Pour on	Bayer
Butox [®]	Deltametrina	Aspersión, inmersión	Intervet
Cypermil aspersión [®]	Cipermetrina	Aspersión	Ouro Fino
Cypermil pour on [®]	Cipermetrina	Pour on	Ouro Fino
Ectiban L pour on	Landacyalotrina	Pour on	Schering-Plough
Elantik 25 [®]	Zeta Cipermetrina	Pour on	Elanco
Elantik 62.5 [®]	Zeta Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Elanco
Panecto pour on [®]	Alfa Cipermetrina	Pour on	Fort Dodge
Renegade pour on [®]	Alfa Cipermetrina	Pour on	Novartis
Ticoff [®]	Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Lapisa
Ultimate [®]	Alfa Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Pfizer
Ultimate pour on [®]	Alfa Cipermetrina	Pour on	Pfizer

AMIDINAS			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Bombard [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Fort Dodge
Bovitraz [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Bayer
Drastic [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Novartis
GAmitraz [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Pfizer
Nokalt [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Ouro Fino
Preventick solución [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Virbac
Taktic [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Intervet
Trak [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Lapisa
Triatix [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Schering-Plough

ENDECTOCIDAS			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Baymec prolong [®]	Ivermectina	Inyectable	Bayer
Coopermec [®]	Ivermectina	Inyectable	Schering-Plough
Cydectin NF [®]	Moxidectina	Inyectable	Fort Dodge
Cydectin Onyx [®]	Moxidectina	Inyectable	Fort Dodge
Dectomax [®]	Doramectina	Inyectable	Pfizer
Dectiver Premium [®]	Ivermectina	Inyectable	Lapisa
Ivermectina 1%	Ivermectina	Inyectable	Ouro Fino
Ivermectina 1% LA	Ivermectina	Inyectable	Ouro Fino
Ivomec Gold [®]	Ivermectina	Inyectable	Merial
Ivomec inyectable [®]	Ivermectina	Inyectable	Merial
Rank L.A. [®]	Ivermectina	Inyectable	Intervet
Zeramec [®]	Ivermectina	Inyectable	Virbac

FENILPIRAZOLONAS			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Ectoline pour on [®]	Fipronil	Pour on	Merial

MEZCLAS			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Bayticol plus P.O. [®]	Flumetrina+Cyflutrina	Pour on	Bayer
Ectogan [®]	Cymiazol+Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Novartis
Garraban MO 29 [®]	Permetrina+Clorpirifos	Aspersión, inmersión	Lapisa
Supocade CE [®]	Clorfenvinfos+Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Fort Dodge

INHIBIDORES DEL DESARROLLO			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Acatak [®]	Fluazurón	Pour on	Novartis

Figura N° 10 (Las principales familias de ixodicidas autorizados por la SAGARPA para el control de garrapatas en bovinos)(29).

Existen una amplia variedad de productos químicos para el control de garrapatas en bovinos; sin embargo, cada rancho tiene condiciones diferentes y deberá ocupar el ixodicida que le funcione en particular, se recomienda la rotación de productos químico cada año y medio para no generar problemas de resistencia (29).

PATOGENIA

A. marginale es estrictamente intracelular, un parásito obligado que infecta al eritrocito bovino y que raramente se observa fuera de las células. El organismo penetra por invaginación al eritrocito sin que ocurra destrucción de las células, se encierra en una vacuola y se multiplica por fisión binaria en forma de cuerpo de inclusión, pudiéndose observar de dos a tres cuerpos. El período prepatente durante la incubación de la enfermedad es de dos a tres semanas y la duración depende de la cantidad de organismo infectante (17).

La enfermedad se caracteriza por marcada anemia hemolítica, altos niveles de rickettsemia, disminución del peso, aborto y en muchos casos la muerte en animales de más de tres años de edad. La anemia máxima ocurre de uno a seis días después de la parasitemia y persiste por cuatro a 15 días, donde hasta el 75% de los eritrocitos se pierden de la circulación. El período de convalecencia es de uno a dos meses, y está acompañado por incremento de la hematopoyesis y puede haber recurrencia de la parasitemia. Los parámetros hemáticos retornan a los normales, pero los organismos continúan presentes en la circulación periférica. Los animales que sobreviven a la infección aguda permanecen como portadores con continuos ciclos submicroscópicos de rickettsemia que pueden persistir durante toda la vida del animal (24).

En los portadores vertebrados, *A. marginale* invade los eritrocitos maduros con la formación de una vacuola, derivada de estos, alrededor de los microorganismos (19). Se multiplica y luego, nuevos organismos salen del glóbulo rojo, utilizando mecanismos hasta ahora desconocidos pero aparentemente no líticos (probablemente exocitosis) e infectan los eritrocitos aledaños. Después que el parásito entra al huésped bovino el número de células rojas infectadas se duplica entre las 24 y 48 horas siguientes. La infección puede detectarse por microscopía entre 20 y 40 días después de la transmisión, dependiendo del número de microorganismos transmitidos y de la virulencia del aislado (22).

Un animal infectado no presenta signos clínicos hasta que más de un 15% de los eritrocitos no hayan sido parasitados. En ese momento, la parasitemia comienza a incrementarse geométricamente y posteriormente los eritrocitos infectados se eliminan del torrente circulatorio mediante fagocitosis por las células del retículo endotelial del bazo, hígado y nódulos linfáticos; induciéndose el desarrollo de una fase de inflamación aguda. La subsecuente fiebre, temperaturas de hasta 41°C, es el primer signo clínico de la enfermedad (22).

La respuesta febril es seguida de anorexia, depresión y debilidad muscular, acompañada de una acidosis severa. La destrucción continuada de eritrocitos, sin liberación de hemoglobina, trae consigo palidez mucosal, sangre acuosa y posteriormente ictericia, pudiendo aparecer anticuerpos antieritrocitarios, lo que puede exacerbar la anemia. Luego de esta fase aguda se presenta la hiperaguda, donde ocurre una pérdida dramática de peso, aborto de vacas preñadas, fallo cardiopulmonar y muerte (18).

Estas últimas consecuencias ocurren con frecuencia al cabo de las 24 a 36 horas del pico de parasitemia, donde hay infectados hasta un 90 % de los eritrocitos (22).

Los animales que sobreviven a esta fase disminuyen drásticamente la parasitemia y desarrollan una marcada respuesta regenerativa a la anemia. No hay evidencias de que exista una supresión al nivel de médula ósea. Los parámetros hematológicos retornan gradualmente a valores normales luego de muchas semanas (23).

El ganado recuperado puede permanecer infectado persistentemente con bajos niveles de parasitemia, que fluctúa por períodos largos de tiempo. A estos animales se les denomina portadores asintomáticos de la enfermedad, en los cuales la enfermedad es difícil de diagnosticar por los métodos tradicionales (24).

Estos animales afectados pueden desarrollar la forma crónica de la enfermedad sin manifestaciones clínicas. Esta forma además de presentarse como secuela de la convalecencia de las infecciones agudas, también puede ser el resultado de una infección inducida con cepas atenuadas (premunización) (20).

Las huellas postmortem que deja esta enfermedad son atribuidas fundamentalmente a la anemia hemolítica severa. El bazo frecuentemente está agrandado y se torna de color rojo marrón. Son comunes la hepatomegalia y un engrandecimiento de la vesícula biliar, con bilis oscura. Si el animal ha muerto en estadios tardíos de la infección aguda se puede presentar el íctero (22).

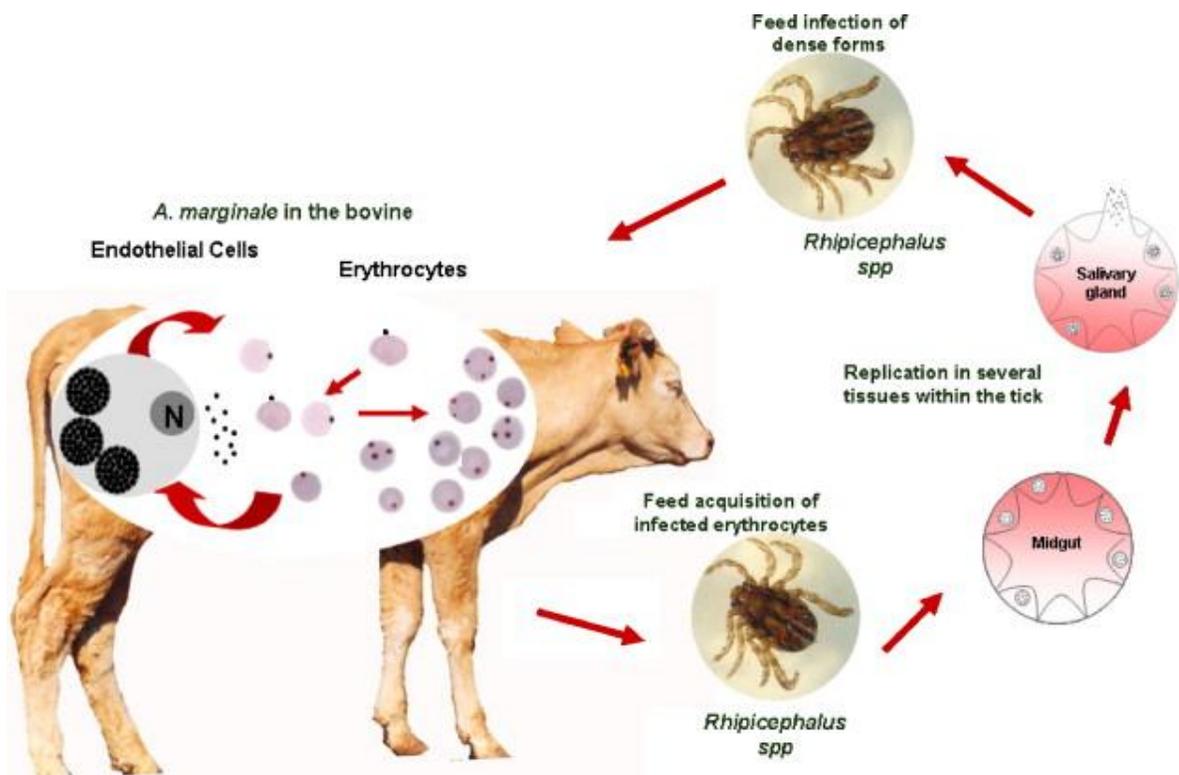


Figura N° 11 (Ciclo de vida Propuesto de *Anaplasma marginale*. Replicación de la rickettsia en las Células endoteliales) (36).

SINTOMATOLOGIA

La enfermedad produce anemia, pérdida de peso y producción láctea, aborto y muerte (5), fiebre alta, pérdida de peso, apetito (5) y las mucosas de los ojos se miran ictericas (83). El curso puede ser agudo o crónico. En forma aguda, la

temperatura asciende a 39.5°-41.5° durante los dos o tres primeros días de la enfermedad y luego desciende a la normalidad(7), y dolor abdominal marcado (83). La respiración es dificultosa. La orina puede estar teñida de sangre y el animal suele a orinar con mayor frecuencia de lo normal. La muerte puede sobrevenir en el curso de los primeros cinco días de la enfermedad, cuando se trata de forma aguda o más grave. En la forma crónica, los animales suelen recuperarse, pero continúan como portadores del parásito (7)



Figura N°12 (Ictericia de la mucosa conjuntival en terneros)(83)



Figura N° 13 (Marcado dolor abdominal) (83)



Figura N° 14 (Anemia en casos crónicos) (39).

HALLAZGOS A LA NECROPSIA Y LESIONES

En la necropsia se observa un cadáver pálido, anémico y con ligera ictericia. Puede observarse sangre sin coagular en la piel adyacente a la columna vertebral. El hígado está inflamado y moteado, la vesícula está distendida y contiene bilis espesa y el

bazo también esta inflamado. Los animales que se recuperan pueden ser portadores durante toda su vida (11), sin embargo, este ganado crónicamente infectado puede desarrollar anaplasmosis cuando esta inmunodeprimido o es sometido a un estrés (13).



Figura N° 15 Aspecto de bazo, hígado y riñones de un ternero muerto por anaplasmosis (83).



Figura N° 16 La medular está congestiva y el cáliz renal muy edematoso (83).



Figura N° 17 Hepatomegalia muy marcada (83).



Figura N° 18 Hepatomegalia muy marcada, de color amarillento o anaranjado. Es un hígado duro y presenta una vesícula biliar muy aumentada de tamaño, edematosa y repleta de bilis densa y verdosa que forma ciertos grumos (83).

SIGNOS CLÍNICOS

Los animales con infección grave el estado general se afecta rápidamente, la producción de leche desciende, normalmente la inapetencia, la pérdida de coordinación, la disnea con el ejercicio y el pulso rápido son evidentes en las etapas tardías, la orina puede ser marrón pero, en contraste con la babesiosis, no se produce hemoglobinuria, una respuesta febril transitoria, con una temperatura corporal que raramente excede los 41°C ocurre aproximadamente a la vez que el pico de rickettsemia. Las membranas mucosas se muestran pálidas y después amarillas, las vacas preñadas pueden abortar, el ganado que sobrevive convalece por espacio de varias semanas, durante las cuales los parámetros hematológicos vuelven gradualmente a la normalidad (1).

El animal respira más rápidamente que de lo ordinario, y su corazón también late con mayor rapidez, pierde condición. El animal se debilita cada vez más, deja de rumiar y sufre de estreñimiento. Los síntomas varían en intensidad, la recuperación es lenta. Cuando la enfermedad dura largo tiempo, los tejidos del animal adquieren un tinte amarillento (ictericia) (12).

La enfermedad activa puede durar de dos a cuatro semanas después de la aparición de los primeros síntomas. Podrá desaparecer en unos o dos días. En casos raros, el ganado vacuno de más edad muere en un lapso de 24 horas. Algunas veces la enfermedad dura mucho más tiempo (12).

La hemólisis es a consecuencia de la destrucción de eritrocitos en el sistema reticuloendotelial y por esta razón es principalmente extravascular (14).

PERIODO DE PRESENTACIÓN DE LA ENFERMEDAD

El periodo de prepatencia (tiempo desde la inoculación hasta el momento en que se detectaron positivos a la rickettsia por microscopía por primera vez) en los animales fue de 15 días, el periodo de incubación (tiempo desde la inoculación hasta el momento en que se observaron los signos clínicos) (10).

PERIODO DE INCUBACION

El periodo de incubación varía desde 20 hasta 40 días (14).

MORTALIDAD Y MORBILIDAD

La mortalidad puede alcanzar el 50% (11) y 30% (35), y la morbilidad es relativamente alta (35).

PREDISPOSICION DE LAS RAZAS

Las razas de vacunos *Bos indicus* parecen poseer una mayor resistencia que las razas a la infección por *A. marginale* B Taurus, pero hay variación en la resistencia de los individuos de ambas especies. La diferente virulencia entre cepas de *Anaplasma* y el nivel y la duración de la rickettsemia también desempeña un papel en la gravedad de las manifestaciones clínicas (1).



Figura N°19 Razas cebú (*Bos indicus*) resistente a las garrapatas (84).



Figura N° 20 Razas (*Bos Taurus*) con mayor predisposición de garrapatas (85)

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

- Babesiosis.
- Hemoglobinuria bacilar.
- Teileriosis.
- Tripanosomiasis(11).

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Diagnóstico de la enfermedad

El control de la anaplasmosis, además de requerir de una vacuna efectiva, necesita de métodos de diagnóstico que permitan conocer la prevalencia del microorganismo en las diferentes zonas de los países tropicales y subtropicales, además que permitan identificar de forma segura a los animales portadores para el movimiento de animales a zonas libres del hemoparásito (40).

El diagnóstico diferencial de fiebre, anemia hemolítica aguda e icterus en el ganado adulto incluye babesiosis, eperytozoonosis, theileriosis, leptospirosis, hemoglobinuria bacilar, hemoglobinuria postparto, toxicidad por plantas y ántrax. La ausencia de hemoglobinuria en caso de anemia aguda, apoyada por la identificación positiva del eritrocito parasitado, diferencia estas otras enfermedades hemolíticas de la anaplasmosis clínica (22).

El diagnóstico de la anaplasmosis se dificulta debido fundamentalmente a lo difícil de detectar los portadores, ya que no hay síntomas clínicos que lo diferencien de los bovinos no infectados y los cuerpos de inclusión dentro de los glóbulos rojos no son lo suficientemente numerosos como para ser detectados por los métodos tradicionales (41 y 42).

Identificación del agente.

La detección del organismo o sus antígenos distingue a los animales con infección aguda, de aquellos que tengan anticuerpos provenientes de una infección anterior o de una vacunación, además de tener la ventaja de poder cuantificar la parasitemia. Entre los métodos utilizados podemos citar la subinoculación de eritrocitos infectados en animales esplenectomizados, la tinción de Giemsa a los frotis de sangre, ELISA que detecta antígeno y las técnicas moleculares, como hibridación de ácidos nucleicos y PCR (43).

Estándar de oro.

Para la detección de animales infectados persistentemente el método que se considera el estándar de oro, consiste en la subinoculación de eritrocitos infectados con *A. marginale*, a animales susceptibles esplenectomizados. Sin embargo, este procedimiento no es práctico en las pruebas de rutina (44) por la manipulación quirúrgica que conlleva y porque proporciona poca información sobre los niveles de parasitemia (45).

Tinción de gimsa a los frotis de sangre.

Entre otras técnicas utilizadas para detectar el organismo se incluye la tinción con Giemsa a los frotis de sangre (47). Sin embargo, cuando el animal está en la fase crónica o en el estadio de portador no expresa un elevado nivel de parasitemia como para ser detectado por la tinción (49).

La tinción con Giemsa es un método confiable, barato y capaz de detectar niveles de parasitemia de 0.1 a 0.2% (46), o sea sólo puede detectar niveles mayores a 106 eritrocitos infectados por mililitro de sangre (Gale y col., 1996), además, resulta tedioso, no apropiado para un gran número de muestras e incapaz de discernir con facilidad cuando el eritrocito está invadido por *A. marginale* o por *A. centrale* (45).

La tinción mediada por anticuerpos puede ser utilizada como una técnica de tinción alternativa. Su mejor aplicación es para detectar *A. marginale* en muestras de sangre tomadas post-mortem para lo que muestra ser más sensible que la tinción con Giemsa para este propósito (48).

Elisa para detectar antígeno.

Es un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas que se desarrolla por la técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable como cambio de color o algún otro tipo; en ocasiones, con el fin de reducir los costos del ensayo, nos encontramos con que existe un anticuerpo primario que reconoce al antígeno y que a su vez es reconocido por un anticuerpo secundario que lleva enlazado la enzima anteriormente mencionada. La aparición de colorantes permite medir indirectamente mediante espectrofotometría el antígeno en la muestra.

Se usa en muchos laboratorios para determinar si un anticuerpo particular está presente en la muestra de sangre de un paciente. Aunque el procedimiento es rutinario y sencillo, involucra a un gran número de variables, tales como selección de reactivo, temperatura, medición de volumen y tiempo, que si no se ajustan correctamente puede afectar a los pasos sucesivos y al resultado de la prueba.

La interacción antígeno-anticuerpo en el laboratorio puede ser utilizada para determinar si un paciente tiene una infección o una enfermedad autoinmune (50).

Se realizó una prueba de anaplasmosis de una investigación en el Laboratorio Internacional para la Investigación de enfermedades de animales en Kenya, y en la Universidad de Washington, en los Estados Unidos, mostrando alta sensibilidad y especificidad, además de poder ser diseñado de diferentes maneras (51).

El ensayo ELISA desarrollado para detectar antígeno, utilizando anticuerpos monoclonales para epitopes conservados de la proteína de superficie MSP1, logró discriminar entre anaplasmosis y otras enfermedades hemoparasíticas clínicamente similares, sin embargo, la sensibilidad de este ensayo no fue mayor de 0.01 (1,1 % de parasitemia), por lo que la prueba no resultó idónea para la detección de portadores (49).

Técnicas moleculares.

Las sondas de ácidos nucleicos, las cuales hibridan solamente con su secuencia complementaria, constituyen una prueba sensible y específica para el diagnóstico (53). Además la intensidad de la señal de hibridación obtenida se correlaciona con el número de parásitos, dando información del nivel de parasitemia. (54-55).

En el diagnóstico de *A. marginale* se han utilizado sondas de ADN genómico (45-52) y recombinantes, basadas en ADN (45-56) o ARN (46), pero en ocasiones la limitada sensibilidad de la sonda prohíbe la detección de portadores sanos con muy bajo nivel de parasitemia (57).

Con una sonda de ARNm derivada del gen *mSP1 α* , se logró mejorar la sensibilidad detectándose niveles de parasitemia entre 0.0025 y 0.000025 % en los portadores sanos. Esto hace que la prueba sea 4000 veces más sensible que la microscopia óptica, además de que es capaz de detectar la infección en estadios tempranos, lo que resulta de gran importancia para evitar las pérdidas que ocasiona esta enfermedad (46).

La sensibilidad de este ensayo resultó útil para la detección de niveles de infección en garrapatas y para la identificación de ganado persistentemente infectado, además de determinar la prevalencia e incidencia de garrapatas infectadas en áreas enzoóticas. El uso de esta sonda ayuda a las estrategias de control racional de la garrapata, combinado con la vacunación, para reducir los daños de la enfermedad (56).

(58), desarrollaron una sonda de ADN no radioactiva para detectar *A. marginale* en ganado y garrapata, mostrando igual sensibilidad y especificidad que las sondas radioactivas, además de poder ser utilizada en la hibridación "in situ".

La sensibilidad y especificidad del PCR resultan de gran valor para la identificación de patógenos de vectores artrópodos. Este método ha detectado *R. typhi* y *B. burgdorferi* en artrópodos, además de ser utilizado para la identificación de garrapatas infectadas con el aislamiento Virginia de *A. marginale*, usando cebadores diseñados a partir de la secuencia nucleotídica del gen *msp1β* del aislamiento Florida. Puede ser utilizado para estudios epizootiológicos de garrapatas de campo, en la cual la infección puede ser difícil de detectar por otros métodos. (59-60).

La infección persistente de *A. marginale* en ovejas fue caracterizada por Palmer y col., (1998)(61), utilizando el PCR (gen *msp5*), pudiendo observar un patrón de persistencia similar al del ganado bovino. (62), desarrollaron una PCR múltiple para la detección de *B. bovis*, *B. bigemina* y *A. marginale* a partir de sangre de bovino, con buenos resultados.

Torioni y col., (1998)(69), optimizaron un PCR "nested" acoplado con análisis de secuencia e hibridación para identificar el gen *msp5* de *A. marginale*, siendo capaz de detectar hasta 30 eritrocitos infectados por mililitro de sangre, lo cual lo hace de 10-100 veces más sensible que los PCR previamente descritos, sondas de ARN y

ensayos de hibridación (46; 63; 64; 65; 66). El PCR "nested"unido con la hibridación resulta un método altamente sensible y específico para detectar animales infectados con *A. marginale*.

Georges y col., (2001) (67) desarrollaron un método de hibridación reversa y PCR (RLB) de las regiones 16S ó 18S del ARNr para la detección de hemoparásitos en bovinos, demostrando una gran prevalencia de infecciones mezcladas, lo que indica que animales infectados con *Babesia*spp., estaban también infectados con *Theileria*spp. ó *Anaplasma* spp. Un PCR simple basado en el gen *msp1α* ha logrado diferenciar *A. marginale* en Norte América, pero no se ha probado con aislados de otros lugares (68).

Diagnósticos serológicos.

Las pruebas serológicas son de gran importancia para estudios epidemiológicos con el objetivo de caracterizar áreas de estabilidad e inestabilidad enzoótica. La aplicación de estas pruebas resulta relevante en lugares donde se practique el control intensivo de garrapatas, en los centros de inseminación y transferencia de embriones, así como en los lugares donde se produzcan animales de elite o reproductores puros, relacionados también con la industria lechera (70).

El diagnóstico serológico incluye pruebas como fijación del complemento, aglutinación en tubos capilares, aglutinación rápida en tarjeta, ensayos de IFI, y las pruebas Dot-ELISA y ELISA. Las pruebas serológicas como fijación del complemento y aglutinación en tarjeta, son los métodos más comúnmente utilizados para detectar animales infectados con *A. marginale* en el campo y fueron métodos aceptados para el movimiento de animales a nivel internacional (71).

Todos estos ensayos para la detección de anticuerpos utilizan antígenos crudos obtenidos de *A. marginale* parcialmente purificado, lo que provoca que se pierda la sensibilidad y especificidad que se requiere para un diagnóstico eficaz (72-65). Una

parte de los errores que se cometen con estos ensayos, se debe a los resultados falsos positivos, causados por la contaminación con eritrocitos y la presencia de anticuerpos antieritrocitos en el suero de algunos animales. La frecuencia de anticuerpos contra los eritrocitos se ve marcadamente aumentada en el suero de los animales vacunados con vacunas derivadas de sangre, tales como las que se utilizan para *Babesia*spp. (74). Otra parte de los errores, se deben a las reacciones falso negativas, provocadas en algunos casos por la baja sensibilidad del método o porque algunos ensayos como el de fijación de complemento, no detectan todos los isotipos de las inmunoglobulinas (73).

Fijación de complemento.

Esta prueba utiliza el proceso estándar de fijación del complemento. El antígeno consiste de cuerpos de *Anaplasma* que han sido separados del eritrocito por lisis, aunque se utiliza también una técnica que requiere solo pequeñas cantidades de los reactivos (75)

La fijación del complemento ha sido uno de los métodos más utilizados para detectar animales infectados con *A. marginale*, en el campo (76). A pesar de que esta técnica ha sido utilizada por muchos años, existen evidencias de que le falta sensibilidad y tiene errores por su limitada habilidad para detectar bajos niveles de anticuerpos. Puede ser utilizada como una prueba de monitoreo, pero no para los programas de erradicación, ya que muchos animales infectados pueden ser diagnosticados como negativos, pues no es capaz de detectar anticuerpos contra *A. marginale* en animales portadores (77). Existen otras desventajas entre las que se encuentran la complejidad y laboriosidad que requiere y la baja especificidad y sensibilidad, sobre todo en países donde hay presentes enfermedades hemoprotozoarias (78).

Pruebas de aglutinación.

Se han descrito dos pruebas de aglutinación: la aglutinación en tubos capilares y la aglutinación rápida en placa (79). En ambos casos el resultado es leído como positivo o negativo, pero no determina título de anticuerpos. Este último puede llegar a rendir un 2 % de falsos positivos y 16 % de falsos negativos en un estudio controlado. Esta técnica puede ser desarrollada en el laboratorio o en el campo, dando el resultado en muy pocos minutos, pero como se dijo anteriormente, existe un gran problema con las reacciones no específicas (80).

Inmunofluorescencia indirecta e anticuerpos (IFI).

Esta prueba ha sido utilizada para el diagnóstico de anaplasmosis y frecuentemente se ha considerado una prueba sensible, sin embargo, por sus características en ocasiones se considera no útil, pues pueden ocurrir reacciones falsas positivas, que se atribuyen al largo período de incubación de esta enfermedad (56).

Goff y col., (1988) (56) y Montenegro-James y col., (1985)(72) reportaron ensayos de IFI, los cuales presentan un número alto de reacciones falsas positivas y un alto fondo de fluorescencia. (81), realizaron una IFI donde utilizaron como antígeno una muestra cruda de *A. marginale*, contaminado con membranas eritrocitarias, dando una serie de resultados falsos positivos y falsos negativos en el ganado infectado agudamente y en el convaleciente; en el ganado persistentemente infectado arrojó un porcentaje de falsos negativos. Así mismo, la IFI ha sido utilizada para estudios epidemiológicos (74-82)

TRATAMIENTO

El tratamiento consiste en la administración de tetraciclinas o dipropionato de amidocarb y, en caso de anemia intensa, transfusión sanguínea (11).

En anaplasmosis aguda es eficaz la oxitetraciclina a dosis de 11 mg/kg. i.v. cada 24 horas durante 3 a 5 días. Una o dos administraciones intramusculares de 20 mg/kg de oxitetraciclina de acción prolongada intervalos de 72 horas constituye también un tratamiento eficaz.

Además del tratamiento antibiótico es importante el tratamiento de soporte. Si el hematocrito es menor del 12%, puede estar indicada la transfusión de sangre completa para evitar la muerte y acortar el periodo de convalecencia; suelen administrarse 4 a 8 litros de sangre completa aun animal adulto.

Un hematocrito del 8% o menor indica un pronóstico desfavorable, y la muerte se produce a menudo a pesar del tratamiento antibiótico y del soporte apropiado (15). También como terapia de sostén: Hierro, vitamina B12, soluciones salinas o glucosadas (35).

Hay estudios previos mostraron que dosis de 20 mg/kg cada 3 días de oxitetraciclinas en cuatro tratamientos sucesivos consiguieron eliminar el microorganismo, estudios más recientes con este régimen y variaciones de él han señalado que no lo consiguen. Si es necesario para la exportación, la eliminación debe confirmarse mediante una conversión a un estado seronegativo (15).

PREVENCION

Es importante la utilización de material desechable (jeringas, agujas, guantes) o desinfectar todos los utensilios que puedan contaminarse con sangre (mochetas, descornadoras, pinzas) (30).

El uso de una vacuna viva trivalente (*A. marginalis*, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*) en Australia. De forma análoga, las vacunas vivas basadas en *A. centrale* o cepas pocos virulentas de *A. marginale* suelen usarse en África, Asia y América del sur y central. Pero no están aprobadas en EE.UU., en gran medida por el riesgo de transmisión conocida o de nuevos microorganismos patógenos emergentes que contaminen la vacuna basada en hemocultivos (15).

CONTROL

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos ha perfeccionado una prueba que sirve para detectar los animales portadores de la enfermedad. Cuando se descubre un portador debe eliminarse del rebaño, como mejor medida preventiva (7). La resistencia a la infección de los animales jóvenes puede ser explicada en parte por los anticuerpos pasivos adquiridos en el calostro (14).

Los métodos de control para la anaplasmosis no han cambiado marcadamente durante los últimos 50 años e incluyen el control de los artrópodos, la quimioprolifaxis, la vacunación, y el mantenimiento de los rebaños libres de *Anaplasma* (3).

En nuestro país el control de la anaplasmosis se ha llevado a cabo fundamentalmente mediante tratamiento terapéutico, uso de insecticidas y acaricidas y más recientemente con el uso de la vacuna recombinante contra *B. microplus* (28). El uso excesivo de acaricidas y pastoreo de rotación parece estar relacionado a los brotes de anaplasmosis, especialmente en el ganado lechero (16).

IMPACTO ECONÓMICO

Una de las enfermedades más importantes en la ganadería mexicana en términos de las pérdidas económicas ocasionadas y como obstáculo para la mejora de hatos de baja producción es la anaplasmosis bovina, producida por la rickettsia *Anaplasma marginale*. La enfermedad ocasiona pérdidas estimadas en más de 100 millones anuales a nivel nacional y, en ausencia de vacunas comerciales, no existen métodos de prevención efectivos para su control o erradicación. La enfermedad produce anemia, pérdida de peso y producción láctea, aborto y muerte. La transmisión es principalmente por garrapatas de varios géneros pero en México el, *Boophilus microplus* es el principal vector. *A. marginale*, es una bacteria del orden Rickettsiales que infecta principalmente a eritrocitos maduros donde tiene ciclos de replicación por periodos indefinidos (5).

Las pérdidas que la garrapata produce pueden ser directas e indirectas, en el primer caso está el consumo de sangre por la garrapata que llega a ser de 5 a 3 ml por parásito durante los 21 días de infestación; el daño a las pieles y los costos del tratamiento garrapaticida. Como indirectas se cuenta con los costos por mano de obra utilizada en los tratamientos, las pérdidas de animales enfermos o muertos debido a la piroplasmosis y la pérdida en mejoras genéticas al no poder introducir ganado altamente especializado a las zonas tropicales (32).

La pérdida de peso de un bovino parasitado por garrapatas *Boophilus*spp. se calcula en 0.26 kg/garrapata/año, y por *Amblyomma*spp. hasta 1.09 kg/garrapata/año. Esto ocasiona pérdidas de varios miles de millones de dólares en la economía pecuaria mundial. En México, el último cálculo oficial reportó que la infestación por garrapata *Boophilus*spp. provocó pérdidas, por concepto de pieles, de más de cuarenta y siete millones de dólares por año (33).

**Principales agentes infecciosos y enfermedades del bovino,
transmitidas por garrapatas en México**

Agente Infeccioso	Transmisor	Enfermedad
<i>Babesia bigemina</i>	<i>Boophilus spp.</i>	Fiebre de Texas o Piroplasmosis
<i>Babesia bovis</i>	<i>Boophilus spp., Ixodes spp.</i>	Hemoglobinuria epidémica
<i>Anaplasma marginale</i>	<i>Boophilus spp., Dermacentor spp., Rhipicephalus spp., Amblyomma spp., Ixodes spp., Haemaphysalis spp.,</i>	Anaplasmosis
<i>Anaplasma centrale*</i>	<i>Boophilus spp., Haemaphysalis spp.</i>	Anaplasmosis
<i>Ehrlichia bovis</i>	<i>Amblyomma spp., Haemaphysalis spp.</i>	Rickettsia bovina
<i>Borrelia* theileri</i>	<i>Boophilus spp.</i>	Espiroqueta Bovina

*Posible presencia en el país.

Figura N°21 principales agentes infecciosos y enfermedades del bovino transmitidas por garrapatas en México. (Manual Bayer de la Garrapata) (33)

IMPACTO EN SALUD PÚBLICA

La ehrlichiosis/anaplasmosis es una zoonosis emergente reconocida por primera vez en humanos en 1987 en Estados Unidos de Norteamérica (E.U.A.) y luego en Europa (37).

Las especies de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* se transmiten por garrapatas. La ehrlichiosis y anaplasmosis humana son causadas predominantemente por *Ehrlichia chaffeensis*, agente de la ehrlichiosis monocítica humana (EMH) y por *Anaplasma phagocytophilum*, agente de la anaplasmosis granulocítica humana (AGH). En E.U.A. se presentan en diversas regiones geográficas, se transmiten por distintas garrapatas y sus principales reservorios naturales son los ciervos, cabras, perros y roedores silvestres (37).

Las manifestaciones clínicas en humanos son fiebre, compromiso del estado general, cefalea, mialgias, artralgias y en menor proporción exantema maculopapular. El diagnóstico clínico es difícil debido a lo inespecífico de estos síntomas (37).

En América del Sur se ha descrito la presencia de ehrlichiosis/anaplasmosis en humanos mediante estudios serológicos realizados en Argentina y Brasil, sin identificarse la especie involucrada (37).

LITERATURA CITADA

1. Manual de Merck de veterinaria., sexta edición, MERCK Y CO., INC. WHITEHOUSE STATION, N.J., U.S.A. BARCELONA (ESPAÑA) 2007 pg. 18-20.
2. Manual de la OIE sobre animales terrestres, pg. 534-545, 2004.
3. Anaplasmosis bovina (bovine anaplasmosis), Revista Electrónica de Veterinaria REDVET. Belkis Corona, Majela Rodríguez y Siomara Martínez, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. E. mail: bcorona@censa.edu.cu
4. Anaplasmosis, ENCICLOPEDIA BOVINA, Enfermedades de los bovinos cap.4, Facultad de Medicina y Zootecnia- UNAM.
5. Garrapatas invasoras: Anaplasmosis bovina, Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria (CENID-PAVED-INIFAP-SAGARPA). Revista de Divulgación Científico - Tecnológica del Estado de Morelos, Potenciado por Joomla, Generado: 22 May, 2013, 01:03.
6. HEMOPARASITOSIS EN GANADERÍA DOBLE PROPÓSITO VENEZOLANA, DIAGNÓSTICO Y CONTROL: UNA REVISIÓN. Rita Tamasaukas, Leonel Agudo-Castellanos, Alba Silva-Ravelo, Jazín Florio-Luis, María Vintimilla-Tamasaukas, Sergio Rivera-Pirela. Agronomía Mesoamericana 21(2):367-381. 2010.
7. PRODUCCIÓN DE CARNE BOVINA. Ronald V. Diggins, Clarence E. Bundy. Compañía editorial CONTINENTAL, S.A. DE .C.V. MEXICO D.F. 1973.
8. Ganado vacuno para la producción de carne. Alvin Ludwig N.
9. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ANAPLASMOSIS BOVINA EN EL ESTADO MONAGAS. ASOCIACIÓN CON FACTORES EXTRÍNSECOS E INTRÍNSECOS DEL HOSPEDADOR. Coromoto Alfaro, Manuel Toro Benítez, Francisco García y Alberto Valle. Investigador. **FONAIAP** Centro de Investigaciones Agropecuarias del Estado Monagas Maturín. Venezuela.
10. CARACTERIZACIÓN DE LA VIRULENCIA DE UN AISLADO MEXICANO DE *Anaplasma marginale*". Miguel Angel Garcia Ortiz, Lilia Elvira Angeles Ojeda,

Georgina Hernandez Salgado, David Garcia Tapia, Ramon Aboytes Torres, Sergio D. Rodriguez Camarillo.

11. Atlas a Color de Enfermedades y Trastornos del Ganado Vacuno. Roger W. Blowey, A. David Weaver. Edición en Español, Elsevier España S.A. 2004.
12. MÉTODOS APROBADOS EN LA PRODUCCIÓN DE GANADO VACUNO PARA CARNE. Elwood M. Juergenson. 2ª ed. México, Trillas, 2006.
13. Vademécum Veterinario, Duran R. F. Editor Grupo Latino. Bogota Colombia, 2007. Pg. 198-200.
14. Enfermedades del ganado vacuno lechero. William C. Rebhun. Editorial Acriba, S. A. Zaragoza, España, 1995. Pg. 618-620.
15. Medicina Interna de los grandes Animales. BRADFORD P. SMITH. 4ta. Edición. ELSEVIER. BARCELONA, ESPAÑA, 2010. Pg. 1155-1157.
16. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. A.A. Guglielmone. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, CC 22, CP 2300 Rafaela (Santa Fe), Argentina.
17. Medellín, J. A. (2003). Comunidad Virtual de veterinaria.org. (<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080803.html>).
18. Alderink, F. G. y Dietrich, R. (1981). Anaplasmosis in Texas: epidemiologic and economic data from a questionnaire survey. Proc. Natl. Anaplasmosis. Conf. 7: 27-44.
19. Francis, D.H.; Kinden, D. A. y Buening, G. M. (1979). Characterization of the inclusion limiting membrane of *Anaplasma marginale* by immunoferriting labeling. Am. J. Vet. Res. 40: 777-782.
20. Palmer, G. H. y McGuire, T. C. (1990). Rickettsial antigens for vaccination and diagnosis, Washington State University Research Foundation.
21. Palmer, G. H. y McElwain, T. F. (1995). Molecular basis for vaccine development against anaplasmosis and babesiosis. Vet. Parasit. 57: 233-253.
22. Richey, E. J. y Palmer, G. H. (1990). Bovine Anaplasmosis. The Compendium Food Animal. 12: 1661-1669.

23. Swift, B. L. y Thom, G. M. (1983). Bovine anaplasmosis elimination of the carrier state with injectable long-acting oxytetracycline. *Am. J. Vet. Med. Assoc.* 183: 63-65.
24. Viseshakul y col. (2002). Sequence and expression analysis of a surface antigen gene family of the rickettsia *Anaplasma marginale*. Department of Pathobiology, University of Florida. PO Box 110880.
25. Diccionario enciclopédico ilustrado de medicina Dorland. Dorland's illustrated medical dictionary, Madrid, 1992.
26. Utilización del gen *msp5* y de la proteína MSP5 recombinante del aislamiento Habana de *Anaplasma marginale* en la detección de la anaplasmosis bovina subclínica. *Lic. Belkis Corona González, MsC.* La Habana, 2004.
27. *Georg's Parasitology for Veterinarians.* DWIGHT D. BOWMAN, MS, PhD. 9° Ed. Elsevier. Barcelona, España, 2011.
28. 2 do Taller Nacional de Control de la Garrapata (2002). La Habana, Cuba, 2002.
29. <http://revistacebu.com/articulos%20enero/control.htm> Investigadores del Campo Experimental "La Posta". PMVZ Universidad Mesoamericana.
30. Manual de Anaplasmosis y Babesiosis. SENASA. 02/08/2006. Disponible en: <http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=874&io=3414>.
31. MEDIDAS DE CONTROL DE GARRAPATAS. The Center for Food Security y Public Health, IOWA STATE UNIVERSITY.
32. CONTROL DE LA GARRAPATA. "Viejos Problemas, Nuevas Soluciones M.V.Z. Hugo Frago Sánchez. Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal DAGSA, CONASAG, SAGAR. Disponible en: <http://veterinaria.uat.edu.mx/Ganaderia%5CSALUD%20ANIMAL%5C002%20Control%20de%20la%20Garrapata.%20Viejos%20Problemas%20%20%20Nuevas%20Soluciones.pdf>.
33. Manual Bayer de la Garrapata. Disponible en: <http://www.bayersanidadanimal.com.mx>

34. Daños producidos por las garrapatas y métodos de control del parásito. Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com> Última actualización 02/01/2013@11:15:26 GMT+1.
35. Anaplasmosis. Mvz MSC. Arturo Olguín y Bernal, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO, FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA. Disponible en: <http://www.slideshare.net/cuencamvz24/anaplasmosis-16600480>.
36. http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Anaplasmosis&lang=2
37. Evidencia seroepidemiológica de exposición humana a *Anaplasma* sp en Santiago, Chile. Seroepidemiological evidence of human exposure to *Anaplasma* sp in Santiago, Chile. Revista chilena de infectología, versión impresa ISSN 0716-1018. Rev. chil. infectol. v.25 n.5 Santiago oct. 2008.
38. caribVET. CARIBBEAN ANIMAL HEALTH NETWORK. Distribución de la anaplasmosis bovina en el mundo 2011 (enero a junio). Disponible en: <http://www.caribvet.net/es/diseases/anaplasmosis/distribuci%C3%B3n-geogr%C3%A1fica>
39. PERULACTEA. <http://www.perulactea.com/2012/03/02/vacuna-contra-fiebre-de-la-garrapata-ganaderos-colombianos-se-resisten-a-usarla/> PUBLICADO EL 02 DE MARZO DE 2012. COLOMBIA.
40. Camacho, M.; Muñoz, M. L.; Suarez, C. E.; McGuire, T. C.; Bronw, W. C. y Palmer, G. H. (2000). Expression of polymorphic *msp1*β genes during acute *Anaplasma marginale* rickettsemia. *Infect. Immun.* 68: 1946-1952.
41. Aboytes-Torres, R. y Buening, G. H. (1990). Development of a recombinant *Anaplasma marginale* DNA probe. *Vet. Microbiol.* 24: 391- 408.
42. Masika, P. J.; Sonandi, A. y Van Averbek, W. (1997). Perceived causes, diagnosis and treatment of babesiosis and anaplasmosis in cattle by livestock farmers in communal areas of the Central Eastern Cape Province, South Africa. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 68: 40-44.

43. World Organization for Animal Health. (1996). Manual of standards for diagnostic test and vaccines: 295-300. World Organization for Animal Health, Paris, France.
44. Luther, D. G.; Cox, H. V. y Nelson, W. O. (1980). Comparison of serotests with calf inoculation for detection of carriers in anaplasmosis infected cattle. *Am. J. Vet. Res.* 41: 2085-2086.
45. Visser, E. y Ambrosio, R. E. (1987). DNA probes for detection of *Anaplasma centrale* and *Anaplasma marginale*. *Onderstepoort. J. vet. Res.* 54: 623-627.
46. Eriks, I. S.; Palmer, G. H.; McGuire, T. C. y Barbet, A. F. (1989). Detection and quantification of *Anaplasma marginale* in carrier by using a nucleic acid probe. *Clin. Microbiol.* 27: 279- 284.
47. Gainer, J. H. (1961). Demonstration of *Anaplasma marginale* with the fluorescent dye, acridine orange; comparisons with the complement fixation test and Wright stain. *Am. J. Vet. Res.* 22: 882- 886.
48. Johnston, L. A. Y.; Trueman, K. F.; Leatch, G.; y Wilson, A. J. (1980). A comparison of direct fluorescent antibody and Giemsa staining for the post-mortem diagnosis of anaplasmosis. *Aust. Vet. J.* 56: 116-118.
49. Trueblood, S. E. y Palmer, G. H. (1998). Anaplasmosis: A Review of Diagnostic Techniques. 8th National Veterinary hemoparasite Disease Conference.
50. <http://es.wikipedia.org/wiki/ELISA>
51. Harlow, E. y Lane, D. (1988). Antibodies: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory: 559.
52. Potgieter, F. T.; Kocan, K.; McNew, R. W. y Ewing, S. A. (1993). Demonstration of colonies of *Anaplasma marginale* in the midgut of *Rhipicephalus simus*. *Am. J. Vet. Res.* 44: 2256-2261.
53. Engleberg, N. C. y Eisenstein, B. I. (1984). The impact of new cloning techniques on the diagnosis and treatment of infectious diseases. *N. Engl. J. Med.* 311: 892-901.
54. Barbet, A. F.; Palmer, G. H.; Myler, P. J. y McGuire, T. C. (1986). Characterization of an immunoprotective protein complex of *Anaplasma*

- marginale* by cloning and expression of the gene coding for popypeptide Am105L. *Infect. Immun.* 55: 2428-2435.
55. Wirth, D. F.; Rogers, W. O.; Barker, I.; Dourado, Jr. H.; Suesebang, L. y Albuquerque, B. (1986). Leishmaniasis and malaria: new tools for epidemiologic analysis. *Science.* 234: 975-979.
 56. Goff, W.; Barbet, A. F.; Stiller, D.; Palmer, G. H.; Knowles, D.; Kocan, K.; Gorham J. y McGuire, T. C. (1988). Detection of *Anaplasma marginale* infected tick vectors by using a cloned DNA probe. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85: 919-92.
 57. Shompole, S. P.; Waghela, S. D.; Rurangirwa, F. R. y McGuire, T. C. (1989). Cloned DNA probes identify *Anaplasma ovis* in goats and reveal a high prevalence of infection. *J. Clin. Microbiol.* 27: 2730-2735.
 58. Kocan, K. M.; Ge, N. L.; Blouin, E. F. y Murphy, G. L. (1998). Development of a non-radioactive DNA probe and in situ hybridization for detection of *Anaplasma marginale* in tick and cattle. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 791: 157-165.
 59. Stich, R. W.; Bantle, J. A.; Kocan, K. C.; Eriks, J. S. y Palmer, G. H. (1991). Preliminary development of a Polymerase Chain Reaction assay for *Anaplasma marginale* in ticks. *Infect. Immun.*: 269-274.
 60. Stich, R. W.; Bantle, J. A. y Kocan, K. C. y Fekete. A. (1993a). Detection of *Anaplasma marginale* (*Rickettsiales: Anaplasmataceae*) in hemolymph *Dermacentor andersoni* (*Acari: Ixodidae*) with the polymerase chain reaction. *J. Medical Entomology.* 30: 781- 788.
 61. Palmer, G. H.; Abbott, J. r.; French, D. M. y McElwain, T. F. (1998). Persistence of *Anaplasma ovis* infection and conservation of the MSP2 and MSP3 multigene families within the genus *Anaplasmataceae* to calves and sheep. *J. Med. Entomol.* 36: 321-324.
 62. Figueroa, J. V.; Chieves, L. P.; Johnson, G. S. y Buening, G. M. (1993a). Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood. *Vet. Parasitol.* 50: 69-81.

63. French, D.M.; McElwain, T. F.; McGuire, T. C. y Palmer, G. H. (1998). Expression of *Anaplasma marginale* major surface protein 2 variants during persistent cyclic rickettsemia. *Infect. Immun.* 66: 1200- 1207.
64. Gale, R. C.; Dimmock, C. M.; Gartside, M. y Leatch, G. (1996). *Anaplasma marginale* detection of carrier cattle by PCR. *Int. J. Parasitol.* 26: 1103-1109.
65. Ge, N. L.; Kocan, K. M.; Blouin, E. F. y Murphy, G. L. (1996). Developmental studies of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in male *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) infected as adults using nonradioactive in situ hybridization and microscopy. *J. Med. Entomol.*, 33: 911-920.
66. Ge, N. L.; Kocan, K. M.; Murphy, G. L. y Blouin, E. F. (1997). Development of a nonradioactive in situ hybridization for detection of *Anaplasma marginale* in ticks. *J. Histotechnol.* 20: 103-108.
67. Georges, K.; Loria, G. R.; Riillis, S.; Greco, A.; Caracappa, S.; Jongejan, F. y Sparagano, O. (2001). Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridization with a note on the distribution of ticks in Sicily. *Vet. Parasitol.* 99: 273-286.
68. Palmer, G. H.; Rurangirwa, F. R. Y McElwain, T. F. (2001). Strain composition of the ehrlichia *Anaplasma marginale* within persistently infected cattle, a mammalian reservoir for tick transmission. *J. Clin. Microbiol.* 39: 631-635.
69. Torioni, E. S.; Knowles, D. P.; McGuire, T. C.; Palmer, G. H.; Suarez, C. E. y McElwain, T. F. (1998). Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in an endemic region using nested PCR and recombinant MSP5-cELISA. *Clin. Microbiol.* 36: 777-782.
70. (<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/naoseriadas/anaplasma/anaplasma.html>).
71. Word Organization for Animal Health, 2000
72. Montenegro-James, S.; James, M. A. y Ristic, M. (1985). Efficacy of purified *Anaplasma marginale* initial bodies as a vaccine against anaplasmosis. *Parasitol. Res.* 77: 93-101.

73. McGuire, T. C.; Musoke, A. J. y Kurtti, T. (1979). Functional properties of bovine IgG1 and IgG2: interaction with complement macrophages neutrophils and skin. *Immunol.* 38: 249-256
74. Duzgun, A.; Schunter, C. A. Wright, I. G.; Leatch, G. y Waltisbuhl, D. J. (1988). A sensitive ELISA technique for the diagnosis of *Anaplasma marginale* infections. *Vet. Parasitol.* 29: 1-7.
75. Avon. (1974). A microtitre technique for the complement fixation test for anaplasmosis. Veterinary Services, Animal and Plant Health Inspection Service, US Department of Agriculture, Beltsville, MD 20705, USA.
76. González, F.; Long, R. F. y Todorovic, R. A. (1978). Comparisons of the complement-fixation, indirect fluorescent antibody, and card agglutination test for the diagnosis of bovine anaplasmosis. *J. Am. Vet. Res.* 39: 1538-1541.
77. McElwain, T. F. (2000). Bovine anaplasmosis. Chapter 2.3.7. In Manual of standards for diagnostic test and vaccine, 4th edition. O.I.E., Paris: 399- 341.
78. Palmer, G. H.; Barbet, A. F.; Kuttler, K.L. y McGuire, T.C. (1986). Detection of *Anaplasma marginale* common surface proteins in all stages of infection. *J. Clin. Microbiol.* 23: 1078-1083.
79. Amerault, T. E; Rose, J. E. y Roby, T. O. (1972). Modified card agglutination test for bovine anaplasmosis: evaluation with serum and plasma from experimental and natural cases of anaplasmosis. *Proceedings of the 76th Annual Meeting of the US Animal Association:* 736-744.
80. Teclaw, R. F.; García, Z.; Romo, Z. y Wagner, G. C. (1985). Incidente of babesiosis and anaplasmosis infection in cattle sampled monthly in the Mexican states of Nuevo Leon and San Luis. *Prev. Vet. Med.* 3: 427-435.
81. McGuire, C. T.; Palmer, G. H.; Goff, W. L.; Johnson, M. I. y Davis, W.C. (1984). Common and isolate-restricted antigens of *Anaplasma marginale* detected with monoclonal antibodies. *Infec. Immun.* 43: 697-700.
82. Jongejan, F.; Perry, B. D.; Moorhouse, P. D. S.; Musisi, F. L.; Pegram, R. G. y Snacken, M. (1988). Epidemiologic of bovine babesiosis in livestock on St Lucia, 1983. *Trop. Anim. Health Prod.* 20: 137-139.

83. Anaplasmosis bovina Fotografías del artículo "Patología emergentes. Teneros amarillos" <http://albeitar.portalveterinaria.com/galeria-multimedia/?g=21>.
84. <http://www.fotos-top.com/toros-cebu>
85. <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Red-angus.jpg>