

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



Estudio Sobre las Relaciones Antigénicas Entre Haemobartonella Canis y Anaplasma Marginale por las Técnicas de Aglutinación en Tubo Capilar, Inmunolectroforesis en Agar, Electroforesis en Papel e Intradermoreacción.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A

Javier Ibarra Arias
GUADALAJARA, JALISCO. 1977

DEDICATORIAS

Con cariño, respeto y eterno agradecimiento
a mis Padres:

ALBERTO IBARRA MANJARREZ
LEONARDA ARIAS DE IBARRA

Por el apoyo moral y material que me brinda
ron para la culminación de mi carrera, he--
cho que nunca podré retribuirles.

A mis maestros:

Que por sus sabios conocimientos, pacien
cia y dedicación, hacen posible la forma
ción de elementos utiles a la sociedad y
contribuyen al engrandecimiento de la --
profesión.

Con agradecimiento al asesor de esta tesis
M.V.Z. Javier Rivera Hernandez

Con respeto a nuestro maestro y padrino
de generación M.V.Z. Abel Buenrostro --
Silva.

Al Dr. Don Ramón Fernández de Cevallos
fundador y exdirector de esta Facultad
Quien por su incansable búsqueda del -
engrandecimiento y superación de esta
Facultad y de la profesión ha logrado
el respeto y admiración de todos.

Mi reconocimiento al Departamento de
Bioquímica de la Facultad de Medicina
por su valiosa cooperación, especial-
mente a: Q.F.B. Sergio Aquiles

Dr. Pedro Garzon

A los compañeros de generación.

C O N T E N I D O

INTRODUCCION

MATERIAL

METODOS

RESULTADOS

DISCUSION

CONCLUSIONES

SUMARIO

BIBLIOGRAFIA

I N T R O D U C C I O N

HISTORIA.

Osorno y Ristic en 1972 aislaron e identificaron la *Haemobartonella canis* por primera vez en México, en el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. (22)

González Candelas (1970) reporta dos casos de *Haemobartonellosis* canina en el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U. de G. (11)

No existen datos estadísticos en México sobre la incidencia de *H. canis*, debido a que esta enfermedad generalmente su presentación es en forma subclínica por lo cual pasa desapercibida.

Las *Haemobartonellas* son microorganismos que parasitan los eritrocitos de varias especies vertebrados. Siendo de mayor importancia aquellas *Haemobartonellas* que afectan a los animales domésticos como son: *H. bovis* en Bovinos, *H. canis* en Caninos, *H. felis* en Gatos, *H. caviae* en Cerdos; sin embargo -- animales silvestres también son afectados. (5)(17)(26)(29)

La *Haemobartonella canis* es un organismo pequeño -- pleomórfico, usualmente clasificado en el Orden Rickettsiae, Familia Bartonellaceae, Género *Haemobartonella*, Especie *H. canis*. Fue descrito primero por Kikuts en 1929. (2)(3)(17)(21)(30)

MORFOLOGIA.

Posteriores investigadores (Weimam 1944, Venable y Ewing 1968) están de acuerdo en las características generales -- morfológicas del organismo. Observados por microscopía de luz -- y teñidos con Giemsa, aparecen en forma de cocos, bastón y varilla, variando en tamaño desde 0.2 a 1.0 μ , cadenas de organismos frecuentemente se ven y pueden medir hasta 4.0 μ de largo. (9)(16)(17)(26)(29)

Fotomicrografías tomadas en microscopio electrónico la *H. canis* apareció como organismos de forma cocoide de 0.2 a

1.4 u de diametro, y en forma de varilla de 0.3 a 3.2 u de largo. Los parasitos se encontraron extracelularmente en la periferia en pliegues o depresiones del eritrocito. En algunos casos una clara separación no se observó entre los dos, y en --- otras, la membrana del eritrocito y parasito estaban claramente separadas. (20)

SINTOMATOLOGIA.

Los animales infectados muestran signos de anemia, perdida del apetito, baja de peso corporal, sed excesiva, alza de temperatura y orina de color naranja. Las mucosas oral y conjuntiva se encuentran palidas, los ganglios linfáticos -- mandibulares y popliteos estan ligeramente aumentados de tamaño. (4) (5) (22) (29)

TRANSMISION.

Animales que se han recuperado de la infección -- clínica son portadores asintomáticos, y desarrollan la enfermedad cuando ocurren infecciones coincidentes u otro tipo de --- stres. (5) (17)

Lumb (1961) informa que la enfermedad se transmite por via oral alimentando a los perros con sangre infectada. (22)

Crystal (1958) demostró la transmisión por piojos como portador mecánico y biológico. (17)

En perros esplenectomizados la *H. canis* se transmite por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, en todas sus - etapas tanto como transmisión transovarial. (26) (29)

TRATAMIENTO.

Parke-davis, reportan que el hidrocloreuro de oxofenarsina (Mapharsen) es especifico para la Haemobartonellosis canina. Una dosis de 4.5 mg/kg de peso vivo, vía endovenosa, - es suficiente. (4) (5) (16)

MacWilliams, trato un caso de Haemobartonellosis - con hidrocioruro de tetraciclina, 800 mg diarios en dosis divididas por 14 días. No encontrando las Haemobartonellas en frotis sanguíneos después del tratamiento. (19)

ANAPLASMA MARGINALE.- La naturaleza morfológica e histoquímica de A. marginale se a caracterizado por el microscopio electrónico. El A. marginale contiene de 1 a 6 subunidades cada una de estas tienen una doble membrana. Los componentes internales de las subunidades constan de materia fibrilar y numerosos granulos densos, los cuales parecen ser nucleoproteínas compuestos de RNA y ADN, porque fueron removidos parcialmente por tratamientos digestivos por Dexosiribonucleasa y Ribonucleasa. (27)

Hay cierta similitud con las Haemobartonellas, Wiggand y Peters (1954) anotaron que una afinidad alta por las tinciones básicas indica un contenido alto de ácidos nucleicos en el organismo. La tincion de pironina indica el contenido de ácido ribonucleico, y el fracaso de teñir con verde metil indica - que el ácido dexosiribonucleico esta ausente o presente en cantidades pequeñas. (17)

La IMPORTANCIA de la anaplasmosis es debido a las grandes pérdidas económicas que origina, derivan de la mortalidad de los bovinos, reducción de la ganancia de peso, en el indice de crecimiento, elevado costo de tratamiento y de investigación, así como en los programas de erradicación.

Se ha caracterizado ya la naturaleza morfológica - de Haemobartonella canis y Anaplasma marginale, así como su --- transmisión por los diferentes vectores ejem; garrapatas, piojo e instrumental, ambos parasitos producen anemia y son susceptibles a los mismos farmacos (tetraciclinas), Pero lo que poco se a investigado es que si estos parasitos hemáticos, poseen sustancias en su composición antigénica que puedan ser inmunológi-

mente semejantes. La importancia de que si existe o no relación antigénica entre estos microorganismos radica en considerar el uso de Haemobartonella como un posible agente inmunizante contra Anaplasma marginale. Ya que Ristic encontró en sus investigaciones que algunos animales pueden tener infecciones subclínicas con Eperythrozoon o Haemobartonella, los cuales interfieren con el desarrollo de la anaplasmosis. (17)

Kreier y Ristic (1963) y posteriormente Small y Ristic (1967) realizaron exhaustivos estudios en la morfología de los corpusculos de Anaplasma, Eperythrozoon y Haemobartonella, encontrando en sus investigaciones que estos tres organismos parecen estar estructuralmente muy relacionados, por lo que en algunos casos resulta dificultosa y en ocasiones hasta arbitraria la diferenciación entre ellos. (17)

Por lo antes expuesto, vemos que existen algunas similitudes en estos dos microorganismos. Basandonos en esto, el OBJETIVO de este trabajo es Determinar si existen o no relaciones antigenicas entre H. canis y A. marginale.

MATERIAL: Biológico: Antígeno Estandarizado de A. Marginale
 Dos sueros sanguíneos de bovinos
 10 canes

Cristalería : Cubreobjetos
 Frascos chicos
 Pipetas de 1 y 5 cc.
 Portaobjetos
 Tubos capilares
 Tubos con tapon de baquelita
 Vasos de precipitado de 200 cc.

Reactivos : Acetato dietilbarbiturato de sodio (buffer)
 Aceite de inmersión
 Acido acético al 5 %
 Acido clorhídrico al 1 %
 Agar agar
 Albumina de huevo
 Benceno
 E.D.T.A. (anticoagulante)
 Fosfina
 Formol al 10 %
 Hematoxilina
 Iodo al 5 %
 Metanol
 Parafina
 Resina sintética
 Solución salina fisiológica
 Tinción de giensa
 Tinción de xilidina de ponceau
 Xilol

Otros : Aguja Hipodérmica No 22 y 26
 Aparato de electroforesis
 Capsulas metálicas de cierre hermético
 Centrífuga
 Estufa bacteriológica
 Gradilla
 Hemoglobímetro de shalí
 Histoquinete
 Instrumental de cirugía general
 Jeringas de 2 1/2 y 5 cc.
 Mechero
 Microscopio
 Microtomo
 Microcentrífuga
 Palillos
 Plastilina
 Refrigerador

M E T O D O S

Se esplenectomizaron en total 10 perros sanos, tomados al azar en diferentes puntos de la Ciudad de Guadalajara. - Se operaron en el Departamento de Cirugia de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U. de G.

Se esplenectomizó primero un perro, para que se desarrollara la Haemobartonella canis, aproximadamente en 49 días, posteriormente se esplenectomizaron 6 perros mas, a los cuales se les inoculo con sangre entera infectada con Haemobartonella por diferentes vías:

Dos por abración en la oreja

Dos por abración interdigital

Dos por vía intrapalpebral

Una vez inoculados se les sangro cada 5 días, para medir el Hematocrito, Hemoglobina y observar las Haemobartonellas en frotis sanguíneos. Cada una de las muestras fueron recogidas en tubos de ensaye con E.D.T.A. y colocadas en gradillas para evitar al maximo la hemólisis.

Tincion de Giemsa

- 1.- Se hace el frotis con dos portaobjetos
- 2.- Se fija con metanol por 1 minuto
- 3.- Se colorea con Giemsa por 30 minutos
- 4.- Se lava con agua y se seca
- 5.- Se observa con objetivo de inmersión

Microhematocrito

- 1.- Se toma sangre en un tubo capilar hasta la marca señalada.
- 2.- Se seca el exterior con un paño
- 3.- El extremo por donde se toma la sangre se sella con plastilina

- 4.- Se centrifuga a 10 000 rpm. durante 5 minutos
- 5.- Se hace lectura.

Hemoglobina

- 1.- Se toma sangre con la pipeta hasta la marca señalada.
- 2.- Se deposita en la probeta del hemoglobinometro
- 3.- Se le agrega HCl al 0.1 normal gota a gota, agitando.
- 4.- Se hace lectura, comparando el patrón.

Cuando los eritrocitos estuvieron parasitados en mas de un 50 % a cada perro se le extrajo sangre, la cual se recogio sin anticoagulante para obtener suero, el cual debe estar libre de particulas extrañas y sin hemolizar.

Los sueros se inactivan a 56° durante 30 minutos en baño maria, y se guardan en congelacion hasta el momento de usarse.

Con estos sueros realizamos las pruebas de Aglutinación en tubo capilar, Inmunolectroforesis en agar, Electroforesis en papel (acetato de celulosa).

La prueba de Intradermoreacción la efectuamos con Ag de A. marginale en 3 perros con Haemobartonellosis.

Aglutinacion en Tubo Capilar

- 1.- Se inserta el tubo capilar horizontalmente en el Ag hasta un tercio de largo del tubo, el cual se llena por capilaridad.
- 2.- Se limpia el exceso de Ag con papel filtro.
- 3.- Se sumerge el mismo extremo del tubo capilar en el suero problema llenando los dos restantes por capilaridad, empujando al antigeno al otro extre

mo.

- 4.- Se invierte el tubo de tal manera que el Ag que de abajo y se coloca en posición vertical inserandolo en la plastilina.
- 5.- Se sella el extremo superior libre aplicando -- aceite de inmersión para evitar la evaporación, y se deja reposar por 24 horas a temperatura -- ambiente antes de efectuar la lectura.
- 6.- Para leer la prueba se coloca un papel negro -- apreciandose mejor la reacción. La prueba es negativa cuando el suero no ha cambiado de aspecto y sera positiva por la formación de grumos - blanquesinos en el tubo capilar.
- 7.- Se trabaja siempre con dos testigos conocidos; uno positivo y otro negativo, para verificación de la lectura. (Ristic) (14)

Electroforesis en Acetato de Celulosa

- 1.- Se humedece la membrana de acetato de celulosa en la solución buffer (pH 8.1), colocandola degpues sobre una hoja de papel filtro seco, para extraer el exceso de buffer.
- 2.- Depositamos una pequeña gota de suero y otra de antígeno, con una distancia entre las dos de 2 centímetros.
- 3.- La membrana de acetato queda ligeramente humedecida, se coloca en el aparato de electroforesis sumerjiendo las puntas en las celdas de los --- electrodos.
- 4.- Aplicamos una corriente de 200 volt durante 30 minutos.

- 5.- La membrana de acetato de lava con solución salina durante una hora, agitando y cambiando la solución cada 20 minutos.
- 6.- Coloreamos con la tincion de xilidina de ponceau
- 7.- Lavamos el exceso de colorante con ácido acético al 5 % durante el tiempo que sea necesario para que se aclare.
- 8.- Se hace la lectura.

Immunolectroforesis en Gel

- 1.- Se prepara el agar al 2 % en agua bidestilada.
- 2.- Ponemos 4 cc. en cada portaobjeto y lo metemos a refrigeracion por 24 horas.
- 3.- Se hace un orificio en el centro a la derecha, - en el cual se deposita el Ag teñido con azul de bromofenol.
- 4.- Se coloca la placa en el aparato de electroforesis uniendo los extremos con papel filtro humedecido a las celdas de los electrodos.
- 5.- Se aplica una corriente de 200 volts durante el tiempo necesario para que el Ag recorra una tercera parte del portaobjeto.
- 6.- Se hacen dos surcos laterales con una navaja de 2 mm de ancho.
- 7.- Se llenan con un suero diferente a cada lado.
- 8.- Se hace lectura a las 24, 48 y 76 horas.
(1) (13) (15) (23)

Intradermoreacción

- 1.- Rasuramos la region anocaudal.
- 2.- Se mide el grosor de la piel con un bernier

- 3.- Se inoculara poco menos de una decima de Ag de A. marginale en la dermis.
- 4.- Se hace lectura a los 45 minutos, 4 horas, 8 --- horas, y 24 horas después de inoculación.
- 5.- A las 24 horas se hace biopsia de la piel donde se inculó el Ag , para preparar cortes histoló gicos, para verificar si hubo reacción antígeno anticuerpo.

Los cortes histológicos fuerón preparados en el Departamento de Histopatología de la Facultad - de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U. de G. Por la tecnica de inclusión en parafina y te ñidos con Hematoxilina-Eosina.

R E S U L T A D O S

Hematócrito durante el curso de la enfermedad

Perro No	Día 5	Día 10	Día 15	Día 20	Día 25
1	40	38	36	35	40
2	40	26	22	21	29
3++	37	36	25	--	--
4	46	45	42	42	44
5	38	38	36	36	40
6	36	34	34	35	35

++ Se complicó con *Ancylostoma caninum*, pero se recuperó.

Nota: Hematócrito expresado en %/100 ml de sangre.

Hemoglobina durante el curso de la enfermedad

Perro No	Día 5	Día 10	Día 15	Día 20	Día 25
1	10	10	10	9	10.5
2	10	6	5.5	4.5	6
3	11	9	7.5	--	--
4	13.5	12	11	10.5	12
5	10	8	8	9	10
6	9	9	9	8.5	8.5

Nota: Hemoglobina expresado en granos/100 ml de sangre.

Resultados en la Prueba de Aglutinación en Tubo Capilar

Sueros testigos conocidos	Suero 1 -----	Positivo
	Suero 2 -----	Negativo
Sueros problema	Suero 1 -----	Positivo
	Suero 2 -----	Positivo
	Suero 3 -----	Positivo
	Suero 4 -----	Positivo
	Suero 5 -----	Positivo
	Suero 6 -----	Positivo

Resultados en las pruebas de Inmunolectroforesis en Gel

Sueros testigos conocidos	Suero 1 -----	Negativo
	Suero 2 -----	Negativo
Sueros problema	Suero 1 -----	Negativo
	Suero 2 -----	Negativo
	Suero 3 -----	Negativo
	Suero 4 -----	Negativo
	Suero 5 -----	Negativo
	Suero 6 -----	Negativo

Resultados en Electroforesis en acetato de celulosa

Sueros testigos conocidos	Suero 1 -----	Negativo
	Suero 2 -----	Negativo
Sueros problema	Suero 1 -----	Negativo
	Suero 2 -----	Negativo
	Suero 3 -----	Negativo
	Suero 4 -----	Negativo
	Suero 5 -----	Negativo
	Suero 6 -----	Negativo

Resultados en la prueba de Intradermoreacción
Grosor de la piel

Perro	Antes	45 min.	4 horas	8 horas	24 hora
No	Inocul.	después	después	después	después
1	1.2 mm	2.1 mm	2.5 mm	3.0 mm	2.5 mm
2	1.0 mm	2.0 mm	2.0 mm	2.5 mm	2.5 mm
3	1.5 mm	2.0 mm	2.0 mm	2.5 mm	2.5 mm
4++	1.5 mm	1.5 mm	1.5 mm	1.5 mm	1.5 mm

++ Testigo

Los resultados en la prueba de Intradermoreacción en los cortes histológicos fueron:

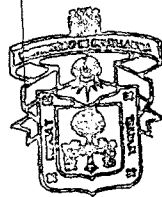
- Perro 1 ----- Dermatitis Anafiláctica
- Perro 2 ----- Dermatitis Anafiláctica
- Perro 3 ----- Dermatitis Anafiláctica
- Perro 4+----- Ligero edema dérmico con
escasa infiltración lin-
foidea.

+ Testigo



Aglutinación en tubo capilar positiva
en los seis sueros problema

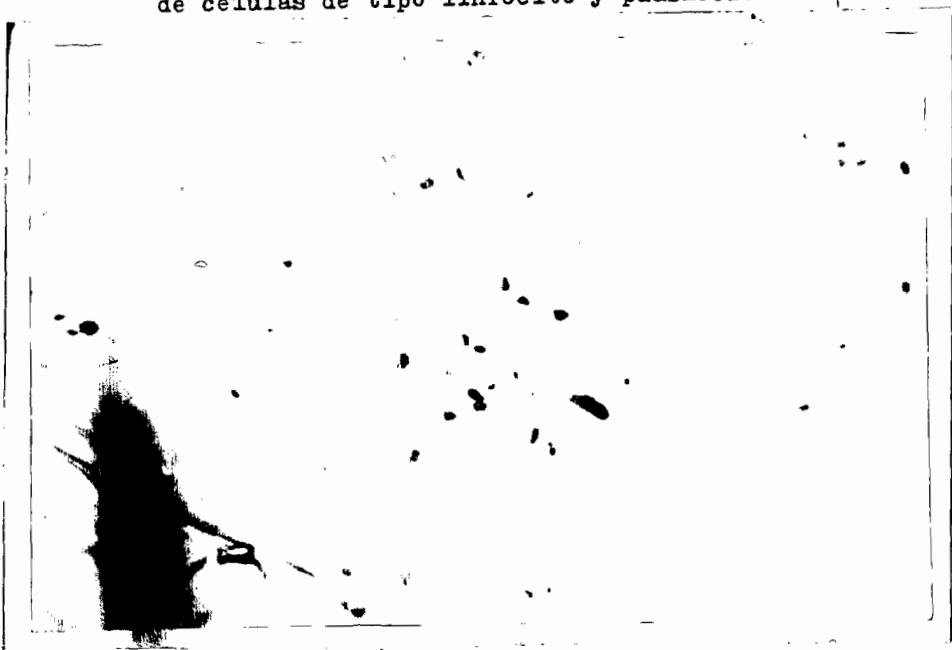
CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL



Distensión de fibras de colagena y presencia de celulas de tipo linfocito y plasmocito



Notese la diferencia respecto a la anterior, aqui no hay distensión de fibras de colagena por aumento de liquido tisular ni hay infiltración de celulas inflamatorias.

D I S C U S I O N

Se han escrito numerosos reportes en cuanto a la inmunidad cruzada. Dimopoulos y Finerty (1970) reportan que vacas infestadas con babesias, presentaron títulos aumentados de anticuerpos contra *Plasmodium falciparum*. (7)

García Ortiz (1971) detecto anticuerpos contra *Anaplasma marginale* en cerdos infestados con *Eperythrozoon suis*, -- usando las técnicas de aglutinacion en tubo capilar e inmunodifusión. (10)

Trabajamos con perros esplenectomizados para que se desarrollara la *Haemobartonellosis*.

Erp y Fahrney (1967) publican estudios que muestran que hay una gammaglobulina en los sueros de los perros y el hombre que actua sobre los leucositos polimorfonucleares para estimular la fagocitosis. Esta gammaglobulina se denominó Leukokina, y los resultados de estudios de esplenectomia indican que el bazo es el órgano productor. (8)

Ristic (1963) introdujo la prueba de aglutinación en tubo capilar para la detección de anticuerpos contra *A. marginale*. Prueba que utilizamos en este estudio para la detección de anticuerpos de *H. canis* contra antígeno de *A. marginale*.

Como ya se mencionó anteriormente, Ristic encontró -- que animales que presentaban infecciones subclínicas con *Eperythrozoon* o *Haemobartonella*, presentaban resistencia al desarrollo de la anaplasmosis. (17)

Estas investigaciones hechas por Ristic, confirman -- los resultados obtenidos en este trabajo.

Observamos que en la prueba de Aglutinación en tubo capilar, la reacción de aglutinación fué visible a los 5 minutos en los 6 sueros problema, y en los testigos conocidos fué visible horas después haciendose la lectura a las 24 horas.

El porque de la rapidez de la reacción de aglutinación en los seis sueros problema, no lo podemos explicar. Tomando en consideración que la prueba tanto en los testigos conocidos como en los sueros problema, fueron hechas en las mismas -- condiciones. (pH, Temperatura, concentración del suero, agitación).

Ristic (1962) reporta que el antígeno es particulado y se cree que es el organismo Anaplasma o una parte de el. (24). Esto explica el porque de los resultados negativos en Inmunolectroforesis en gel como en electroforesis en papel (acetato de celulosa), ya que el organismo o su fracción es una macromolécula y no puede pasar los espacios que forman las laminillas del gel y del acetato de celulosa.

En los perros con Haemobartonellosis en que se practicó la prueba de Intradermoreacción, se produjo una Dermatitis Anafiláctica. Observando que a los 45 minutos después de la inoculación intradérmica del antígeno, el grosor de la piel ya había aumentado y persistió así hasta las 24 horas.

En los cortes histológicos se observó edema, y una gran infiltración dérmica de células polimorfonucleares y linfocíticas con predominancia de las últimas.

Gonzalez Candelas expone: que al entrar la sustancia antigénica en contacto con el tejido conectivo laxo de la dermis, existe una primera reacción en la que intervienen inmunoglobulinas específicas presentes en el líquido tisular del -- área afectada, e inmunoglobulinas específicas e inespecíficas -- que se encuentran fijadas en la membrana celular y en las membranas lisosomales de las células mast (mastocitos); lógicamente las inmunoglobulinas específicas se encuentran ahí porque el individuo a tenido en más de una ocasión, y por cualquier vía, -- contacto con la sustancia antigénica (en este caso Haemobarto-

nella) esto es, esta Hipersensibilizado.

Al efectuarse la reacción antígeno anticuerpo y sobre todo a nivel de las membranas lisosomales estas pierden su continuidad (se rompen) liberandose sustancias enzimaticas y sustancias que intervienen en el inicio del fenomeno inflamatorio siendo de gran importancia la liberación de Histamina, la que actua de forma inmediata sobre las celulas endoteliales de los capilares arterioloares de la dermis baja; existiendo así un aumento de la permeabilidad por lo que existe mayor posibilidad de que se exude plasma y con el mas anticuerpos especificos, y no solo eso, sino también otros tipos de sustancias químicas que ayudaran o se transformaran en el sitio mismo de la lesión para tratar de - eliminar al irritante, como por ejemplo: la intervención de la - Kalicreina que circula en el plasma y que al llegar a ese sitio se transforma en Kalidina. Este tipo de sustancias también como la serotina y bradiquinina en general ayudan a que se mantenga - el aumento de permeabilidad capilar debido a la irritación que - provocan en el endotelio vascular. Al estar llevandose a cabo -- estas reacciones bioquímicas en el liquido que encontramos entre las fibras de colagena y los fibrocitos y fibroblastos aparecen sustancias que tienen un quimiotactismo positivo sobre la linea de celulas polimorfonucleares las cuales llegan en primera instancia al sitio de la lesion pero particularmente en este caso - no tienen ninguna actuación directa sobre las moleculas de antígeno; sin embargo es posible coadyuven a eliminar del area lesionada el conjugado proteínico Ag-Ac, fagocitandolo. (todo esto su cede dentro de los primeros 45 minutos después de inyectado el - antígeno de A. marginale).

Dentro de las 12 a 24 horas siguientes a la inyeccion del antígeno y quizas también de la segunda hora pero desde luego mas manifiesta en las primeras, intervienen leucocitos de ti-

po linfocito que estan condicionados en su informacion genetica nuclear para reaccionar dividiendose y generar celulas plasmaticas las cuales por la informacion genetica transmitida por el - linfocito madre empiezan a producir inmunoglobulinas especificas para el antigeno inyectado. (11)

En el testigo hubo una ligera reaccion observada en los cortes histologicos. Weinman (1944), animales que se han recuperado de la infeccion clinica, son portadores asintomaticos. (29)(17). Consecuentemente presencia de anticuerpos en el animal testigo.

C O N C L U S I O N E S

- 1.- Concuerdan los resultados de la prueba de Aglutinación en tubo capilar e In--tradermoreacción.
- 2.- Las pruebas de Inmunolectroforesis en gel y Electroforesis en acetato de celulosa, fueron negativas.

S U M A R I O

Se esplenectomizaron 10 perros tomados al azar, en la Ciudad de Guadalajara, los -- cuales se enfermaron de Haemobartonellosis. Se hicieron frotis sanguineos teñidos con giemsa, para comprobar la presencia de H. canis.

Se obtuvo suero sanguineo de los perros - con Haemobartonellosis, libre de hemólisis. Utilizamos las pruebas de Aglutinación en tubo capilar, Inmunoelectroforesis en gel, Electroforesis en acetato de celulosa e - Intradermoreacción.

Se trabajó con antígeno estandarizado de Anaplasma marginale.

Se trabajó con dos sueros testigos conoci dos, uno positivo a A. marginale y el --- otro negativo.

Ag = antígeno Ac = anticuerpo

B I B L I O G R A F I A

- 1.- BARRET, James T. Inmunología: Introducción a la Inmunología y la Inmunobiología. México, C.R.A.T./c 1972/ p. 84-85
- 2.- BRUNER, Dorsey William y GILLESPIES, James Howar. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 3a ed. México, La Prensa Médica Mexicana /c 1970/ p. 719-725
- 3.- BURDON, Kennet L. y WILLIAMS, Robert. P. Microbiología. México, C.R.A.T. 1971 / p. (277-282) (703-716)
- 4.- CATCOTT, Earl J. Canine Medicine. Illinois, American Veterinary Publications, 1968./ 227-228
- 5.- CATCOTT, Earl J. and SMITHCORS, J.F. Progress in canine practice. Illinois, American Veterinary Publications, 1967 / p. 267-269 y p. 189-190 vol 2.
- 6.- CATCOTT, Earl J. and SMITHCORS, J.F. Progress in feline practice. Illinois, American Veterinary Publications, 1971/ p. 95-99
- 7.- DIMOPOULLOS, Georgt and FINERTY, John F. "Cross reactivity - between anaplasma, argonale and two plasmodium species as -- demonstrated by passive hemagglutination". American Journal of Veterinary Research. 37 (6) / p. 693-695, 1976.
- 8.- Erp, Elton E. and FAHRNEY, David. "Changes in serum concentration of phagocytosis stimulating factor in experimentally induced bovine anaplasmosis; preliminary findings". American Journal of Veterinary Research. 37 (5): 607-608, 1976
- 9.- FRERICHS, Wayne M. and HOLBROOK, A. "Haemobartonella procyoni sp". Journal of Parasitology. 57 (6): 1309-1310, 1971
- 10.- GARCIA Ortiz Octavio. Estudio sobre la relación antigénica - entre Anaplasma marginale y Eperythrozoon suis. Tesis M.V.Z. F.M.V.Z., Universidad de Guadalajara, 1971
- 11.- GONZALEZ CANDELAS Hiram Osiris, M.V.Z. "Fisiopatología de la prueba de Intradermoreacción" (comunicación personal).
- 12.- HEATH, J. S. and JANES, P.D. "Anemia infectious feline". Veterinary Record. 86 (1): 23, 1970.
- 13.- HERBERT, W.J. Inmunología Veterinaria. Zaragoza, Acribia --- 1972. p. 6384

- 14.- IBARRA ARIAS, Felix Joel. Incidencia de anticuerpos contra anaplasmosis en animales clínicamente sanos, en algunas zonas de Nayarit y Jalisco. Tesis. M.V.Z., F.M.V.Z. Universidad de Guadalajara, 1970.
- 15.- KABAT, Elvin A. Inmunoquímica Experimental. 2a. ed. México La Prensa Médica Mexicana /c 1968/ p. 588-620
- 16.- KIRK, Robert W. Terapéutica Veterinaria. México, C.E.C.S.A. 1970 / p. 678-679
- 17.- KREIER, J.P. y RISTIC, M. Haemobartonellosis, Eperythrozoonosis, Grahameiosis and Ehrlichiosis. Infectious Blood Diseases of Man and Animals. 2a. ed. New York, Academic press 1968/ p. 387-472.
- 18.- LOVE, J.N. and McEWEN, E.G. "Hypoglycemia associated with-Haemobartonella-like infection in splenectomized calves"American Journal of Veterinary Research. 33 (10): 2087-2089 1972.
- 19.- MacWILLIAMS P. and FURNEAUX, R.W. "Haemobartonellosis in -- dog in Saskatchewan". Canadian Veterinary Journal. 14 (1) 21-22, 1973
- 20.- McKEE, Adam E. et al. "Seanning and transmission electron - microscopy of haemobartonella canis and eperythrozoon ovis" American Journal of Veterinary Research 34 (9): 1196-1201 1973.
- 21.- MERCHANT, I.A. y PACKER, R.A. Bacteriología y Virología veterinaria. 2a. ed. Zaragoza, Acribia/ 1965/ p. 603-619.
- 22.- OSORIO, Miguel B. y RISTIC, Miodrag D. "Aislamiento e identificación de Haemobartonella canis en México". Técnica Pecuaria en México. s.v. (10/11): 24 / 1972
- 23.- PEREZ TAMAYO, Rog et al Inmunología. México, La Prensa Médica Mexicana / 1968 / p. 161-174
- 24.- RISTIC, Miodrag. "A capillary tube agglutination test for - anaplasmosis - preliminary". Journal of the American Veterinary Medical Association . 141 (5): 588-594, 1962.
- 25.- SCHAUM, Oscar W. Hematología veterinaria. México, UTEHA -- 1964 / p. 51-58
- 26.- SEHNVIBATNA, P., WENRASINGHE, N. and ARIYADASA, S. "Transmission of Haemobartonella canis by the dog tick, rhipicephalus sanguineus". Research in Veterinary Science. 14 (1) 112-114, 1973.

- 27.- SIMPSON, Charles F. "Morphologic and histochemical nature of anaplasma marginale". American Journal of Veterinary Research. 28 (125): 155-165, 1967.
- 28.- WILKINSON, G.T. and LEWINGTON, J.H. "Haemobartonellosis in cat". Veterinary Record. 85 (24): 698-699, 1969.
- 29.- WRIGHT, L.G. "The isolation of Haemobartonella canis in association with babesia canis in a splenectomized dog". Australian Veterinary Journal. 47 (4) : 157-159, 1971.
- 30.- ZINSSER, Hans. Microbiología de Zinsser. 3a ed. Trad. Antonio Capella Bustos. México, UTEHA / c 1967 p. 22.