



Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2024; 15:1-13. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2024.15>
Estudio de Caso. Recibido: 21/10/2022. Aceptado:20/07/2024. Publicado: 19//2024. Clave: e2022-71.
<https://www.youtube.com/watch?v=ZPKXVtgYmp0>

Caracterización molecular y serológica de *Anaplasma marginale* en la región transfronteriza noreste de México

Molecular and serological characterization of *Anaplasma marginale* in the northeast transboundary region of Mexico



Pérez-Arriaga Edgar^{1ID}, Nava-Jauregui Héctor^{2ID}, Azuara-Domínguez Ausencio^{1ID}, Garza-Flores Rodolfo^{3ID}, Valenzuela-Fernández Raúl^{3ID}, Merino-Charrez Octavio^{2*ID}

¹Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Ciudad Victoria, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Boulevard Emilio Portes Gil núm. 1301 Poniente, Apartado Postal 175, Ciudad Victoria, Tamaulipas, México, C. P. 87010. ²Universidad Autónoma de Tamaulipas, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Km. 5 Carretera Victoria-Mante, CP 87000 Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. ³Universidad Autónoma de Tamaulipas, Facultad de Ingeniería “Arturo Narro Siller” Centro Universitario Tampico-Madero, Tampico, Tamaulipas, México. *autor de correspondencia: Merino-Charrez Octavio. E-mail: edgar.pa@cdvictoria.tecnm.mx, hanava@docentes.uat.edu.mx, ausencio.ad@cdvictoria.tecnm.mx, rogarza@docentes.uat.edu.mx, jraul@docentes.uat.edu.mx, omerino@docentes.uat.edu.mx

RESUMEN

La anaplasmosis es un padecimiento causado por las rickettsias *Anaplasma spp*, sin embargo, *Anaplasma marginale* es el agente causal de la anaplasmosis bovina cuya patogenicidad es la más alta entre todas las especies. No obstante, en la región noreste de México no existe información actualizada que permita caracterizar la epidemiología de la enfermedad en la región, por lo tanto, en el presente estudio se muestrearon 50 bovinos que provenían de la región transfronteriza México-USA en el estado de Tamaulipas durante el periodo de abril a octubre del año 2021. El diagnóstico se llevó a cabo mediante elaboración de frotis, reacción en cadena de la polimerasa y ELISA. Los resultados obtenidos permiten corroborar la presencia de *A. marginale* en algunos municipios muestreados, aunado a esto se confirmó que la PCR continúa siendo el método más eficiente para realizar el diagnóstico de este patógeno debido a su alta sensibilidad, esto inclusive antes de que los animales presenten los signos clínicos de la enfermedad o que los parámetros sanguíneos presente variación alguna como resultado de la infección.

Palabras clave: bovino, infección, anaplasmosis, diagnóstico, PCR.

ABSTRACT

Anaplasmosis is a disease caused by rickettsiae *Anaplasma spp*, however *Anaplasma marginale* is the causal agent of bovine anaplasmosis whose pathogenicity is the highest among all species. Nevertheless, in the northeastern region of Mexico there is no updated information that allows characterize the epidemiology of the disease, therefore in the present study 50 bovines coming from the transboundary region Mexico-USA in the state of Tamaulipas were tested during the period from April to October of the year 2021. The diagnostic was carried out by blood smears, PCR and ELISA and the results obtained allow corroborate the presence of *A. marginale* in some sampled municipalities, in addition to this we confirm that PCR continues to be the most efficient method for the diagnostic of this pathogen due to the high sensitivity, even before the animals show the clinical signs of the disease or that the blood parameters present some variation as result of the infection.

Keywords: bovine, infection, anaplasmosis, diagnostic, PCR.



INTRODUCCIÓN

La anaplasmosis es considerada un padecimiento producido por la rickettsia *Anaplasma spp.* (Rickettsiales: Anaplasmatacea), su distribución geográfica se ubica en regiones tropicales y subtropicales en el mundo, pero principalmente en México, centro y Sudamérica, así como en las islas del caribe (Ogata *et al.*, 2021; Lira-Amaya *et al.*, 2022; Ferreira *et al.*, 2022; Dantán-González *et al.*, 2022). De las especies pertenecientes al género *Anaplasma*, la especie *Anaplasma marginale* (*A. marginale*), se considera como la más patógena de todas y su distribución, abarca más del 50% del país (Brayton, 2012). *A. marginale* es un hemoparásito intracelular obligado, de forma esférica, con un diámetro de aproximadamente de 0.3 μm , ésta se ubica en la región interior periférica del eritrocito del bovino y al microscopio puede verse como un cuerpo de inclusión. La gran mayoría de los organismos que pertenecen a la familia *Anaplasmataceae* son patógenos intracelulares y dentro del género *Anaplasma* incluye algunos patógenos que pueden afectar rumiantes como lo son *Anaplasma marginale*, *A. centrale*, *A. bovis*, *A. Ovis* y *A. phagocytophilum* éste último puede afectar también equinos, perros e inclusive al humano (Silaghi *et al.*, 2017; Curtis *et al.*, 2021; Ghosh *et al.*, 2021).

Dentro de los primeros síntomas de la anaplasmosis se encuentra la fiebre y anemia cuyos valores variarán de acuerdo con el número de eritrocitos que sean parasitados por este patógeno. También puede haber una disminución en el hematocrito y pueden aparecer eritrocitos inmaduros en frotis. En los bovinos jóvenes suele variar el grado de anemia, sin embargo, en animales adultos y esplenectomizados las afecciones son mayores (Zeb *et al.*, 2020; Eleftheriou *et al.*, 2022). La infección suele presentarse cuando la garrapata ingiere el hemoparásito al alimentarse de un animal portador, dentro de la garrapata *A. marginale* inicia su multiplicación en las células intestinales, después migra a través de la hemolinfa a las glándulas salivales, donde se multiplicará nuevamente y finalmente por medio de la picadura es liberado cuando la garrapata infesta y pica un huésped sano, con lo cual se inicia de nuevo el ciclo en los bovinos, en los animales infectados el estado de portador puede durar toda la vida e incluso el parásito puede no ser siempre detectado en la sangre (Zabel & Agosto, 2018). Algunas moscas hematófagas como la mosca del cuerno (*Haematobia irritans*) o la mosca del establo (*Stomoxys calcitrans*) así como algunos tábanos y mosquitos de los géneros *Anopheles sp* y *Psorophora spp* pueden fungir como transmisores mecánicos además de algunas herramientas o material contaminado con sangre de animales infectados (Rezende-Araújo *et al.*, 2021).

Dado que el genoma de *A. marginale* es circular, y el tamaño es estimado es de 1.6 Mb aproximadamente, algunas investigaciones en los últimos 20 años se han centrado en la identificación y uso de las principales proteínas de la superficie MSP (Major Surface



Protein) (MSP1a, MSP1b, MSP2, MSP3, MSP4, y MSP5) para el diagnóstico de este patógeno ([Watthanadirek et al., 2021](#); [Kamani et al., 2022](#)). Específicamente MSP5 está codificadas por un solo gen característica que le permite diagnosticar con certeza la presencia del patógeno aún cuando la infección se encuentre en una etapa inicial ([Cabezas-Cruz & de la Fuente, 2015](#); [Quiroz-Castañeda et al., 2016](#)). Basados en esta información y debido a la importancia que *A. marginale* representa en la industria ganadera del norte del país se hace necesaria la implementación de técnicas que permitan inicialmente diagnosticar la enfermedad y posteriormente en base a la interpretación epidemiológica, establecer medidas sanitarias enfocadas a controlar la diseminación del patógeno ([Rodríguez-Camarillo et al., 2020](#); [Castañeda-Ortiz et al., 2015](#)).

MATERIAL Y MÉTODO

Área de estudio y obtención de muestras sanguíneas

El presente trabajo se realizó en el estado de Tamaulipas. El muestreo fue realizado durante el período comprendido entre los meses de abril a octubre el año 2021 temporada que por sus condiciones climáticas presenta los picos de infestaciones por vectores. Debido a las consideraciones en el tiempo y el costo se utilizó un muestreo no probabilístico, aleatorio por conveniencia en el cual se analizaron las muestras sanguíneas de 50 bovinos en el laboratorio estatal de salud animal de Tamaulipas. Para la obtención de las muestras se contó con la ayuda de un Médico Veterinario Zootecnista y personal capacitado. Con la finalidad de evaluar el hematocrito, elaborar frotis y PCR se obtuvieron 3ml de sangre directamente de la vena coccígea mediante el uso de tubos (BD Vacutainer®) con anticoagulante EDTA K2 (ácido etilendiaminotetraacético potásico), cada muestra fue dividida en tres alícuotas. Así mismo se obtuvieron 3ml de sangre utilizando tubos sin anticoagulante para obtener suero, ambos tubos se mantuvieron a 8°C durante su transporte. Todos los trabajos fueron aprobados por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Tamaulipas con número de autorización CBBA-14-10, oficio 11071 21-P.

Análisis microscópico

Con la finalidad de identificar *A. marginale* mediante la ayuda del microscopio, se elaboraron frotis sanguíneos, colocando una gota fina de sangre en el portaobjetos, con otro portaobjetos se realizó el extendido en un ángulo de 30°, y secándolo de forma manual, con la finalidad de que las células no sufrieran crenación, después fueron fijados con metanol durante 5 minutos y teñidos con colorante Giemsa al 10%, transcurridos 15 minutos las laminillas fueron lavadas con agua destilada y se dejaron secar, finalmente se examinaron como mínimo 30-50 campos en el microscopio con el objetivo de inmersión (100X) en busca del parásito.



Análisis de microhematocrito

Las muestras de sangre colectadas en la alícuota 1 se colocaron en un mezclador de tubos, con la finalidad de homogenizar la muestra, posterior a ello con un tubo capilar se tomó una muestra tratando de llenar tres cuartas partes del capilar, se selló con fuego la parte anterior del tubo y fue centrifugado a 12,000 revoluciones por minuto, durante cinco minutos.

Posteriormente, se retiró el tubo capilar de la centrifuga y se colocó en una base blanca en posición vertical para dar la lectura con la siguiente fórmula:

Fórmula

Hematocrito (%) = $((L1) / (L2)) \times 100$

L1= Altura del paquete globular.

L2= Altura de la muestra total.

Diagnóstico mediante PCR

Finalmente, con la alícuota 3 se realizó la extracción de DNA mediante el kit ReliaPrep™ Blood gDNA Miniprep System siguiendo las instrucciones del fabricante. Para determinar la concentración y pureza del ADN, este fue analizado utilizando un espectrofotómetro (NanoDrop2000®, Thermo Scientific, Waltham, MA, Estados Unidos) sobre el cual se colocó 1µl del ADN extraído de cada muestra y posteriormente 1µl de solución para blanquear. Finalmente, las muestras fueron conservadas a -20°C hasta la elaboración de la PCR punto final.

Las muestras de ADN fueron examinadas mediante PCR utilizando el kit GoTaq Green Master Mix, 2x (Pro- mega, Madison, WI, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante y utilizando los primers A. Marg-F 5'TCCTCGCCTTGCCCCTCAGA-3', y A. Marg-R 5'TACACGTGCCCTACCGACTTA-3' (Guillemi *et al.*, 2016) los cuales amplifican una región de 345 pb del gen MSP5. Posteriormente las muestras fueron cicladas en el termociclador (Applied Biosystems™ Num:2720) utilizando los siguientes ciclos y temperaturas de 95°C por 30 segundos para la desnaturalización, 60°C por 30 segundos en el alineamiento y 72°C por 30 segundos para la elongación por 35 ciclos. Finalmente, los productos amplificados fueron analizados en gel de agarosa al 2% teñido con Diamond Nucleic Acid Dye (Promega, Madison, WI USA. Cat.Num: H1181), utilizando un marcador de peso molecular de 100 bp DNA Ladder (Promega, Madison, WI USA. Cat. Num: G210A) como referencia y electroforados a 120 voltios durante 40 minutos para ser visualizados utilizando el sistema de fotodocumentación ENDURO GDS (LABNET)

Determinación de anticuerpos mediante ELISA

Los sueros fueron obtenidos de las muestras recolectadas en los tubos sin anticoagulante mediante la centrifugación a 1500 rpm, posteriormente fueron incubados en una placa de ELISA (immulon) cubierta previamente con un antígeno específico de A.

Marginale (0.1mg/pocillo) durante toda la noche a 4°C y lavada tres veces con PBS+0.05% Tween 20 (PBS-T), y bloqueando los sitios de unión inespecíficos con Albumina de suero bovino (BSA) durante una hr a 37°C, todas las muestras fueron analizadas por triplicado. Los títulos de anticuerpos fueron determinados utilizando un espectrofotómetro (iMark, Bio-Rad) a 450nm de longitud de onda y considerados positivos cuando se obtuvo una densidad óptica (DO) dos veces mayor al promedio de los negativos (0.4) a una dilución 1:100 en los cuales se utilizó PBS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados de microscopía y de hematocrito

El análisis microscópico de las muestras reveló que al menos 18 de las muestras obtenidas presentaban estructuras compatibles con *A. marginale* (Figura 1), lo cual nos indica que posiblemente algunos de estos animales cursaban una infección clínica ya que cuando la infección es crónica no expresa un elevado nivel de parasitemia como para ser detectado con la tinción y aunque todas las muestras presentaron estas estructuras en la periferia del eritrocito, no se puede discernir si la infección es causada por *A. marginale* o *A. centrale*. Cuando se analizaron los niveles de hematocrito de la población no se encontró una disminución significativa en los valores de estos (35.5%) con respecto a los valores de referencia (24-46%). Si bien los resultados de la identificación de *A. marginale* mediante microscopía fueron similares a los obtenidos por PCR y ELISA, algunos autores afirman que la identificación mediante el uso del microscopio como método de diagnóstico no es confiable principalmente por que en algunos casos la parasitemia no es alta y suele pasar desapercibida por el ojo humano (Noaman & Shayan, 2010; Pradeep *et al.*, 2019; Bisen *et al.*, 2021).

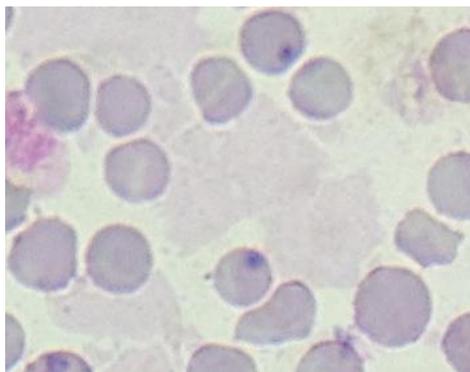
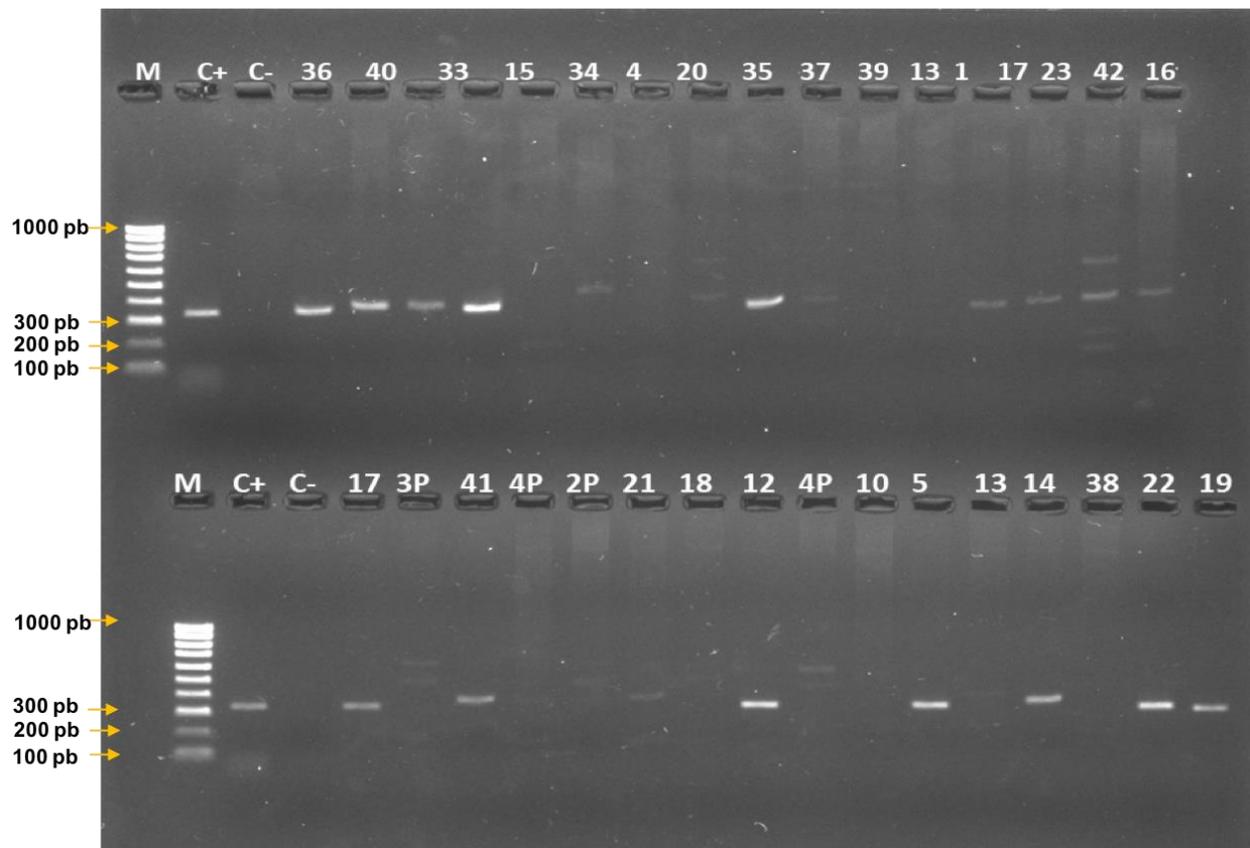


Figura 1. Fotografía al microscopio mostrando estructuras compatibles con *Anaplasma marginale*

Resultados de la PCR

En total 19 muestras resultaron positivas a *A. marginale* mediante la prueba de PCR, éstas fueron consideradas así, cuando amplificaron un fragmento de 345 pb el cual corresponde con la talla indicada para el fragmento del gen MSP5 (Guillemi *et al.*, 2016), de estas 17 corresponden al municipio de Soto la Marina, una al municipio de Abasolo y una a Victoria (Figura 2). Estos resultados utilizando el gen MSP5 son similares a los obtenidos en un estudio llevado a cabo para la detección de *A. marginale* (Corona & Martínez, 2011). En otro estudio utilizando el gen MSP5 se pudo identificar la presencia de *A. marginale* en bisontes mantenidos en la reserva natural el Uno en el estado de Chihuahua, estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de evaluar también el rol que tiene la fauna silvestre en el mantenimiento y ciclo de vida de los patógenos. Esta interacción entre el huésped y el patógeno se ve aumentada sobre todo cuando algunos de los animales que pueden fungir como reservorios del patógeno se encuentran en áreas limítrofes a las que han presentado reportes de infección por *A. marginale*. (Beristain-Ruiz *et al.*, 2021).



M: Marcador de peso molecular, C+: control positivo (345 pb) (36, 40, 33, 15, 34, 20, 35, 37, 17, 23, 42, 16, 41, 21, 12, 5, 14, 22, 19) muestras positivas, C-: control negativo (agua bidestilada).

Figura 2. Gel de agarosa al 2 % y teñido con Diamond Nucleic Acid Dye



Resultados de ELISA

Finalmente, una vez analizada la densidad óptica de las muestras los resultados indicaron que 17 de las 50 muestras recolectadas resultaron con anticuerpos a *A. marginale*, dichas muestras fueron consistentes con los resultados de PCR y obtuvieron densidades que oscilaban de 0.90 a 1.50, cabe mencionar que de estas muestras positivas la totalidad de ellas fueron obtenidas del municipio de Soto la Marina (Figura 3). Al igual que en el presente estudio la identificación de anticuerpos contra *A. marginale* mediante ELISA ha sido utilizada en otras investigaciones con buenos resultados y sobre todo, tiene una alta implicación debido a que forman parte también del estudio epidemiológico de este patógeno en la región norte del continente americano, esto a su vez nos permite conocer las interacciones entre el patógeno y el vector con lo cual se podrían implementar estrategias de control que sean económica y biológicamente factibles para evitar la diseminación de *A. marginale* (Figura 3) (Olafson *et al.*, 2018; Okafor *et al.*, 2019; Sarli *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

En conclusión, la detección de *A. marginale* mediante PCR resultó con una mayor especificidad y sensibilidad, aunque los resultados son muy similares utilizando la prueba de ELISA, esto podría deberse a que el animal mantiene una infección crónica por este patógeno por lo cual genera anticuerpos, sin embargo, algunas veces la infección es indetectable mediante técnicas convencionales como microscopía. Por lo tanto, el presente estudio presenta información actualizada y de utilidad para el análisis de la interacción entre el huésped y el patógeno puesto que a la fecha no existen estudios epidemiológicos sobre *A. marginale* en la región transfronteriza con Estados Unidos de Norteamérica siendo este el punto de acceso por el que transita la mayor cantidad de ganado bovino con fines de exportación en el país, no obstante es necesario realizar más investigaciones a mayor escala y dirigidos hacia la detección de patógenos transmitidos por garrapatas a fin de establecer programas que ayuden tanto al control de los patógenos como de los vectores.

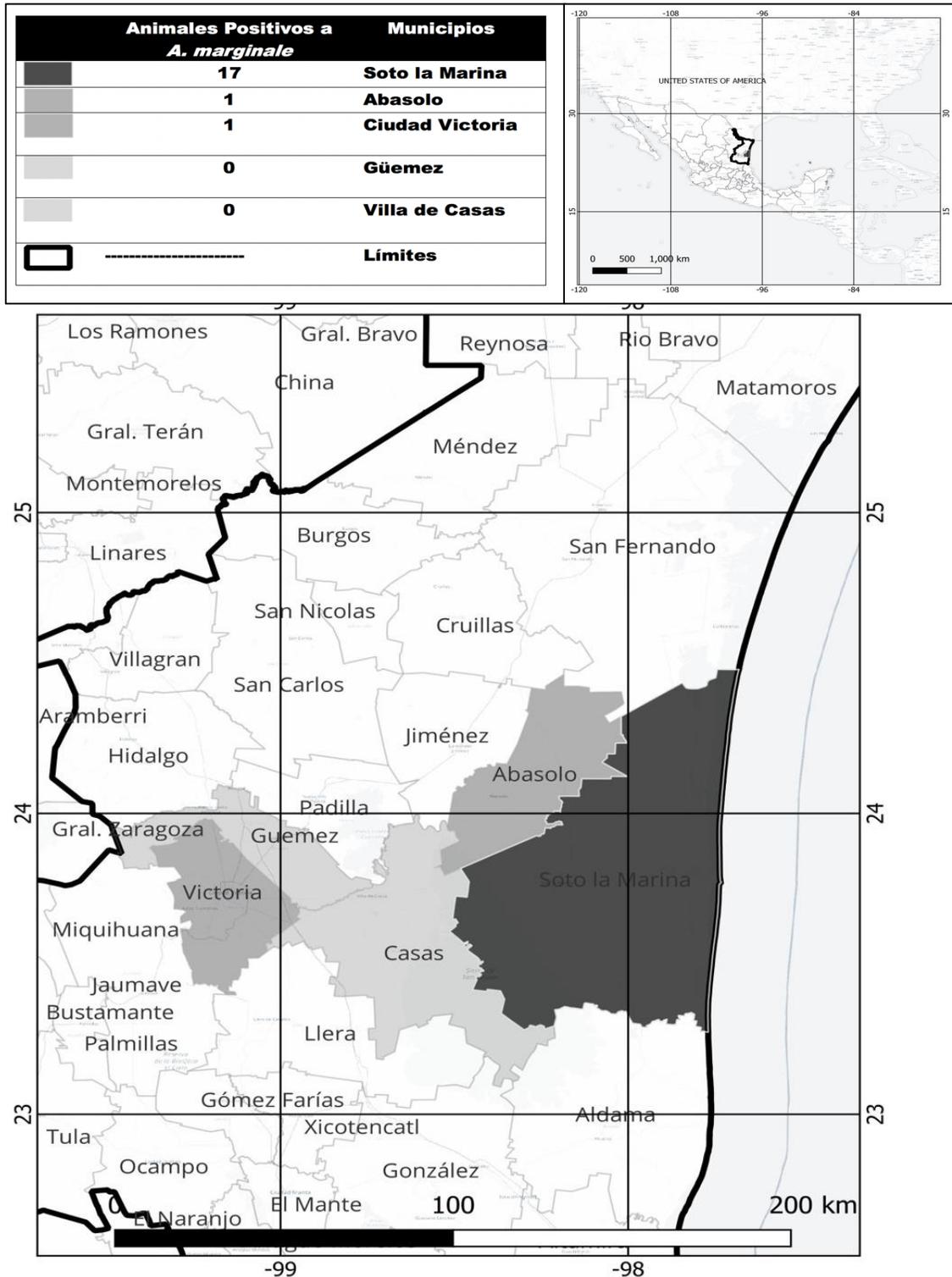


Figura 3. Mapa de animales positivos por municipio de estudio



LITERATURA CITADA

BERISTAIN-RUIZ D, Vital-García C, Figueroa-Millán JV, Lira-Amaya JJ, Garza-Hernández JA, Sánchez-Ayala JR, Flores-Ceballos S, Rodríguez-Alarcón CA, Olivás-Sánchez MP, Pons-Monarrez G. 2021. Molecular Detection of Tick-Borne Pathogens in American Bison (*Bison bison*) at El Uno Ecological Reserve, Janos, Chihuahua, Mexico. *Pathogens*. 10(11):1-16. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111428>

BISEN S, Aftab A, Jeeva K, Silamparasan M, Yadav S, Chandra D, Sankar M, Garg R, Raina OK. 2021. Molecular and serological detection of *Anaplasma* infection in carrier cattle in north India. *Veterinary parasitology*. 24:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100550>

BRAYTON KA. 2012. Transmisión de *Anaplasma marginale* por garrapatas. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 3(1):41-50. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242012000500006

CABEZAS-CRUZ A, de la Fuente J. 2015. *Anaplasma marginale* major surface protein 1a: a marker of strain diversity with implications for control of bovine anaplasmosis. *Ticks and tick-borne diseases*. 6(3):205-210. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.03.007>

CASTAÑEDA-ORTIZ EJ, Ueti MW, Camacho-Nuez M, Mosqueda JJ, Mousel MR, Johnson WC, Palmer GH. 2015. Association of *Anaplasma marginale* strain superinfection with infection prevalence within tropical regions. *PLoS One*. 20(10):1-8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129415>

CORONA B, Martínez S. 2011. Detección de *Anaplasma marginale* en bovinos, mediante la amplificación por PCR del gen MSP5. *Revista de Salud Animal*. 33(1):24-31. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0253-570X2011000100004

CURTIS AK, Kleinhenz MD, Anantatat T, Martin MS, Magnin GC, Coetzee JF, Reif KE. 2021. Failure to eliminate persistent *Anaplasma marginale* infection from cattle using labeled doses of chlortetracycline and oxytetracycline antimicrobials. *Veterinary Sciences*. 8(11):1-13. <https://doi.org/10.3390/vetsci8110283>

DANTAN-GONZALEZ E, Quiroz-Castañeda RE, Aguilar-Díaz H, Amaro-Estrada I, Martínez-Ocampo F, Rodríguez-Camarillo S. 2022. Mexican Strains of *Anaplasma marginale*: a first comparative genomics and phylogeographic analysis. *Pathogens*. 11(8):1-15. <https://doi.org/10.3390/pathogens11080873>



ELEFTHERIOU A, Cole D, Kieffer J, Pesapane R. 2022. Molecular prevalence of *Anaplasma marginale* and associated risk factors in beef cattle herds from Ohio: a cross-sectional study. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1(56). <https://doi.org/10.2460/javma.22.05.0204>

FERREIRA G, Canozzi M, Peripolli V, Moura G, Sanchez J, Martins C. 2022. Prevalence of bovine *Babesia spp.*, *Anaplasma marginale*, and their co-infections in Latin America: Systematic review-meta-analysis. *Ticks and tick-borne diseases*. 13(4). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.101967>

GHOSH P, Saleh M, Sundstrom K, Lentile M, Little S. 2021. Ixodes spp. from Dogs and Cats in the United States: Diversity, Seasonality, and Prevalence of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum*. *Vector borne and zoonotic diseases*. 21(1):11-19. <https://doi.org/10.1089/vbz.2020.2637>

GUILLEMI E, De la fourniere S, Orozco M, Peña J, Correa J, Lopez L, Paoletta M, Corona B, Pinarello V, Wilkowsky S, Farber M. 2016. Molecular identification of *Anaplasma marginale* in two autochthonous South American wild species revealed an identical new genotype and its phylogenetic relationship with those of bovines. *Parasites & Vectors*. 9(305):1-9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1555-9>

KAMANI J, Irene S, Qasim A, Olubade T, Abasiama M, Gajibo A, Balami P, Shands M, Harrus S. 2022. Nucleotide sequence types (ntSTs) of *Anaplasma marginale* in cattle in Nigeria based on the major surface protein 5 (msp5) gene. *Acta Tropica*. 233. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106544>

LIRA-AMAYA J, Santamaria R, Castañeda R, Martínez G, Polanco D, Rojas C, Alvarez J, Figueroa J. 2022. Molecular Identification of *Babesia spp.* and *Anaplasma marginale* in Water Buffaloes in Veracruz and Tabasco, Mexico: A Retrospective Study. *Microorganisms*. 10(9):1-10. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091702>

NOAMAN V, Shayan P. 2010. Comparison of Microscopy and PCR-RFLP for detection of *Anaplasma marginale* in carrier cattle. *Iranian Journal of Microbiology*. 2(2):89-94. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3279773/>

OGATA S, Pereira J, Johnny L, Carolina H, Matsuno K, Orba Y, Sawa H, Kawamori F, Nonaka N, Nakao R. 2021. Molecular survey of *Babesia* and *Anaplasma* infection in cattle in Bolivia. *Veterinary Sciences*. 8(9):1-12. <https://doi.org/10.3390/vetsci8090188>



OKAFOR C, Collins S, Daniel J, Coetzee J, Whitlock B. 2019. Seroprevalence of bovine Anaplasmosis in Georgia. *Veterinary parasitology*. 15: e100258.

<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.100258>

OLAFSON P, Thomas D, May M, Buckmeier B, Duhaime R. 2018. Tick vector and disease pathogen surveillance of nilgai antelope (*Boselaphus tragocamelus*) in southeastern Texas, USA. *Journal of wildlife diseases*. 54(4):734-744.

<https://doi.org/10.7589/2017-09-239>

PRADEEP R, Nimisha M, Sruthi M, Vidya P, Amrutha B, Kurbet P, Kumar K, Varghese A, Deepa C, Dinesh C, Chandrasekhar L, Juliet S, Pradeepkumar P, Ravishankar C, Ghosh S, Ravindran R. 2019. Molecular characterization of South Indian field isolates of bovine *Babesia* spp. and *Anaplasma* spp. *Parasitology Research*. 118(2):617-630.

<https://doi.org/10.1007/s00436-018-6172-4>

QUIROZ-CASTAÑEDA R, Amaro-Estrada I, Rodríguez-Camarillo S. 2016. *Anaplasma marginale*: diversity, virulence, and vaccine landscape through a genomics approach. *BioMed Research International*. 2016:1-18.

<https://doi.org/10.1155/2016/9032085>

REZENDE-ARAUJO T, Leite Mota Júnior M, Sampaio Vilela T, Bittecourt A, Azevedo Santos H, Fampa P. 2021. First report of the presence of *Anaplasma marginale* in different tissues of the stable-fly *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) in Rio de Janeiro state, Brazil. *Veterinary parasitology*. 23: e100515.

<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100515>

RODRIGUEZ-CAMARILLO S, Quiroz-Castañeda R, Aguilar-Díaz H, Vara-Pastrana J, Pescador-Pérez D, Amaro-Estrada I, Martínez-Ocampo F. 2020. Immunoinformatic Analysis to Identify Proteins to Be Used as Potential Targets to Control Bovine Anaplasmosis. *International Journal of Microbiology*. 27:1-8.

<https://doi.org/10.1155/2020/8882031>

SARLI M, Thompson C, Novoa M, Valentini B, Mastropaolo M, Echaide I, de Echaide S, Primo M. 2020. Development and evaluation of a double-antigen sandwich ELISA to identify *Anaplasma marginale*-infected and *A. centrale*-vaccinated cattle. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians*. 32(1):70-76.

<https://doi.org/10.1177/1040638719892953>



SILAGHI C, Santos A, Gomes J, Christova I, Matei I, Walder G, Domingos A, Bell-Sakyi L, Sprong H, von Loewenich F, Oteo J, de la Fuente J, Dumler J. 2017. Guidelines for the direct detection of *Anaplasma spp.* in diagnosis and epidemiological studies vector borne and zoonotic diseases. *Vector borne and zoonotic diseases*. 17(1):12-22. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1960>

WATTHANADIREK A, Junsiri W, Minsakorn S, Poolsawat N, Srionrod N, Khumpim P, Chawengkirttikul R, Anuracpreeda P. 2021. Molecular and recombinant characterization of major surface protein 5 from *Anaplasma marginale*. *Acta tropica*. 220. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105933>

ZABEL T, Agosto F. 2018. Transmission dynamics of bovine anaplasmosis in a cattle herd. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. 1:1-18. <https://doi.org/10.1155/2018/4373981>

ZEB J, Shams S, Din I, Ayaz S, Khan A, Nasreen N, Khan H, Khan M, Senbill, H. 2020. Molecular epidemiology and associated risk factors of *Anaplasma marginale* and *Theileria annulata* in cattle from North-western Pakistan. *Veterinary Parasitology*. 279:e109044. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109044>

[Errata Erratum](#)

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>