

# FRECUENCIA DE HEMATRÓPICOS EN TRES EXPLOTACIONES DE BÚFALOS (*Bubalus bubalis*) DEL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA, COLOMBIA

## Frequency of Hematropics in Three Farms of Buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Department of Córdoba, Colombia

José Cardona-Álvarez\*, Carlos Ensuncho-Hoyos y Oscar Vergara-Garay

Departamento de Ciencias Pecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba. Montería, Colombia.

\*Telefax: 4-7860209 \*cardonalvarez@hotmail.com

### RESUMEN

Se realizó un análisis prospectivo de hematópicos diagnosticados en búfalos en el servicio del laboratorio clínico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Córdoba, Colombia. Fueron procesadas un total de 152 muestras de sangre con etileno diamino tetra acético (EDTA), de búfalos del departamento de Córdoba, principalmente en los municipios de Ayapel, Montelibano y Montería. Estas muestras fueron procesadas mediante la técnica de frotis sanguíneos teñidos con tinción de Wright, de las cuales 24 (15,79%) fueron positivas a hematópicos y 128 (84,21%) resultaron negativas. Del total de muestras positivas, 17 (11,18%) corresponden a *Anaplasma* spp. y 7 (4,61%) a *Babesia* spp., siendo una prevalencia baja para ambos hematópicos en el Departamento. La procedencia y edad de los animales no fueron datos significativos para el diagnóstico de hematópicos en búfalos en el presente estudio, por lo que solo el Índice de Masa Corporal mostró ser útil en el diagnóstico. En el Municipio donde más casos positivos se presentaron fue en Montelibano con 9 (5,92%), seguido de Ayapel con 8 (5,26%) y Montería con 7 (4,6%). La mayoría de las muestras analizadas presentan un rango de hematocrito de 31-40%, con un porcentaje de infección e infestación promedio de 0,06% para *Anaplasma* spp. y 0,04% para *Babesia* spp. respectivamente.

**Palabras clave:** *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., hematópicos, frecuencia.

### ABSTRACT

A prospective analysis of hematópicos diagnosed in buffaloes in the service of clinical laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Córdoba, Colombia, was performed. A total of 152 blood samples with ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) of buffaloes from Córdoba Department, was processed mainly in the municipalities of Ayapel, Montelibano and Montería. These samples were processed by the technique of blood smears stained with Wright stain, of which 24 (15.79%) were positive for hematópicos and 128 (84.21%) were negative. The total number of positive samples, 17 (11.18%) for *Anaplasma* spp. and 7 (4.61%) to *Babesia* spp., with a low prevalence for both hematópicos in the Department. The origin and age of the animals were not significant data to diagnose hematópicos in buffaloes in this study, so that only by body mass index was shown to be useful in diagnosis. In the Municipality where more positive cases were presented was in Montelibano with 9 (5.92%), followed by Ayapel with 8 (5.26%) and Montería with 7 (4.6%). Most of the samples have a hematocrit range of 31 to 40%, with a percentage of average infection and infestation for *Anaplasma* spp. 0.06 and 0.04% for *Babesia* spp. respectively.

**Key words:** *Anaplasma* spp., *Babesia* spp., hematópicos, frequency.

### INTRODUCCIÓN

La anaplasmosis y babesiosis son enfermedades causadas por hematópicos intracelulares que integran el complejo de Tristeza Parasitaria, lo que ocasiona altos índices de morbilidad y mortalidad en el ganado y constituyen uno de los princi-

pales factores limitantes en el desarrollo de la ganadería en América Latina debido a la pérdida de peso, disminución en la producción de carne, leche o ambas y muerte de ganado [10]. La anaplasmosis es causada por una rickettsia (*Anaplasma marginale*), mientras que la babesiosis es causada por protozoarios (*Babesia bigemina* y *Babesia bovis*) [5].

La distribución es considerablemente extensa, específicamente en las regiones del trópico y subtrópico, donde las características en las que se llevan a cabo las explotaciones garantizan la coexistencia de los agentes causales (*Anaplasma* spp. y *Babesia* spp.), reservorios y vectores. Todos los animales que se encuentran en estas regiones están expuestos a estos agentes. Entre los principales vectores que transmiten la enfermedad se encuentran las garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) del bovino (*Bos taurus-Bos indicus*), en forma mecánica por moscas (*Stomoxys calcitrans*) y tábanos (*Tabanus* spp.) y de forma iatrogénica a través de fómites con sangre contaminada [4, 9].

Dentro de los síntomas generales asociados a la enfermedad se incluyen: emaciación progresiva, retardo en el crecimiento, reducción de la producción cárnica y láctea, así mismo manifestaciones clínicas como depresión, anorexia, fiebre, mucosas pálidas o ictericas, en algunas ocasiones se pueden presentar hemorragias petequiales en las mucosas, edema en la papada, orina pigmentada que varía desde color amarillo, amarillo rojizo o rojizo (hemoglobinuria) y en algunas ocasiones manifestaciones nerviosas como ataxia, incoordinación, excitabilidad, agresividad y ataques convulsivos, la severidad de los signos clínicos varía considerablemente dependiendo de la edad y el estado nutricional del animal enfermo pudiendo llegar a la muerte [3, 8, 13].

En los sistemas de producción ganaderos del trópico bajo colombiano, la producción de búfalos (*Bubalus bubalis*) para leche, carne y subproductos se encuentra en desarrollo, por lo que existe poco conocimiento de patologías en los hatos bufalinos, razón por la cual el objetivo de este trabajo fue evaluar la frecuencia de hematófitos endoglobulares (*Anaplasma* spp. y *Babesia* spp.) en tres explotaciones de búfalos del departamento de Córdoba, Colombia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio fue realizado en el departamento de Córdoba, Colombia, ubicado entre las coordenadas 7°23' y 9°26' LN y los 74°52' y 76°32' LO del meridiano de Greenwich, a una altura de 30 m.s.n.m, con temperatura promedio anual de 28°C, humedad relativa del 82%, precipitación media anual de 1400 mm, lo cual lo ubica en formación climática de bosque tropical lluvioso. Se presentan dos estaciones bien definidas (época de lluvia y época seca) [21].

Para este estudio se eligieron tres explotaciones de búfalos ubicadas en tres Municipios del departamento de Córdoba, para el cual se utilizó como universo, el total de animales presentes en las explotaciones, de 13.370 animales, de los cuales, 152 búfalos de la raza Murrah fueron escogidos por muestreo aleatorio simple en las tres explotaciones con mayor inventario de búfalos en dicho departamento. Para calcular el tamaño de la muestra se consideró un intervalo de confianza del 99%, un margen de error del 0,04 y una frecuencia estimada del 90% [17].

Para la recolección de las muestras, los animales no se sometieron a dolor y/o estrés innecesario, por lo que fueron inmovilizados en brete de contención teniendo en cuenta las normas técnicas en el manejo y sujeción de animales, enmarcado en el cumplimiento de la Declaración Universal de los Derechos de los Animales, referente a los principios éticos internacionales para la investigación biomédica con animales del CIOMS (Council for International Organizations of Medical Sciences) establecida por la UNESCO (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) en 1949 y de la Ley 84 de Octubre 27 de 1989 (Estatuto Colombiano de Protección Animal) [20].

### Toma y procesamiento de muestras

Se eligieron aleatoriamente los animales a muestrear en cada sistema de producción y se tomó información del número de identificación, edad, raza y sexo. Los animales fueron evaluados clínicamente, prestando particular atención al color de las mucosas (ocular y vulvar), así como el color de la orina y las características organolépticas de las materias fecales. Para la recolección de cada muestra sanguínea se desinfectó con solución yodada el área de la vena coccígea media, se hizo venopunción y se obtuvieron 5mL de sangre en un tubo Vacutainer® con etileno diamino tetra acético (EDTA) debidamente identificado con el número del ejemplar muestreado, se agitó suavemente para unir la sangre con el anticoagulante y se conservó en refrigeración (Nevera portátil, Imussa 2010, Colombia) de 4 a 6°C para ser llevado en el menor tiempo posible (antes de 6 horas) al laboratorio Clínico Veterinario de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Córdoba, allí se procedió a realizar la técnica de microcentrifugación capilar (TMC) [28], donde se determinó el volumen porcentual de glóbulos rojos (Hematocrito).

Posteriormente, se realizaron extendidos sanguíneos de todas las muestras, las cuales se tiñeron con el colorante de Wright y se evaluaron al microscopio de luz (Leica DM 2500, Japon) con objetivo de inmersión según el procedimiento descrito por González [11], lo que permitió evaluar formas bacterianas y parasitarias intracelulares morfológicamente compatibles con *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp.

Los datos fueron organizados en tablas y analizados en forma descriptiva utilizando el programa estadístico SAEG 9.1 [25].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la TABLA I se puede observar que el porcentaje de animales positivos fue de 15,8%. Dicho porcentaje fue similar en las tres fincas muestreadas. Se encontró un mayor porcentaje de animales positivos a *Anaplasma* spp. (11,8%), respecto a *Babesia* spp. (4,6%). De acuerdo a la prueba de Ji cuadrado, la infección con *Babesia* spp. y *Anaplasma* spp. fue independiente del sitio geográfico del muestreo ( $P > 0,05$ ). Por otra parte, los valores de los niveles de infección de cada animal positivo a los distintos hematrópicos se muestran en la TABLA II. Se puede notar que los mayores niveles de infección se presentaron para *Anaplasma* spp., pero en los búfalos no causaron ningún signo clínico evidente. Las muestras analizadas presentaron un porcentaje de infección e infestación promedio de 0,06% para *Anaplasma* spp. y 0,04% para *Babesia* spp., respectivamente.

El mayor número de animales positivos de *Anaplasma* spp. respecto a *Babesia* spp., coincide con lo reportado por Miranpuri [19], quien encontró un porcentaje de positividad a *Anaplasma* spp. 14,9 y 4,7% para *Babesia* spp. en el nororiente de la India. Así mismo, Jacobo y col. [15] encontraron prevalencias mayores de *Anaplasma* spp. (53,9%), respecto a *Babesia* spp. (1,7%) en Argentina. Mingala y col. [18] en Filipinas reportaron prevalencias de 10,3 y 4,4% para *Anaplasma* spp. y *Babesia* spp., respectivamente. De igual forma Khan y col. [16], informaron prevalencias mayores de *Anaplasma* spp. (80%), respecto a *Babesia* spp. (0,0%) en búfalos de Pakistán. En Colombia Prada y Crespo [22] encontraron prevalencias

mayores de *Anaplasma* spp. (54,7%), respecto a la *Babesia* spp. (0,5%) en búfalos de Magdalena medio, pudiendo deberse a condiciones agroecológicas diferentes a las del Departamento de Córdoba, lo que podría influir en los ciclos epizootiológicos de las enfermedades alterando la dinámica de los vectores como moscas y garrapatas.

El porcentaje de positividad a *Babesia* spp. en este estudio está muy por debajo al reportado por Yao y col. [29], Rajput y col. [24] y Singh y col. [26], quienes encontraron un porcentaje de positividad a *Babesia* spp. del 71,7; 30 y 60,1%, respectivamente en China e India, sin embargo, estos resultados fueron obtenidos por técnicas inmunológicas como inmunofluorescencia indirecta. El porcentaje de positividad para uno o ambos agentes (15,8%) está muy por debajo al reportado en Argentina por Jacobo y col. [15] para búfalos de agua (63,5%).

La población de garrapatas en la zona pudo ser un factor importante en la frecuencia de presentación de babesiosis, ya que algunos levantamientos epidemiológicos informan una relación directa de la babesiosis en búfalos con la infestación de garrapatas [7], es así como Rajput y col. [24], en su estudio evidenciaron que 30% de los búfalos estaban infectados por *Anaplasma* spp., con una carga muy baja de garrapatas, debido a que ésta también puede ser transmitida por moscas y tábanos en forma mecánica, sin embargo, es preciso aclarar que en el presente estudio no se determinó la presencia de vectores transmisores.

Quijada y col. [23] y Almeida y col. [1] expresan que la época del año y el manejo estratégico en el control de vectores podría influir en la presentación de enfermedades vectoriales o en la estabilidad enzoótica de la babesiosis de búfalos en la región estudiada [2].

**TABLA I**  
**NÚMERO Y PORCENTAJE DE ANIMALES POSITIVOS A *Babesia* spp. Y *Anaplasma* spp. EN LAS TRES EXPLOTACIONES MUESTREADAS**

Municipios	Positivos a <i>Anaplasma</i> spp.	% del total	Positivos a <i>Babesia</i> spp.	% del total	Total positivos	%
Ayapel	8	5,3	0	0,0	8	5,3
Montelibano	5	3,3	4	2,6	9	5,9
Montería	4	2,6	3	2,0	7	4,6
Total	17	11,2	7	4,6	24	15,8

**TABLA II**  
**NIVEL DE INFECCIÓN E INFESTACIÓN DE LOS ANIMALES POSITIVOS A HEMATRÓPICOS**

	Nivel de infestación (%)										
	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,1	Total
<i>Anaplasma</i> pp	5	0	0	1	2	3	2	1	1	2	17
<i>Babesia</i> spp.	0	0	0	0	3	1	1	2	0	0	7
Total	0	0	3	3	5	4	3	1	1	2	24

Se sugiere que la carga de *Babesia* en los primeros 12 meses de vida es baja debido a la inmunidad pasiva adquirida a través de calostro [7].

Prada y Crespo [22] informan que Colombia es un país que presenta condiciones ideales para el desarrollo de enfermedades causadas por agentes hematótrópicos debido a su ubicación en áreas tropicales y subtropicales, lo cual permite la sobrevivencia de la mayoría de vectores transmisores de estas enfermedades; esto acompañado por las condiciones climáticas como calor, humedad relativa y factor de luminosidad que favorecen el desarrollo de los vectores transmisores.

En la TABLA III se muestra el porcentaje de animales positivos a la infección con *Babesia* spp. y *Anaplasma* spp. relacionados con la edad. Se encontró que la infección a *Babesia* spp. fue dependiente de la edad del animal ( $P < 0,05$ ), caso contrario ocurrió con *Anaplasma* spp. ( $P > 0,05$ ). Para *Babesia* spp., la edad más de mayor presentación fue de 4 a 6 años, con un total de 5 casos que correspondieron al 3,29%.

La mayor frecuencia de *Anaplasma* para los animales de menor edad, está de acuerdo a lo reportado por Guerra y col. [12], quienes encontraron que animales menores de 18 meses presentaron la mayor positividad a *Anaplasma* (35,9%), de

igual forma, Prada y Crespo [22], hallaron 54,7% en búfalos menores de 12 meses, pudiendo deberse a la insuficiente producción de anticuerpos antihematótrópicos, siendo en este caso los más afectados, contrario a lo manifestado por Criado [6], quien indica que los animales jóvenes son menos susceptibles que los adultos con relación a la inmunidad pasiva y la resistencia adquirida por los animales jóvenes. Esto contrasta con Gomes y col. [7], quienes sugieren que los búfalos desenvuelven una respuesta inmune humoral específica contra *A. marginale* y son considerados portadores de esta rickettsia, debido a la transferencia de anticuerpos sericos hacia la glándula mamaria, ya que los becerros estudiados después de ser calostrados tuvieron títulos de anticuerpos detectables en las primeras 24 horas indicando una inmunidad calostrada pasiva.

La TABLA IV presenta la relación entre casos positivos a *Babesia* spp. y *Anaplasma* spp. con el índice de masa corporal de los animales (IMC). De acuerdo a la prueba de Ji cuadrado, se encontró que la presencia de *Babesia* spp. y *Anaplasma* spp. fue dependiente del IMC ( $P < 0,001$ ). Se puede observar que existe un mayor número de casos positivos a *Anaplasma* spp. en los animales de menor IMC, respecto a los de mayor índice.

**TABLA III**  
**NÚMERO DE CASOS POSITIVOS Y NEGATIVOS A *Babesia* spp. Y *Anaplasma* spp. CON RELACIÓN A LA EDAD DE LOS ANIMALES**

	Edad en años								Total
	1-3	%	4-6	%	7-9	%	> 9	%	
<i>Babesia</i> spp.									
Positivos	1	0,66	5	3,29	0	0	1	0,66	7
Negativos	51	33,55	73	48,03	19	12,50	2	1,32	145
Total	52	34,21	78	51,32	19	12,50	3	1,98	152
<i>Anaplasma</i> spp.									
Positivos	8	5,26	9	5,92	0	0	0	0	17
Negativos	44	28,95	69	45,39	19	12,50	3	1,98	135
Total	52	34,21	78	51,32	19	12,50	3	1,98	152

**TABLA IV**  
**RELACIÓN DE CASOS DIAGNOSTICADOS CON *Babesia* spp. Y *Anaplasma* spp. CON RESPECTO AL ÍNDICE DE MASA CORPORAL**

IMC	<i>Babesia</i> spp.				<i>Anaplasma</i> spp.			
	Positivos	%	Negativos	%	Positivos	%	Negativos	%
2.5	0	0,00	4	2,63	4	2,63	0	0,00
3	5	3,29	14	9,21	6	3,95	13	8,55
3.5	0	0,00	10	6,58	2	1,32	8	5,26
4	2	1,32	107	70,39	5	3,29	104	68,42
5	0	0,00	10	6,58	0	0,00	10	6,58
Total	7	4,61	145	95,39	17	11,19	135	88,82

IMC: Índice de Masa Corporal.

TABLA V

**CONCENTRACIONES DE HEMATOCRITOS EN ANIMALES POSITIVOS A HEMATR6PICOS (*Babesia* spp. Y *Anaplasma* spp.)**

Resultados	Hematocritos							
	10-20	%	21-30	%	31-40	%	>40	%
Positivos	2	1,31	8	5,26	12	7,89	2	1,31
Negativos	0	0,0	6	3,94	69	45,39	53	34,86
Total	0	1,31	14	9,2	81	53,28	55	36,17

La relaci3n estadística encontrada ( $P < 0,001$ ) entre la presencia a *Babesia* o *Anaplasma* y el IMC, sugieren que animales con IMC bajo, tienden a ser positivos a la presencia de los hematr6picos en menció. De acuerdo a lo reportado, Jacobo y col. [14], afirman que a la determinaci3n de la condici3n corporal, as3 como el diagn3stico cl3nico (exploraci3n de mucosas, termometr3a y la caracterizaci3n de la orina y materias fecales), los animales hallados positivos a *Anaplasma* y *Babesia* no presentan signos cl3nicos, por lo que se requiere realizar pruebas de laboratorio para diagn3stico de hematr6picos. Sin embargo, Prada y Crespo [22] reportan que, la presentaci3n sintomática de estas enfermedades en su estudio solamente se vio reflejada en animales j3venes y en forma aguda, siendo 6stos los m6s afectados. De igual, forma Jacobo y col. [14] reportan negatividad en la exploraci3n cl3nica en todos los animales positivos, solo un peque1o n6mero de animales mostr3 sintomatología cuando los porcentajes de hematr6picos fueron superiores al 1%. Valores superiores al 1%, en bovinos est6n acompa1ados de cuadros cl3nicos que ameritan tratamiento [27], en el presente estudio no se detectaron animales positivos a hematr6picos endoglobulares con manifestaciones cl3nicas presentes.

En la TABLA V se presentan los niveles de hematocritos para animales positivos a hematr6picos. Se encontr3 que las concentraciones de hematocritos no fue dependiente ( $P < 0,001$ ) de la positividad a hematr6picos. Adem6s, se puede notar que algunos animales negativos presentaron valores hematocritos bajos y varios de los animales positivos se encuentran con concentraciones de hematocritos normales (por encima del 31%).

Con respecto al porcentaje de hematocrito, se encontr3 que hay un bajo n6mero de animales positivos con hematocritos entre 10-20%, seguido de un grupo de positivos que se encuentran en mediana proporci3n con hematocritos entre 20-30 y finalmente un grupo mayor en 31-40%.

El porcentaje de hematocrito bajo en los animales positivos a hematr6picos, podr3 deberse a la hemolisis y a la p6rdida de prote3nas causada por la incorporaci3n de ant3genos de *Babesia* en la membrana de eritrocitos infectados, los que a su vez inducen anticuerpos que opsonizan a los eritrocitos y que los llevan a su eliminaci3n por el sistema de fagocitos monocucleares; Adem6s de la respuesta humoral, los eritrocitos infectados pueden destruirse por una respuesta mediada por c6lulas y dependiente de anticuerpos, de igual forma en casos de Anaplasmosis, se producen alteraciones de membrana en

los gl3bulos rojos infectados por lo que son fagocitados por las c6lulas reticuloendoteliales espl6nicas [7].

Los animales que fueron negativos y presentaron valores de hematocritos bajos, pudo ser causado por condiciones alimenticias deficientes o por la presencia de par6sitos gastrointestinales, que podr3an potencializar la p6rdida de prote3nas por esta v3a en los positivos a hematr6picos. Respecto a los animales que fueron positivos y ten3an concentraciones de hematocritos normales, puede sugerir mejor tolerancia de los b6falos a los hematr6picos en estudio, por esta raz3n la mayor3a de animales muestreados no mostraron sintomatología marcada a la enfermedad con relaci3n a la presencia del hematr6picos mostr6ndose aparentemente sanos y eficientes productivamente, indicando seg6n Jacobo y col. [14] que, el valor del paquete celular no es un dato fidedigno para el diagn3stico de hematr6picos en b6falos.

**CONCLUSIONES**

Se obtuvo una frecuencia de presentaci3n 15,79% de positividad para hematr6picos en 3 explotaciones bufaleras del departamento de C3rdoba, Colombia, de las cuales el 11,18% correspondieron a *Anaplasma* spp. y el 4,61% a *Babesia* spp., siendo esta frecuencia considerada baja para ambos hematr6picos en el Departamento. Sin embargo hay que alertar alarmas sobre la presencia de la enfermedad, por lo que se recomienda la realizaci3n de m6s estudios sobre incidencia, frecuencia y prevalencia de hematr6picos en b6falos del departamento de C3rdoba, utilizando pruebas diagn3sticas m6s sensibles y espec3ficas.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- [1] ALMEIDA, M.; TORTELLI, F.; RIET-CORREA, B.; FERREIRA, J.; SOARES, P.; FARIAS, N.; RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. Tristeza parasit6ria bovina na regi3o sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 1978-2005. **Pesq. Vet. Bras.** 26 (4): 237-242. 2006.
- [2] ANDREA, L.; SARTOR, I.; MADRUGA, C.; FREITAS, S.; KROLL, L.; KRONKA, S. Condiç3o imunol3gica de bovinos das raças Holandesa e Nelore frente a *Babesia bovis* e *B. bigemina* em duas regi3es do Estado de S6o Paulo. **Pesq. Vet. Bras.** 26 (2): 74-78. 2006.

- [3] ANTONIASSII, N.; CORRÊAI, A.; SANTOS, A.; PAVARINI, S.; SONNE, L.; BANDARRA, P.; DRIEMEIER, D. Surto de babesiose cerebral em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciên. Rural**. 39 (3): 933-936. 2009.
- [4] BARRÉ, N.; UILENBERG, G. Spread of parasites transported with their hosts: case study of two species of cattle tick. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.** 29 (1): 149-160. 2010.
- [5] COSTA, V.; RODRIGUES, A.; MEDEIROS, J.; LABRUNA, M.; SIMÕES, S.; RIET-CORREA, F. Tristeza parasitária bovina no Sertão da Paraíba. **Pesq. Vet. Bras.** 31(3): 239-243. 2011.
- [6] CRIADO, C. Epidemiology of different protozoos in cattle. **Vet. Parasitol.** 114: 173. 2003.
- [7] GOMES, R.; MACHADO, R.; STARKE-BUZETTI, W.; BONESSO, M. Resposta imune-humoral de búfalos (*Bubalus bubalis*) contra *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910). **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 17 (2): 73-80. 2008.
- [8] GONÇALVES, R.; SILVA, A.; LAURENTI, D.; CHIACHIO, S.; LOPES, R.; BORGES, A.; AMORIM, R. Tristeza parasitária em bovinos na região de Botucatu-SP: estudo retrospectivo de 1986-2007. **Ciên. Agr. Londrina**. 32 (1): 307-312. 2011.
- [9] GONÇALVES, P. Epidemiologia e controle da tristeza parasitária bovina na região Sudeste do Brasil. **Ciên. Rural Santa Maria**. 30 (1): 187-194. 2000.
- [10] GONZÁLEZ, J.; MELÉNDEZ, R. Seroprevalencia de la tripanosomosis y anaplasmosis bovina en el municipio Juan José Mora del estado Carabobo, Venezuela, mediante la técnica de ELISA. **Rev. Cientif, FCV-LUZ**. XVII (5): 449-455. 2007.
- [11] GONZÁLEZ, R. Técnicas directas para el diagnóstico de hemoparásitos. In: Manual de Laboratorio. I curso teórico-práctico técnicas de diagnóstico aplicadas a hemoparásitos de interés veterinario. 2006. UNERG, Zaraza, Estado Guárico, Venezuela. En línea: <http://www.redde-hemoparasitos.org/cursos/zaraza/manuallaboratorio.pdf>. 02/04/2012.
- [12] GUERRA, H.; HERNÁNDEZ, G.; MEJÍA, J.; REYES, J.; RÍOS, L. Infección por *Anaplasma marginale* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en 4 hatos bufaleros de Barrancabermeja, Colombia. 2006. En línea: <http://www.vanguardia.udea.edu.co/publico/mmchd657/Articulo%20modelo.doc>. 04/04/2012.
- [13] HOWDEN, K.; GEALE, D.; PARÉ, J.; GOLSTEYN-THOMAS, E.; GAJADHAR, A. An update on bovine anaplasmosis (*Anaplasma marginale*) in Canada. **Can. Vet. J.** 51: 837-840. 2010.
- [14] JACOBO, R.; CIPOLINI, M.; STORANI, C.; MARTÍNEZ, D.; MARTÍNEZ, E.; CRUDELI, G. Diagnóstico clínico del complejo tristeza del bovino en búfalos. Datos preliminares en Argentina. 2006. III Simposio Búfalos de las Américas. En línea: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/razas\\_de\\_bufalos/85-SimposioDeBufalos2006\\_262.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/razas_de_bufalos/85-SimposioDeBufalos2006_262.pdf). 30/03/2012.
- [15] JACOBO, R.; CIPOLINI, M.; STORANI, C.; MARTÍNEZ, D.; MARTÍNEZ, E. Infección con el complejo tristeza en búfalos. 2005. Comunicaciones Científicas y tecnológicas. Universidad Nacional del Nordeste. Resumen V-063. En línea: [http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/4-Veterinaria/V-063\\_Falta%20Corregir.pdf](http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/4-Veterinaria/V-063_Falta%20Corregir.pdf). 27/03/2012
- [16] KHAN, M.; ZAHOOR, A.; JAHANGIR, M.; ASHRAF, M. Prevalence of blood parasites in cattle and buffaloes. **Pakistan. Vet. J.** 24 (4): 193-195. 2004.
- [17] LOHR, S. Muestras de probabilidades simples. En: **Muestreo: Diseño y análisis**. México: International Thomson Editores, S. A; Pp137. 2000.
- [18] MINGALA, C.; KONNAI, S.; CRUZ, L.; ONUMA, M.; OHASH, K. Comparative moleculo-immunological analysis of swamp- and riverine-type water buffaloes responses. **Cytokine**. 46: 273-282. 2009.
- [19] MIRANPURI, G. Ticks parasitising the Indian buffalo (*Bubalus bubalis*) and their possible role in disease transmission. **Vet. Parasitol.** 27 (3-4): 357-362. 1988.
- [20] MRAD, A. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. **Rev. Colomb. Bioética**, 1(1): 163-184. 2006.
- [21] PABÓN, J.; ESLAVA, J.; GÓMEZ, R. Generalidades de la distribución espacial y temporal de la temperatura del aire y de la precipitación en Colombia. **Meteorol. Colomb**, 2001; 4:47-59.
- [22] PRADA, G.; CRESPO, J. Determinación taxonómica de hemoparásitos y su prevalencia en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en el Magdalena Medio, Colombia. **Rev. Invest.** 6 (1): 67-73. 2006
- [23] QUIJADA, T.; CONTRERAS, J.; CORONADO, A. Dinámica poblacional de *Boophilus microplus* Canestrini, 1887 (Acari: Ixodidae) en bovinos doble propósito en las yaguas, estado Lara, Venezuela. **Arch. Latinoam. Prod. Anim.** 5 (Supl. 1): 597-600. 1997.
- [24] RAJPUT, Z.; SONG-HUA, H.; ARIJO, A.; HABIB, M.; KHALID, M. Comparative study of *Anaplasma* parasites in tick carrying buffaloes and cattle. **J. Zhejiang Univ. Sci.** 6B (11):1057-1062. 2005.

- [25] SAEG-UFV. Programa estatístico SAEG, versão 9.1. 2007. Universidade Federal de Viçosa. En Línea: <http://www.ufv.br/saeg>
- [26] SINGH, H.; MISHRA, A.; RAO, J.; TEWARI, A. Seroprevalence of babesiosis in cattle and buffaloes by indirect fluorescent antibody test. **Vet. Parasitol.** 21: 1-4. 2007.
- [27] TAMASUKAS, R.; AGUDO, L.; SILVA, A.; FLORIO, J.; VINTIMILLA, M.; RIVERA, S. Hemoparasitosis en ganadería doble propósito venezolana, diagnóstico y control: Una revisión. **Agron. Mesoame.** 21 (2): 367-381. 2010.
- [28] WOO, P. Evaluation of the haematocrit centrifuge and other techniques for the field diagnosis of human trypanosomiasis and filariasis. **Acta Trop.** 28 (3): 298-303. 1971.
- [29] YAO, B.; ZHAO, J.; LIU, E.; DING, S.; SHI, J.; LIU, Z. Serological investigations on *Babesia orientalis* infection. Status of water buffaloes in Hubei province. **Parasitol. Res.** 88: S11-S12. 2002.