

---

## ERITROGRAMA Y BIOQUÍMICA RENAL EN BECERROS INMUNIZADOS EXPERIMENTALMENTE CON UN COMPUESTO DE BABESIA BIGEMINA, B. BOVIS Y ANAPLASMA CENTRALE: UN ESTUDIO PRELIMINAR.

**Carmen Pérez<sup>1\*</sup>, Ana María Álvarez<sup>1</sup>, Neyer Acosta<sup>2</sup>, Emir Espinoza<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Unidad de Sanidad Animal. Maracay. Aragua. Correo electrónico: carmen980perezg@gmail.com.

<sup>2</sup> Instituto Universitario de Tecnología de Los Llanos. (IUTLL). Núcleo Calabozo. Guárico.

<sup>3</sup> Universidad Simón Rodríguez. IDECYT. El Cují. Caracas.

\* Autor de correspondencia

**Recibido:** 14 - 03 - 2022; **Aceptado:** 18 - 06 - 2023; **Publicado:** 22 - 11 - 2022

---

### RESUMEN

En este trabajo se evaluó el eritrograma y el perfil renal a través de la determinación de los analitos nitrógeno ureico sérico y creatinina en bovinos susceptibles en el marco del protocolo de seguridad y eficacia de los inmunógenos contra anaplasmosis y babesiosis bovina. El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del INIA-CENIAP-SANIDAD ANIMAL. Dos becerros Holstein se inocularon con 10 VDV de un inmunógeno de procedencia argentina, y un becerro de la misma raza y edad sirvió como control. Los resultados de los animales desafiados señalaron disminución en los valores de las variables eritrocitos, hemoglobina y hematocrito a partir de la segunda semana del período experimental, expresando diferencias estadísticas con su control. Los índices hematimétricos VCM y CHCM señalaron una anemia de tipo normocítica normocrómica. Los analitos nitrógeno ureico sérico y creatinina, se ubicaron dentro o cercano a los límites inferior o superior referencial, sin diferencias estadísticas al confrontarlo con las determinaciones del animal control. Como conclusión se demostró que los bovinos del grupo inoculado, pese a la disminución de las variables del eritrograma, se recuperaron sin tratamiento específico o de soporte. No se evidenciaron alteraciones bioquímicas o clínicas que pudieran indicar anormalidad en la función de los riñones durante el lapso experimental.

**Palabras clave:** Inmunógeno, anaplasma, babesia, eritrograma, analitos renales.

---

### ERYTHROGRAM AND RENAL BIOCHEMISTRY IN CALVES IMMUNIZED EXPERIMENTALLY WITH A COMPOUND OF BABESIA BIGEMINA, B. BOVIS AND ANAPLASMA CENTRALE: A PRELIMINARY STUDIED

### ABSTRACT

In this work the erythrogram and the renal profile were evaluated through the determination of serum urea nitrogen and creatinine analytes in susceptible cattle in the mark of the safety and efficacy protocol of the immunogens against anaplasmosis and bovine babesiosis. The study was carried out at the INIA-CENIAP-SANIDAD ANIMAL installations. Two Holstein calves were inoculated with 10 VDV of an immunogen of Argentine origin, and a calf of the same race and age served as control. The results of the challenged animals indicated a decrease in the values of the erythrocyte, hemoglobin and hematocrit variables from the second week of the experimental period, expressing statistical differences with their control. The hematimetric indices VCM and CHCM indicated a normochromic normocytic anemia. The

serum urea nitrogen and creatinine analytes were located within or near the lower or upper referential limits, without statistical differences when confronted with the determinations of the control animal. In conclusion, it was shown that the bovines of the inoculated group, despite the decrease in the erythrogram variables, recovered without specific treatment or support. No biochemical or clinical alterations were observed that could anomaly in the function of the kidneys during experimental period.

**Keywords:** Immunogen, anaplasma, babesia, erythrogram, renal analytes

---

## INTRODUCCIÓN

Desde hace más de cien años, la Babesiosis y la Anaplasmosis constituyen por su importancia patológica y repercusión económica, una de las mayores limitantes de la ganadería en áreas tropicales del mundo y Latinoamérica. Este complejo patológico, comprende dos enfermedades bien conocidas, una por babesiosis bovina causada por los protozoarios Babesia bigemina y B. bovis, y la anaplasmosis ocasionada por la rickettsia Anaplasma marginale. Estas enfermedades son clínica y epidemiológicamente similares (Souza et al., 2013, Sequeira et al., 2005, Benavides et al., 2000). El uso de los anteriores microorganismos como inmunógenos o vacunas, son clave en el enfrentamiento y solución de los graves problemas a la salud animal que generan las anteriores afecciones (Madrid et al., 2012). El vector biológico de estos tres agentes es la garrapata Rhipicephalus microplus, la cual está distribuidas ampliamente en las regiones sub y tropicales del mundo (Souza et al., 2013). El Anaplasma marginale, también puede ser transmitido mecánicamente por cualquier medio de transferencia de los microorganismos infectivos (Maldonado et al., 2012, Kokan et al., 2010). Igualmente, se refiere la transmisión transplacentaria, tanto de manera experimental como natural (Sala, 2013).

La B bovis y B. bigemina cuando son transmitidas a un hospedador susceptible, invaden y se multiplican en los eritrocitos promoviendo el desarrollo de signos como la anemia, hemoglobinemia, hemoglobinuria, anorexia y caquexia. En el caso de la infección por B. bovis, Bremo (2012) señala que los eritrocitos infectados se adhieren a los capilares endoteliales y viscerales generando signos semejantes a la malaria humana causada por el Plasmodium falciparum, como son disfunción cerebral, edema pulmonar, y muerte del paciente humano (Plasmodium) o animal (B. bovis). Con relación a la afección por A. marginale, el signo clínico más relevante es la ictericia pronunciada a consecuencia de la hemólisis masiva extravascular, dado el componente inmunológico que participa en la patogenia (Kenneil, 2015, Alssad y Aliman, 2013, Madrid et al., 2012). La presencia de citocinas u otros agentes farmacológicamente activos tienen una función importante en la respuesta inmune para Babesia spp. y el exceso de producción del agente infeccioso contribuye para el progreso de la enfermedad causando vasodilatación, hipotensión, aumento de la permeabilidad capilar, edema, colapso vascular, disturbios de coagulación, lesión endotelial y estasis circulatoria. La B. bigemina parasita con más frecuencia a los eritrocitos de la circulación periférica; en cuanto a la B. bovis se ubica en los capilares de órganos centrales como cerebro, cerebelo, meninges, y en vísceras como riñones, bazo, hígado, corazón y pulmón. La alta fiebre presente durante la fase aguda de la anaplasmosis, induce otros signos que podrían comprometer a

órganos como los riñones.

De tal manera, la FAO (1994) recomienda como pruebas complementarias la determinación del nitrógeno ureico sérico (NUS) como un indicativo de daño renal, producido durante la evaluación o prueba de seguridad de este tipo de inmunógenos hemotrópicos. No obstante, la comprobación de otros analitos del perfil renal, tal como la creatinina (C), puede contribuir al esclarecimiento de la patogénesis de Tristeza Parasitaria Bovina (TPB) así como servir de base para posteriores estudios referentes a la evaluación de inmunógenos hemotrópicos con aislados/cepas autóctonas y regionales.

Las vacunas contra agentes infecciosos (virus y bacterias) son reconocidas y utilizadas con gran éxito en medicina veterinaria. Para ello, el desarrollo o adaptación de vacunas eficaces contra infecciones parasitarias como las afecciones por garrapata, contagios por vermes, complejo anaplasma/babesia, continúan siendo un gran desafío hacia la investigación y adaptación-transferencia de tecnología para el sector productivo pecuario. En Venezuela, en el caso de la anaplasmosis se utiliza un producto biológico criopreservado (vacuna) formulado a base de una cepa de *A. sub especie centrale*, especie considerada menos patógena para los vacunos (Meléndez, 2001).

Conocer el comportamiento clínico-patológico de las cepas o aislados hemotrópicos que se puedan usar como semillas madres de inmunógenos contra *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, *Anaplasma marginale*, es hoy en día, un requisito indispensable para tener un acervo de la biodiversidad de estos parásitos-bacteria, lo cual proporcionará elementos útiles en la adaptación y estandarización de nuevos protocolos que permitan el desarrollo y aplicación de inmunógenos libres de patógenos zoonosarios que afectan al efectivo ganadero.

Se realizó en el país, la evaluación de un inmunógeno ultracongelado polivalente monodosis constituido por *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* y *Anaplasma centrale*, de origen argentino, para prevenir las enfermedades conocidas como el complejo Anaplasma/Babesia bovina o (TPB). Por consiguiente, en este trabajo se describe como parte del proceso de evaluación de la prueba de seguridad en confinamiento, la valoración del eritrograma y el perfil renal a través de la determinación de la concentración de los analitos nitrógeno ureico (NUS) y creatinina sérica (C).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Animales experimentales**

Se utilizaron tres (3) becerros Holstein de 7 – 8 meses de edad, negativos a *Babesia* spp y *Anaplasma marginale* por métodos directos (frotis coloreado con Giemsa), técnicas serológicas y biología molecular (Madrid, 2012). Los becerros fueron mantenidos antes y posterior al experimento, bajo estricto aislamiento en un ambiente libre de garrapatas y otros ectoparásitos, desde su traslado a los galpones experimentales hasta finalizar el ensayo; alimentándose a base de alimento concentrado, heno, melaza y agua *ad libitum*. Como medida profiláctica, antes del desafío con el inmunógeno a evaluar se les aplicó, un antihelmíntico a base del

principio activo levokemizol. Dos animales fueron seleccionados mediante una tabla aleatoria, utilizándose como bovinos inoculados, y el otro bovino como control respectivo.

### **Procedimiento y lapso experimental.**

Para la evaluación de este ensayo, se siguieron las sugerencias del “Protocolo para Evaluar la Seguridad y Eficacia de los Inmunógenos contra la Anaplasmosis y Babesiosis Bovina” (FAO, 1994), modificado. El lapso del experimento abarcó nueve semanas en los dos grupos de animales estudiados.

### **Inmunógeno y vía de administración.**

Se utilizó un inmunógeno de origen argentino criopreservado en una minipajuela (0,5 ml) polivalente monodosis, formulado con una cepa *Anaplasma centrale* M1, *Babesia bigemina* S1A y *Babesia bovis* RIA a razón de una suspensión de  $10^7$  eritrocitos infectados por microorganismos individual. La aplicación del inmunógeno consistió en 10 veces la dosis vacunal (10 VDV), vía sub cutánea (SC) en los dos bovinos seleccionados para el reto vacunal, prueba de seguridad en becerro. Al animal control o testigo le fue administrado el equivalente a las 10 VDV de agua destilada (5 ml total), mediante el mismo procedimiento usado en los becerros vacunados.

### **Determinación del eritrograma y analitos renales.**

Posterior a la inoculación del inmunógeno, se tomaron muestras de sangre completa (con anticoagulante, EDTA) y suero (sin anticoagulante) de manera diaria hasta el final de la experiencia. Cada muestra se rotuló y se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Parasitología (Sanidad Animal-INIA).

Las variables evaluadas correspondieron a la determinación del eritrograma mediante el número total de eritrocitos (NTE), hematocrito (Ht), Hemoglobina (Hb) y los índices eritrocitarios volumen corpuscular medio (VCM) y concentración de la hemoglobina corpuscular media (CHCM). La valoración (eritrograma) se realizó según técnicas convencionales; el NTE por el conteo de los eritrocitos usando la cámara de Neubauer, el Ht por la técnica del microhematocrito, y la Hb por método colorimétrico (cianometahemoglobina). Los índices hematimétricos a través de los cálculos correspondiente de acuerdo con sus respectivas formulas (Jain, 1986).

La determinación de los indicadores bioquímicos renales, se realizaron a partir de las muestras de sangre recolectadas en tubos sin anticoagulantes, las cuales fueron centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos para separar el suero (Ochoa y Bouda, 2007), inmediatamente el mismo se almacenó a – 20 °C hasta su futuro uso. El nitrógeno ureico sérico (NUS) y la creatinina (C) se procesaron mediante pruebas estándares colorimétricas en un espectrofotómetro 20 D. Los estuches de diagnóstico comerciales, se emplearon siguiendo las instrucciones del fabricante. Los valores de las variables estudiadas (eritrograma y analitos séricos), se expresaron en unidades estándares internacionales (Ochoa y Bouda, 2007, Kaneko, 1989).

### **Análisis estadístico de las variables.**

Los valores de las variables estudiadas de los becerros vacunados y no vacunados se compararon por intermedio de la prueba de U de Mann Whitney, con una significación del 5 % (Morales y Pino, 2009). En este análisis se empleó el programa estadístico IS InfoStat versión libre 2018.

### **Bioética.**

Para la recolección de las muestras, los bovinos experimentales (inmunizados y control) no se sometieron a dolor o estrés innecesario, por lo que fueron inmovilizados, teniendo en cuenta las normas técnicas en el manejo y sujeción de animales. Esto se encuentra enmarcado en el cumplimiento de los lineamientos impartidos por la Institución para ensayo e investigaciones con especímenes mamíferos, cumpliéndose con todas las condiciones y regulaciones del MPPCYT en el Código de Bioética y Bioseguridad (2008).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En las figuras 1, 2 y 3 se presentan los valores promedios semanales de las variables NTE, Hb y Ht evaluadas en los dos grupos experimentales. A partir de la segunda semana del estudio, se observa en las figuras una primera disminución de la media semanal en los becerros inmunizados, comparado con la media del animal control. Este descenso posiblemente se debió a la presencia del protozoo *B. bovis* (no visualizada en frotis) en el torrente circulatorio y vasos periféricos de los animales retados con 10 veces la dosis vacunal, dado que el período de incubación de la *B. bovis*, es generalmente de 7 a 20 días (Santarosa *et al.*, 2013). La cepa atenuada de *B. bovis* RIA, al ser inoculada en becerros, presenta como característica, escasa presencia o baja parasitemia en sangre periférica y/o capilar (Mangold *et al.*, 1993).

A la tercera semana (día 20 del experimento) se notó una disminución apreciable de las variables eritrocitarias, situación que coincidió con la detección por medio de la microscopía óptica de la *B. bigemina* (datos no publicados) en sangre periférica y/o capilar de los bovinos inmunizados; representando el hallazgo más pronunciado en la cuarta semana del período experimental (Figura 1, 2 y 3). Disminuciones discretas o apreciables de las variables hematológicas fueron reportadas por otros autores, al evaluar a este protozoo (*Babesia* spp.) en su capacidad inmunogénica para prevenir o controlar sus efectos dañinos causados en la ganadería vacuna (Canto *et al.*, 2003, Bock y De Vos, 2001, Sacco *et al.*, 2001).

Entre la séptima y octava semana se apreció la patencia (datos no publicados) del *Anaplasma* sub especie *centrale*, la cual se ubicó cercana al período de incubación reportado por diversos autores para el microorganismo (Meléndez, 2003; Meléndez *et al.*, 2001; Sacco, *et al.*, 2001, Anziani *et al.*, 1987). En el mismo lapso, hubo una drástica caída de las variables NTE y Ht (Figura 1 y 3), observación que llamó la

atención, debido a que el componente bacteriano del inmunógeno, correspondió a la cepa *Anaplasma centrale* M1, caracterizada por el INTA Argentina, como un microorganismo atenuado. Posiblemente, se le pueda atribuir, el anterior aspecto fisiopatológico, al volumen de microorganismos inoculados con las 10 dosis vacúnales. El *A. centrale* es una subespecie naturalmente atenuada, y se ha usado en diferentes partes del trópico y subtropical como componente de vacunas vivas atenuadas (Herdon et al., 2010). En esta evaluación, la visualización de los frotis teñidos con Giemsa, no evidenciaron la presencia de *A. marginale*.

En Colombia, durante la prueba de seguridad en becerros de una hemovacuna trivalente contra el complejo anaplasma/babesia, los autores registraron un período prepatente para *B. bovis* y *B. bigemina* de 12 y 8 días, respectivamente. En cuanto al tercer componente biológico de la vacuna, utilizaron *Anaplasma marginale*, con una patencia de 28 días (Benavides et al., 2000).

Madrid et al (2012) inoculando experimentalmente aislado criopreservados venezolanos en becerros del mismo biotipo y edad, obtuvieron un período de incubación para *B. bovis*, *B. bigemina* y *A. marginale* de cinco, seis y 21 días, respectivamente. Kessler et al (1998) señalaron la presencia de diversidad antigénica y genética en los microorganismos babesiales, variaciones que pudieran afectar el período prepatente, y por ende la eficacia y elaboración de este tipo de vacuna vivas atenuadas, evento también indicado por Quiroz et al (2016) para el *A. marginale*.

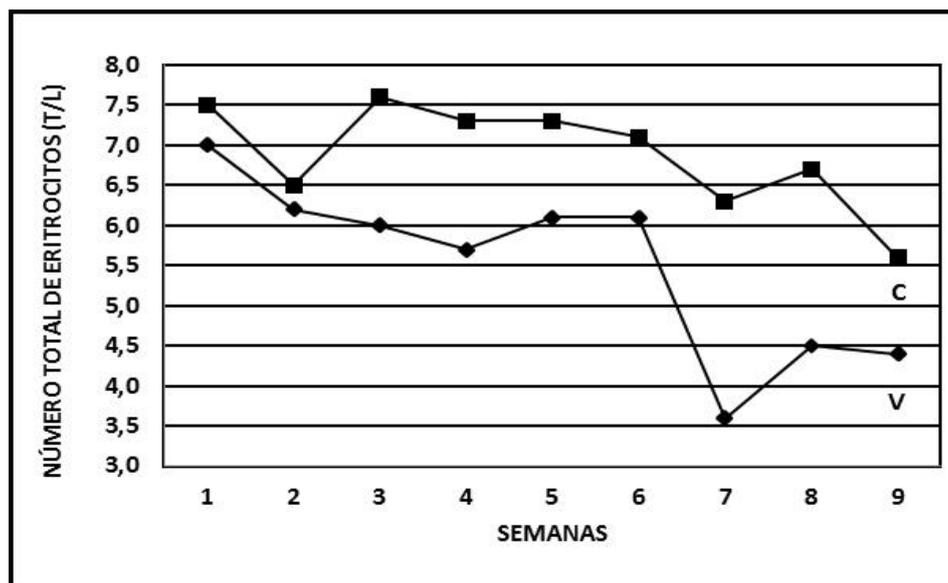
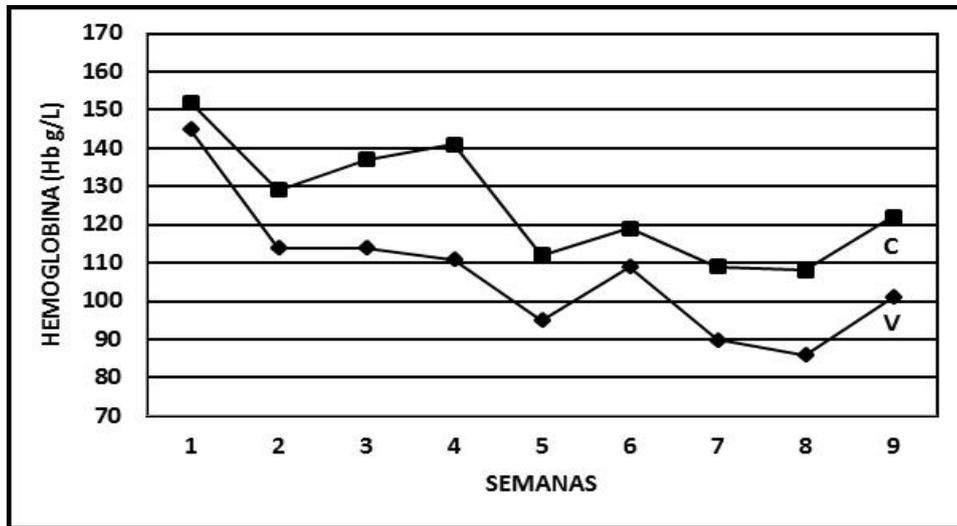
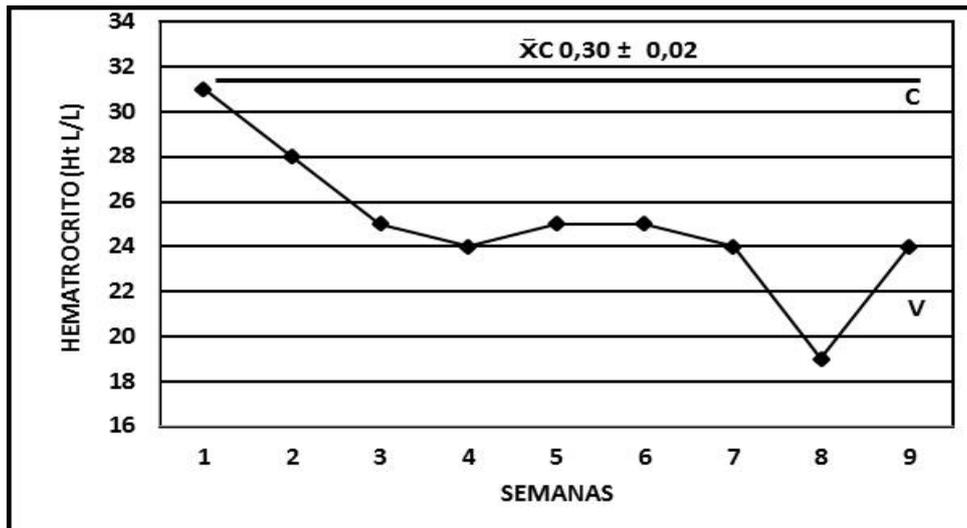


Figura 1. Valores medios semanales del número total de eritrocitos en los bovinos inmunizados (v) y el control (c) durante el período experimental (T/L=1012/L).



**Figura 2.** Valores medios semanales de la hemoglobina en los bovinos inmunizados (v) y el control (c) durante el período experimental (g/L).



**Figura 3.** Valores medios semanales del hematocrito en los bovinos inmunizados (v) y el control (c) durante el período experimental (L/L).

La interpretación de la biometría hemática en este experimento, señaló los hallazgos más comunes en los cuadros clínicos generados por este complejo anaplasma/babesia bovina a nivel de campo o experimental (Benavides y Polanco, 2017; Bolívar y Pérez, 2017; Payne *et al.*, 1990). Igualmente, los resultados observados en esta experiencia correspondieron a los que se pueden encontrar en infecciones naturales o de evaluación de hemovacunas de este tipo (Sandoval *et al.*, 2016; Canto *et al.*, 2003; Mangold *et al.*, 1990). La anemia como problema hemolítico fue un síndrome característico en los animales retados con el inmunógeno (Cuadro 1).

Los resultados de los valores medios totales ( $\bar{x}$ ), desviación estándar (DE) e intervalo de confianza (IC) de los elementos que constituyeron el Eritrograma (NTE, Hb, Ht, VCM y CHCM) de los animales experimentales, se resumen en el cuadro 1. Al analizar la contrastación estadística de los promedios totales del NTE, Hb Ht, entre becerros inoculados y el control, se evidenció diferencia estadística ( $p < 0,05$ ); no obstante, los mismos estuvieron comprendidos entre los valores referenciales inferior y superior tomados para esta evaluación. La recuperación de los animales inmunizados fue sin necesidad de tratamiento durante y después del lapso experimental.

Los índices hematimétricos (VCM, CHCM), no indicaron diferencias estadísticas; la media para ambos grupos experimentales (inmunizados y control) estuvieron dentro o muy cercano a los valores normales de referencia para esta especie animal (Ochoa y Bouda, 2007). De tal manera, en los animales retados con el inmunógeno argentino, las medias de las variables hematimétricas (VCM y CHCM), se ubicaron dentro de la clínica hematológica, anemia normocítica normocrómica regenerativa (Ochoa y Bouda, 2007). La comparación estadística no señalo diferencias entre bovinos retados con la hemovacuna y el control (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Valores promedios totales de las variables del eritrograma registradas en el grupo inmunizado con el criopreservado monodosis, polivalente de *A. centrale*, *B. bigemina*, *B. bovis* de origen argentino y su control.

ERITROGRAMA INMUNIZADOS				
Variable	$\bar{x}$	$\pm$ DE	IC	DS
NTE (T/L)	5,5	1,0	3,5-7,5	P<0,05
Hb (g/L)	107	18	71-143	P<0,05
Ht (L/L)	0,25	0,03	0,19-0,31	P<0,05
VCM (fL)	50	14	22-78	
CHCM (g/L)	420	34	352-488	
CONTROL				
ERIT (T/L)	6,9	0,7	5,5-8,3	
Hb (g/L)	125	15	95-155	
Ht (L/L)	0,30	0,02	0,26-0,34	
VCM (fL)	45	3	39-51	
CHCM (g/L)	421	35	351-491	

Los valores promedios semanales del nitrógeno ureico sérico (NUS) y la creatinina sérica (C) del grupo de bovinos inmunizado y el control están representados en el cuadro 2, en el cual se puede observar el comportamiento de los valores medios semanales de la creatinina a partir de la quinta semana del experimento; el analito tendió a ubicarse por debajo del límite inferior de la referencia usada en este trabajo, tanto en los animales retados con el inmunógeno como el control. No obstante, la

media total (80  $\mu\text{mol/L}$ ) a las nueve semanas alcanzó valores compatibles con la media referencial (93  $\mu\text{mol/L}$ ). La anterior variabilidad en la determinación del analito podría atribuirse a causas biológicas de los animales experimentales (Brum 2013; Galindo *et al.*, 2009) o analíticas (colección de la muestra, reactivos, calibración del equipo de medición, experticia), situación que debería tratarse de minimizar en trabajos posteriores, cuando se diseñen experimentos de este tipo. En cuanto a la variable NUS las mediciones de las medias semanales oscilaron dentro de los límites referenciales con la tendencia de estar más aproximado al intervalo inferior (Cuadro 2). No hubo diferencias estadísticas entre los bovinos experimentales para ambos analitos.

**Cuadro 2.** Seguimiento de los promedios semanales de las variables renales nitrógeno ureico sérico (NUS) y creatinina (C) en el grupo inmunizado con el criopreservado monodosis, polivalente de *A. centrale*, *B. bigemina*, *B. bovis* de origen argentino y su control.

INMUNIZADOS SEMANAS									
Analito	1	2	3	4	5	6	7	8	9
NUS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
m/mol/L	2,2	3,5	3,4	2,9	2,8	2,8	2,7	2,8	2,6
2,0-6,5 <sup>a</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\mu\text{mol/l}$	132	123	88	88	61	44	61	44	53
57-129 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CONTROL SEMANAS									
Analito	1	2	3	4	5	6	7	8	9
NUS	-	-	-	-	-	-	-	-	-
m/mol/L	2,4	2,4	4,2	2,5	2,8	2,7	3,0	3,0	2,5
2,0-6,5 <sup>a</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\mu\text{mol/l}$	150	141	97	80	53	53	53	44	44
57-129 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

NUS (nitrógeno ureico sérico), C (creatinina sérica); <sup>a,b</sup> Intervalo de Referencia.

A nivel renal, el complejo anaplasma/babesia bovina genera alteraciones patológicas en los animales afectados, las cuales permiten la modificación de la membrana de los eritrocitos y la expresión de proteínas de superficie que median en la adhesión de los eritrocitos en las células endoteliales de los capilares (Hernández, 2002, Loso, 1986), seguido de un desbalance hemodinámico (hídrico y electrolítico) e inmunológico a consecuencia de la deshidratación e hipovolemia (producto de la fiebre), obstrucción de los túbulos renales a consecuencia de la hemolisis (anaplasmosis), secuestro de eritrocitos parasitados y no parasitados en la microvasculatura renal (*B. bovis*), depósitos a nivel de riñón de complejos inmunes, entre otros, todo contribuyendo a los

efectos deletéreos del riñón (Suarez y Noh, 2011, Vargas y Patarroyo, 2004, Hernández, 2002, Loso, 1986).

En los animales retados con el inmunógeno, el alto volumen de microorganismos inoculados no afectó la función renal de los mismos durante el lapso experimental, al no poderse evidenciar alteraciones en la medición de los analitos NUS y creatinina, comparado con los valores medios obtenidos en el bovino control, situación poco evidenciada en las investigaciones sobre la patología de estas dos noxas bacterial-protozoaria en bovinos, durante pruebas de hemovacunas para combatir la TPB (Vargas y Patarroyo, 2004).

Dadas las condiciones del presente ensayo (bovinos inmunizados con 10 VDV), no se pudo constatar a nivel de bioquímica renal (Cuadro 2) y clínica, posibles efectos o procesos secundarios indeseables, atribuibles al inmunógeno de origen argentino, que incidieran en la función renal.

## **CONCLUSIONES**

La inmunización de los bovinos en la prueba de seguridad a nivel de galpón con el inmunobiológico a base de cepas atenuadas de *B. bovis*, *B. bigemina* y *A. centrale* de origen argentino, demostró ser inocua por lo menos en lo que respecta a la recuperación de los mismos en las variables del eritrograma analizado, sin terapia específica o de soporte. Igualmente, no se pudo asociar ninguna alteración bioquímica renal o clínica que presumiera alguna afectación a nivel renal.

## **LITERATURA CITADA**

- Alsaad, K and H. Alimam. 2013. Concomitant of anaplasmosis with acid-base balance, blood gas analysis, acute phase response and hemogram in cattle. *Bas. J. Vet. Res.* 12(2): 25-34.
- Anziani, O., H. Tarabla, A. Ford and C. Galileto. 1987. Vaccination with *Anaplasma centrale*: response after an experimental challenge with *Anaplasma marginale*. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 19: 63-67.
- Benavides, E y N. Polanco. 2017. Epidemiología de hemoparásitos y endoparásitos en bovinos de zonas de reconversión ganadera en La Macarena (Meta, Colombia). *Rev. Med. Vet.* 34:115-136.
- Benavides E., O. Vizcaino. C. Britto. A. Romero and A. Rubio. 2000. Attenuated trivalent vaccine against babesiosis and anaplasmosis in Colombia. *Ann. N. York. Acad. Sci.* 916: 613-616.
- Bock R and A. De Vos. 2001. Immunity following use of Australian tick fever vaccine: a review of the evidence. *Aust. Vet. J.* 79(12): 832-839.
- Bolívar A y C. Pérez. 2017. Confirmación microbiológica y evaluación hematológica para *Anaplasma marginale* y *Babesia* spp. en ganadería bovina de altura en los andes

- venezolanos. Rev. Med. Vet. 34(supl): 45-43.
- Bremo, A (2012). Identificación y Caracterización Bioquímica y Molecular de Peptidasas de *Babesia bovis* con Potencial Diagnóstico. Tesis Doctoral. Universidad Simón Bolívar. Decanato de Estudios de Postgrado. Sartanejas (Baruta).
- Brum, M. 2013. Eritrograma: Novas perspectivas de análise. Grau de Especialista em Hematologia Laboratorial. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul–UNIJUI. Pós-graduação em Hematologia Laboratorial. Brasil.
- Cantó G., J. Álvarez. E. Rojas. J. Ramos. J. J. Mosqueda. C. Vega y J. Figueroa. 2003. Protección contra babesiosis bovina con una vacuna mixta de *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* derivada de cultivo in vitro bajo una confrontación de campo. Inmunización en un área libre de la enfermedad. Vet. Mex. 34(4): 323-332.
- FAO. 1994. Protocolo para evaluar la seguridad y eficacia de los inmunógenos contra la anaplasmosis y babesiosis bovina. REDLAB. Santiago. Chile.
- Galindo, R., A. Ferreira. E. Mendes. S. Santos. R. Andrade. D. Batista. S. Lima e E. Rêgo. 2009. Eritrograma de bovinos da raza Holandesa criados na Mesorregião Metropolitana do Recife: influência dos fatores sexual e etário. Medicina Veterinária, 3(3)3:1-6.
- Hernández, M, 2002, Fisiopatología da *Babesia bovis*: moléculas de adesão expressadas em células endoteliais (Icam-1, Vcam, Pecam-1, E-selectina e Trombospondina). Tesis Magister Scientiae. Universidade Federal de Vicosa. Minas Gerais. Brasil.
- Herndon, D., G. Palmer; V. Shkap; D. Knowles and K. Brayton. 2010. Complete Genome Sequence of *Anaplasma marginale* subsp. *Centrale*. J. Bacteriol. 192(1): 379-380.
- Jain, N. 1986. Schalm's Veterinary Hematology. 4<sup>ta</sup> ed. Lea y Febiger. Philadelphia.
- Kaneko, J. 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4<sup>ta</sup> ed. Academic Press. San Diego. California.
- Losos, G. 1986. Infectious tropical diseases of domestic animals. 1<sup>ra</sup> ed. Longman Scientific & Technical. New York.
- Kenneil M. 2015. The Immune Response to live vaccines against bovine anaplasmosis. Faculté des Sciences. Institut de Biologie. Université de Neuchâtel. Switzerland.
- Kessler, R., M. Schenk: C. Madruga and A. Gomes. 1998. Viability of a method for the isolation of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* to create a strain bank from five physiological regions Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 7(2): 91-94.
- Kocan K; J. de la Fuente. D. Step, E. Blouin; J. Coetzee. K. Simpson, S and M. Boileau. 2010. Current Challenges of the Management and Epidemiology of Bovine Anaplasmosis. The Bovine Practitioner. 44(2). 93- 102.
- Madrid, C., H. Fuentes. W. Romero. A. Álvarez y E. Espinoza, 2012. Reactivación de un cepario de *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* y *Anaplasma marginale*, para estudios

- experimentales. Zootecnia Trop. 30(1):9-15.
- Maldonado, J., A. Coronado., A. Kowalski y J. Medina. 2012. Evidencia molecular de transmisión transplacentaria de *Anaplasma marginale* en becerros neonatos cebú de Venezuela. Zootecnia Trop., 30(1): 109-114.
- Mangold, A., D. Aguirre. M. Cafrune. C. Echaide and A. Guglielmono. 1993. Evaluation of the infectivity of a vaccinal and a pathogenic *Babesia bovis* strain. Vet. Parasitol. 51: 143-148.
- Mangold, A., D: Aguirre and A. Guglielmono. 1990. Post-thawing viability of vaccines for bovine babesiosis and anaplasmosis cryopreserved with glycerol. Vet. Parasitol. 37: 301-306.
- Meléndez R., M. Toro. G. Niccita. J. Moreno. S. Puzzar and J. Morales. 2003. Humoral immune response and hematologic evaluation of pregnant Jersey cows after vaccination with *Anaplasma centrale*. Vet. Microb. 94:335-339.
- Meléndez F. 2001. Evaluación de una vacuna de *Anaplasma centrale* contra la anaplasmosis bovina. Tesis de Maestría. Mención Patología. UCV-FCV. Maracay.
- MPPCYT-FONACIT. 2008. Código de Bioética y Bioseguridad. 3ra ed. Caracas. Venezuela.
- Morales, G y Pino, L 2009. Estadísticas no Paramétricas Aplicadas a las Ciencias de la Salud. Universidad Católica Andrés Bello. Caracas. Venezuela.
- Ochoa., L y Bouda, J. 2007. Patología clínica veterinaria. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México.
- Payne, R., O. Osorio and A. Ibañez. 1990. Tick borne diseases of cattle in Paraguay. II. Immunization against anaplasmosis and babesiosis. Trop. Anim. Hlth. Prod. 22: 101-108.
- Quiroz, R., I. Amaro and S. Rodríguez 2016. *Anaplasma marginale*: Diversity, Virulence, and Vaccine Landscape through a Genomics Approach. BioMed Research International. 16 (sn):1-18.
- Sacco A., R. Kessler e C. Madruga. 2001. Cepas atenuadas de *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* e de *Anaplasma centrale* como imunógenos no controle da tristeza parasitaria bovina. 31(5): 849-855.
- Sala, J. 2013. Transmisión Transplacentaria de *Anaplasma marginale* en bovinos nativos del noreste argentino. Tesis Maestría en Ciencias Veterinarias. Mención: "Salud Animal". Universidad Nacional del Litoral Facultad de Agronomía y Veterinaria. Argentina.
- Santarosa, B., G. Dantas; D. Ferreira; N. Rocha; R. Goncalves; R. Amorim e S. Chiacchio. 2013. Infecção neurológica por *Babesia bovis* em bovino neonato. Relato de Caso. Vet. e Zootec. 20(3): 9-14.
- Sequeira, T., M. Oliveira. J. Araujo and A. Amarante. 2005. PCR-based detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in their natural host *Boophilus microplus* and cattle. Int. J.

Parasitol. 35:105-111.

Souza, F., J. Braga. L. Pires. C. Carvalho. E. Costa. M. Ribeiro. R. Santos and S. Silva. 2013. Babesiosis y anaplasmosis in dairy cattle in Northeastern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 33(9):1057-1061.

Suarez, C and S, Noh. 2011. Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. *Vet, Parasitol.* 180: 109-125.

Vargas, M y J. Patarroyo. 2004. Patofisiología da infeccao por *Babesia bovis*. *Rev. Bras, Parasitol.* 13(supl): 48-52.