

Confirmación microbiológica y evaluación hematológica para *Anaplasma marginale* y *Babesia* spp. en ganadería bovina de altura en los andes venezolanos*

Ana María Bolívar Sánchez¹ / Carlos Luis Pérez Depablos²

Resumen

Atendiendo a la valoración clínica de un cuadro anémico observado en doce vacunos establecidos en un sistema de ganadería de altura en los andes venezolanos, en sospecha de infección por los hemotrópicos *A. marginale* y *Babesia* spp., se presentan los hallazgos obtenidos a través de la valoración microbiológica directa. Se obtuvo una asociación mixta *A. marginale* y *Babesia* spp. de 8,8% y una presentación individual de *A. marginale* de 3,3%. La estimación de la parasitemia reveló la necesidad de tratamiento a cinco animales. Además de esto, se valora el estado hematológico de las reses estudiadas, de lo cual se registra el 50% de animales con hematocrito bajo el mínimo de referencia y 41,7% de anisocitosis en distintos grados y a predominio de microcitos. Se confirma la sospecha probabilística, y se argumenta la importancia de la estimación de la parasitemia, la valoración hematológica y el seguimiento postratamiento en el bienestar animal.

Palabras clave: *A. marginale*, *Babesia*, bovinos, ganadería, diagnóstico de laboratorio.

* Estudio financiado por el Concejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes de la Universidad de los Andes (FA-582-15-03-B) y el Vicerrectorado Administrativo.

- 1 Licenciada en Bioanálisis. MSc. en Protozoología. Dra. en Biotecnología de Microorganismos. Investigaciones Parasitológicas "Jesús Moreno Rangel", Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad de Los Andes, Mérida (Venezuela).
✉ ambolivar@hotmail.com
- 2 Médico veterinario. Esp. en Producción y Reproducción en Bovinos. PROGAL. Universidad de Los Andes, Mérida (Venezuela).
✉ carloslperezd@hotmail.com

Cómo citar este artículo: Sánchez Bolívar AM, Pérez Depablos CL. Confirmación microbiológica y evaluación hematológica para *Anaplasma marginale* y *Babesia* spp. en ganadería bovina de altura en los andes venezolanos. Rev Med Vet. 2017;(34 Supl):45-53. doi: xxx

Microbiological confirmation and hematological evaluation of *Anaplasma marginale* and *Babesia* spp. in high-altitude cattle ranching in the Venezuelan Andes

Abstract

While clinically evaluating the anemic symptoms observed in twelve cattle in a high-altitude cattle ranching system in the Venezuelan Andes, with a suspected infection of the hemotropics *A. marginale* and *Babesia* spp., the article presents the findings obtained through direct microbiological assay. A mixed association of *A. marginale* and *Babesia* spp. was obtained in 8.8%, and the individual presentation of *A. marginale* was found in 3.3%. The estimation of parasitemia revealed the need for treatment in five animals. In addition, the hematological status of the studied animals was evaluated, which evidenced that 50% of the animals had hematocrit values under the minimum reference and 41.7% presented with varying degrees of anisocytosis, with a predominance of microcytes. The study confirmed the probabilistic suspicion, and evidenced the importance of parasitemia estimation, hematological assessment, and post-treatment follow-up for animal well-being.

Keywords: *A. marginale*, *Babesia*, cattle, breeding, laboratory diagnosis.

Confirmação microbiológica e avaliação hematológica para *Anaplasma marginale* e *Babesia* spp. em pecuária bovina de altura nos andes venezuelanos

Resumo

Em consideração à avaliação clínica de um quadro anêmico observado em doze bovinos estabelecidos em um sistema de pecuária de altura nos andes venezuelanos, em suspeita de infecção pelos hemotrópicos *A. marginale* e *Babesia* spp., se apresentam os resultados obtidos através da avaliação microbiológica direta. Obteve-se uma associação mista *A. marginale* e *Babesia* spp. de 8,8% e uma apresentação individual de *A. marginale* de 3,3%. A estimação da parasitemia revelou a necessidade de tratamento a cinco animais. Além disso, se avalia o estado hematológico das reses estudadas, do qual se registra o 50% de animais com hematócrito baixo ou mínimo de referência e 41,7% de anisocitose em diferentes graus e predomínio de micrócitos. Confirma-se a suspeita probabilística, e se argumenta a importância da estimação da parasitemia, a avaliação hematológica e o seguimento pós tratamento no bem-estar animal.

Palavras chave: *A. marginale*, *Babesia*, bovinos, pecuária, diagnóstico de laboratório.

INTRODUCCIÓN

El grupo de microorganismos en torrente sanguíneo con mayor repercusión en la ganadería bovina venezolana incluye *Anaplasma marginale* (Theiler, 1910), *Babesia bovis* (Babes, 1888), *Babesia bigemina* (Smith y Kilborne, 1893) y *Trypanosoma vivax* (Zieman, 1905) (1,2), las cuales son causales de efectos negativos en la salud de los rebaños y en la producción y rentabilidad de los sistemas de producción establecidos. Sus prevalencias han sido relacionadas con factores como edad, sexo, raza, propósito, sistema de manejo, densidad poblacional, aplicación de tratamientos y movilización de ganado, además de otros como la región agroecológica, la estación climática, la extensión de la explotación y la presencia o control de vectores. En todas estas situaciones han sido identificados brotes en diferentes zonas del país, fundamentalmente en aquellas que son estratégicas para la seguridad alimentaria (3).

Las entidades nosológicas anaplasmosis (*A. marginale*) y babesiosis (*B. bovis* y *B. bigemina*) integran el complejo conocido como tristeza bovina (TB) (4). Pese a la

inexistencia de signos patognomónicos para este complejo, la instauración de un cuadro anémico pareciera ser un carácter fundamental (5), el cual es determinado por el tipo y virulencia del agente causal (6), la susceptibilidad y estado nutricional del hospedador, así como el periodo de la infección en que se encuentre el animal (4). La TB repercute negativamente en el desarrollo ganadero al producir retardo del crecimiento, abortos, infertilidad temporal, disminución o pérdida de leche o carne y muerte; además genera gastos derivados del control (6). Todos estos efectos limitan la introducción de reproductores de razas exóticas en áreas productivas; así mismo, aumentan las restricciones a la exportación de animales y sus productos y contribuyen al déficit proteico en la población humana (3).

Pese a que en Venezuela existen condiciones ecoepidemiológicas para el mantenimiento de los ciclos biológicos de *A. marginale* y *Babesia* spp. durante todo el año, estas entidades poco se han estudiado en los sistemas ganaderos de altura. Por tal razón, el objetivo de la presente investigación consistió en confirmar la presentación de estos agentes en un sistema de ganadería

de altura ubicado en un área rural de la región andina venezolana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

El estudio es descriptivo de serie de casos.

Presentación

En abril de 2015 fueron seleccionadas 12 hembras holstein de un lote de 90 reses para el descarte de *A. marginale* y *Babesia* spp. por presentar un cuadro anémico a la valoración clínica. Los animales con edades comprendidas entre 18 y 30 meses de edad pertenecían a la unidad productora de la Estación Experimental El Joque (EEJ), y contaban con plan de vacunación, desparasitación y pruebas inmunológicas de obligatoriedad vigentes. Debido al cuadro anémico, las reses habían sido tratadas con Combecon®, Fol Hepar® y Eritrogen®; la última dosis se aplicó de manera intramuscular cinco días antes del abordaje. El diagnóstico se efectuó en el Laboratorio de Investigaciones Parasitológicas “Jesús Moreno Rangel” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, institución que presta servicio de extensión rural en el área de diagnóstico.

Características ecoepidemiológicas de la Estación Experimental El Joque

La EEJ (125 ha) pertenece al Programa para el Desarrollo de la Ganadería Lechera de las Zonas Altas de la Región de Los Andes. Se ubica a 1960 m s. n. m., en la parroquia Jají, área rural del municipio Campo Elías, a una distancia de 37 km de Mérida. La zona se caracteriza por presentar una topografía irregular propia de las montañas andinas, y condiciones de temperatura, humedad y precipitación medias anuales de 17,5 °C, 82 % y 1300 mm respectivamente (7,8).

La estación cuenta una población total de 375 reses aptas para la explotación lechera (holstein, hersey y sus mestizos), agrupadas en diferentes sectores de explotación: levante, paritorio, escotero, ordeño y unidad productora. El manejo alimenticio se realiza principalmente con pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y maní forrajero (*Arachis pintoi*), además de complementos con heno y alimento concentrado. En general, el estado de la estación se denomina satisfactorio.

Muestra biológica y procedimientos de detección

El material biológico estuvo representado por sangre venosa (3 mL) tomada a partir de la vena yugular y recolectada en tubos Vacutainer®-EDTA (una muestra por animal). Este trabajo se realizó aplicando los principios éticos internacionales que rigen la investigación biomédica con animales. A fin de preservar los elementos celulares, fue necesario mantener la cadena de frío (7-10 °C) hasta la llegada de las muestras al laboratorio. Para el descarte de *A. marginale* y *Babesia* spp. se seleccionó la técnica microbiológica frotis sanguíneo coloreado (FS) (5 µl de sangre para realización de extendido, seguido de fijación con metanol absoluto [5 min], coloración con Giemsa [1/10 en agua destilada, 30 min] y visualización microscópica [100X]). En caso de positividad microbiana, se estimó la parasitemia (P) según McCosker y Smith, y se contó el total de eritrocitos infectados en 10 campos microscópicos (1,9).

El FS junto a la técnica de microcentrifugación capilar (MCC) (capilares Tecnon® de 80 µl cargados hasta 2/3 de su capacidad, seguido de centrifugación [5 min/12.000 g] y lectura en tabla Hawksley Micro-Hematocrit Reader) fueron empleados como herramientas de diagnóstico hematológico en la descripción de las células sanguíneas (tamaño, forma y color [eritrocitos] y morfología [leucocitos y plaquetas], 100X) y en la medición del volumen globular rojo (hematocrito), respectivamente.

RESULTADOS

Detección microbiológica

Se detectó para el lote evaluado 8,8% de infección mixta *A. marginale* y *Babesia* spp., y 3,3% de infección por *A. marginale*. En 5 reses (4 positivas *A. marginale* + *Babesia* spp. y 1 positiva *A. marginale*) la P resultó superior al 1% (tabla 1), de tal modo que requirieron tratamiento inmediato, el cual incluyó una dosis de Babenil® ([ace-

turato de diminaceno], sol. 7% I. M.), así como hemáticos (Hemoplex® [2g I. M.], ácido fólico [2 mg/kg PV I.M]) y aumento de 2 kg en la dosis diaria de alimento. En 3 reses con infecciones mixtas la P resultó con predominio de *A. marginale*.

A pesar de que la orden clínica no incluyó detección de *T. vivax*, se emplearon las técnicas MCC y FS, con el fin de orientar el diagnóstico hacia este hemoflagelado, de lo cual no resultó ninguna muestra positiva.

Tabla 1. Detección de *A. marginale* y *Babesia* spp. en vacunos de la Estación Experimental El Joque (Mérida)

| Animal | FS | | | |
|--------|---------------------|-------|---------------------|-------|
| | <i>A. marginale</i> | | <i>Babesia</i> spp. | |
| | n.º/campo | P (%) | n.º/campo | P (%) |
| UPJ1 | 3-7 | 2,5 | 3-5 | 2,0 |
| UPJ2 | 1-2 | 0,75 | 2-3 | 1,25 |
| UPJ3 | 3-5 | 2,0 | 0-3 | 0,75 |
| UPJ4 | 3-5 | 2,0 | 0-3 | 0,75 |
| UPJ5 | 0-3 | 0,75 | 0-3 | 0,75 |
| UPJ6 | 0-3 | 0,75 | 0-3 | 0,75 |
| UPJ7 | - | - | - | - |
| UPJ8 | 0-2 | 0,05 | 0-1 | 0,025 |
| UPJ9 | 1-3 | 1,0 | 0-1 | 0,025 |
| UPJ10 | 0-1 | 0,05 | - | - |
| UPJ11 | 2-6 | 2,0 | - | - |
| UPJ12 | 0-2 | 0,05 | - | - |

FS = frotis sanguíneo coloreado; n.º/campo = número de eritrocitos infectados por campo microscópico; P (%) = parasitemia; (-) = negatividad. Previo al muestreo: UPJ1 y UPJ2 = en aparente periodo de convalecencia por TB; UPJ3: con sintomatología compatible-TB, UPJ4 a UPJ12: leve palidez en mucosa ocular.

Detección hematológica

Los valores medios de hematocrito (Ht) se ubicaron en 21,8% (< 9%, > 34%). El 50,0% de las reses evaluadas presentó Ht bajo el mínimo de referencia (24%) (tabla 2). La descripción de frotis no reveló alteraciones en

las series leucocitaria ni plaquetaria. En cuanto a la serie eritrocítica, se presentó anisocitosis (41,7%) en distintos grados y con predominio de microcitos. Además, se observaron inclusiones intraeritrocitarias tipo Howell-Jolly y el fenómeno de autoaglutinación. En 5 animales no se evidenció ninguna alteración en la serie eritrocítica.

Tabla 2. Detección hematológica en vacunos holstein en la Estación Experimental El Joque (Mérida)

| Animal | Ht (%) | Eritrocitos | | | | |
|--------|--------|---|-------|-------|-------|------|
| | | Tamaño | Forma | Color | HJ | FA |
| UPJ1 | 9 | AA microcitos (++++) macrocitos (+) | N | HA | (+++) | - |
| UPJ2 | 11 | AA microcitos (++++) macrocitos (+) | N | HA | - | - |
| UPJ3 | 11 | AM microcitos (+++) macrocitos (++) | N | HA | - | (++) |
| UPJ4 | 24 | AD microcitos (++) macrocitos (+) | N | NC | (++) | (++) |
| UPJ5 | 22 | AD microcitos (+) macrocitos (+) | N | NC | - | - |
| UPJ6 | 23 | N | N | NC | - | - |
| UPJ7 | 34 | N | N | NC | - | - |
| UPJ8 | 27 | N | N | NC | - | - |
| UPJ9 | 18 | N | N | HM | - | - |
| UPJ10 | 29 | N | N | NC | - | (+) |
| UPJ11 | 29 | N | N | NC | - | - |
| UPJ12 | 24 | N | N | NC | - | - |

Ht (hematocrito) valor de referencia = 24-46%; AA = anisocitosis acentuada; AM = anisocitosis moderada; AD = anisocitosis discreta; N = normalidad; HA = hipocromía acentuada; HM = hipocromía moderada; NC = normocromía; HJ = corpúsculos Howell-Jolly; FA = fenómeno de aglutinación; (-): negativo, (++++)= abundantes, (+++) = moderados, (++) = escasos, (+) = muy escasos.

Seguimiento

Transcurridos 20 días del tratamiento, fue realizada una nueva valoración empleando la marcha analítica anteriormente descrita; de ello se obtuvo la disminución o negatividad de la carga parasitaria (n.º/campo y P [%])

para 11 reses (tabla 3). En el animal restante (UPJ11) la carga parasitaria aumentó; además, en este se hicieron evidentes alteraciones en los parámetros hematológicos Ht (18%) y la serie eritrocitaria (anisocitosis moderada [con moderados microcitos] e hipocromía discreta).

Tabla 3. *A. marginale* y *Babesia* spp. en vacunos de la Estación Experimental El Joque (Mérida), seguimiento postratamiento

| Animal | FS | | | | MCC |
|--------|---------------------|-------|---------------------|-------|--------|
| | <i>A. marginale</i> | | <i>Babesia</i> spp. | | Ht (%) |
| | n.º/campo | P (%) | n.º/campo | P (%) | |
| UPJ1 | 0-2 | 0,25 | 0-1 | 0,20 | 21 |
| UPJ2 | - | - | - | - | 22 |
| UPJ3 | - | - | - | - | 20 |
| UPJ4 | - | - | - | - | 25 |
| UPJ5 | 0-1 | 0,20 | - | - | 28 |
| UPJ6 | - | - | - | - | 29 |
| UPJ7 | 0-3 | 0,30 | - | - | 35 |
| UPJ8 | - | - | - | - | 32 |
| UPJ9 | 0-2 | 0,25 | - | - | 29 |
| UPJ10 | 0-1 | 0,20 | - | - | 29 |
| UPJ11 | 5-8 | 4,25 | - | - | 18 |
| UPJ12 | 0-1 | 0,20 | - | - | 29 |

FS = frotis sanguíneo coloreado; MCC = microcentrifugación capilar; n.º/campo = número de eritrocitos infectados por campo microscópico; P (%) = parasitemia; (-) = negatividad.

DISCUSIÓN

La ganadería de altura en los andes venezolanos se ubica entre los 1500 y 2400 m s. n. m. (10,11) y está destinada principalmente a fomentar la producción de leche, razón por la cual se fundamenta en la explotación de las razas holstein y jersey (12). Pese a esta dinámica, los hallazgos de *A. marginale* y *Babesia* spp. registrados son similares a los establecidos en otras zonas agropecuarias del país, como las pertenecientes a los estados Guárico y Aragua, cuyas altitudes no superan los 535 m s. n. m., y con rebaños evaluados pertenecientes a grupos raciales como brahman, pardo suizo y carora destinados fundamentalmente a la explotación cárnica (13,14). Según esto, la altitud y los grupos raciales parecieran no constituirse en factores limitantes en la presentación de estos hemotrópicos.

Por su parte, y a juzgar por el comportamiento obtenido, las vías de transmisión, la eficacia del tratamiento hemoparasitario aplicado y la susceptibilidad individual estarían actuando como factores importantes en la

presentación y mantenimiento de *A. marginale* y *Babesia* spp. Las vías de transmisión resultan más numerosas para *A. marginale*, por cuanto, además de la vectorial mediada por garrapatas, se incluyen la vectorial a través de moscas, la iatrogénica por medio de fómites con sangre contaminada (15) y la transplacentaria (16). Respecto al tratamiento etiológico, se debe considerar la especificidad del fármaco para la especie diagnosticada y la aparición de recidivas asociadas principalmente a la ubicación de los hemotrópicos en órganos profundos que sirven de secuestro. Estas situaciones explicarían el mayor número de reses infectadas con *A. marginale* fuera de la asociación con *Babesia* spp., así como el nuevo periodo patente observado en el animal UPJ11 luego de tratamiento.

Los hemotrópicos intraeritrocitarios *A. marginale* y *Babesia* spp. pueden desarrollar diferentes tipos de acciones patógenas; por ejemplo, en los animales afectados son constantes la aparición de hemólisis, trombosis, edema y anemia (2,17). Se ha señalado, producto de estos hemotrópicos, fundamentalmente disminución en

los parámetros hematocrito y hemoglobina (4,18). Respecto a los valores de hematocrito, se registra en dos fincas del estado Guárico entre 60 y 70 % de valores bajo el 35 %, situación que tiende a agudizarse cuando existe una coinfección con *T. vivax* (13) o parásitos gastrointestinales como los estrogilidos (18). Sin embargo, la disminución del hematocrito producto de infecciones microbianas puede no ser concluyente por cuanto también es dependiente de la nutrición y los estados fisiológico e inmune del animal (14); por eso es necesario en futuras investigaciones estimar estas asociaciones, así como la presencia de patógenos gastrointestinales.

En las infecciones por *A. marginale* y *Babesia* spp. muchas veces la anemia no es evidente con la valoración clínica, probablemente por la aparición de infecciones subclínicas o inaparentes (18). Dado este escenario, es importante efectuar junto a la valoración microbiológica una valoración hematológica mediante diferentes indicadores, para lo cual se sugieren los utilizados en este trabajo (hematocrito y descripción de frotis) por ser de fácil ejecución. En consideración al valor del hematocrito, es conveniente tener en cuenta un punto de corte que, correlacionado con la valoración veterinaria y la estimación de la parasitemia, permita una clasificación del período clínico en el cual se encuentra cada animal. Esta asociación ha sido estimada para infecciones por *Anaplasma* sp. en caprinos y ovinos, entre los cuales se consideran animales sintomáticos aquellos que presenten un valor igual o menor al 25 % (9). Para *A. marginale* y *Babesia* spp. en vacunos algunos investigadores consideran este valor igual o menor a 20 % (19).

Las infecciones por hemotrópicos pueden inducir cambios en la morfología de todos los tipos celulares sanguíneos; por lo tanto, su determinación es importante para realizar diagnósticos asertivos y orientar los procesos terapéuticos más adecuados que lleven a la restauración física de los animales afectados. Pese a este conocimiento, a excepción de *T. vivax* (20,21), pocos han sido los estudios que revelen las variaciones en la descripción de frotis producto de hemotrópicos. Para *T. vivax* ha sido registrada en fase aguda una descripción normocítica-normocrómica. Este hallazgo resulta compatible para *A. marginale*

y *Babesia* spp., situación que constituye una respuesta del hospedador frente a estos microorganismos y su proceso de eliminación del torrente sanguíneo (1).

La microcitosis diagnosticada se asocia a una anemia de tipo ferropénica y, por ende, a un problema en la absorción de hierro, que es responsable de desencadenar hipoxia tisular; esto lleva a una mayor producción de eritropoyetina en el riñón, que a su vez induce una intensa estimulación de la médula ósea, la cual, al no disponer de hierro para la síntesis del grupo hemo, produce eritrocitos más pequeños de lo normal (microcitos) (22). La microcitosis es un importante criterio de clasificación morfológica en las anemias, y si bien la incorporación de los autoanalizadores a la práctica clínica ha aportado un mejoramiento en la rapidez, confiabilidad y diagnóstico de los síndromes anémicos, la observación microscópica sigue siendo irremplazable (23). Respecto a las inclusiones intraeritrocitarias tipo Howell-Jolly, consideradas remanentes nucleares basófilos en eritrocitos y asociados a diferentes procesos patológicos —entre ellos anemias hemolíticas severas—, han sido principalmente asociadas a la infección con *Babesia* spp. (24).

La evaluación hematológica también reviste importancia en la valoración posterior al tratamiento, en la cual los signos de respuesta de la médula ósea se perciben mediante la presencia de reticulocitosis, policromatofilia, células con punteado basófilo, normoblastos y eritrocitos normocrómicos (1).

Debido a las similitudes clínicas y epidemiológicas y la prontitud de un tratamiento, generalmente en campo no se realiza una valoración diferencial ante la sospecha del complejo TB. Sin embargo, por la cercanía de centros diagnósticos a los ambientes rurales como lo señalado en esta investigación, es conveniente acompañar el diagnóstico etiológico de otras estimaciones en laboratorio, con el fin de tomar medidas de control y prevención adecuadas. En la vigilancia epidemiológica se recomienda integrar técnicas diagnósticas de laboratorio con mayor grado de sensibilidad y especificidad que permitan aumentar la confiabilidad diagnóstica.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos aluden a una condición de inestabilidad enzoótica para *A. marginale* y *Babesia* spp. en bovinos de un sistema de ganadería de altura, lo cual confirma la sospecha probabilística de estos hemotrópicos, hecho que justifica la importancia de la estimación de la parasitemia, la valoración hematológica y el seguimiento posterior al tratamiento en la repercusión del bienestar animal.

REFERENCIAS

- Rivera M. Hemoparasitosis bovinas. Caracas: Universidad Central de Venezuela, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico; 1996.
- Díaz D, Valera Z, De Andrade E, Parra O, Escalona F, Ramírez R. Prevalencia de *Anaplasma marginale* en bovinos del sector La Piñata, municipio La Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela. *Rev Cient FCV-LUZ*. 2003;13(3):193-8.
- Suárez C, García F, Román D, Coronado A, Perrone T, Reyna A, Parra N. Factores de riesgo asociados a la tripanosomiasis bovina en explotaciones ganaderas de Venezuela. *Zootrop*. 2009;27(4):363-72.
- Madrid C, Fuentes H, Romero W, Álvarez A, Espinoza E. Reactivación de un cepario de *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* y *Anaplasma marginale*, para estudios experimentales. *Zootecnia Trop*. 2012;30(1):9-15.
- García M, Torres R, Hernández G, Cantó G, Rodríguez S. *Anaplasma marginale*: Diferentes grados de virulencia en dos aislados mexicanos. *Vet Mex*. 2000;31(2):157-60.
- Zacarias R, Barbosa J, Rogério M, Gonçalves L, Matos C, Obregón D. Outbreak of anaplasmosis associated with the presence of different *Anaplasma marginale* strains in dairy cattle in the states of São Paulo and Goiás, Brazil. *Braz J Vet Parasitol*. Jaboticabal. 2015;24(4):438-46.
- Silva G, Verde O. Producción de vacas lecheras en la zona alta de Venezuela. *Zootecnia Trop*. 1983; 1(1-2):31-40.
- Nieves E, Rondón M, Zamora E, Salazar M. *Fasciola hepatica* (Trematode: Fasciolidae) en la zona alta de Mérida, Venezuela. *REDVET*. 2005;6(12):1-9.
- Ávila L, Acevedo A, Jurado J, Polanco D, Velásquez R, Zapata R. Infección por hemoparásitos en caprinos y ovinos de apriscos de cinco municipios del norte y nororiente de Antioquia. *Rev CES Med Zootec*. 2013;8(1):14-24.
- Gutiérrez A. Algunas características importantes del sector agrícola del estado Mérida. Potencialidad agroecológica del estado Mérida [internet]. 1998. [citado 2016 mar 1]. Disponible en: http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/17175/1/gutierrez_plan.pdf
- Monzón, R. Asociación de Ganaderos de la Zona Alta de Mérida. Historia y protagonistas [internet]. 2013. [citado 2015 mar 24]. Disponible en: <http://www.es.slideshare.net/RamnMonzn/asociacin-de-ganaderos-de-la-zona-alta-de-mrida-historia-y-protagonistas>
- Ramírez L. Produciendo leche en las zonas altas. Universidad de Los Andes-Trujillo. Venezuela. *Mundo Pecuario*. 2006;2(1):20-2.
- Tamasaukas R, Aguirre A, Ron J, Roa N, Cobo M. Tetralogía hemoparasitaria en algunas fincas bovinas del Municipio Santa Rita, Estado Guárico, Venezuela. *Rev Fac Cs Vet UCV*. 2000;41(4):101-8.
- Florio L, Tamasaukas R, Rivera S. Diagnóstico participativo de hemotrópicos en bovinos a nivel de pequeños productores y productoras de ganadería doble propósito en el sur del estado Aragua en la República Bolivariana de Venezuela. *AICA*. 2012;2:163-70.
- Cardona-Álvarez J, Ensuncho-Hoyos C, Vergara-Garay O. Frecuencia de hematótricos en tres explotaciones de búfalos (*Bubalus bubalis*) del departamento de Córdoba, Colombia. *Rev Cient FCV-LUZ*. 2012;22(6):530-6.
- Añez-Rojas N, Romero O, Valbuena H, Crisante G, Rojas A, Bolívar A, Añez N. Detección de transmisión transplacentaria de *Anaplasma marginale* en bovinos asintomáticos. *Rev Cient FCV-LUZ*. 2010;20(4):377-82.
- Navarrete I, Serrano F, Reina D. Parasitosis hemáticas. Babesiosis. En: *Parasitología veterinaria*. 1a. ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2002. p. 283-293.
- Conradie I, Goddard A, Bronsvoort M, Coetzer J, Handel I, Hanotte O, Jennings A, Lesosky M, Kiara

- H, Thumbi S, Toye P, Woolhouse M, Penzhorn B. The impact of co-infections on the haematological profile of East African Short-horn zebu calves. *Parasitology*. 2014;141(3):374-88.
19. Benavides E, Viscaíno O, Polanco N, Betancur O. Criterios y protocolos para el diagnóstico de hemoparásitos en bovinos. *Rev Cienc Anim*. 2012;(5):31-49.
 20. Sandoval E, Espinos E, Valle A. Variaciones hematológicas en ovejas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. *Rev Cient FCV-LUZ*. 1995;5(3):147-59.
 21. Espinoza E, Aso P, González N, Rangel L. Clasificación morfológica de la anemia desarrollada en bovinos infectados experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. *Vet Trop*. 1996;21(2):201-14.
 22. Díez M, Muñoz M. Cómo interpretar un hemograma: la anemia ferropénica. [internet]. 2014. [citado 2016 mar 1]. Disponible en: http://www.deficitdehierro.com/img/recursos/deficitdehierro.com_como_interpretar_hemograma.pdf
 23. Larregina A, Reimer E, Suldop N, Luis S, Zabatti J, Polini N. Diagnóstico diferencial de anemias microcíticas. *Acta Bioquim Clin Latinoam*. 2004;38(4):465-69.
 24. Al-Abadi B, Al-Badrani B. Cattle blood analyses for parasitic infestation in Mosul, Iraq. *Res Opin Anim Vet Sci*. 2012;2(1):535-43.