

Infección por *Babesia* sp. y *Anaplasma marginale* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*), Magdalena, Colombia, 2008

Infection with *Babesia* sp. and *Anaplasma marginale* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*), Magdalena, Colombia, 2008

Leonardo A. Ríos-Osorio*§, Sandra Ríos-Tobón†§, Juan D. Giraldo‡,
Hiojahana Guerra-Deluche‡, Gina Hernández-Mahecha‡, Mario A. Zapata-Tamayo‡§

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

La industria bufalera colombiana se ha convertido en las últimas décadas en uno de los sistemas de explotación de mayor proyección, el cual se ve afectado por enfermedades como las fiebres de garrapatas, que disminuyen su productividad y afectan de manera drástica la economía de las comunidades.

OBJETIVO

Determinar la frecuencia de infección por *Babesia* sp. y *Anaplasma marginale* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en la región del Magdalena Medio colombiano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio epizootiológico de tipo descriptivo y transversal con un poder estadístico bilateral del 100% y un nivel de seguridad del 95%, en una población de 209 búfalos de cuatro hatos bufaleros de la zona. Se aplicó una encuesta clínica-epizootiológica estructurada, las muestras se evaluaron por la técnica de extendido de sangre periférica y gota gruesa coloreadas con Giemsa y Field.

RESULTADOS

Se obtuvo una frecuencia general de hemoparasitosis de 55,9%, la frecuencia específica de *Anaplasma marginale* fue de 56%, y la de *Babesia* sp. fue de 30,1%.

CONCLUSIÓN

La positividad a la infección por *Babesia* sp. y *Anaplasma marginale* disminuye y se estabiliza al aumentar la edad de los búfalos y este ciclo se repite en tres momentos en la población evaluada.

PALABRAS CLAVES

Anaplasma marginale. *Babesia* sp. Búfalos. Colombia. Infección. *Rhipicephalus*.

*Bacteriólogo y Laboratorista Clínico, Especialista en Ciencias Básicas Biomédicas, Área Parasitología Humana, Doctor en Sostenibilidad por la Universidad Politécnica de Catalunya, Profesor Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. †Microbiólogo y Bioanalista, Universidad de Antioquia. ‡Bacteriólogo y Laboratorista Clínico, Especialista en Epidemiología, Magister en Ciencias Básicas Biomédicas. §Grupo de Investigación en Microbiología Veterinaria, Laboratorio Central de Investigaciones, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Contacto: Leonardo A. Ríos Osorio, mleonardo@udea.edu.co
Recepción: 29-12-2010. Aceptación: 28-03-2011.

ABSTRACT

INTRODUCTION

The Colombian buffalo industry has been one of the systems with the highest projection of exploitation. It has been affected by diseases like ticks fever and consequently the productivity has decreased and the communities' economy has been affected as well.

OBJECTIVE

This research carried out to..the frequency of *Babesia* sp. and *Anaplasma marginale* infection in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the Colombian Magdalena Medio region.

MATERIALS AND METHODS

A descriptive-transversal epizootiological study was carried out with a bilateral statistical power of 100% and a security level of 95%; 209 buffaloes distributed in four farms were sampled. A structured clinic-epizootiological survey was applied; samples were evaluated by means thick and thin blood smears stained with Field and Giemsa techniques.

RESULTS

A general hemoparasitic frequency of 55.9% was obtained; specific frequency of *Anaplasma marginale* infection was 56%, and *Babesia* sp. Infections of 30.1%.

CONCLUSIONS

Babesia sp. and *Anaplasma marginale* infections fall and become stabilized to age increase in buffaloes, this cycle is repeated at three moments in the evaluated population.

KEY WORDS

Anaplasma marginale. *Babesia* sp. Buffaloes. Colombia. Infection. *Rhipicephalus*.

INTRODUCCIÓN

La ganadería, una actividad generalizada y desarrollada prácticamente en toda Colombia, se considera un renglón socioeconómico de gran importancia para el desarrollo del campo; actualmente cerca del 45% del

territorio nacional se está usando para la ganadería,¹ y esto incluye una gran variedad de sistemas productivos, dentro de los que está la ganadería bóvida, que representa el 88% de la superficie agropecuaria nacional, y que además de suministrar carne y leche, ofrece materia prima para varias industrias como la marroquinería y la producción de lácteos.^{1,2}

Dentro del ganado de explotación en Colombia se encuentra el búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) que en los últimos años ha presentado un incremento en la industria ganadera del país, alcanzando una población que supera las 100.000 cabezas de ganado.^{3,4} El búfalo de agua es un bóvido, herbívoro, rumiante y de pezuña hendida que, gracias a sus atributos, alcanza rendimientos superiores a los 1.000 g/día y logra un peso de hasta 280 kg al destete, 400 kg a los 18 meses y 500 kg de peso vivo a los dos años de vida, con una producción lechera, en promedio por hembra bufalina, de 7 a 8 litros diarios en siete meses, lo que la convierte en una especie llamativa para la producción agrícola, ya que es triple propósito: producción de leche y carne principalmente, además del desempeño de éste como animal de trabajo por su fácil adiestramiento y fuerza.²⁻⁵ El interés en la producción bufalina es cada vez mayor, debido a la alta calidad de sus derivados y su adaptabilidad a las condiciones ambientales, que le han permitido establecerse en diferentes regiones en el país.⁵

En Colombia, los búfalos de agua presentan, entre otras enfermedades infecciosas, babesiosis bovina y anaplasmosis.^{2,5-7} La babesiosis bovina es una enfermedad causada por parásitos intraeritrocíticos del género *Babesia*, del cual las únicas especies reportadas en Colombia y en toda América Latina son *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*.⁸⁻¹³ La infección por *Babesia* sp. se manifiesta clínicamente por la presencia de fiebre, anorexia, debilidad, anemia, hipoxia, ictericia, trastornos gastrointestinales, ataxia y problemas del sistema nervioso central. Además, en algunos casos, puede producir la muerte.^{14,15}

El criterio parasitológico para el reconocimiento de las especies de *Babesia* en búfalos se ha realizado teniendo en cuenta la descripción morfológica de los parásitos en los vacunos, aunque algunos autores plantean que la morfología del parásito cambia cuando éste pasa de su hospedero natural a otro,^{16,17} por lo que en los búfalos no se observan las formas típicas del parásito.

Por otra lado, la anaplasmosis la causa el microorganismo rickettsial *Anaplasma marginale*, ampliamente distribuido en países tropicales y subtropicales.¹⁸ Las infecciones por *Anaplasma marginale* se manifiestan con fiebre, anemia, enflaquecimiento y alta mortalidad.¹¹ El microorganismo penetra por invaginación al eritrocito sin que ocurra destrucción de las células, se encierra en una vacuola y se multiplica por fisión binaria en forma de cuerpo de inclusión. Se reconocen tres tipos de cuerpos de inclusión en el extendido de sangre periférica: el clásico cuerpo marginal, una forma intermedia o cuerpo inicial y el de menor tamaño conocido como cuerpo poliédrico.^{18,19}

Ambos hemoparásitos son transmitidos por garrapatas duras de la familia *Ixodidae*; *Boophilus microplus* es la garrapata encargada de la transmisión en Colombia y América Latina.⁸⁻¹³ Y aunque éstas son escasas en la piel de los búfalos, debido a que ellos ejercen sobre las cargas ectoparásitas una acción mecánica por contacto con agua, lodazales y su posterior rascado, las garrapatas logran permanecer en ciertas zonas corporales como el periné, la raíz de la cola, orejas y partes ventrales del cuerpo.⁵ Por otro lado, se conoce la existencia de una resistencia natural en los búfalos a estos agentes infecciosos, mediada por mecanismos de inmunidad innata; sin embargo, a pesar de esto, se pueden presentar en estos animales signos y síntomas de babesiosis y anaplasmosis.^{2,13,20}

Las infecciones por *Babesia* sp. y *Anaplasma marginale* se desarrollan en búfalos de las zonas geográficas en donde se presentan condiciones ecoepizootiológicas de humedad relativa entre el 80% y 90%, y temperatura entre 28°C a 36°C.^{11,12} El Magdalena Medio es una zona importante para la ganadería bufalera en Colombia, con una extensión aproximada de 30.177 km² equivalentes al 2,64% del área total del país. Su economía se basa fundamentalmente en la refinación de petróleo, agricultura y ganadería de extensión, presenta una altitud sobre el nivel del mar de 75,94 metros, una temperatura que oscila entre 28°C y 30°C, con un clima cálido húmedo, una precipitación media anual de 2889,9 mm y una humedad relativa del 80%.²¹ La zona del Magdalena Medio presenta entonces las características topográficas y las condiciones climáticas y ecológicas óptimas para el desarrollo de las infecciones por *Babesia* sp. y *Anaplasma marginale*, además de la transmisión natural de las mismas.

Debido a la escasa información reportada hasta la fecha sobre la situación epizootiológica de la anaplasmosis y la babesiosis bufalina en la región del Magdalena Medio, con el presente estudio se propuso determinar la frecuencia de la infección por *Babesia* sp. y *Anaplasma marginale* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) por medio de técnicas parasitológicas directas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio epizootiológico de tipo descriptivo-transversal, con un universo muestral de 1.800 búfalos de agua *Bubalus bubalis* pertenecientes a cuatro hatos bufaleros, ubicados geográficamente en la zona del Magdalena Medio colombiano.

Se realizó un muestreo no representativo por hato y se definió un tamaño muestral (n) de 209 búfalos. Se diseñó una encuesta clínico-epizootiológica y de identificación de los búfalos incluidos en el estudio para la recolección de la información de la muestra; igualmente se diligenció un consentimiento escrito firmado por los representantes legales de los hatos bufaleros incluidos en el estudio. La investigación estuvo orientada por los principios de la Resolución N° 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de la República de Colombia, por la cual se establecen las normas científicas y técnicas para la investigación en salud en Colombia.²²

La muestra de sangre se obtuvo por punción venosa de diferentes sitios anatómicos; los bucerros de 1 a 5 meses de edad fueron sangrados de la vena yugular, para los búfalos de levante entre 6 y 9 meses la muestra se obtuvo de la oreja y en los búfalos adultos la muestra se extrajo de la vena coccígea. Las muestras recolectadas fueron conservadas en refrigeración en nevera plástica Coleman® a una temperatura de 4°C hasta el momento de su procesamiento.

Las muestras que se obtuvieron se evaluaron por microscopía a través de extendido de sangre periférica (por duplicado) para *Anaplasma marginale* y extendido de sangre periférica (por duplicado) y gota gruesa para *Babesia* sp.

La tinción del extendido de sangre se realizó con coloración de Giemsa al 20%; las gotas gruesas se tiñeron utilizando la coloración de Field. La lectura de las placas se realizó en el Laboratorio de Microbiolo-

gía Veterinaria de la Universidad de Antioquia, utilizando microscopios de luz óptica Olympus®, objetivo con aumento de 100X.

El diagnóstico parasitológico positivo para *Babesia* sp., se estableció como el hallazgo de formas parasitarias sin pigmento, piriformes en pares excéntricos o centrales de formas circulares u ovoides en las cuales se diferenciaba su cromatina y su citoplasma, mientras que para *Anaplasma marginale* se tuvo como criterio de positividad la observación en aumento de 100X de estructuras puntiformes de cromatina con halo o sin halo alrededor, en sus tres formas clásicas; cuerpo marginal, cuerpo inicial o forma intermedia y cuerpo poliédrico.¹⁵

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS® versión 14. Se empleó un análisis de frecuencias con una significancia estadística de 0,05 y análisis de regresión.

RESULTADOS

Se evaluaron 209 búfalos, distribuidos en cuatro hatos bufaleros; 154 hembras y 55 machos. Se conformaron tres grupos etarios: menores de 12 meses (36 búfalos), entre 13 y 60 meses (112 búfalos) y mayores de 60 meses (61 búfalos).

La frecuencia general de hemoparasitosis fue de 55,9% (117/209), la frecuencia específica de *Anaplasma marginale* fue de 56% (117/209), superior a la frecuencia de *Babesia* sp. que fue 30,1% (63/209) y sólo se encontró infección mixta en 45 búfalos de los 209 evaluados (21,5%).

En la evaluación discriminada por hato se encontró que el hato con mayor frecuencia de infección por *Anaplasma marginale* fue Oro negro con un 85,7% (12/14); para *Babesia* sp. un 50% (7/14); y con infección mixta un 50% (7/14). El hato con menor frecuencia de infección fue Astilleros con un 26,2% (16/61) para *Anaplasma marginale*, un 23% (14/61) para *Babesia* sp. y un 9,8% (6/61) para infección mixta; se encontró que la diferencia entre las proporciones de infección por los hemoparásitos en los cuatro hatos evaluados fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

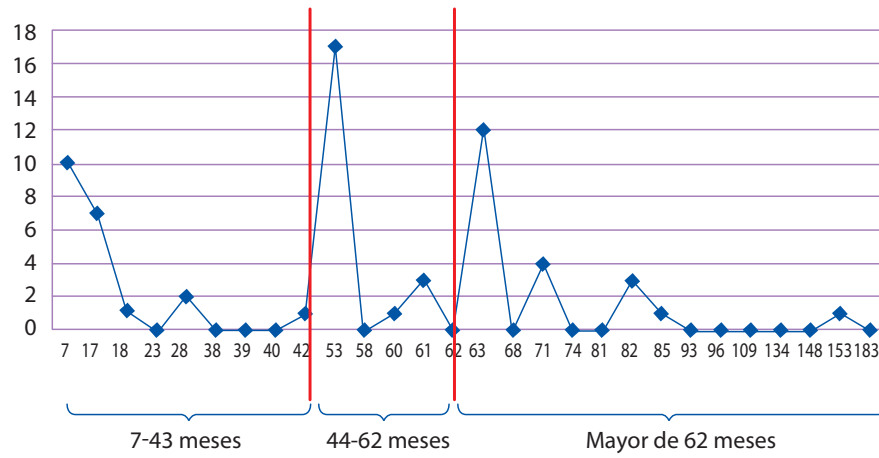
En el análisis de infección por hemoparásitos de acuerdo con el género de los búfalos, se encontró una frecuencia de *Babesia* sp. en hembras de un 29,8%

(46/154) frente a un 30,9% (17/55) en machos, mientras que para *Anaplasma marginale* se encontró una frecuencia de 65,4% (36/55) en hembras frente a un 52,5% (81/154) en machos. En la infección mixta se encontró una frecuencia en hembras de 20,7% (32/154) frente a un 23,6% (13/55) en machos; la diferencia entre proporciones de infección por los hemoparásitos entre hembra y macho fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

El análisis descriptivo de las edades en los grupos etarios de interés fue para el grupo de 7-43 meses una media de 18 meses y una desviación estándar de 12,8; en el grupo de 44-62 meses una media de 54 meses y una desviación estándar de 2,5; y para el grupo mayor de 62 meses una media de 77 meses y una desviación estándar de 26,8. El análisis de frecuencia de positividad para la infección por ambos hemoparásitos realizado entre diferentes edades de los bovinos identificó una tendencia trimodal de estabilización rápida conformada por tres ciclos diferenciados claramente: 7-43 meses; 44-62 meses, y mayor de 62 meses (figuras 1 y 2). El análisis de regresión lineal simple de edad frente a infección por *Babesia* sp. no fue mayormente significativo en los tres grupos etarios (7-43 meses $R^2 = 0,55$; 44-62 meses $R^2 = 0,46$; mayor de 62 meses $R^2 = 0,29$); este mismo análisis de edad frente a infección por *Anaplasma marginale* mostró esa misma tendencia en los tres grupos etarios (7-43 meses $R^2 = 0,45$; 44-62 meses $R^2 = 0,48$; mayor de 62 meses $R^2 = 0,26$). Sin embargo, al realizar un análisis de tendencia logarítmica útil cuando el índice de cambios de los datos aumenta o disminuye rápidamente y después se estabiliza, la relación entre el aumento de la edad y la disminución de la parasitemia mejoró su significancia sin ser altamente concluyente ($R^2 = > 0,50$), para cada uno de los dos hemoparásitos en los tres rangos de edad, presentándose con más fuerza en el rango de los 7 a los 43 meses de edad ($R^2 = 0,62$ a $0,78$) para *Anaplasma marginale* y *Babesia* sp., respectivamente.

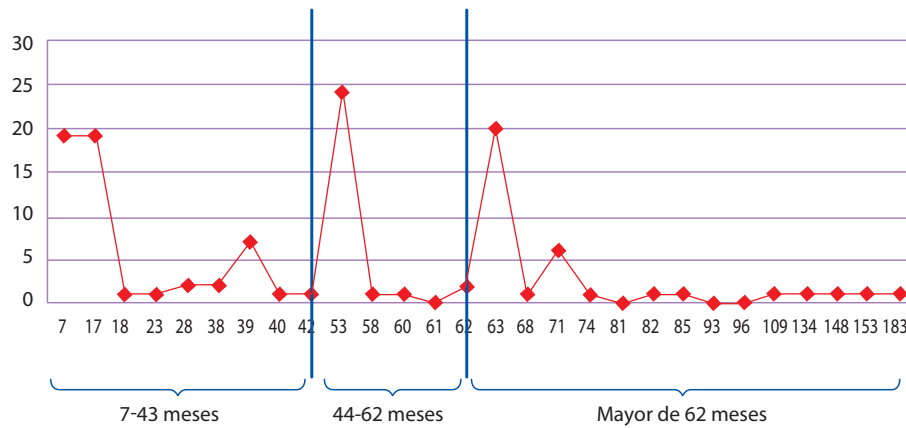
DISCUSIÓN

La infección por *Anaplasma marginale* detectada en los 4 hatos bufaleros fue de 56% correspondiente a 117 búfalos, cifra que se aproxima a la reportada por Prada y Crespo¹³ que fue mayor de 52,2%. Igual-



◆ Número de casos positivos.

Figura 1. Análisis de tendencia de la frecuencia de infección por *Babesia* sp. por meses de edad.



◆ Número de casos positivos.

Figura 2. Análisis de tendencia de la frecuencia de infección por *Anaplasma marginale* por meses de edad.

mente, los datos de este estudio concuerdan con cifras reportadas en áreas con condiciones ecológicas similares a las del Magdalena Medio Colombiano como en el sector La Piñata, municipio La Cañada de Urdaneta en Venezuela, donde Díaz y colaboradores reportaron valores de 56,9% positivos.²³ Así mismo, la frecuencia de infección por *Babesia* sp. fue

del 23%, correspondiente a 48 animales positivos, cifra que supera la reportada por Prada y Crespo¹³ que fue de 0,5%.

Estos datos evidencian un comportamiento epizootico de la anaplasmosis y la babesiosis en búfalos de agua en la zona del Magdalena Medio colombiano, que por sus características topográficas, ecológicas,

climáticas y comerciales presenta las condiciones óptimas para que se dé el ciclo de transmisión de ambos hemoparásitos.

Por otro lado, a pesar de haberse encontrado búfalos de agua positivos para la infección por *Anaplasma marginale* y *Babesia* sp. no se detectaron signos y síntomas en estos animales. De acuerdo con la literatura esta condición epizootiológica puede ser equiparable al concepto de estabilidad enzoótica, según el cual, la tríada epizootiológica que garantiza la transmisión de un agente infeccioso (hospedero susceptible, vector artrópodo y agente infeccioso), permite a los hospederos vertebrados adquirir un nivel de inmunidad ante la infección que les garantiza la ausencia de signos y síntomas, con un nivel de infección estable en el tiempo y un nivel de inmunidad protectora.^{24,25}

Por otro lado, la valoración de la relación entre el aumento de la edad y la disminución de la parasitemia identificada en el análisis de tendencias de frecuencias, lineal y logarítmica, en un sentido general, muestran un patrón de comportamiento no concluyente de las parasitemias, evidenciando de forma incipiente que la positividad de infección por *Babesia* sp. y *Anaplasma marginale* medida por pruebas parasitológicas directas disminuye y se estabiliza al aumentar la edad de los búfalos y que este ciclo se repite en tres momentos en la población evaluada.

Estos datos son consistentes con estudios reportados en la literatura científica, acerca de la relación entre edad e inmunidad en babesiosis y anaplasmosis y el efecto progresivo de disminución de parásitos presentes en sangre periférica con un aumento progresivo de la adquisición de inmunidad por parte del ganado en su proceso de adaptación a las condiciones de campo y con el aumento de la exposición a las garrapatas vectores.^{26,27}

De esta forma, la disminución de animales adultos susceptibles, observado en la tendencia trimodal establecida en este estudio, tiene su correlación con el nivel de inmunidad adquirida protectora, evidenciado en la ausencia de signos y síntomas, y que lleva a la disminución de los niveles de parasitemia detectables. Este efecto es posible establecerlo en zonas con niveles de estabilidad enzoótica para estas infecciones parasitarias.

Sobre los aspectos inmunitarios mencionados, es necesario tener en cuenta que los bucerros durante los primeros meses de vida presentan una baja pro-

ducción de inmunoglobulinas y se encuentran linfopénicos debido a la presencia de corticosteroides fetales que afectan de forma generalizada los mecanismos de defensa inmune innatos. Con la madurez de los bucerros se da inicio a la adquisición de un sistema inmune funcional que se correlaciona con el desarrollo de una inmunidad protectora estimulada por el reto antigénico constante de estos animales, expuestos en el campo a los vectores de ambas infecciones parasitarias.²⁸

Es precisamente por esta condición inmune que el indicador de la estabilidad enzoótica en babesiosis se ha definido a partir de la medición de las inmunoglobulinas IgG en bovidos de 3 a 9 meses de edad, como reflejo del estado de inmunidad general del hato.^{12,25}

Por otro lado, a diferencia de lo que ocurre en babesiosis, se considera menos previsible el comportamiento enzoótico de la anaplasmosis a causa de la presencia de otros vectores diferentes a la garrapata involucrados en su transmisión, que hacen del control vectorial una estrategia con un alto nivel de incertidumbre en la eficiencia de los programas de control y erradicación de la anaplasmosis. De la misma forma, establecer el nivel enzoótico de anaplasmosis se convierte en un reto por la complejidad intrínseca del fenómeno.^{26,29}

En este sentido, un aporte significativo de este estudio fue la posibilidad de establecer la frecuencia de infección de la anaplasmosis y babesiosis por métodos parasitológicos directos, cuando la teoría propone el uso de técnicas indirectas para tal fin como la detección de anticuerpos tipo IgG por técnicas como IFI (del inglés, *indirect immuno-fluorescence assay*) y ELISA (del inglés, *enzyme-linked immuno-sorbent assay*), de acuerdo con las cuales, niveles de positividad cercanos a 75% de la población de 3 a 9 meses de edad son indicativos de las zonas con estabilidad enzoótica.

En este estudio, los resultados parasitológicos directos para ambos agentes, a pesar de no estar cercanos a los valores serológicos definidos para zonas estables, reflejan su potencial como indicador del nivel de estabilidad enzoótica con pruebas directas; teniendo en cuenta que en las regiones rurales colombianas el acceso a las pruebas indirectas es limitado, la microscopía de luz óptica se presenta como una estrategia adecuada para fines epizootiológicos, con una buena relación costo/beneficio y facilidades técnicas que las otras pruebas no poseen. Otras técnicas más

sensibles como las moleculares aún no se han desarrollado de manera adecuada para la detección de estos agentes infecciosos en nuestro medio.

AGRADECIMIENTOS

Al Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) por la financiación otorgada para realizar esta investigación, a la Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia por su apoyo logístico, y a los propietarios de las fincas participantes por su apoyo incondicional.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Este estudio recibió financiación del CODI, Universidad de Antioquia.

CONFLICTO DE INTERESES

Los investigadores declaramos la ausencia de conflicto de intereses o responsabilidades compartidas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mahecha L, Gallego L, Peláez F. Situación actual de la ganadería de carne en Colombia y alternativas para impulsar su competitividad y sostenibilidad. *Rev Col Cienc Pec.* 2002; 15: 213-25.
2. Nagarcenkar R. The role of buffalo in the developing world. *Boletín Especial Científico-Técnico.* 1976: 1-6.
3. Asociación Colombiana de Bufalistas (ACB). [Internet] Búfalos en Colombia. [Fecha de acceso: 10 de noviembre de 2009]. Disponible en: <http://www.unaga.org.co/asociados/búfalos.htm/>
4. Murgueitio E, Calle Z. Diversidad biológica en sistemas de ganadería bovina en Colombia. En: *Memorias. Agroforestería para la Producción Animal en Latinoamérica.* Roma: FAO; 1998: 27-46.
5. Campo E, Hincapié J. Búfalos de agua: La especie del tercer milenio. Tegucigalpa: UNAH; 2003: 21-3.
6. Alfaro C, Toro M, García F, Valle A. Epidemiología de la anaplasmosis bovina en el estado Monagas. Asociación con factores intrínsecos y extrínsecos del hospedador. *Veterinaria Trop.* 1998; 23(1): 65-79.
7. Bathia S, Pradhan K, Singh R. A note on the relative efficiency of intake and digestibility in cattle and buffalo. *Indian Vet J.* 1979; 49: 468-9.
8. Ferreri L, Benitez D, Dominguez M, Mesplet M, Schmittger L, Florin-Christensen M. Detection of *Babesia bovis* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) using a nested PCR assay. *Babesia World Summit II, Palermo, Italy, May 4-5, (Abstract) Parasitologia.* 2007; 49 supl 1: 85.
9. Vizcaíno O. Anaplasmosis y Babesiosis en el ganado bovino. *Control de Garrapatas.* Medellín (Colombia): CORPOICA; 1980. Compendio N° 39: 59-79.
10. Mateus J. Epidemiología de la babesiosis bovina. Seminario Internacional sobre Diagnóstico, Epidemiología y Control de Enfermedades Hemoparasitarias. Palmira (Colombia): Convenio Colombo Alemán ICA-GTZ; 1990. 11/22-24: 5-11.
11. Vizcaíno O. Anaplasmosis y Babesiosis; avances en su diagnóstico, epidemiología y control. En: *Seminario Internacional De Manejo de Ectoparásitos en Ganado Bovino.* Cartagena de Indias, Colombia: CICADEP; 1993. p. 24-6.
12. Quijano O. Prevalencia de anticuerpos contra *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* en bovinos de hatos del municipio de Barbosa (Antioquia). [Trabajo de Grado]. Medellín: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia; 1996.
13. Prada G, Crespo J. Determinación taxonómica de hemoparásitos y su prevalencia en Búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en el magdalena medio, Colombia. *Revista de Investigación.* 2006; 6(1): 67-73.
14. Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Volumen III. Parasitosis. Tercera Ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 2003.
15. Cordero M, Rojo F. *Parasitología Veterinaria.* Madrid: McGraw-Hill, Interamericana; 1999.
16. Sun T, Tenenbaum M, Greenspan J, Teichberg S, Wang R, Degnan T, et al. Morphologic and clinical observations in human infection with *Babesia microti*. *J Infect Dis.* 1983; 148(2): 239-48.
17. Brasseur P, Gorenflot A. Human Babesiosis in Europe. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1992; 87 supl 3: 131-2.
18. Giardina S. Fisiopatología de la interacción Anaplasma-hospedador. En: Giardina, S. y García, F. *Hemoparásitos: Biología y Diagnóstico.* Caracas: Colección Cuadernos USB; 1990: 75-87.
19. Contreras JA. *Enfermedades de los bovinos. Diagnóstico, tratamiento y control.* Primera Ed. Barquisimeto: RAPILIT; 1992: 519-37.
20. Ferreri L, Benitez D, Alcaraz E, Rodríguez A, Dominguez M, Asenzo G, et al. Water buffaloes as possible

- reservoirs for Bovine babesiosis in Argentina. En: 5th International Conference of Ticks and Tick-borne Pathogens. Neuchatel, Suiza; 2005.
21. Bonilla GL. Puerto Berrío. En: Murillo A. Historia de localidades en la región del Magdalena Medio. Medellín: Plan Nacional de Rehabilitación; 1991. p. 181-308.
 22. Resolución N° 008430 del 4 de Octubre de 1993. Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud de la República de Colombia. (Ministerio de Salud de acuerdo con disposición al artículo 2° del Decreto 2164 de 1992).
 23. Díaz D, Valera Z, De Andrade E, Parra O, Escalona R, Ramírez R. Prevalencia de *Anaplasma marginale* en bovinos del sector La Piñata, municipio La Cañada de Urdaneta: Estado Zulia Venezuela. Rev Cient (Maracaibo). 2003; 13(3): 193-8.
 24. Benavides E. Control de garrapatas, moscas y hemoparásitos en bovinos del trópico. Rev ICA Informa. 1992; 26(1): 9-15.
 25. Regassa A, Penzhorn B, Bryson N. Attainment of endemic stability to *Babesia bigemina* in cattle on a South African ranch where non-intensive tick control was applied. Vet Parasitol 2003; 116: 267-74.
 26. Jonsson N, Bock R, Jorgensen W. Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. Vet Parasitol. 2008; 155: 1-9.
 27. Magona J, Walubengo J, Olaho-Mukani W, Jonsson N, Welburn S, Eisler M. Clinical features associated with seroconversion to *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* and *Theileria parva* infections in African cattle under natural tick challenge. Vet Parasitol 2008; 155(3-4): 273-80.
 28. Escobar A. Inmunocompetencia del ternero recién nacido. Revista Despertar lechero. 1998; 16: 25.
 29. Carrique J, Morales G, Edelsten M. Endemic Instability for Babesiosis and Anaplasmosis in Cattle in the Bolivian Chaco. Vet J. 2000; 160: 162-164.