

ESTUDIO PROSPECTIVO DE LAS PRIMO INFECCIONES POR *BABESIA BOVIS* EN TERNEROS BRAHMAN Y BRANGUS DE UN ÁREA ENZOÓTICA DE CORRIENTES, ARGENTINA

MARTINEZ, I.¹; JACOBO, R.¹; CIPOLINI, F.¹; MARTINEZ, D.¹;
STORANI, C.¹; RAGAZZI, A.²; ECHAIDE, I.³ & TORIONI DE ECHAIDE, S.³

RESUMEN

Se evaluaron primo-infecciones causadas por *Babesia bovis* en terneros Brahman y Brangus en zona endémica de Corrientes, mediante la detección de: anticuerpos por ELISA-i, hematocrito y parasitemia en 48 vacas gestantes (195 días), de sus crías dentro de las 6 horas de vida (M1) y periódicamente hasta los 10 meses de edad (M2-M9). Para determinar la ingestión de calostro se utilizó la prueba del glutaraldehído (M1). La prevalencia de *B. bovis* en vacas fue del 97,91%. Los niveles de anticuerpos (M1) en terneros calostrados (n=15) fue 79,4 (14/15) Porcentaje de Positividad (PP), y el de sus madres 57,5% (47/48) PP (p<0,05) y en los no calostrados - anticuerpos generados durante la gestación - (n=33) fue 4,6 (1/33) PP. Hubo 4 perfiles serológicos, hasta 60 días (37%), 90 (23%), 120 (30%) y después de los 120 (10%). A los 9 meses de edad el 100% de los terneros presentó anticuerpos, sin padecer enfermedad.

Palabras claves: Babesiosis, inmunidad, estabilidad enzoótica en terneros Brahman y Brangus.

SUMMARY

Forecast study of primary *Babesia bovis* infections in calves of an endemic area in Corrientes.

Occurrence of primary *B. bovis* infections were evaluated in calves Brahman and Brangus from endemic areas of Corrientes, throughout antibody-detection by iELISA, hematocrit determination and parasitaemia in 48 pregnant cattle (195 days of pregnancy) and their calves within 6 hours of born (M1) and periodically until 10 months of age (M2-M9). Colostrums' ingestion was determinate by glutaraldehyd test (M1). Prevalence of *B. bovis* in cattle was 97,91%. The level of antibodies (M1)

1.- Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Facultad de Ciencias Veterinarias (UNNE). (3400) Corrientes.

Email: enfinfl@vet.unne.edu.ar

2.- Cátedra de Producción Bovina. Facultad de Ciencias Veterinarias (UNNE).

3.- Inta EEA Rafaela. C.C. 22. (2300) Rafaela, provincia de Santa Fe.

Manuscrito recibido el 21 de mayo de 2014 y aceptado para su publicación el 2 de noviembre de 2014.

I. Martínez *et al.*

in calves that consumed colostrums (n=15) was 79,4 PP and 57,5 PP in their mothers (p<0,05). In calves that did not consume colostrums -gestation-generated antibodies - it was 4,6 PP. There were 4 serologic profiles that suggest the occurrence of early infections, before day 60th (37%), 90th (23%), 120yh (30%) and belated after 120 days (10%). At the 9th month of age 100% of calves were infected, without evidence of illness.

Key words: Babesiosis, immunity, endemic stability in calves Brahman y Brangus.

INTRODUCCIÓN

Las garrapatas y las enfermedades que transmiten, son consideradas uno de los mayores problemas sanitarios en regiones tropicales y subtropicales del mundo (Payne & Scott 1982; Bock *et al.*, 2004).

La babesiosis es causada por un protozooario del *phylum* Apicomplexa género *Babesia* que parasita los eritrocitos de un amplio rango de animales domésticos, silvestres y ocasionalmente al hombre. El protozooario es transmitido por garrapatas de la familia Ixodidae. En nuestro país el único vector reconocido en el ganado bovino es la garrapata común, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Guglielmone, 1994).

Los efectos patógenos ocasionados por esta garrapata y *Babesia* spp., pueden afectar severamente la rentabilidad de las empresas rurales (Späth *et al.*, 1994).

El diagnóstico de babesiosis aguda se establece mediante la observación de signos clínicos como hemoglobinuria y encefalitis y la evaluación de parámetros clínicos como hipertermia, anemia y parasitemia, esta detección microscópica de *Babesia* spp. a través de extendidos de sangre (frotis fino) periférica teñidos con Giemsa sigue siendo el método de elección, fácil, rápido y accesible, para el diagnóstico (Böse *et al.*, 1995).

Se han desarrollado diferentes pruebas serológicas para la detección de los anticuerpos contra *Babesia* spp. Las más utilizadas son las inmunoenzimáticas (ELISA)

y la inmunofluorescencia indirecta (IFI), ambas recomendadas por la OIE (Rolls *et al.*, 2012). Estas técnicas, además de tener elevada sensibilidad y especificidad, pueden ser automatizadas y computarizadas lo que permite el procesamiento de muestras en gran escala. Se han desarrollado ELISAs basados en antígenos nativos con diferente grado de purificación obtenidos de eritrocitos parasitados (Waltisbuhl *et al.*, 1987), merozoitos (Echaide *et al.*, 2004) o de proteínas obtenidas por recombinación de secuencias de ADN (Böse *et al.*, 1990; Goff *et al.*, 2006; Domínguez *et al.*, 2012; Bono *et al.*, 2008).

La presentación clínica de la babesiosis es determinada por la fluctuación estacional de la población de garrapatas, debido a los cambios ambientales y al uso de acaricidas. La severidad de los casos dependen de la edad, la raza y el origen de los bovinos (Späth, 1986). La respuesta inmune contra *B. bovis* alcanza su mayor eficiencia en bovinos jóvenes que han adquirido inmunidad pasiva. Existe una estrecha relación entre la presencia de inmunoglobulinas contra *B. bovis* en el calostro y/o sangre de las madres y el suero sanguíneo de sus crías (González de Ríos, 1987).

La resistencia a padecer la babesiosis clínica en adultos dependerá de la inmunidad adquirida después de la vacunación con cepas vivas de escasa patogenicidad o la infección natural antes los 12 meses de edad. La inmunidad innata, protectora en animales jóvenes, depende de la acción de

macró-fagos, linfocitos NK y diversas citoquinas (IL2, IL12, INF?) y de la ingestión de anticuerpos calostrales. Esta respuesta pierde eficiencia durante la edad adulta y los bovinos pueden sufrir la forma más severa de la babesiosis (Goff *et al.*, 2010). Los bovinos que se recuperan de una infección con *B. bovis* permanecen persistentemente infectados y son resistentes a reinfecciones con cepas heterólogas de la misma especie. El modelo matemático de Mahoney (Mahoney & Ross, 1972), estableció la proporción de picaduras infectantes (tasa de inoculación por garrapatas) necesaria para lograr que >75% de los terneros se infecten por *B. bovis* antes de los 9 meses de edad promedio. Se estima que si se mantiene la tasa de inoculación, el 100% de los bovinos de esa cohorte estará infectada a los 12 meses de edad. En estos casos existe escasa probabilidad de que ocurran brotes de babesiosis durante la edad adulta, situación denominada de estabilidad enzoótica, la cual se evalúa mediante serología. Este modelo ha sido evaluado y adoptado en Argentina (Vanzini *et al.*, 1999; Mastropaolo *et al.*, 2009).

El objetivo del trabajo fue determinar la ocurrencia de las primo infecciones en los terneros desde el momento de su nacimiento hasta los 9 meses en promedio de edad, para así establecer la situación de estabilidad enzoótica.

MATERIALES Y MÉTODOS

BOVINOS:

Se trabajó con un rodeo de bovinos localizado en el departamento Concepción de la provincia de Corrientes, Latitud: -28.655314° Longitud: -58.221712°. La cohorte estudiada incluyó 48 vacas de las razas Brahman y Brangus con 195 días de gestación promedio y sus crías. La edad

promedio de las madres al iniciar el trabajo fue de 5 años (rango: 3-7 años). Las hembras preñadas próximas al parto se aislaron en corrales para facilitar la obtención de muestras de los terneros antes de la ingesta de calostro.

MUESTRAS:

De las madres y de los terneros se tomaron 5 ml de sangre por punción de la vena yugular, con citrato de sodio al 10% como anticoagulante y 5 ml sin anticoagulante para la obtención del suero. Todas las muestras se mantuvieron a -20°C hasta su análisis.

De las madres se obtuvo una única muestra a los 70 días previo al parto. De los terneros se obtuvo la primera muestra (M1) durante los meses de Agosto y Septiembre de 2009, cuando ocurrieron los partos. Para evaluar las fluctuaciones de los niveles de anticuerpos en los mismos, se tomaron ocho muestras adicionales con una periodicidad promedio de 41,5 días ($\pm 23,04$) (M2-M9) y se extendieron hasta los 10 meses de edad (Cuadro 1).

TÉCNICAS:

* Parasitemia: Los frotis finos se secaron, se fijaron con alcohol metílico, se tiñeron con Giemsa y se observaron al microscopio óptico con inmersión (1000x). El método utilizado fue el de cuantificación en lámina para hemoparásitos, aplicando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Glóbulos rojos parasitados} \times 100}{\text{Glóbulos Rojos totales en 20 campos}}$$

* Volumen globular: La proporción del volumen total de eritrocitos se estimó utilizando la técnica de microhematocrito.

* Prueba de Glutaraldehído: Se realizó según la técnica descrita por Sandholm (1974), para determinar la ingesta de calostro. Se interpretó que los terneros habían

I. Martínez *et al.*

ingerido calostro cuando sus sueros coagularon dentro de los 30 minutos de agregado el glutaraldehído.

* ELISA indirecto: La presencia de anticuerpos específicos contra *B. bovis* en las muestras de suero se determinó mediante ELISA-i (Echaide *et al.*, 2004). Los sueros se diluyeron 1/100 antes de ser usados en cada prueba. Los resultados de ELISA se expresaron en porcentaje de positividad (PP). Las vacas cuyos sueros tuvieron títulos de anticuerpos $\geq 20PP$ (ELISAi) se consideraron infectadas. Los sueros de terneros se analizaron mediante ELISAi y los resultados se interpretaron en relación a los PP obtenidos para la M1 de los terneros nacidos de madres negativas, estableciéndose arbitrariamente como el promedio de PP obtenido en este grupo, más 3 desvíos estándar (DE).

RESULTADOS

El 97,91% (47/48) de las vacas resultó positiva a ELISA para *B. bovis* con títulos entre 22 y 93PP. La única vaca que resultó negativa, tenía un título de 17PP.

Los valores del ELISA-i correspondientes a madres y terneros en la M1, se describen en el Cuadro 2.

Se determinó una concordancia del 93,3% entre madres positivas y sus respectivos terneros (n=15) que habían ingerido calostro (M1). En este grupo se registró un caso en que el nivel de anticuerpos del ternero fue negativo (5PP). El 71% de los terneros mostró niveles de anticuerpos calostrales superior a los detectados en el suero de sus madres (Fig. 1).

En el grupo de terneros que no consumieron calostro (n=33), los niveles de anticuerpos fluctuaron entre 1 y 5 PP, a excepción de un ternero cuyo título fue de 18PP en la M1, valor significativamente superior al promedio de dicho grupo.

En el grupo de terneros que no consumieron calostro (n=33), los niveles de anticuerpos fluctuaron entre 1 y 5 PP, a excepción de un ternero cuyo título fue de 18PP en la M1, valor significativamente superior al promedio de dicho grupo.

La evolución de los anticuerpos contra *B. bovis* desde el nacimiento hasta los 120 días de edad, se evaluó en 30 terneros que no habían calostrado y cuyo muestreo es-

Cuadro 1: Categorías, muestras obtenidas y momento de la toma de muestras.

Categoría	Momento	Muestras
Madres n=48	M0 (60 días pre-parto)	Sangre con y sin anticoagulante. Frotis finos
Terneros* n=48	M1-M9	Sangre con y sin anticoagulante. Frotis finos

*No todos los terneros tuvieron muestras de sangre en cada muestreo a través del experimento.

Estudio prospectivo de las primo infecciones

taba completo, lo que permitió establecer cuatro perfiles serológicos (P1, P2, P3 y P4) (Fig. 2).

El P1 mostró que el 37% de los terneros tuvo un incremento constante del nivel de anticuerpos promedio. El P2 y P3 representados por el 23% y el 30% de los terneros, mostraron puntos de inflexión seguido por un incremento del nivel de anticuerpos

promedio a los 90 y 60 días después del nacimiento respectivamente.

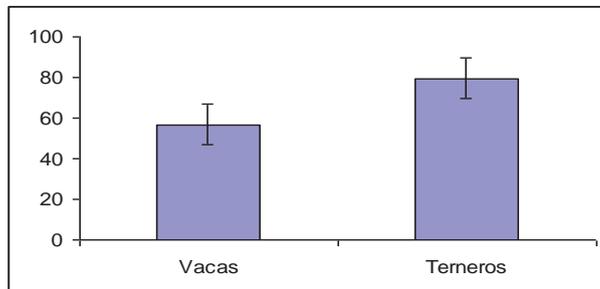
El P4, incluyó el 10% de los terneros y mostró el nivel máximo de anticuerpos a los 30 días post-nacimiento con un descenso progresivo, indicando el tiempo de extinción de los anticuerpos calostrales a los 120 días desde el nacimiento.

Cuadro 2: Resultados de la MI en madres y terneros, discriminados según categoría y condición inmunológica. Valor promedio para ELISA-i, expresados en porcentaje de positividad (PP), desvío estándar (DE) y punto de corte.

Categoría y condición inmunológica	N	Valor ELISA-i (\bar{x}) PP	Desvío estándar (DE)	Punto de corte (PP)
Terneros sin ingesta de calostro	33	4,06	±2,82	≥12,55
Terneros con ingesta de calostro	15	79,43 ^a	±19,09	
Madres de los terneros con ingesta de calostro	15	57,47 ^b	±18,44	≥20
Total de Madres	48	55,38	±18,55	

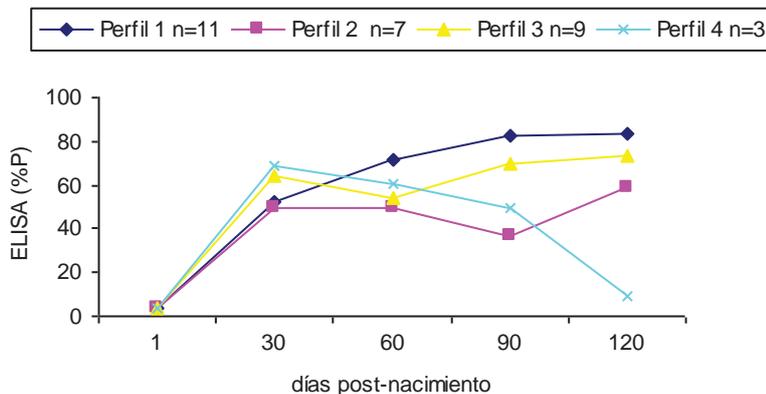
Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas.

Fig. 1: Niveles promedio de anticuerpos contra *Babesia bovis* detectados por ELISA en un grupo de vacas entre 2 y 4 meses antes del parto y en sus terneros después de la ingesta de calostro (n=14).



I. Martínez *et al.*

Fig. 2: Perfiles de anticuerpos contra *Babesia bovis* detectados en una cohorte de terneros ($n=30$) nacidos de vacas infectadas, desde antes de la ingesta de calostro hasta los 120 días post-nacimiento.



Los 18 terneros restantes no tuvieron muestras consecutivas o habían ingerido calostro antes de la toma de la primera muestra, por lo que se incluyeron en el análisis a los 9 meses de edad, donde el 100% de los terneros resultaron positivos en ELISA-i. El valor promedio de los hematocritos en terneros (M1-M9) fue de 34,6% ($\pm 0,04$) y no se observaron hemoparásitos en los frotis obtenidos de sangre capilar.

DISCUSIÓN

Existe una estrecha relación entre la presencia de inmunoglobulinas G contra *B. bovis* en el calostro y/o sangre de las madres y en el suero sanguíneo de sus crías (González de Ríos, 1987). Esta observación fue confirmada por los resultados obtenidos en el presente estudio, donde el 97,91% de las vacas transfirió anticuerpos a sus crías a través del calostro, y éstos evidenciaron niveles significativamente superiores a los de sus madres. La extinción de los anticuerpos calostrales se observó a los 120 días (P4),

cuando alcanzaron su nivel mínimo. Esto fue similar a lo descrito para *B. bigemina* donde se estimó una persistencia media de 119 días (Ross y Lohr, 1970) mientras que Weisman *et al.* (1974) observaron un rango de 7 a 148 días. En contraste la vida media de los anticuerpos calostrales para *B. bovis* varió entre 7 y 12 días, con una persistencia aproximada a 30 días en rodeos en inestabilidad enzoótica (González de Ríos, 1987).

La detección de un ternero positivo en ELISA-i (18 PP) que no había ingerido calostro sugiere una infección transplacentaria (Alcalaz *et al.*, 2004), la que no pudo ser confirmada por PCR e inoculación en terneros esplenectomizados. Alternativamente se debería considerar una reacción inespecífica inherente a la especificidad del ELISA (Mastropaolo *et al.*, 2004).

Por el contrario, no se detectaron anticuerpos calostrales en un ternero nacido de una vaca infectada a pesar de haberse demostrado la ingestión de calostro. Similares resultados descriptos previamente fueron atribuidos a una baja concentración de anticuerpos en el calostro, inadecuada ingestión de calostro y/o disminución de la capacidad

de absorción del intestino (Weisman *et al.*, 1974; Gonzalez de Ríos, 1989).

Los perfiles serológicos (P1, P2 y P3) detectados en los terneros del rodeo no permitieron definir el momento de las primo-infecciones debido al solapamiento entre los anticuerpos calostrales y los generados por las infecciones naturales. Sin embargo en los P2 y P3 los puntos de inflexión observados a los 90 y 60 días respectivamente evidencian una respuesta inmune a infecciones ocurridas con anterioridad. Esto indicaría que en un rodeo infectado por *B. bovis* y en estabilidad enzoótica, la mayoría de las infecciones ocurrirían antes de la extinción de los anticuerpos calostrales. La infección natural temprana por *B. bovis* en terneros también fue reportada en rodeos en inestabilidad enzoótica donde se detectó un incremento de la prevalencia a los 31 y 58 días después del nacimiento, cuando la mayoría de los anticuerpos calostrales ya no eran detectados (González de Ríos, 1987).

En el 10% de los casos (P4) se detectaron infecciones naturales después de los 120 días, pero en ningún caso se registraron signos de babesiosis, los valores de hematocrito fueron normales y los frotis negativos, lo que se ha atribuido a la acción de los anticuerpos calostrales y una sólida respuesta inmune innata de los terneros, capaces de controlar la infección por *B. bovis* (Goff *et al.*, 2010). Calder, 1996 mencionaron que la mayoría de los eritrocitos parasitados por *B. bovis* se secuestran en los capilares viscerales, disminuyendo su presencia en la circulación periférica. A ello debe agregarse que la detección de *B. bovis* en frotis teñidos con Giemsa, se restringe a un breve período

variable de 8 a 15 días posinfección. Para estos estudios sería apropiado la utilización de la PCR, por su mayor sensibilidad, para identificar el parásito y establecer con precisión el momento de las primo-infecciones (Figuroa *et al.*, 1994). En contraste con nuestros resultados, González de Ríos (1987), registró casos clínicos de babesiosis por *B. bovis* (4,8%, 3,4% y 8,7%), en tres cohortes de terneros Holando Argentino menores de 9 meses de edad. Esto podría ser atribuido a una mayor susceptibilidad de esa raza lechera de menor adaptación a climas subtropicales. En cambio en el presente estudio se utilizaron terneros *Bos indicus* y sus cruza, las que muestran una mayor resistencia a la infección por *B. bovis* (Bock *et al.*, 1997).

CONCLUSIONES

Las infecciones posnatales por *B. bovis* en la cohorte en estudio de un área enzoótica de babesiosis ocurrieron antes de los 9 meses de edad, situación deseable en estas zonas.

La población de *R. microplus* infectadas fue suficiente para asegurar la tasa de inoculación necesaria para asegurar la estabilidad enzoótica del rodeo. El estudio serológico prospectivo permitió establecer la fluctuación del nivel de anticuerpos contra *B. bovis* y reconocer los períodos de ocurrencia de infecciones naturales.

La ausencia de casos clínicos en terneros es congruente con un eficiente control de la infección atribuido a la inmunidad innata, a los anticuerpos calostrales.

BIBLIOGRAFÍA

- ALCALAZ, E.; RIZZI, C. & DRAGHI, M.G.** 2004. Aborto bovino por transmisión transplacentaria de *Babesia bovis*. Trabajo presentado en el XV Simposio de Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. Buenos Aires.
- BOCK, R. E.; DE VOS, A.J.; KINGSTON, T.G. & MCLELLAN, D.J.** 1997. Effect of breed of cattle on innate resistance to infection with *Babesia bovis*, *B. bigemina* and *Anaplasma marginale*. *Australian Veterinary Journal* 75: 337-340.
- BOCK, R.; JACKSON, L.; DE VOS, A. & JORGENSEN, W.** 2004. Babesiosis of cattle. *Parasitology*. 129: S247-S269.
- BÖSE, R., JACOBSON, R.H., GALE, K.R., WALTISBUHL, D.J. & WRIGHT, L.G.** 1990. An improved ELISA for the detection of antibodies against *Babesia bovis* using either a native or a recombinant *B. bovis* antigen. *Parasitol. Res.*, 76: 648-652.
- BÖSE, R.; JORGENSEN, W.K.; DALGLIESH, R.J.; FRIEDHOFF, K.T. & DE VOS, A.J.** 1995. Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. *Veterinary Parasitology* 57: 61-74.
- CALDER, J. A.; REDDY, L.P.; CHIEVES, C.H.; COURTHEY, R.; LITTELL, J.R.; LIVENGOOD, R.A.; NORVAL, C. & SMITH, J.B.** 1996. Monitoring *Babesia bovis* infections in cattle by using PCR-based test. *Journal of Clinical Microbiology*, 11, pp. 2748 - 2755.
- ECHAIDE, I; VALENTINI, B.; TORIONI DE ECHAIDE, S; MANGOLD, A. & LUGARESI, C.** 2004. ELISA para el diagnóstico de babesiosis bovina causada por *Babesia bovis*. XIX Congreso Internacional Panamericano de Veterinaria, Buenos Aires, Argentina 24-28/X/ 2004. Resumen CD PANVET. <http://www.panalimentos.org/panvet2004/index.htm>.
- FIGUEROA, J.V.; CHIEVES, L.P.; JOHNSON, G.S. & BUENING, G.M.** 1992. Detection of *Babesia bigemina*-Infected Carriers by Polymerase Chain Reaction Amplification. *J. Clin. Microbiol.* 30: 2576-2582.
- FIGUEROA, J.V.; CHIEVES, L.P.; JOHNSON, G.S. & BUENING, G.M.** 1994. Polymerase Chain Reaction based Diagnostic Assay to detect cattle Chronically infected with *Babesia bovis* *Rev. Lat. Amer. Microbiol.* 36:1-69.
- BONO, M.F.; MANGOLD, A.J.; BARAVALLE, M.E.; VALENTINI, B.S.; THOMPSON, C.S.; WILKOWSKY, S.E.; ECHAIDE, I.E; FARBER, M.D. & TORIONI DE ECHAIDE, S.M.** 2008. Efficiency of a recombinant MSA-2c-based ELISA to establish the persistence of antibodies in cattle vaccinated with *Babesia bovis*. *Vet. Parasitol.* 157:203-207.
- DOMINGUEZ, M.; ECHAIDE, I.; DE ECHAIDE, S.T.; WILKOWSKY, S.; ZABAL, O.; MOSQUEDA, J.J.; SCHNITTGER, L. & FLORIN-CHRISTENSEN, M.** 2012. Validation and field evaluation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Babesia bovis* infections in Argentina. *Clin Vaccine Immunol.* 19(6):924-8.
- FAHRIMAL, Y.; GOFF, W.L. & JASMER, D.P.** 1992. Detection of *Babesia bovis* carrier cattle by using polymerase chain reaction amplification of parasite DNA. *J. Clin. Microbiol.*, 30:1374-1379.
- GOFF, W.; MOLLOY, J.; JOHNSON, W.; SUAREZ, C.; PINO, I.; RHALEM, A.; SAHIBI, H.; CECI, L.; CARELLI, G.; ADAMS, D.; MCGUIRE, T.; KNOWLES, D. & MCELWAIN, T.** 2006. Validation of a Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Antibodies against *Babesia bovis*. *Cl. Vaccine Immunol* 13:1212-1216.

- GOFF, W.L.; BASTOS, R.G.; BROWN, W.C.; JOHNSON, W.C. & SCHNEIDER, D.A.** 2010. The bovine spleen: Interactions among splenic cell populations in the innate immunologic control of hemoparasitic infections. *Immunol. Immunopatol.* 138:1-14.
- GONZÁLEZ DE RÍOS, L.** 1987. Inmunidad pasiva y activa contra *Babesia bovis* en terneros de un área enzoótica del noroeste argentino. *Rev. Iber. Parasitol.*, 47 (3): 237-245.
- GUGLIELMONE, A.A.** 1994. Epidemiología y prevención de hemoparásitos (*Babesia* y *Anaplasma*). Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control. Capítulo 23. En: A. Nari, C. Fiel (Ed.), rumiantes: fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control. Editorial Hemisferio Sur, Montevideo 461-479.
- MAHONEY, D.F. & ROSS, D.R.** 1972. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. *Australian Veterinary Journal.* Vol 43, :292-298.
- MASTROPAOLO, M.; TORIONDE ECHAIDE, S.; CUATRÍN, A.; ARECE, H.; LOBATO, S. & MANGOLD, A. J.** 2009. Situación de la babesiosis y anaplasmosis de los bovinos en el sudoeste de la provincia del Chaco. *FAVE*, 8 (1) 29-35.
- PAYNE, R.C. & SCOTT, M.J.** 1982. Anaplasmosis and babesiosis in El Salvador. *Tropical Animal Health Production.* 14: 75-80.
- ROLLS, P.J.; BOCK, R.E.; DE VOS, A.J.; WALDRON, S.J. & ECHAIDE, I.E.** 2012. Bovine babesiosis. In: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.* World Organization for Animal Health (OIE). Chapter 2.4.2. Vol I. Pages: 601-650.
- ROSS, J.P.J. & LOHR, K. F.** 1970. Übertragung und Verweildauer von kolostralerworben *Babesia bigemina* und *Anaplasma marginale* antikorpen, *zeitschr. Tropenmed. Parasitol.* 1970 21:401-411.
- SANDHOLM, M.** 1974. A Preliminary Report of a Rapid Method for the Demonstration of Abnormal Gammaglobulin Levels in Bovine Whole Blood. *Res. Vet. Sci.* 17: 32-35.
- SPÄTH, E.J.A.** 1986. Un estudio epidemiológico de anaplasmosis y babesiosis en el Valle de Lerma, Pcia. de Salta. *Rev. Med. Vet.* 67:274-278.
- SPATH, E.J.A.; GUGLIELMONE, A.A. & RÍOS, L.G. de.** 1994. Estimación de las pérdidas económicas directas producidas por la garrapata *Boophilus microplus* y las enfermedades asociadas en la Argentina. (1° Parte). *Terrizo* 23 (116) :341-360.
- VANZINI, V.R.; MANGOLD, A.J. & GUGLIERMONE, A.A.** 1999. Modelo técnico-económico para la prevención de la babesiosis y la anaplasmosis de los bovinos en la ganadería de cría extensiva de la provincia de Corrientes. *Therios.* Vol 28. Nº 147.
- WALTISBUHL, D.J.; GOODGER, B.V.; WRIGHT, I.G.; COMMINS, M.A. & MAHONEY, D.F.** 1987. An enzyme linked immunosorbent assay to diagnose *Babesia bovis* infection in cattle. *Parasitology Research* 73 (2): 126-131.
- WEISMAN J.; GOLDMAN, M.; MAYER, E. & PIPANO, E.** 1974. Passive transfer to newborn calves of maternal antibodies against *Babesia bigemina* and *Babesia berbera*. *Refu. Vet.* 11: 108-113.