

Manual para el abordaje diagnóstico de la babesiosis y anaplasmosis bovina en Argentina

Mazzucco Panizza, M.; Morel, N.; Wilkowsky, S. E.; Primo, M. E.; Olmos, L.; Pertile, C.; Sarmiento, N.; Rossner, M. V.; Abdala, A.; Cantón, G. J.; Ganzinelli, S.; Thompson, C.; Guillemi, E.; Nava, S.



Manual para el abordaje diagnóstico de la babesiosis y anaplasmosis bovina en Argentina /
Matilde Mazzucco Panizza, Nicolás Morel ...[et al.]. N°1, año 1
Serie Estudios agropecuarios ISSN 3008-8631

INTA
Centro Regional Chaco - Formosa
Estación Experimental Agropecuaria "Dr. Augusto G. Schulz" Colonia Benítez
Febrero 2024
Libro digital, PDF

Diseño gráfico
Sra. Cecilia Claudia Gauna.

Dirección
Av. Marcos Briolini N° 750 C.P. (3505) Colonia Benítez, Chaco Argentina
Email: eeacoloniab@inta.gob.ar
www.argentina.gob.ar/inta/cr-chaco-formosa/eea-benitez

*Este libro
se encuentra con licencia:*



Manual para el abordaje diagnóstico de la babesiosis y anaplasmosis bovina en Argentina

Autores

Mazzucco Panizza, M¹; Morel, N¹; Wilkowsky, S E²; Primo, M E¹; Olmos, L³; Pertile, C⁴; Sarmiento, N; Rossner, M V⁵; Abdala, A¹; Cantón, G J⁶; Ganzinelli, S⁷; Thompson, C¹; Guillemi, E²; Nava, S¹

¹ Instituto de Investigación de la Cadena Láctea, INTA-CONICET; ² Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA-CONICET; ³ Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido, Centro de Investigaciones Agropecuarias INTA; ⁴ Laboratorio de Sanidad Animal, EEA INTA Mercedes; ⁵ EEA INTA Colonia Benítez; ⁶ Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible, INTA-CONICET; ⁷ Instituto de Patobiología Veterinaria, INTA-CONICET.



**Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria
Argentina**

Índice de temas

Temas	Páginas
Prólogo	1
Introducción	2
Diagnóstico de casos clínicos	2
Determinación del índice de hematocrito	6
Observación microscópica de extendidos de sangre	6
Animal muerto	8
Diagnóstico epidemiológico	8
Técnicas moleculares	11
Agradecimientos	11
Referencias	12
Anexo.	15

Índice de figuras

Figuras	Páginas
Figura 1. Bovinos enfermos con babesiosis/anaplasmosis	4
Figura 2. Lesiones macroscópicas de hallazgo frecuente en casos de babesiosis/anaplasmosis bovina.	4
Figura 3. Algoritmo para el diagnóstico de casos clínicos de babesiosis/anaplasmosis bovina	5
Figura 4. Algoritmo de diagnóstico epidemiológico de babesiosis/anaplasmosis bovina	10

Índice de tablas

Tabla	Página
Tabla 1. Tamaño muestral requerido en función de la prevalencia esperada de infección con <i>Anaplasma</i> spp., para determinación del estatus sanitario de un rodeo	4

Prólogo

La babesiosis y la anaplasmosis bovina son dos enfermedades infecciosas causantes de importantes pérdidas económicas para la producción ganadera en el centro y norte de la Argentina, principalmente en concepto de mortandad de bovinos adultos. Tanto la aplicación de tratamientos con antimicrobianos ante el surgimiento de casos clínicos, como la implementación de medidas preventivas a través de planes de vacunación, requieren que las decisiones diagnósticas y terapéuticas sean expeditivas y certeras. En el marco del desarrollo del proyecto estructural sobre control de enfermedades subtropicales y/o transmitidas por vectores (PE-E5-I109), perteneciente a la cartera de proyectos 2019-2023 del programa de Salud Animal del INTA, investigadores e investigadoras pertenecientes a distintas unidades de la institución consensuaron las bases técnicas para la confección del presente "Manual para el abordaje diagnóstico de la babesiosis y anaplasmosis bovina en Argentina". Se espera que el mismo se constituya en una herramienta práctica que guíe la toma de decisiones de los y las profesionales del campo veterinario para mitigar o prevenir el impacto de estas enfermedades en establecimientos ganaderos del territorio argentino.

Ariel Pereda

Introducción

La babesiosis y la anaplasmosis bovina son enfermedades de alto impacto sanitario y económico para la ganadería argentina^{1,10}, causadas por hemoparásitos. En nuestro país, la babesiosis bovina puede ser causada por *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, protozoos intracelulares que son transmitidos exclusivamente por la garrapata *Rhipicephalus microplus*. Es por ello que la presentación de casos de babesiosis bovina en Argentina coincide con la zona de presencia de *R. microplus*, la cual se distribuye al norte del paralelo 31° S. Excepcionalmente se han reportado brotes de babesiosis en zonas libres de garrapatas, relacionados al movimiento de animales infestados con garrapatas^{8,9}. Por su parte, la anaplasmosis bovina es causada por *Anaplasma marginale*, una bacteria transmitida por garrapatas, dípteros hematófagos y elementos cortopunzantes o palpación transrectal con guantes contaminados con sangre de bovinos infectados, razón por la cual la circulación de *A. marginale* excede a la zona de presencia de garrapatas. La anaplasmosis bovina se considera endémica al norte del paralelo 33° S, y no endémica, pero con aparición de brotes esporádicos al sur de esta latitud¹².

En Argentina la prevención de estas enfermedades se realiza mediante inmunización de bovinos de 4 a 10 meses de edad con vacunas vivas compuestas por cepas atenuadas de *B. bovis* y *B. bigemina* y la especie naturalmente menos patógena *Anaplasma centrale*. Esta última proporciona inmunidad cruzada contra *A. marginale*.

En el presente manual se presentan dos algoritmos, uno para el diagnóstico de casos clínicos y otro de diagnóstico epidemiológico. El primero tiene como objetivo guiar en el empleo de técnicas de laboratorio para la confirmación de casos clínicos presuntivos de babesiosis/anaplasmosis bovina. El algoritmo de diagnóstico epidemiológico es una herramienta que permite inferir el nivel de inmunidad de un rodeo bovino, el cual es de utilidad para tomar decisiones sobre la inmunización de los animales contra *A. marginale*, *B. bovis* y *B. bigemina*.

Diagnóstico de casos clínicos

Al momento de abordar el diagnóstico de casos clínicos de babesiosis/anaplasmosis bovina, debe considerarse la información obtenida de la observación de las lesiones anatomo-patológicas halladas en la necropsia y de la anamnesis realizada en cada caso en particular. La forma clínica severa de estas enfermedades por lo general ocurre en primo infecciones en animales mayores a los 10-12 meses de edad, mientras que, en bovinos menores al año, la enfermedad es generalmente subclínica. El biotipo bovino puede condicionar la severidad del cuadro clínico, siendo las razas puras británicas por lo general más susceptibles a la enfermedad que las índicas o cruzas⁴.

El periodo de incubación también es un dato de relevancia, ya que existen variaciones entre los hemoparásitos involucrados. Para *B. bovis* y *B. bigemina*, el periodo de incubación es de aproximadamente 6 a 15 días, mientras que para *A. marginale* fluctúa generalmente entre 30 a 60 días, aunque en ocasiones pueden presentarse manifestaciones clínicas a partir del día 20. Considerar el área de distribución de la garrapata *R. microplus* también puede ser de utilidad. Así, en casos clínicos de zona libre de garrapatas se sugiere enfocar el diagnóstico en la anaplasmosis bovina, mientras que en zonas infestadas con garrapatas es necesario considerar tanto la anaplasmosis como la babesiosis bovina.

Estas enfermedades producen anemia y comparten signos clínicos inespecíficos como palidez de las mucosas, ictericia, fiebre, decaimiento, orejas caídas, anorexia, debilidad, taquicardia, taquipnea, apatía, pérdida de peso, disminución de la producción láctea y abortos (Figura 1). Sin embargo, existen ciertas diferencias entre ellas. En la babesiosis por *B. bovis* pueden presentarse cuadros neurológicos con signos clínicos como depresión, manía, ataxia, temblores musculares, agresividad, decúbito con movimientos de pedaleo y nistagmo. Esto es debido a que los eritrocitos parasitados con *B. bovis* se acumulan en capilares sanguíneos de distintos órganos, incluido el cerebro, pudiendo observarse a la necropsia meninges, cerebro y cerebelo muy congestivos. En la babesiosis por *B. bigemina* se produce una intensa lisis intravascular de los eritrocitos, lo cual se manifiesta clínicamente con anemia marcada, hemoglobinuria e ictericia, signos que también pueden presentarse en la babesiosis por *B. bovis*. En la anaplasmosis bovina, en cambio, ocurre lisis extravascular de eritrocitos, principalmente en hígado y bazo, lo que produce como signos característicos intensa anemia e ictericia, pudiendo presentarse orina oscura de color marrón por acumulación de pigmentos biliares, pero no hemoglobinuria. Otros signos característicos de la anaplasmosis bovina son abortos, agresividad, incoordinación y dificultad respiratoria, debido a la hipoxia generada en los tejidos. En ocasiones puede manifestarse muerte súbita por ruptura espontánea de bazo.

En animales muertos por babesiosis/anaplasmosis bovina se observan lesiones macroscópicas y microscópicas compatibles con anemia, hemólisis, hemorragia, hipoxia y elevada actividad fagocítica en hígado y bazo (Figura 2). En el Anexo se encuentra una descripción exhaustiva de las lesiones macroscópicas y microscópicas de hallazgo frecuente.

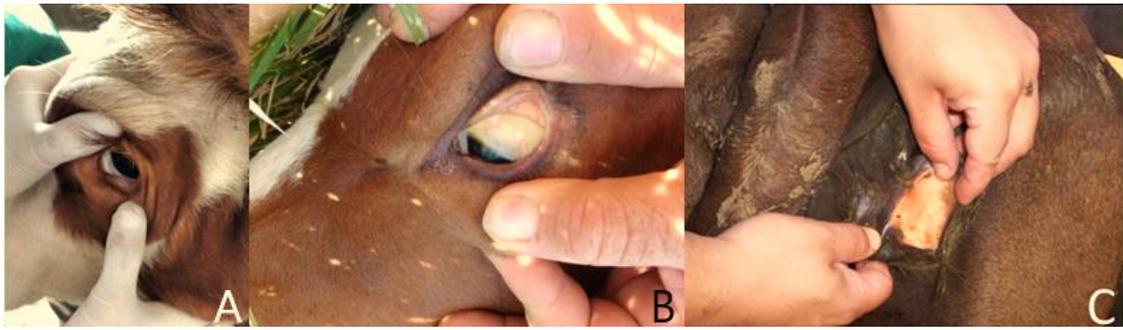


Figura 1. Bovinos enfermos con babesiosis/anaplasmosis. A: palidez en mucosa ocular; B: ictericia en mucosa ocular; C: ictericia en mucosa vulvar.

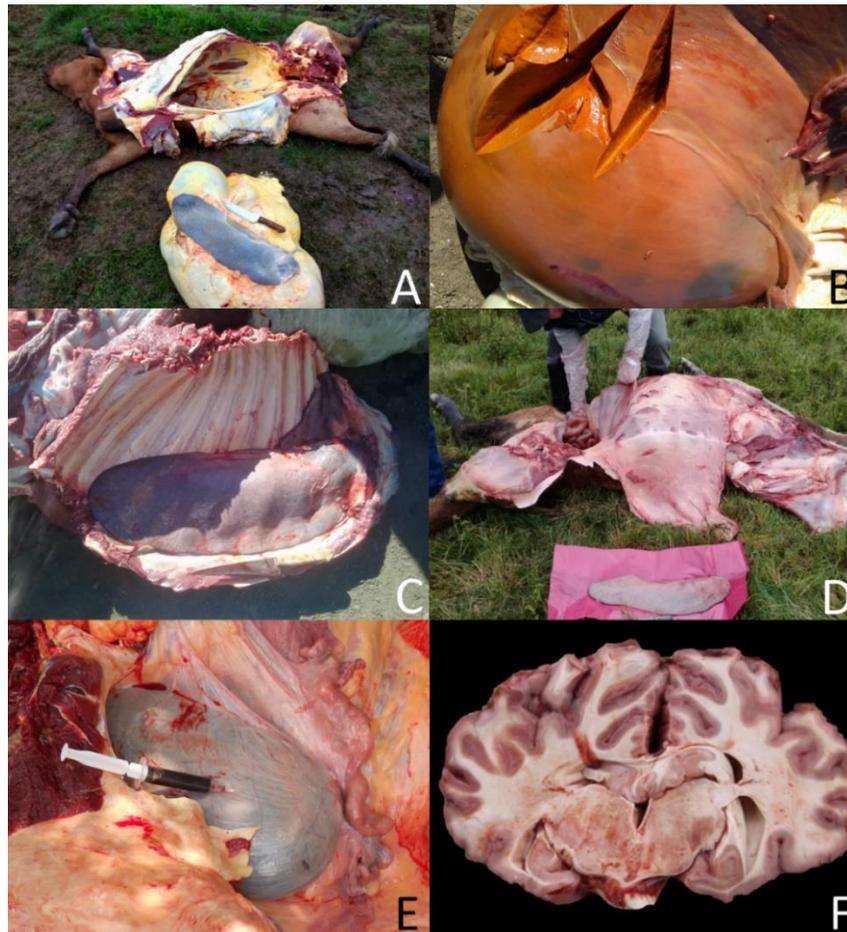


Figura 2. Lesiones macroscópicas de hallazgo frecuente en casos de babesiosis/anaplasmosis bovina. A: ictericia generalizada, esplenomegalia; B: hígado con hepatomegalia, bordes redondeados y coloración naranja-ocre; C: esplenomegalia; D: palidez y anemia generalizada, esplenomegalia; E: contenido sanguinolento en vejiga (hemoglobinuria); F: cerebro "rosado", congestivo, característico de babesiosis por *B. bovis*.

Si bien estas enfermedades presentan ciertas características específicas en su patogenia, manifestación clínica y lesiones a la necropsia, el diagnóstico etiológico debe incluir necesariamente pruebas confirmatorias de laboratorio¹⁴. El algoritmo para el diagnóstico de casos clínicos presentado en la Figura 3, se aplica al análisis de muestras obtenidas en animales con signos clínicos o lesiones compatibles con anaplasmosis o babesiosis bovina.

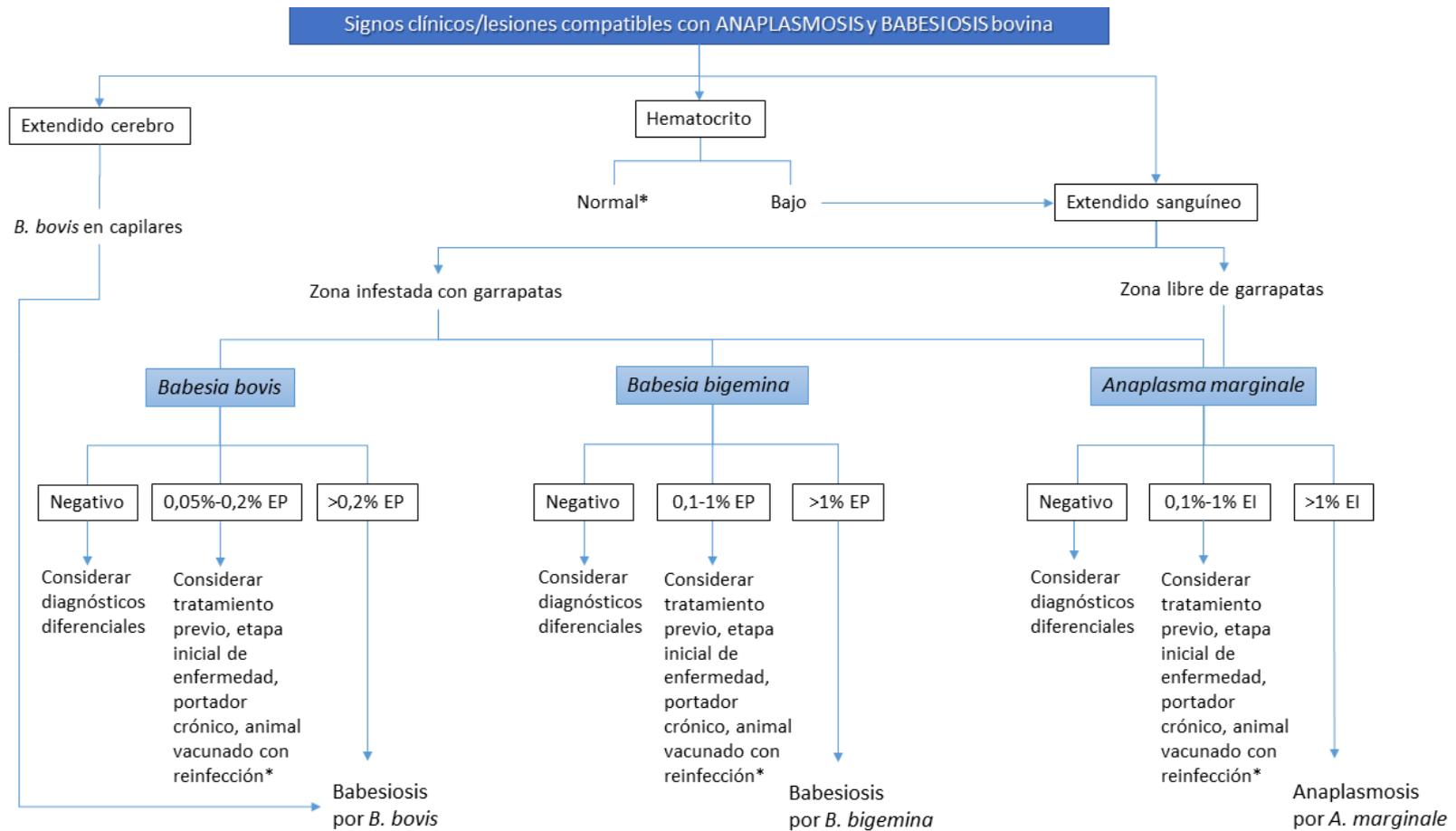


Figura 3. Algoritmo para el diagnóstico de casos clínicos de babesiosis/anaplasmosis bovina. EP: Eritrocitos Parasitados; EI: Eritrocitos Infectados; *Se abordará el diagnóstico según datos de anamnesis, tipo de anemia y/o resultados del algoritmo en muestras pareadas o seriadas.

Determinación del índice de hematocrito

El índice de hematocrito se calcula a partir de una muestra de sangre con anticoagulante de animales enfermos con signos clínicos compatibles con babesiosis/anaplasmosis. El rango normal de valores de hematocrito en bovinos varía entre el 25 y 35 %. Valores menores a 25 % confirman la anemia y orientan a continuar el camino diagnóstico sugerido en el algoritmo.

Observación microscópica de extendidos de sangre

Para el diagnóstico de ambas enfermedades es fundamental la observación microscópica del microorganismo en extendidos de sangre teñidos con Giemsa, razón por la cual las muestras deben obtenerse de manera previa a la administración de antimicrobianos. Los extendidos se confeccionan de manera indistinta, independientemente de cuál sea la enfermedad sospechada. Lo que varía, de acuerdo con el diagnóstico presuntivo, es el lugar de obtención de la muestra de sangre. Para el diagnóstico de babesiosis bovina, el extendido sanguíneo debe realizarse preferentemente con sangre capilar (por ejemplo, de punta de cola u oreja) dado que *B. bovis* ocasiona el secuestro de los eritrocitos parasitados en capilares sanguíneos. Mientras que el extendido para diagnóstico de *Anaplasma* spp. puede realizarse a partir de una gota de sangre central, periférica o, incluso, capilar. La observación al microscopio de los extendidos de sangre debe ser realizada por personal entrenado, dado que los cuerpos de inclusión de *Anaplasma* spp. resultan fácilmente confundibles con artefactos de tinción, precipitados del colorante o restos de cromatina.

La simple detección de los organismos en el extendido sanguíneo fino o la gota gruesa no es suficiente para indicar causal de enfermedad, dado que en animales portadores crónicos ocasionalmente pueden observarse eritrocitos infectados o parasitados. La observación por microscopía del extendido fino con objetivo de aumento 100X no sólo permitirá la identificación de la especie, sino que además posibilitará la cuantificación del porcentaje de eritrocitos parasitados con *B. bovis* o *B. bigemina* (EP) o infectados con *A. marginale* (EI). En el algoritmo para el diagnóstico clínico (Figura 3) se presentan los porcentajes de EP/EI a partir de los cuales se considera que el organismo detectado es el causal de enfermedad, llegando así a la confirmación del diagnóstico. Debe tenerse en cuenta que dichos porcentajes de EP/EI son solo de carácter orientativo. Tal como se detalla en el algoritmo, en caso de hallar un porcentaje de EP/EI menor al sugerido, si bien no se excluye de manera definitiva la posibilidad de que el animal esté efectivamente cursando babesiosis/anaplasmosis, deberá realizarse una cuidadosa interpretación del resultado considerando otros datos relevantes, como tratamientos antimicrobianos recientes o la práctica de inmunización previa contra babesiosis/anaplasmosis.

A continuación, se desarrollan algunas de las consideraciones mencionados en el algoritmo para casos clínicos: i) tratamiento antimicrobiano previo: el tratamiento específico con antibiótico o protozodocida puede afectar la observación y cuantificación de microorganismos en extendidos de sangre; ii) etapa inicial de enfermedad: un animal con signos clínicos compatibles con estas dolencias puede presentar niveles de EI/EP inferiores a los indicados por tratarse de una etapa inicial de la infección. No obstante, si este fuera el caso, seguramente se observarían muestras de otros animales del rodeo con niveles de EI/EP típicos y concluyentes de casos clínicos clásicos de babesiosis/anaplasmosis; iii) ocasionalmente en animales vacunados que se exponen a reinfección con cepas silvestres virulentas de *Babesia* spp. o *A. marginale*, se evidencia presencia de EI/EP en extendidos sanguíneos, leve hipertermia y descenso leve y transitorio del hematocrito, manifestaciones que remiten de manera espontánea sin requerir tratamiento.

Una situación ocasional que representa un desafío diagnóstico y que puede presentarse en el contexto del diagnóstico de babesiosis/anaplasmosis bovinas, es la de reacciones adversas postvacunales. Esto ocurre cuando son inmunizados animales mayores a 10 meses de edad con vacunas vivas. Dichas reacciones adversas se esperan a los 7 a 20 días y a los 35 a 60 días post vacunación en el caso de *Babesia* (*B. bovis* y *B. bigemina*) y *A. centrale*, respectivamente. Los casos de anaplasmosis por *A. marginale* se distinguen de las reacciones adversas postvacunales por la ubicación de los cuerpos de inclusión de *Anaplasma* dentro del eritrocito (en el caso de *A. centrale* la mayor parte de los cuerpos de inclusión se ubican en el centro del eritrocito mientras que, en *A. marginale*, más del 50% de los cuerpos de inclusión se ubican marginalmente). Confundir una reacción adversa postvacunal con un brote de babesiosis/anaplasmosis bovina puede conducir al tratamiento masivo del rodeo con antimicrobianos, en lugar de tratar específicamente a los animales que lo requieran. El tratamiento masivo en estos casos podría afectar la viabilidad de los microorganismos vacunales, con consecuencias negativas sobre el grado de protección esperado tras la vacunación.

La observación del extendido sanguíneo también aportará información sobre el tipo de anemia. Si en el mismo se evidencia regeneración sanguínea (caracterizada por hipocromía, anisocitosis y reticulocitosis) indicaría que se trata de una anemia de tipo hemolítico y es, además, signo de buen pronóstico ya que el animal se estaría recuperando del proceso anemizante.

Animal muerto

En el caso de que los hallazgos de necropsia o la anamnesis conduzcan a la sospecha de un caso de babesiosis o de anaplasmosis, también es imprescindible contar con la confirmación laboratorial del diagnóstico. Para ello, se deben confeccionar extendidos de sangre obtenida de lechos vasculares capilares de la cola, orejas o extremidades, siendo de particular utilidad en animales que presenten algún grado de descomposición (autólisis) los extendidos de sangre a partir de material extraído de vasos sanguíneos de metatarso/metacarpo²². Es útil también confeccionar improntas de órganos como riñón, bazo, hígado y músculo cardíaco. En el caso de sospechas de babesiosis por *B. bovis* resulta aconsejable confeccionar extendidos por aplastamiento de materia gris encefálica²². La interpretación de resultados obtenidos mediante la observación microscópica de los extendidos/improntas debe hacerse de acuerdo con el algoritmo presentado en Figura 3. Para el caso especial de *B. bovis*, la observación de acúmulos de eritrocitos parasitados en capilares cerebrales se considera una confirmación del diagnóstico.

Diagnóstico epidemiológico

La determinación del estatus inmunológico de una tropa es fundamental para la toma de decisiones que minimicen el riesgo de brotes de babesiosis/anaplasmosis bovina. La forma clínica severa de estas enfermedades por lo general ocurre en primo infecciones en bovinos de más de 10-12 meses de edad, mientras que, en bovinos menores al año, la presentación es generalmente subclínica, debido a mecanismos de resistencia inmune innata y características propias de su sistema hematopoyético. Los animales que superan la infección inicial desarrollan inmunidad específica protectora de larga duración. Es por ello por lo que, en zonas donde estas enfermedades son endémicas, se busca que la totalidad de los animales de la tropa desarrollen inmunidad específica contra *A. marginale*, *B. bovis* y *B. bigemina* antes del año de vida, minimizando el riesgo de brotes.

El algoritmo de diagnóstico epidemiológico que se presenta en la Figura 4, tiene como objetivo la determinación del estatus inmunológico de tropas de bovinos en función del porcentaje de bovinos positivos a la serología para *Anaplasma* spp., *B. bovis* y *B. bigemina* y de la edad de estos. En rodeos donde existe una alta circulación de estos hemoparásitos, el desarrollo de inmunidad específica en la totalidad de la tropa antes del año de vida puede ocurrir por exposición natural a los mismos. Esta situación epidemiológica se conoce como estabilidad enzoótica, y puede ser evidenciada a través de la determinación de la presencia de anticuerpos específicos por medio de

técnicas serológicas como el ELISA o la inmunofluorescencia indirecta en terneros de hasta 10 meses de edad^{15,20}. Cuando el porcentaje de animales positivos en la serología es inferior al esperado en una determinada edad, y para un escenario de estabilidad enzoótica, se asume que el rodeo no está inmunizado o que se encuentra en inestabilidad enzoótica y está, por lo tanto, en riesgo de sufrir brotes de babesiosis/anaplasmosis¹². En estos casos se considera necesario inmunizar a los animales mediante vacunación. Respecto al número de animales a muestrear para determinar el estatus epidemiológico, se sugiere: en tropas de hasta 100 animales, muestrear 50% de la tropa; tropas de 101 a 200 animales, muestrear el 30% de la tropa; tropas de 201 a 400 animales, muestrear 25% de la tropa y para tropas de más de 400 animales, muestrear 15% de la tropa (confianza = 95%, error en la estimación = 10%).

Las técnicas serológicas son aplicables para la evaluación del grado de cobertura vacunal si se realizan 60-90 días post-vacunación. En este caso se espera que la proporción de animales seropositivos sea mayor al 90%.

Para la detección de animales portadores de *A. marginale* en rodeos de zona no endémica de anaplasmosis bovina¹², se recomienda analizar muestras de suero para detección de anticuerpos contra *Anaplasma* spp. En una primera instancia, si lo que se desea es confirmar la circulación de *A. marginale* en un rodeo teóricamente infectado, puede analizarse preferencialmente suero de animales que hayan tenido signos compatibles con anaplasmosis. En cambio, si se desea conocer o monitorear el estatus sanitario del rodeo, el tamaño muestral variará en función de la prevalencia esperada de la infección (Tabla 1).

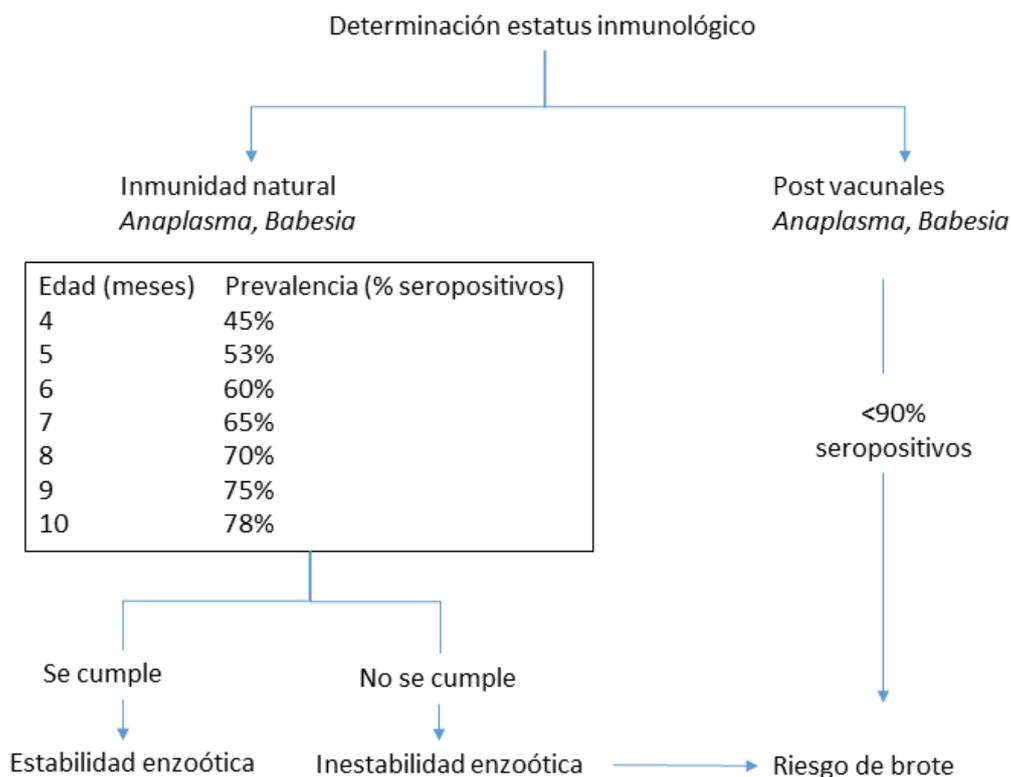


Figura 4. Algoritmo de diagnóstico epidemiológico de babesiosis/anaplasmosis bovina. Para inmunidad natural se recomienda muestrear terneros cuya edad sea cercana a los 8-9 meses de edad. Para evaluación del grado de cobertura post vacunal se recomienda muestrear animales 60-90 días post vacunación.

Tabla 1. Tamaño muestral requerido en función de la prevalencia esperada de infección con *Anaplasma* spp., para determinación del estatus sanitario de un rodeo

Tamaño del rodeo	Prevalencia esperada		
	5%	2%	1%
< 100 animales	50% del rodeo	70%	90%
101-200 animales	40 animales	50%	80%
201-300 animales	40 animales	30%	50%
301-400 animales	40 animales	100 animales	40%
> 400 animales	40 animales	100 animales	165 animales

Dado que las pruebas serológicas disponibles actualmente no permiten discriminar portadores de *A. marginale* y *A. centrale*, en caso de detectarse animales seropositivos, se recomienda confirmar la especie por técnicas moleculares. En rodeos de zona no endémica que no vacunan con *A. centrale* y se encuentran en proceso de erradicación de *A. marginale* también es útil la serología. Entendiendo que en dichos rodeos se realiza eliminación de portadores y control de la transmisión iatrogénica, lo recomendable es analizar mediante serología a la totalidad de los animales al menos dos veces al año (antes y después de la época de mayor circulación de vectores).

Técnicas moleculares

Las técnicas moleculares pueden complementar el diagnóstico clínico y epidemiológico en los siguientes casos: 1) identificación de la especie de *Anaplasma* spp. circulante en un rodeo (*A. marginale* y/o *A. centrale*), 2) confirmación de ausencia de hemoparásitos en animales que van a ser transportados a zonas no endémicas o con fines regulatorios, 3) diferenciación entre las cepas vacunales y patógenas en los casos clínicos en los que se necesite diferenciar reacciones vacunales de infecciones naturales. Para estos fines existen diferentes tipos de técnicas moleculares como reacciones de PCR convencionales de uno o dos pasos, o PCR cuantitativas en tiempo real que permiten identificar y cuantificar los hemoparásitos^{14,16}. Actualmente en el INTA los laboratorios que cuentan con capacidades analíticas y realizan rutinariamente este tipo de determinaciones son el Laboratorio de Hemoparásitos del Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO, INTA Castelar), Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET, INTA Castelar), Laboratorio de Inmunología y Parasitología Veterinaria (INTA Rafaela), Laboratorio de Sanidad Animal (INTA Mercedes) y Laboratorio de Biología Molecular (INTA Colonia Benítez).

Agradecimientos

Agradecemos a los especialistas Juan Micheloud, Franklin Riet-Correa y Marcelo Signorini por los conocimientos técnicos aportados y a quienes realizaron su aporte fotográfico: Victoria Rossner EEA Colonia Benítez (Figs. 1A y 1B), Carla Pertile EEA INTA Mercedes (Figs. 2A, 2C, 2D); Agustín Guerra (Fig. 2B); al Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) INTA Balcarce (Fig. 2E) y Juan Micheloud, Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido, Centro de Investigaciones Agropecuarias (IIACS, CIAP) INTA (Fig. 2F).

Referencias

1. Aguirre, D., Neumann, R., Torioni de Echaide, S. & Mangold, A. Pérdidas económicas directas por un brote de anaplasmosis bovina en un rodeo de cría del noroeste argentino . Comunicación. *Rev. Argentina Prod.* **31**, 145–153 (2011).
2. Baravalle, M. E. *et al.* *Babesia bovis* biological clones and the inter-strain allelic diversity of the Bv80 gene support subpopulation selection as a mechanism involved in the attenuation of two virulent isolates. *Vet. Parasitol.* **190**, 391–400 (2012).
3. Bilgiç, H. B. *et al.* Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Theileria annulata*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in cattle. *Exp. Parasitol.* **133**, 222–229 (2013).
4. Bock, R. E., De Vos, A. J., Kingston, T. G. & McLellan, D. J. Effect of breed of cattle on innate resistance to infection with *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale*. *Aust. Vet. J.* **75**, 337–340 (1997).
5. Buling, A. *et al.* A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *Babesia bovis* and *B. bigemina*. *Vet. Parasitol.* **147**, 16–25 (2007).
6. de la Fournière, S. *et al.* Development of highly sensitive one step-PCR tests for improved detection of *B. bigemina* and *B. bovis*. *Vet. Parasitol.* **296**, (2021).
7. Decaro, N. *et al.* Duplex real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection and quantification of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma centrale*. *J. Vet. Diagnostic Investig.* **101**, 97–101 (2008).
8. Galletto, C. G. *et al.* Brote de babesiosis en zona libre de garrapatas. *Rev. Med. Vet.* **59**, 87–90 (1978).
9. García, J. A. *et al.* Reporte de un brote de Babesiosis (*Babesia bovis*) en vaquillonas en zona libre de garrapata. *Vet. Argentina* **30**, 1–14 (2013).
10. Guglielmone, A. A. The level of infestation with the vector of cattle babesiosis in Argentina. (1992).
11. Lew, A. E., Dalrymple, B. P., Jeston, P. J. & Bock, R. E. PCR methods for the discrimination of *Babesia bovis* isolates. *Vet. Parasitol.* **71**, 223–237 (1997).
12. Mangold, A. J. & Mastropaolo, M. Epidemiología y Control de Hemoparásitos (*Babesia* y *Anaplasma*) en Argentina. En Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes. Fundamentos Epidemiológicos para su Prevención y Control 639–656 (Hemisferio Sur, 2013).
13. Mazzucco Panizza, M. *et al.* Identificación de infecciones causadas por diferentes fenotipos de *Babesia bigemina* y *B. bovis* mediante PCR y ELISAI. *XIV Jornadas la Asoc. Argentina Inmunol. Vet. II Reun. la Red Latinoam. Inmunol. Vet.* 1852 (2022).
14. Molad, T. *et al.* Molecular and serological detection of *A. centrale*- and *A. marginale*-infected cattle grazing within an endemic area. *Vet. Microbiol.* **113**, 55–62 (2006).
15. OIE. Bovine Babesiosis. in *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*

- (2021).
16. Olmos, L. H. *et al.* Descripción de dos casos de babesiosis cerebral en terneros de hasta 15 días de edad. *FAVE Sección Ciencias Vet.* **19**, 10–15 (2020).
 17. Primo, M. E. *et al.* Development and field evaluation of a nested polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (nPCR-RFLP) analysis to identify *A . marginale* -infected and *A . centrale* -vaccinated cattle. *Ticks Tick. Borne. Dis.* **13**, 101952 (2022).
 18. Primo, M. E. *et al.* Development of a novel fusion protein with *Anaplasma marginale* and *A. centrale* MSP5 improved performance of *Anaplasma* antibody detection by cELISA in infected and vaccinated cattle. *PLoS One* **14**, 1–13 (2019).
 19. Romero-Salas, D. *et al.* Molecular and serological detection of *Babesia bovis*- and *Babesia bigemina*-infection in bovines and water buffaloes raised jointly in an endemic field. *Vet. Parasitol.* **217**, 101–107 (2016).
 20. Sarli, M. *et al.* Development and evaluation of a double-antigen sandwich ELISA to identify *Anaplasma marginale*–infected and *A. centrale*–vaccinated cattle. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 1–7 (2019). doi:10.1177/1040638719892953.
 21. Thompson, C. *et al.* Typification of virulent and low virulence *Babesia bigemina* clones by 18S. *Exp. Parasitol.* **141**, 98–105 (2014).
 22. Vanzini, V. R. & Ramirez, L. M. Babesiosis y Anaplasmosis bovina. Diagnóstico, Epidemiología y Control. *Rev. Investig. Agropecu. RIA* **25**, 137–190 (1994).

ANEXO

Anexo. Lesiones macroscópicas y microscópicas de hallazgo frecuente en necropsias de bovinos con anaplasmosis o babesiosis.

	Anaplasmosis bovina	Babesiosis bovina
Lesiones macroscópicas	Palidez. Ictericia. Esplenomegalia. Hepatomegalia. Hígado color ocre-anaranjado. Bilis espesa. Hemorragias periendocárdicas. Sangre acuosa.	Palidez. Ictericia. Esplenomegalia. Hepatomegalia. Hígado color ocre-anaranjado. Bilis espesa. Hemorragias cardíacas. Congestión corteza cerebral. Riñones congestivos. Hemoglobinuria. Congestión y petequias en múltiples órganos (cuajo, vejiga, endocardio). Áreas hemorrágicas en pulmón. Edema pulmonar.
Lesiones microscópicas	<u>Pulmón:</u> Neumonía intersticial. Enfisema. Infiltración mononuclear.	<u>Cerebro/cerebelo:</u> Distensión de capilares cerebro y cerebelo, con eritrocitos parasitados. Edema.

Bazo: Relación pulpa blanca/pulpa roja marcadamente reducida. Proliferación linfocítica masiva.

Hígado: Canaliculos biliares distendidos y con bilis. Áreas de necrosis de hepatocitos de la región centrolobulillar. Engrosamiento de cápsula.

Corazón: Degeneración y necrosis de miocardio.

Bazo: Congestión. Hiperplasia de fibras reticulares. Gran número de macrófagos conteniendo hemosiderina. Relación pulpa blanca/pulpa roja marcadamente reducida.

Hígado: Capilares sinusoidales distendidos, con eritrocitos parasitados y acúmulos de material hialino. Tríadas portales infiltradas con células mononucleares. Canaliculos biliares distendidos y con bilis. Células de kupffer con acúmulos de hemosiderina.

Corazón: Hemorragias sub-endocárdicas, y en miocardio y epicardio. Infiltrados mononucleares intersticiales.

Riñón: Congestión capilares intertubulares de corteza y médula con acúmulo de eritrocitos parasitados. Acumulación focal de células mononucleares en corteza. Acúmulos de hemosiderina en células epiteliales de

los túbulos y en
macrófagos.



Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria
Argentina