



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay



**UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY**

**Aspectos epidemiológicos y clinicopatológicos de casos de babesiosis bovina
aguda y subaguda**

Por:

José Ignacio GONZALEZ LOPEZ

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en ciencias veterinarias
orientación: Producción Animal

MODALIDAD: Caso Clínico

MONTEVIDEO
URUGUAY

2025

PÁGINA DE APROBACIÓN

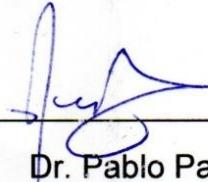
Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:



Dra. Lourdes Adrien

Segundo miembro (Tutor):



Dr. Pablo Parodi

Tercer miembro:



Dr. Maximiliano Pastorini

Cuarto miembro (Co-tutor):



Dr. Micael Machado

Tercer miembro:
Quinto miembro (Co-tutor):



Dr. Dario Caffarena

Fecha:

27 de junio de 2025

Autor:



José Ignacio GONZÁLEZ LÓPEZ

Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría agradecerles a mis padres por incentivar me a estudiar y estar siempre presenten en mi vida dando apoyo incondicional.

A mis abuelos por ser pilar fundamental mostrado siempre el camino con el ejemplo.

A mis hermanos y tío que siempre de una forma u otra hicieron parte de esto.

A Sofí por su apoyo y compañía en este proceso de formación y en la vida.

A mis tutores el Dr. Pablo Parodi y el Dr. Mizael Machado, por su tiempo, su paciencia y su humildad que hicieron de esta experiencia algo inolvidable.

A la facultad de veterinaria por las herramientas que me dio y las grandes amistades que me llevo de ahí para la vida.

A INIA Tacuarembó y la PSA por recibirme con los brazos abiertos, formarme y darme todas las herramientas necesarias para realizar la tesis.

A mis compañeras Soledad, Sabrina y Alejandra por la ayuda incondicional en la elaboración, correcciones, capacitación y por sobre todo por su calidad humana.

A todo el personal de INIA Tacuarembó por estos meses de trabajo y hacerme sentir como en casa.

A Guzmán López y Camila Custodio por los casos clínicos y el apoyo.

A mi amigo y referente Guillermo por las largas horas de charlas, consejos y enseñanzas.

Por último, pero no menos importante a mis amigos por el apoyo de siempre.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIONES	2
Agradecimientos	2
Indice de imagenes:	5
RESUMEN	6
SUMMARY	7
1 INTRODUCCION	9
2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
2.1 <i>RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS</i>	9
2.1.1. Distribución e implicancias económicas	9
2.1.2. Ciclo biológico de <i>R. microplus</i>	9
2.1.3. Epidemiología de la garrapata del bovino	10
2.2 BABESIOSIS BOVINA.....	12
2.2.1. Descripción del agente	12
2.2.2 Ciclo biológico de <i>Babesia</i> spp.....	12
2.2.3 Patogenia.....	13
2.2.4. Presentaciones de babesiosis	14
2.2.5 Aspectos epidemiológicos e inmunidad.....	15
2.3 Tratamiento y prevención	17
2.4 DIAGNÓSTICO.....	17
2.4.1 Herramientas de diagnóstico	18
3 HIPOTESIS	20
4 OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS	21
5 MATERIALES Y METODOS	21
6 RESULTADOS	23
7 DISCUSIÓN	32
8 CONCLUSIONES	32
9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	35

Indice de imágenes:

Figura 1. Ciclo parasitario con todas sus etapas evolutivas	10
Figura 2. Modelo epidemiológico para la garrapata <i>Rhipicephalus microplus</i>	11
Figura 3 Ciclo biológico de <i>Babesia</i> spp	13
Figura 4. Esquema de presentaciones clínicas de la babesiosis bovina.....	15
Figura 5. mapa con ubicación geográfica de ambos brotes	24
Figura 6. línea de tiempo de los brotes con relación a los días post inoculación de los patógenos	25
Figura 7. Babesiosis bovina aguda, fotos macroscópicas de hígado y bazo.	26
Figura 8. Babesiosis bovina aguda, foto macroscópica de cerebro	27
Figura 9. Babesiosis bovina aguda, foto macro y microscópica de riñón	28
Figura 10. Babesiosis bovina aguda, foto macro y microscópica de hígado.....	29
Figura 11. Babesiosis bovina subaguda, foto microscópica de hígado	30
Figura 12. Frotis por impronta de cerebro y extendido de sangre	31
Figura 13. PCR multiplex para detección de <i>Babesia</i> spp. y <i>Anaplasma marginale</i> .	32

RESUMEN

La babesiosis y anaplasmosis bovina forman parte del complejo de enfermedades causantes de la tristeza parasitaria bovina, causada por *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*, respectivamente. Estos agentes invaden los eritrocitos causando su destrucción, provocando anemia y desórdenes vasculares que conllevan a la muerte. En este estudio, se describen dos casos de babesiosis, uno agudo en novillos (brote 1) y otro subagudo en terneras (brote 2), reportados en los departamentos de Salto y Tacuarembó, ocurridos en el año 2023. Los casos fueron derivados por médicos veterinarios privados a los laboratorios de Patología y Ectoparásitos de la Plataforma de Investigación en Sanidad Animal, INIA Tacuarembó. Se realizaron visitas prediales, evaluación clínica, análisis de laboratorio, necropsia, histopatología y tratamiento. El diagnóstico fue realizado por frotis coloreados con Giemsa, PCR e histopatología. En las muestras fue detectada la presencia de *Babesia bovis* y confirmadas por la PCR. Los hallazgos anatomopatológicos del caso perteneciente al brote 1 fueron: ictericia difusa, musculatura pálida, hepatomegalia, con patrón acinar evidente, riñones bilateralmente rojo oscuros (nefrosis hemoglobinurica), hemoglobinuria, esplenomegalia, corteza cerebral color cereza, hidropericardio y hemorragias a nivel de epicardio. Las lesiones anteriormente citadas también fueron observadas en la ternera del brote 2, sin embargo, no había hemoglobinuria ni cambios en la coloración a nivel de la corteza cerebral. A la histología se destacó: brote 1, nefrosis hemoglobinurica difusa, degeneración y necrosis tubular, abundantes cilindros hialino; necrosis hepatocelular centro lobulillar, desorganización de los cordones de hepatocitos, dilatación de las sinusoides y colestasis canalicular. Diferentemente de la ternera del brote 2, en hígado se observó necrosis paracentral y no había lesiones a nivel renal. Se concluye la importancia de considerar las distintas presentaciones de la enfermedad y tener en cuenta la forma atípica (subaguda) en el diagnóstico diferencial, especialmente en animales jóvenes. Siendo de utilidad realizar el diagnóstico en laboratorio para descartar posibles diferenciales con otras enfermedades anemizantes con y sin hemoglobinuria.

SUMMARY

Bovine babesiosis and anaplasmosis are part of the complex of diseases that cause bovine parasite sadness, caused by *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale*, respectively. These agents invade erythrocytes, causing their destruction, leading to anemia and vascular disorders that lead to death. This study described two cases of babesiosis, one acute in steers (outbreak 1) and another subacute in calves (outbreak 2), reported in the departments of Salto and Tacuarembó, which occurred in 2023. The cases were referred by private veterinarians to the Pathology and Ectoparasites laboratories of the Animal Health Research Platform, INIA Tacuarembó. Farm visits, clinical evaluation, laboratory analysis, necropsy, histopathology and treatment were carried out. The diagnosis was made by Giemsa-stained smears, PCR and histopathology. The presence of *Babesia bovis* was detected in the samples and confirmed by PCR. The pathological findings of the case belonging to outbreak 1 were: diffuse jaundice, pale musculature, hepatomegaly with an evident acinar pattern, bilaterally dark red kidneys (hemoglobinuric nephrosis), hemoglobinuria, splenomegaly, cherry-colored cerebral cortex, hydropericardium and hemorrhages at the epicardium level. The aforementioned lesions were also observed in the calf from outbreak 2, however, there was no hemoglobinuria or changes in color at the level of the cerebral cortex. The most relevant histological lesions of outbreak 1 were diffuse hemoglobinuric nephrosis, tubular degeneration and necrosis, abundant hyaline casts; central lobular hepatocellular necrosis, disorganization of the hepatocyte cords, dilation of the sinusoids and canalicular cholestasis. Unlike the calf from outbreak 2, paracentral necrosis was observed in the liver and there were no lesions at the renal level. It is concluded that it is important to consider the different presentations of the disease, and the atypical form (sub-acute) in the differential diagnosis, especially in young animals. It is useful to perform the diagnosis in the laboratory to rule out possible differentials with other anemic diseases with and without hemoglobinuria.

1 INTRODUCCIÓN

El complejo tristeza parasitaria bovina está compuesto por dos enfermedades: babesiosis y anaplasmosis bovina (Almeida et al., 2006). Los agentes de estas enfermedades son dos protozoarios *Babesia bovis* (*B. bovis*) y *Babesia bigemina* (*B. bigemina*), así como por una rickettsia, *Anaplasma marginale* (*A. marginale*) los cuales parasitan y destruyen los glóbulos rojos (Souza et al., 2014; Vanzini & Ramirez, 1994). La babesiosis y anaplasmosis tienen similitudes en su presentación clínica, sin embargo, difieren en su distribución geográfica. *Babesia* spp. está restringida a las áreas donde se encuentra su vector competente, que para el cono sur de América es la garrapata *Rhipicephalus microplus* (*R. microplus*) (Guglielmone, 1995). Las garrapatas infectadas con *Babesia* spp., en su etapa de larva tiene la capacidad de transmitir (inoculando) *B. bovis*. Por otro lado, las estructuras parasitarias de *B. bigemina* demoran entre 7-9 días en volverse infectivas, por ende, son transmitidas por ninfas y adultos de esta garrapata. Una vez inoculado el agente en el bovino, el periodo prepatente para *B. bovis* es de 6-8 días y de 14 a 15 días para *B. bigemina* (Bock et al., 2004, Fiel & Nari, 2013).

Mientras que *A. marginale* además de ser transmitido biológicamente por *R. microplus*, puede ser vectorizado mecánicamente por dípteros hematófagos (Rodrígues et al., 2022), de forma transplacentaria y por fómites contaminados con sangre infectada (agujas, bisturí, desmochadoras, etc.) (Guglielmone, 1995). Dependiendo del grado de infección inicial, tienen en promedio 28 días de periodo prepatente pudiendo ser entre 7-60 días (Suarez & Noh, 2011).

La babesiosis bovina es una enfermedad de importancia significativa en la producción ganadera en el Uruguay (Miraballes et al., 2018). Patológicamente se manifiesta con síntomas agudos, como la presencia de orina de color vino tinto, mucosas pálidas, anemia severa y elevación de diversos parámetros bioquímicos en la sangre (Suarez & Noh, 2011). Aunque la forma aguda de la enfermedad es comúnmente reconocida, la babesiosis subaguda y crónica, caracterizadas por la ausencia de hemoglobinuria, son menos reportadas, pero igualmente importantes (Constable et al., 2017). Frente a este escenario, es esencial realizar un diagnóstico diferencial adecuado, considerando otras enfermedades que también causan anemia e ictericia sin hemoglobinuria en el ganado bovino, como la anaplasmosis. Los datos

epidemiológicos desempeñan un papel crucial en esta diferenciación. En este contexto, la identificación de brotes que coincidan epidemiológicamente con la presentación clínica observada puede proporcionar importantes herramientas en el diagnóstico (Parodi et al., 2022). Si bien son varios los reportes en Uruguay de babesiosis bovina, hasta la fecha no se han descripto la frecuencia de presentaciones de las formas subagudas y crónicas de babesiosis, siendo un campo importante de estudio para realizar a futuro. El objetivo de este trabajo fue describir aspectos epidemiológicos y clinicopatológicos de un caso agudo y uno subagudo de babesiosis bovina causada por *B. bovis*.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 *RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS*

2.1.1. Distribución e implicancias económicas

La garrapata *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* se encuentra ampliamente distribuido en países tropicales y subtropicales (FAO, 2004). Actualmente para Uruguay, las pérdidas económicas provocadas por la garrapata y enfermedades asociadas se estiman en más de 45 millones de dólares por año, siendo una de las problemáticas más importante en los sistemas ganaderos (Cuore & Solari, 2022).

2.1.2. Ciclo biológico de *R. microplus*.

Es una garrapata de un solo huésped; pasa todos sus estadios de vida parasitaria (larva, ninfa y adulto) sobre un mismo animal. Su ciclo parasitario tiene una duración mínima de 21 días (moda 23 días) desde la subida de una larva hasta la caída de una garrapata ingurgitada (Ver Figura 1). Esta va a poner huevos en la pastura y posteriormente muere (Miraballes et al., 2018). En ese momento comienza la fase extra parasitaria (fuera del animal- no parasitaria) que puede durar de 2 a 10 meses, dependiendo de las condiciones ambientales, pudiendo llegar incluso hasta 13 meses (Cuore & Solari, 2022).

Los diferentes estadios parasitarios son, la etapa de larva que es la única que sube al huésped desde la pastura e inicia el ciclo parasitario, miden 0,6 x 0,4 mm, y posee 3 pares de patas, comenzando su alimentación dentro de las 24 horas de subida al animal. A los 3,5 a 9,5 días desde la subida al animal, inicia su primera muda

(metalarva), con un tamaño de 1 mm, tegumento distendido, blanco cremoso, 3 pares de patas. Esta muda da origen a ninfa entre el día 6 y 13, con la presencia de 4 pares de patas, 3 hileras de dientes a cada lado del hipostoma, midiendo 1 mm de largo. Las mismas se inmoviliza y se convierte en metaninfa (segunda muda) entre los días 9-20 de ciclo parasitario. Las cuales presentan doble envoltura de quitina que les da aspecto globoso, mide 2,5 a 4 mm, ocurriendo el dimorfismo sexual, finalizando con la emergencia de una hembra (partenogina) o un macho (gonandro) adulto. Esta etapa se observa a los 14,5 días del ciclo parasitario. Al inicio de este estadio parasitario las partenogina miden 3 a 4 mm, estando semi ingurgitadas de sangre. Al llegar a una longitud de 4 a 6 mm esperan ser copuladas, pasando a su estadio de teleogina (7 a 13 mm) que se observan a los 20,5 días desde que se fijó como larva con un máximo de 41 días en casos extremos. De acuerdo con su tamaño pueden poner de 2000 a 4000 huevos, luego de su ovipositora la garrapata muere (Cuore & Solari 2022; Suarez & Noh, 2011) (ver Figura 1).

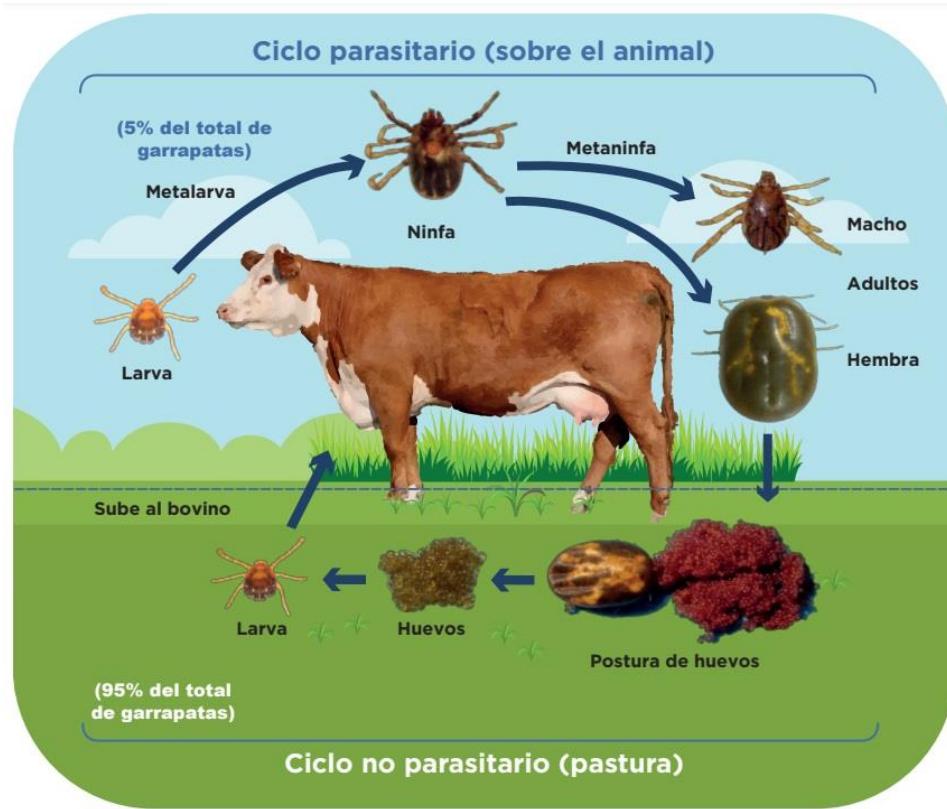


Figura 1. Ciclo parasitario con todas sus etapas evolutivas. Fuente: Parodi y Menchaca, 2024.

2.1.3. Epidemiología de la garrapata del bovino

Para las latitudes del Uruguay, el invierno provee de condiciones ambientales adversas para la garrapata, donde en esta época permanecen en su fase extra

parasitaria (huevos-larvas) (Miraballes et al., 2018). El invierno, tiene varios efectos: 1) si cae una teleogina y es sometida a más de 72 horas de temperaturas promedios bajas, no ocurre la postura de huevos, 2) las larvas que ya están en la pastura podrán morir a causa de las heladas o bajar su actividad (metabolismo basal) por ende bajan las chances de subir a su huésped, 3) para que los huevos puedan eclosionar, es necesario un umbral de 15,5°C, si este evento no ocurre antes de los 100 días, no nacerán larvas. Por los puntos anteriormente planteados, es usual que entre los meses de mayo y agosto no encontramos garrapatas adultas en el ganado (Cardozo et al., 1984; Cuore & Solarim, 2022, Nava et al., 2022)

Las fases parasitarias y no parasitarias, está influenciado directamente por las condiciones climáticas (Cuore & Solari 2022), que para Uruguay determinan el desarrollo de tres generaciones por año. La primera generación comienza al finalizar el invierno (julio/agosto) y concluye en noviembre. La segunda generación se produce desde finales de la primavera hasta principios del verano, mientras que la tercera generación se desarrolla en otoño (ver Figura 2), cuando hay una alta población de garrapatas en los animales, coincidiendo con un aumento en las muertes por tristeza parasitaria (Cuore et al., 2012; Solari et al 2006).

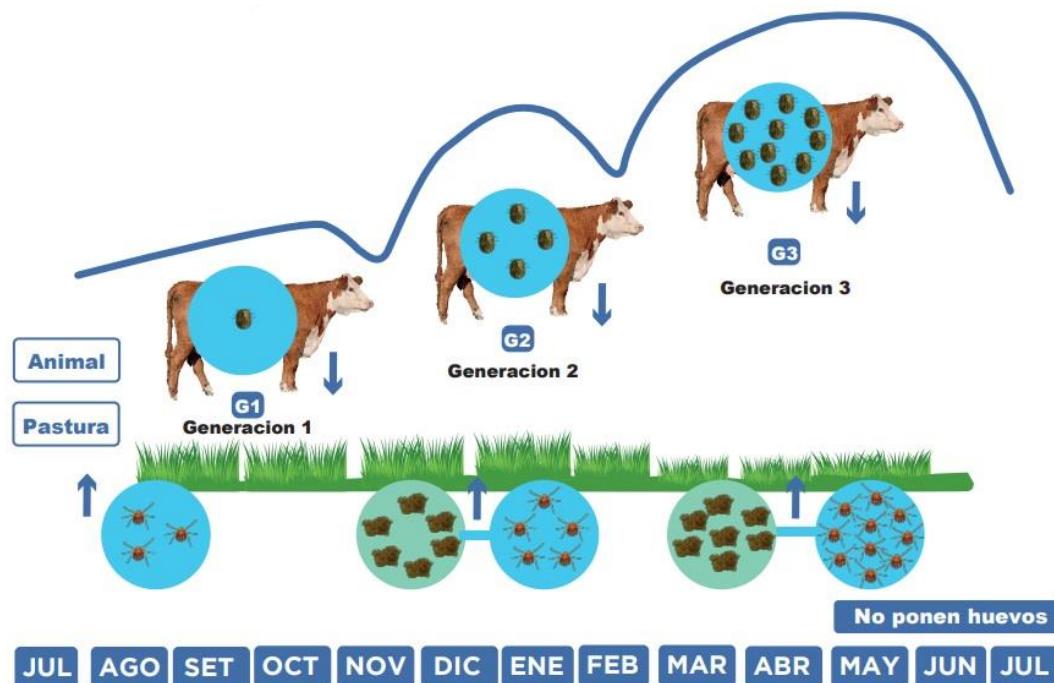


Figura 2. Modelo epidemiológico para la garrapata *Rhipicephalus microplus*. Fuente: Parodi y Menchaca, 2024.

2.2 BABESIOSIS BOVINA

2.2.1. Descripción del agente

La babesiosis es una enfermedad hemolítica causada por dos protozoarios intraeritrocitarios del género *Babesia* (Farias, 2023). En Uruguay hay solo dos especies responsables de la babesiosis en el ganado bovino, *B. bovis* y *B. bigemina* (Miraballes et al., 2018; Parodi et al., 2022). En lo que respecta a su morfología *B. bovis* es una babesia pequeña (2,4 µm por 1,5 µm), redonda, piriforme o ameboide, algunos con una vacuola dentro. *B. bigemina* es una babesia grande (4 a 5 por 2 a 3 µm), según su fase de desarrollo puede aparecer en formas redondeadas, ovaladas o irregulares o en forma de dos corpúsculos en forma de pera, unidos en ángulo agudo (Bock et al., 2004; Suarez & Noh, 2011).

2.2.2 Ciclo biológico de *Babesia* spp.

Babesia spp. tiene un ciclo de vida que involucra una fase de multiplicación asexuada en el bovino donde el período de incubación es de 7 días, las mismas ingresan como esporozoitos y se transforman en una primera etapa por fisión binaria a trofozoítoso y luego en merozoitos, los mismos se dividen nuevamente hasta formar las merogonias, la fase sexuada solo ocurre en la garrapata (Suarez & Noh, 2011) donde en su intestino se convierten en gametos y luego en cigotos.

Posteriormente, estos se multiplican y se convierten en vermiculos que migran a los órganos reproductores de la garrapata en ciclos sucesivos (Bock et al., 2004). *Babesia* spp. queda libre en el intestino de la garrapata y, en 3-4 días, pasa a varios órganos, incluidos los ovarios, donde se transmite transováricamente, infectando los futuros huevos (ver figura 3). La larva infectada parasita al bovino y, dentro de 24-72 horas, se reactivan las *B. bovis* presentes en las glándulas salivales de la garrapata, que luego son inoculadas en el bovino (Suarez & Noh, 2011). La transmisión de *B. bigemina* puede ocurrir entre 8-10 días después de que la larva se adhiere, cuando alcanza el estadio de ninfa o en etapas posteriores (Guglielmone et al., 1981).

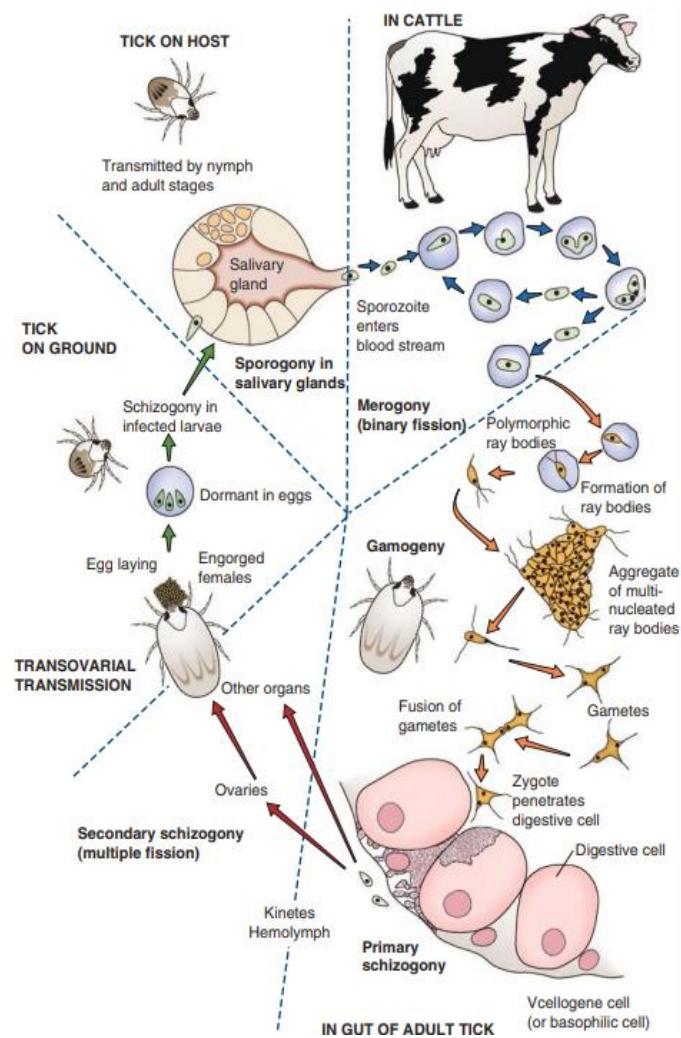


Figura 3 Ciclo biológico de *Babesia* spp. Fuente: Constable et al., 2017.

2.2.3 Patogenia

La patogenia de la babesiosis se caracteriza por una anemia hemolítica intravascular macrocítica e hipocrómica, con desórdenes vasculares y falla circulatoria (Patarroyo et al., 1982; Vally & Gentry, 2007). *Babesia bigemina* causa una hemólisis más rápida que *B. bovis*, generando una intensa anemia, ictericia y hemoglobinuria. *B. bovis* libera sustancias activas farmacológicamente que provocan hipotensión y aumento de la permeabilidad endotelial, aunque este fenómeno es menos común en *B. bigemina* (Suarez & Noh, 2011). *Babesia bovis* evita el clearance esplénico al adherirse a los endotelios de la microcirculación periférica (pudiendo sobrevivir entre 2 a 4 años en el bovino), lo que puede causar trastornos, especialmente en el sistema nervioso y permite su supervivencia en el huésped por varios años, evitando el sistema fagocítico-mononuclear (Barros et al., 2006; Suarez & Noh, 2011). Los brotes de *B.*

bigemina tienden a ser menos graves que los de *B. bovis* y no afectan al cerebro (Bock et al., 2004; Parodi et al., 2022) y el parásito dura 2 a 7 semanas en el bovino (Constable et al. 2017).

Dado que los signos clínicos de la babesiosis son muy similares entre las dos especies, es común que ambas sean confundidas clínicamente cuando no hay signos neurológicos e incluso con otras enfermedades, incluyendo anaplasmosis, donde no se observa hemoglobinuria (Barros et al. 2006, Costa et al. 2013). Los casos subagudos o crónicos suelen ser fugaces y no hay hemoglobinuria a diferencia de la forma aguda (Constable et al., 2017; Euzébi, 1979). Los animales que sobreviven se convierten en portadores, manteniendo una infección subclínica mediante un equilibrio inmunológico entre los protozoos y los anticuerpos. Este equilibrio puede alterarse fácilmente por el estrés del transporte, la falta de alimentos, la preñez o enfermedades concurrentes. Los animales portadores pueden resistir la reinfección con *B. bovis* durante hasta 2 años, proporcionando protección continua en situaciones enzoóticas con reinfección constante (Constable et al., 2017).

2.2.4. Presentaciones de babesiosis

En los casos agudos, los principales signos clínicos son anemia, fiebre (40,5° C), depresión, debilidad, ataxia, puede verse abortos, hemoglobinuria, temblores, puede presentarse ictericia u anemia de las mucosas y los animales pueden morir ante situaciones estresantes de forma súbita (Constable et al. 2017; Solari et al., 2007). La babesiosis causada por *B. bovis* puede inducir un fenómeno de coagulación intravascular diseminada, lo que genera un cuadro hemorrágico en múltiples órganos y posibles alteraciones en sistema nervioso (Contable et al., 2017).

Por otro lado, en los casos subagudos no hay hemoglobinuria; las alteraciones observadas en los casos agudos están presentes, pero en menor grado. Para establecer el diagnóstico es pertinente realizar el examen microscópico de frotis sanguíneos extraídos de sangre periférica, de riñón y de músculo cardíaco y en caso de sospecha de infección por *B. bovis*, del cerebro (Contable et al., 2017, Euzébi, 1979). Estas formas suelen afectar bovinos jóvenes y múltiples factores tales como virulencia del agente, inmunidad del hospedador y cantidad del inóculo pueden estar relacionados con la intensidad de los signos clínicos y favorecer la presentación de las formas anteriormente citadas (Farias, 2023).

Por último, la presentación de casos crónicos se caracteriza por una emaciación de los animales afectados pudiendo enmascarar otras patologías. En estos cuadros es frecuente observar diarrea negruzca y mal oliente que ensucia el tren posterior, trastornos pulmonares con polipnea y disnea, trastornos nerviosos con agresión, emisión de orina espumosa con burbujas persistentes y si bien en estas formas no hay hemoglobinuria, siempre persiste la bilirrubinemia (Euzebi, 1979).

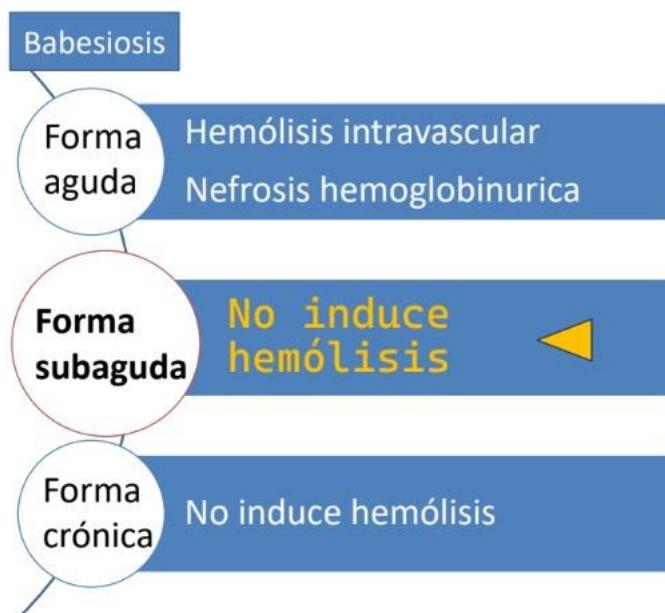


Figura 4. Esquema de presentaciones clínicas de la babesiosis bovina. Fuente: González et al., 2024.

2.2.5 Aspectos epidemiológicos e inmunidad

La dinámica de la infección está condicionada por elementos como la cantidad de garrapatas presentes, su capacidad para transmitir la enfermedad y la sensibilidad de los bovinos, la cual puede variar dependiendo de la especie, la edad, la condición fisiológica y el sistema inmunológico de los animales (Bose et al., 1995). La susceptibilidad a la infección con *Babesia* spp. disminuye con la edad, pero la gravedad de la enfermedad aumenta. Los terneros de 5 a 6 meses de edad con inmunidad pasiva que se infectan con *B. bovis* muestran signos clínicos leves, mientras que el ganado de 1 a 2 años sufre una enfermedad moderadamente grave y las vacas mayores son más susceptibles (Bock et al., 2004; Constable et al., 2017).

Las respuestas inmunes del ganado a la infección con *Babesias*, tanto *B. bovis* como *B. bigemina*, involucran mecanismos innatos y adquiridos, con una respuesta humoral y celular que depende de las células T. Se ha establecido una inmunidad relacionada con la edad en terneros jóvenes, que exhiben una fuerte inmunidad innata contra *B. bovis*, caracterizada por la participación de fagocitos mononucleares como células efectoras primarias y el óxido nítrico fue identificado como una molécula babesicida producida por la activación mononuclear de los fagocitos (Constable et al., 2017).

Los terneros jóvenes desarrollan una fuerte inmunidad innata contra la infección por *B. bovis*, que dura unos 6 meses después del nacimiento. Esto implica la temprana aparición de transcritos de IL-12 e interferón-gamma en el bazo, seguida por la expresión breve de la sintasa de óxido nítrico inducible. En contraste, en bovinos adultos muertos por la infección, la expresión de IL-12 e IFN-gamma (ARNm) en el bazo fue tardía y deprimida, ocurriendo en conjunto con la expresión de IL-10. Además, a diferencia de los terneros, los adultos no mostraron una respuesta de anticuerpos detectable antes de la muerte. Por otro lado, la respuesta inmune adquirida implica la producción de anticuerpos contra antígenos del parásito y del hospedador después de la infección con *B. bovis*, y la aplicación de suero hiperinmune de bovinos infectados puede ser utilizada para inmunizar pasivamente a terneros no infectados (Bock et al., 2004).

La estabilidad enzootica en la babesiosis bovina se alcanza cuando los anticuerpos son menores al 20% en la población y bajo (nulo) desafío de garrapatas o la tasa de transmisión del parásito es suficiente (alto desafío) para inmunizar a la mayoría de los terneros susceptibles (>80%) antes de que pierdan su resistencia .Esta estabilidad se logra mediante la exposición natural temprana en áreas endémicas o mediante la vacunación (hemovacuna) y el control de garrapatas (Fiel y Nari, 2013). El concepto de “Estabilidad enzootica” es poco aplicable para nuestras condiciones porque parte de una situación estática y las condiciones de desafío, tasas de inoculación, van cambiando con el tiempo, debido a condiciones climáticas, bioseguridad, manejos y edad de los animales (Jansson et al.,2012).

La inmunidad a largo plazo se desarrolla después de una sola infección, aunque las variaciones antigénicas del parásito y la resistencia de diferentes cepas pueden influir en la protección conferida por la inmunidad (Constable et al., 2017).

El ambiente y manejo son factores importantes en la transmisión y ocurrencia de los brotes de babesiosis, el traslado de animales con pobre inmunidad o que no hayan sido inmunizados previamente a zonas endémicas es de alto riesgo para contraer la enfermedad. De la misma forma que si se introducen animales con hemoparásitos (portadores) a zonas con presencia del vector, pero sin los hemoparásitos, puede ser un factor de riesgo importante (Aleman & Carlsson, 2009). El clima juega un rol importante, climas húmedos y calurosos aumentan la cantidad de vectores, al igual que las sequias y bajas temperaturas harán que disminuya la cantidad de vectores (Field & Nari, 2013; Solari, Dutra et al., 2013).

2.3 Tratamiento y prevención

La identificación temprana de animales clínicamente afectados es fundamental para prevenir la ocurrencia de brotes. En aquellos animales con anemia severa se aconseja la reposición de sangre para restaurar el microhematócrito (Solari et al., 2013). Para combatir la babesiosis, se emplean dos fármacos: diminazene aceturato (3.5mg/kg de peso) con efecto residual de 2 semanas (Solari et al., 2013) y diphronato de imidocarb (3 mg/kg de peso) con acción prolongada hasta 28 días (Parodi & Menchaca, 2024; Rodríguez & Trees, 1996; Solari et al., 2013).

Para la prevención, se recomienda el uso de vacunas con organismos vivos atenuados en terneros de 6 a 9 meses para una protección estable (Field & Nari, 2013; Miraballes et al., 2018). Actualmente, existen dos vacunas efectivas y seguras para terneros: una refrigerada de DILAVE y otra congelada de laboratorio Konig (Miraballes, 2018).

2.4 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico presuntivo de estas enfermedades se puede hacer en base a los datos epidemiológicos, tales como la presencia de vectores, antecedentes de las enfermedades en el predio y la observación de signos clínicos y/o hallazgos de necropsia compatibles (Bock et al., 2004). Los hallazgos de necropsia no son

patognomónicos, pero si muy específicos por lo que siempre se recomienda proceder en caso de sospecha al examen postmortem (Fry & McGalvin, 2007).

Es importante la correcta recolección y conservación de muestras para realizar un diagnóstico confirmatorio. Las muestras deben ser tomadas de animales vivos y muertos y deben incluir sangre (en tubos con EDTA K+ y sin anticoagulante), bazo, hígado, riñones, corazón y cerebro. Estas muestras deben conservarse en fresco y en formol bufferado al 10% (Parodi, 2019).

2.4.1 Herramientas de diagnóstico

Hematocrito

Una buena herramienta orientativa es la medición del porcentaje de anemia realizando microhematocrito, aunque el estudio del porcentaje de anemia no demostró tener una correlación entre el grado de anemia y el parásito actuante, si se observó que para estar enfermo por el complejo de TPB el microhematocrito debe ser inferior a 26% (Suarez y Noha, 2013), por lo que la técnica sería útil como un indicador orientativo de la enfermedad debido a la anemia que provoca, aunque no constituye un método de diagnóstico directo o indirecto (Amorim et al., 2014; Costa et al., 2013; Farias, 2007; Radostits et al., 2002).

Frotis

Es el meto clásico, implica la realización de frotis de sangre periférica como de órganos. Los frotis por extendidos o impronta se fijan con alcohol metílico durante 5 minutos y son coloreados con May-Grünwald Giemsa 1:9 diluido en agua destilada. Se visualizaron los mismos bajo un microscopio óptico con un campo de inmersión de 100x. Las formas parasitarias intraeritrocitarias de *B. bovis* y *B. bigemina* presentan diferencias morfológicas que requieren entrenamiento para su identificación. La presencia de *A. marginale* también puede ser detectada en los eritrocitos mediante esta técnica, y es importante por ser uno de los principales diferenciales (Kocan et al., 2010; Organización Mundial de Sanidad Animal [OIE], 2014).

El frotis es especialmente útil en la fase aguda de la enfermedad, cuando la parasitemia es alta, pero puede ser menos efectivo en fases subclínicas o en animales portadores. Sin embargo, esta técnica puede producir falsos negativos o positivos debido a diversos factores, lo que limita su sensibilidad y especificidad. Para superar

estas limitaciones, se han desarrollado métodos de diagnóstico molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que ofrecen resultados más objetivos y son menos afectados por la calidad de las muestras (Bose et al., 1995; Canever, 2014; Figueroa, 1993). Las PCR simples o PCR múltiples son técnicas poderosas para detectar los agentes de la babesiosis y anaplasmosis (de forma individual o simultánea) debido a su alta sensibilidad y especificidad. Permiten identificar incluso pequeñas cantidades de ADN de los patógenos, lo que facilita la detección temprana y precisa de la infección. Además, es rápido y versátil, proporcionando resultados en horas y siendo aplicable a una variedad de muestras clínicas, siendo útil en la vigilancia epidemiológica y la investigación científica (Parodi et al., 2020).

LAMP y pruebas serológicas

Se han desarrollado tecnologías avanzadas, como la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), con potencial para su uso rutinario en campo (Arnuphaprasert et al., 2023; Lizarazo-Zuluaga et al., 2022). También están disponibles las pruebas de detección de antígenos y los ensayos serológicos. Entre las pruebas serológicas se encuentra la inmunofluorescencia indirecta (Araoz, 2019), y el uso de ELISA con antígenos recombinantes o "crudos" (World Organization of Animal Health [WOAH], 2021; WOAH, 2015).

Anatomía patológica

Los hallazgos macroscópicos en casos agudos incluyen ictericia o palidez de la carcasa, sangre acuosa, plasma color rosa debido a la hemoglobinemia. Además, se observa esplenomegalia, hepatomegalia e hígado de color amarillento con patrón lobulillar y vesícula biliar llena. A nivel cardíaco se visualizan hemorragias a nivel de epicardio y endocardio e hidro pericardio (Barros et al., 2006; Constable et al., 2017). Los riñones muestran edema y una coloración oscura, con nefrosis por la anoxia, la orina de color "vino oporto" debido a la hemoglobinuria (Barros et al., 2006; Callow & McGavin, 1963; Constable et al., 2017). El bazo exhibe esplenomegalia congestiva marcada, exuda sangre al corte y presenta una consistencia barrosa (Rodrigue et al., 2005).

En casos de babesiosis nerviosa, las lesiones encefálicas son distintivas de *B. bovis*, ya que este hemoparásito tiende a acumularse en grandes cantidades en los

capilares cerebrales de los animales afectados (Buening, 1991). Dichas lesiones no se observan en *B. bigemina* (Callow & McGavin, 1963; Rodriguez-Vivas et al., 2005).

Los hallazgos histopatológicos son similares a los de enfermedades que causan hemólisis intravascular y anemia, con sinusoides hepáticos dilatados y llenos de sangre, degeneración de hepatocitos, canalículos biliares distendidos con bilis, ganglios linfáticos con mayor número de macrófagos y eritrocitos en su interior, congestión capilar cerebral con edema perivascular y pequeñas hemorragias, así como necrosis y congestión vascular en los riñones (Barros et al., 2006). Dentro de los posibles diagnósticos diferenciales de la babesiosis, deberíamos considerar la hemoglobinuria bacilar por *Clostridium haemolyticum* y leptospirosis aguda (Aleman & Carlsson, 2009), además de la anaplasmosis bovina, que debe ser considerado como el principal diferencial.

Aunque la anaplasmosis bovina comparte el mismo vector epidemiológico que la babesiosis, se distingue clínicamente por la ausencia de hemoglobinuria. A pesar de provocar una anemia intensa con ictericia, que suele aparecer en etapas tardías, la destrucción de eritrocitos ocurre principalmente de forma extravascular, mediante la fagocitosis en el sistema mononuclear fagocítico, especialmente en bazo e hígado. Esto contrasta con la babesiosis, donde la hemólisis es predominantemente intravascular, lo que genera hemoglobinemía, hemoglobinuria y pigmentación renal por hemoglobina libre (Constable et al., 2017).

Es importante diferenciar las intoxicaciones por plantas tóxicas que afectan el hígado como *Lantana camara* y *Senecio* spp. (Rivero et al., 2011), al igual que la intoxicación por cebolla (*Allium cepa*) (Góis, 2022) y la hematuria enzoótica causada por el helecho (*Pteridium aquilinum*) (Aleman & Carlsson, 2009) que están descriptas en la región. La intoxicación crónica por cobre si bien no es frecuente en bovinos debe ser considerada (Constable et al., 2017).

3 HIPÓTESIS

Los casos de babesiosis subaguda presentan manifestaciones clínicas y anatomicopatológicas diferentes a los agudos, siendo la ausencia de hemoglobinuria y el padrón de lesión anatomicopatológica a nivel hepático las más relevantes.

4 OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS

4.1 OBJETIVO GENERAL:

Aportar información epidemiológica y clínico-patológica sobre la presentación aguda y subaguda de la babesiosis bovina.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Describir dos casos de babesiosis bovina, pertenecientes a brotes y analizar el comportamiento de la enfermedad en ambos.
- Describir la forma subaguda de babesiosis bovina diagnosticada con menor frecuencia.
- Describir los aspectos epidemiológicos, signos clínicos, resultados laboratoriales, hallazgos macroscópicos y microscópicos de animales con cuadros clínicos compatibles con babesiosis aguda y subaguda en bovinos.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 CASOS CLÍNICOS:

Los casos clínicos (brote 1 y 2) de babesiosis bovina descriptos en el presente trabajo son derivados de veterinarios particulares los que solicitan la asistencia técnica de los laboratorios de Patología y Ectoparásitos de la Plataforma de Investigación en Salud Animal, INIA Tacuarembó. Los mismos ocurrieron en 2023 y el seguimiento de los brotes incluye visitas a los predios problema, evaluación clínica, análisis de laboratorio, necropsia de un animal de cada brote, histopatología y tratamiento.

5.2 REMISIÓN Y PRUEBAS DE LABORATORIO

Análisis de laboratorio Plataforma de Salud Animal – INIA Tacuarembó:

Se tomaron muestras de sangre y órganos de los animales autopsiados. Los órganos fueron hígado, bazo y cerebro refrigeradas, además de muestras de hígado, riñón, bazo y cerebro en formol al 10%. Se llevaron a cabo análisis de microhematocrito y estudios de histopatología, frotis y PCR.

Procesamiento histológico

Las muestras colectadas de la autopsia fueron procesados de forma rutinaria, incluidos en parafina, seccionadas a 4 micras de espesor y coloreadas por Hematoxilina & Eosina.

Microhematocrito y frotis

Las dos muestras de sangre con anticoagulante se le realizó el análisis de microhematocrito para establecer el porcentaje de anemia de los animales. Brevemente, se cargaron microcapilares con 70 μ l con sangre, centrifugados a 12.000 rpm por 4 minutos. La lectura se realizó con regla estandarizada de microhematocrito (IICA, 1987). Se toma como valor norma de microhematocrito entre 38-28%, siendo valores inferiores a estos porcentajes indicativos de anemia (Aleman & Carlsson, 2009).

Los frotis de sangre se hicieron por extensión fina, mientras que los de órganos se realizaron por impronta. Ambos fueron fijados con alcohol metílico durante 5 minutos y coloreados con Giemsa durante 45 minutos. Los frotis fueron visualizados en microscopio óptico Zeiss® (modelo PrimoStar 3, Alemania) en campo de inmersión de 100x. Los animales positivos se establecieron con una sensibilidad analítica mayor al 1% de eritrocitos parasitados (EP) para *B. bovis* y superior al 5% de (EP) para *B. bigemina* y *A. marginale* (Mangold, 2003).

Diagnóstico molecular

Para la extracción de ADN se partió de sangre y órganos y fue empleado el kit comercial (PureLink genomic DNA mini kit; Invitrogen) siguiendo las indicaciones del proveedor. Para esto se trabajó con alícuotas de 200 μ l de sangre fresca y 25 mg de órganos. La calidad y concentración de ADN fue cuantificada utilizando espectrofotómetro (NanoDrop 2000; Thermo Scientific).

Se utilizó la PCR multiplex descripta por Parodi et al. (2020), las condiciones de termociclado empleadas fueron las reportadas en la publicación. En cada reacción fueron incorporados controles positivos de *B. bovis*, *B. bigemina* y *A. marginale* y controles negativos (agua ultrapura). Los productos de amplificación de cada PCR fueron corridos en un gel de agarosa al 2% coloreados con GoodView (Beijing SBS Genetech Co., China) y visualizados en transiluminador de rayos UV.

6 RESULTADOS

Seguimiento de brotes

El brote 1 tuvo lugar en mayo 2023 en el departamento de Salto (figura 5), ubicado en el paraje de Sopas. En una superficie de 156 hectáreas, se ubicaba un lote de 94 novillos Hereford pastoreando en campo natural, procedentes de un rodeo cerrado donde previamente no se había detectado la presencia de garrapatas *Rhipicephalus microplus* ni se tenía registro de muertes por tristeza. En este establecimiento no se inmunizaba (uso de hemovacunas) al ganado contra hemoparásitos. Si bien el predio era libre, la zona era de riesgo con presencia del vector en varios establecimientos y el camino suele tener tránsito de animales. Se hipotetiza que los animales pudieron levantar larvas durante el traslado por tropa (una semana atrás), lo que se constató por la presencia de ninfas al momento de la autopsia del animal. La mortalidad en el brote 1 luego de 6 días (figura 6) fue de 43%, con un total de 40 muertes (40/94). Los bovinos afectados mostraban apatía y buscaban refugio en la sombra, presentando mucosas oculares ictéricas, mucosa oral pálida y una temperatura de 41°C. Algunos exhibían síntomas nerviosos como agresividad e incordinación.

El brote 2 tuvo lugar en noviembre del 2023 en el departamento de Tacuarembó, Paraje Santander (figura 5). Se da en un lote de animales compuesto por 75 terneras Hereford de 4 meses provenientes del departamento de Durazno y de un predio libre de garrapata y sin inmunizar (hemovacunas). Previamente habían sido compradas y trasladadas al departamento de Tacuarembó y se encontraban en un potrero de 55 hectáreas de campo natural. En el predio destino había presencia del vector (garrapata), donde su rutina sanitaria anual es la inmunización del rodeo (hemovacunas) y se tenía registro de animales enfermos y muertes en el pasado. En el periodo de 20 días (figura 6) se registra una mortalidad del 40%. Las terneras afectadas presentaban mucosas anémicas, temperatura de 41°C, apatía.



Figura 5 mapa con ubicación geográfica de ambos brotes, (círculo rojo brote 1, triangulo azul brote 2). Desing in QGIS.2.32.3

En ambos brotes se realizó la autopsia de 1 animal con fines diagnósticos, previo al tratamiento con imidocarb dipropionato en el brote 1 y una combinación de imidocarb dipropionato y oxitetraciclina en el brote 2.

Posterior al tratamiento en ambos brotes cesaron las muertes.

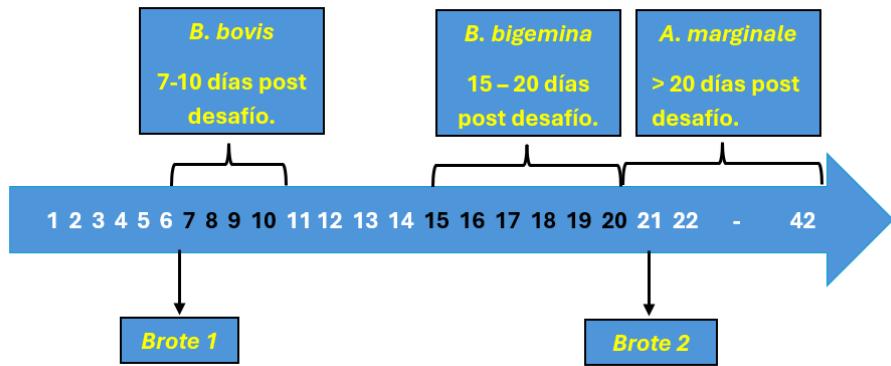


Figura 6 línea de tiempo que esquematiza el comienzo de los brotes, tomando el día 0 como el día del movimiento de ambos lotes y comparándolos con el promedio en días en que normalmente se dan los brotes causados por *B. bovis* (7-10 días posterior al desafío con el hemoparásito), *B. bigemina* (15-20 días) y *A. marginale* (superior a 20 días).

Hallazgos de autopsia

Los hallazgos anatomo-patológicos destacados del caso perteneciente al brote 1 fueron, ictericia difusa acentuada, musculatura pálida, hepatomegalia, hígado difusamente amarillento con patrón acinar evidente (figura 7 A y B), bilis grumosa, esplenomegalia (figura 7 C y D), corteza cerebral color cereza (babesiosis cerebral; figura 8) y riñones bilateralmente rojo oscuros (nefrosis hemoglobinurica, figura 8 A), y. Además de hidropericardio y hemorragias a nivel de epicardio. Las lesiones anteriormente citadas también fueron observadas en la ternera del brote 2, a excepción de hemoglobinuria y babesiosis cerebral.

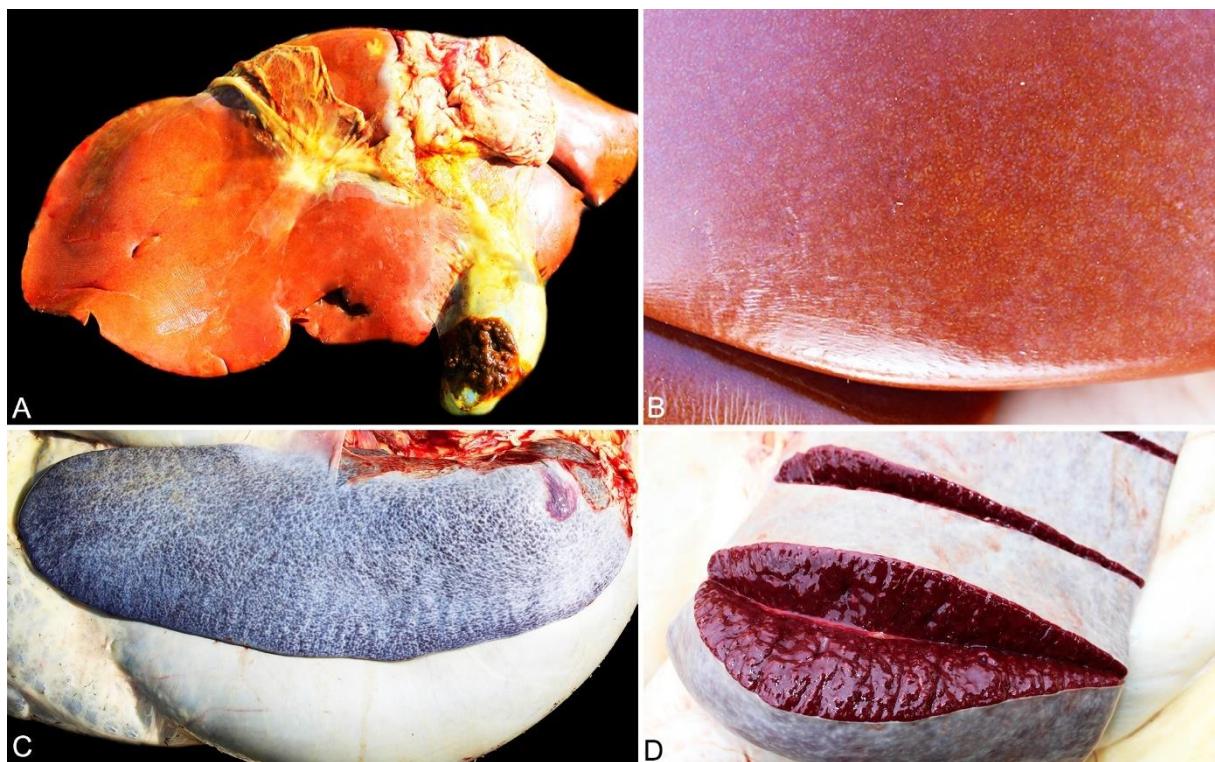


Figura 6. Babesiosis bovina aguda, fotos macroscópicas de hígado y bazo. Brote 1. A) Hígado con bordes redondeados, difusamente anaranjado (ictericia) y bilis densa y grumosa. B) Patrón acinar evidente de la superficie capsular caracterizado por áreas rojas y blanco amarillentas. C) Bazo aumentado de tamaño y bordes redondeados. D) Extrusión de la pulpa roja del bazo. Fuente PSA- INIA Tacuarembó.



Figura 7. Babesiosis bovina aguda, foto macroscópica de cerebro. Brote 1. Babesiosis cerebral caracterizada por corteza telencefálica difusamente enrojecida (color cereza). Fuente PSA- INIA Tacuarembó.

Histopatología

En el brote 1, las lesiones histológicas más relevantes incluyen nefrosis hemoglobinurica difusa acentuada caracterizada por degeneración y necrosis tubular, abundantes cilindros hialinos y granulosos (figura 9 B y C). En el hígado se observó necrosis hepatocelular centro lobulillar (figura 10 B) o randomica, desorganización de los cordones de hepatocitos, dilatación de las sinusoides (figura 10 C) y colestasis canalicular (figura 10 D). En cerebro se observó congestión vascular cortical difusa acentuada. En bazo, la pulpa roja era abundante, con cordones esplénicos acentuadamente dilatados por eritrocitos. Diferentemente de la ternera del brote 2, en

hígado se observó necrosis paracentral y mayor número de vacuolas a diferencia del caso perteneciente al brote 1 (figura 11) y no había lesiones a nivel renal.

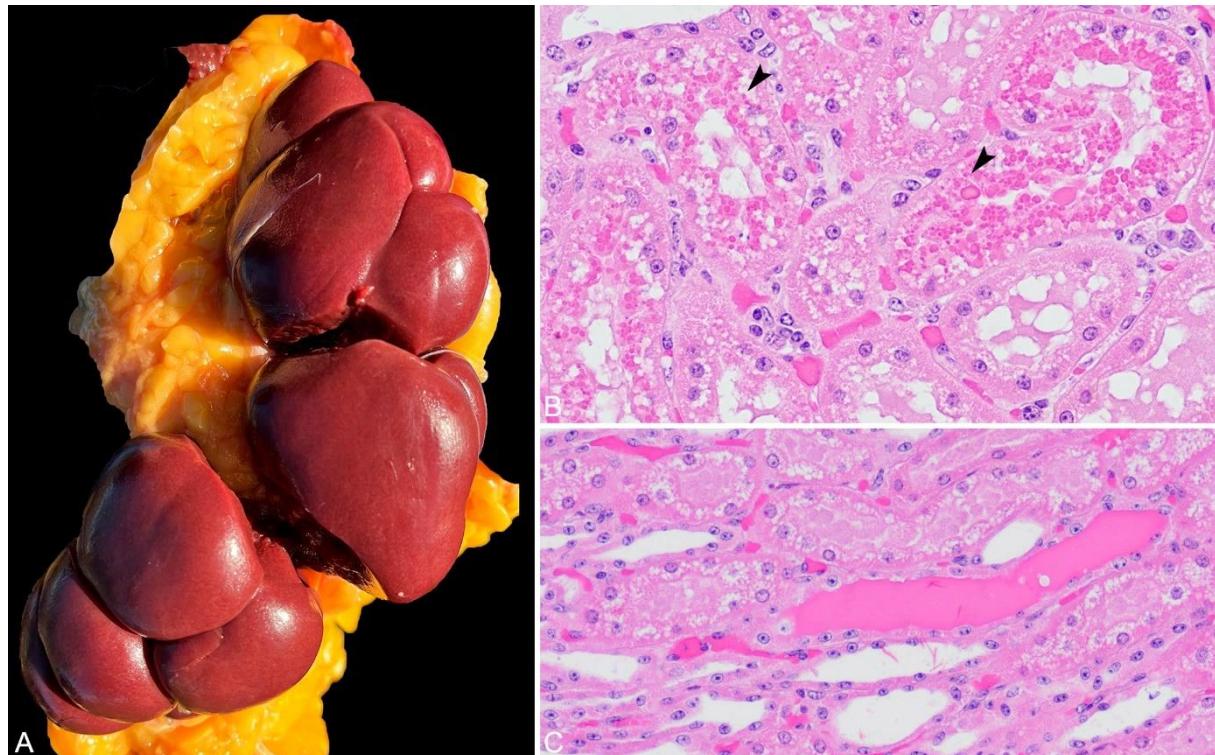


Figura 8. Babesiosis bovina aguda, foto macro y microscópica de riñón. Brote 1. A) Riñón difusamente rojo oscuro en consecuencia de la severa hemoglobinuria y grasa perirrenal amarilla (ictérica). B) Numerosas gotículas hialinas intracitoplasmáticas (flechas) en las células tubulares corticales. C) Vacuolización citoplasmática de las celulas tubulares y cilindro hialino. HE, obj. 10X. Fuente PSA- INIA Tacuarembó.

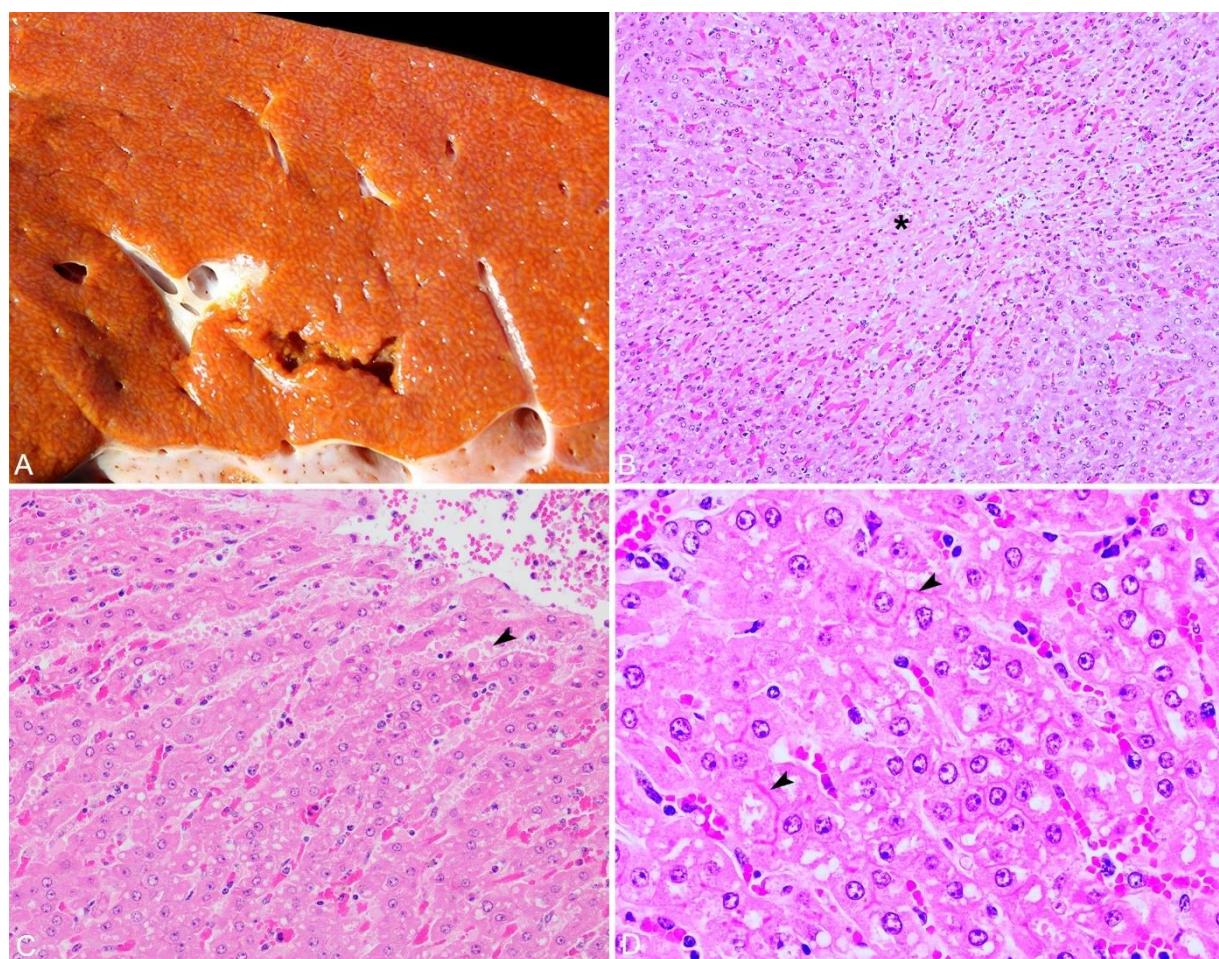


Figura 9. Babesiosis bovina aguda, foto macro y microscópica de hígado. Brote 1. A) Hígado difusamente anaranjado. B) Necrosis centrolobulillar de coagulación (*). C) Vacuolización hepatocelular difusa y sinusoides hepáticos distendidos por numerosas gotículas eosinofílicas en consecuencia de la degeneración hepatocelular (flechas). D) Canalículos biliares repletos de bilis debido a la estasis (flechas). B, C y D HE, obj. 10X. Fuente PSA- INIA Tacuarembó.

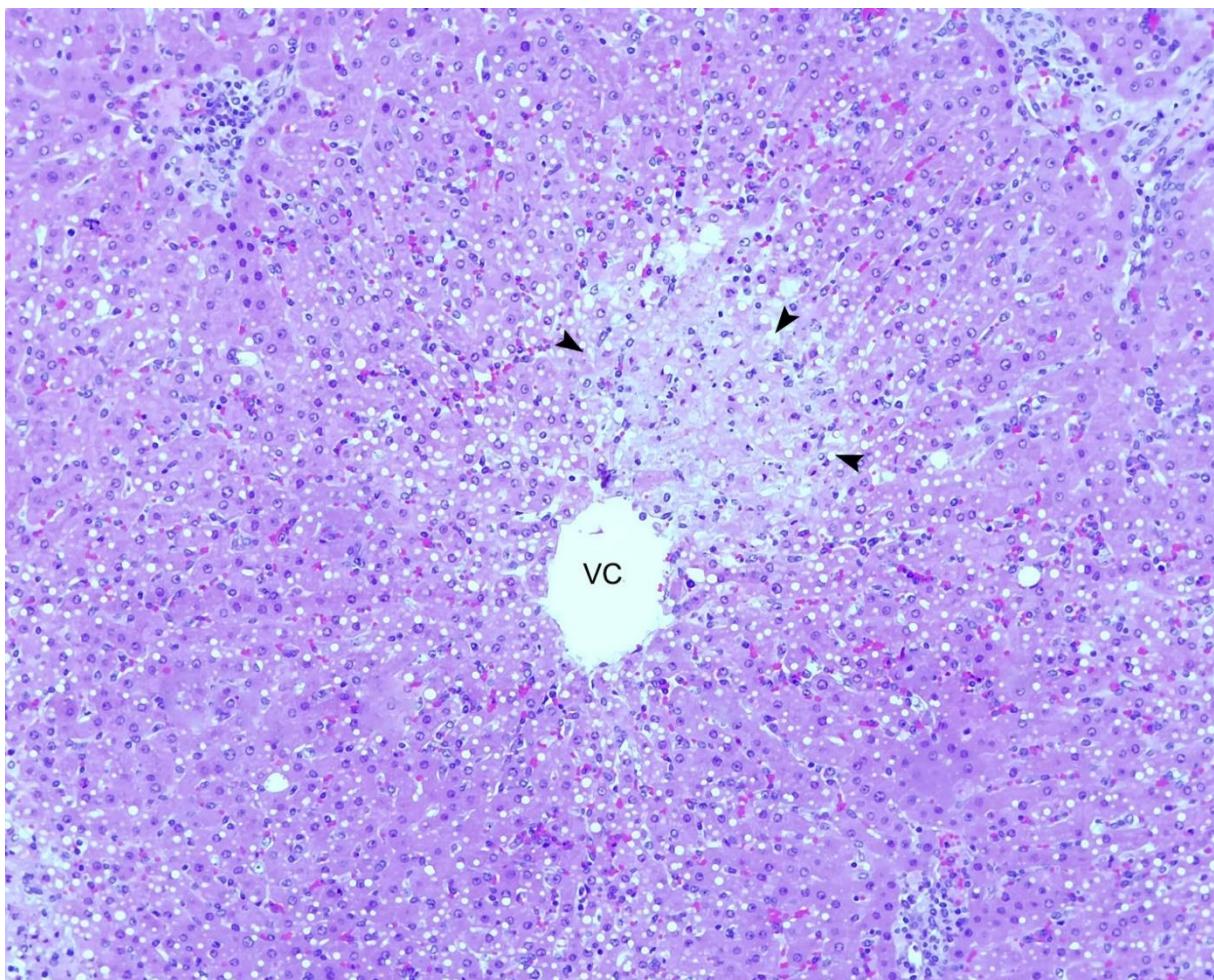


Figura 10. Babesiosis bovina subaguda, foto microscópica de hígado. Brote 2. Área de necrosis paracentral y vacuolización hepatocelular microgoticular difusa moderada (VC- vena central). HE, obj. 10X. Fuente PSA INIA Tacuarembó.

Microhematocrito y frotis

Para el animal perteneciente al brote 1 se registró un microhematocrito de 15%, siendo para el animal del brote 2 menor a 10%. En ambos animales se evidencia un cuadro de anemia.

En todos los frotis observados tanto del animal perteneciente a brote 1 y 2, se visualizaron estructuras parasitarias intraeritrocitarias, alargadas ovoides de 3 micras, con citoplasma azulado y vacuolas claras, compatibles con *B. bovis* (figura 11). Se logró cuantificar la carga parasitaria en los frotis de sangre reportando valores mayores a 5% de eritrocitos parasitados.

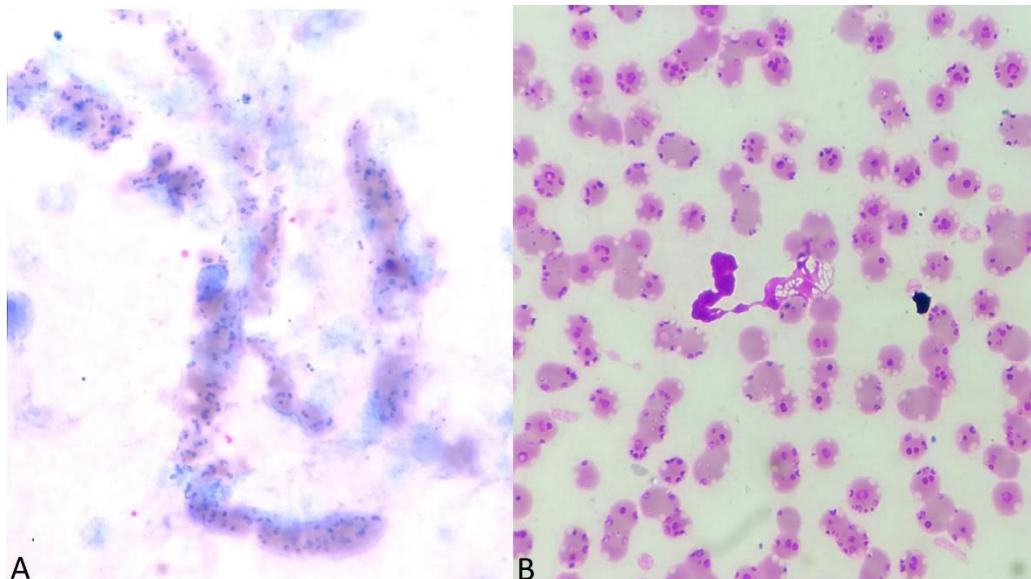


Figura 11. Frotis por impronta de cerebro y extendido de sangre. Coloreados con Giemsa y visualizado con objetivo inmersión 100X. Formas parasitarias intraeritrocitarias: A) frotis por impronta de cerebro donde se visualizan un trayecto capilar con estructuras intraeritrocitarias compatibles con *B. bovis* B) Eritrocitos con estructuras intraeritrocitarias compatibles con *B. bovis*. Fuente PSA- INIA Tacuarembó.

Diagnóstico molecular

El ADN de las muestras de sangre y órganos procesados por PCR multiplex fueron positivas a *B. bovis*, obteniendo un producto de ampliación 365 pares de bases (Figura 12)



Figura 12. PCR multiplex para detección de *Babesia* spp. y *Anaplasma marginale*. Electroforesis en gel de agarosa al 2%. Carriles: 1=sangre brote 1 positivo a *B. bovis*; 2= sangre brote 2 positivo a *B. bovis*; Ladder; 3= control positivo de *B bovis* (356 pb); 4= control positivo de *B. bigemina* (400 pb); 5= control positivo de *A. marginale* (458 pb); 6= controles múltiples; 7= control negativo. Fuente PSA- INIA Tacuarembó.

En suma, en base a los análisis realizados de descripción patológica y análisis de laboratorio complementarios (microhematocrito, frotis y PCR) estos brotes pusieron en manifiesto una presentación aguda (caso 1) con hemoglobinuria y de curso fatal y una subaguda (caso 2), también con desenlace fatal, pero sin hemoglobinuria.

7 DISCUSIÓN

La hemólisis intravascular es una alteración típicamente relacionada a la babesiosis bovina y suele ser fatal. La crisis hemolítica inducida por la babesiosis se traduce clínicamente en un cuadro agudo, con orina color rojo oscuro, mucosas pálidas, ictericia y anemia grave. Los animales afectados suelen ser encontrados en estado grave o muertos en zonas bajas y húmedas (Constable et al., 2017), como sucedió en el caso del brote 1.

Se constató la muerte de un gran número de animales, posterior a un cambio de potrero en el brote 1. Se hace énfasis en que estos animales fueron transportados por tropa por la calle donde se supone que tuvieron contacto por primera vez con el vector *R. microplus*. Al tratarse de animales mayores a un año los cuales desarrollan un cuadro clínico más grave como lo describe Constable et al. (2017), se evidencia en la alta tasa de mortalidad superior al 43%. Alta tasa de mortandad (40%) también fue observada en el brote 2, donde las terneras fueron trasladadas de zona libre para zona con presencia de garrafa.

La epidemiología, signos clínicos y anatomía patológica coinciden con lo descripto en la bibliografía en el primer brote (Farias, 2013; Nari et al. 2007; Solari 2007, Solari 2013) y sigue una dinámica clásica. En contrasten, en el brote 2, se observó la forma subaguda de babesiosis, que no suele ser acompañada de cuadro hemolítico con hemoglobinuria. Esta forma de babesiosis es poco reportada en literatura veterinaria (Constable et al., 2017; Euzébi, 1979).

En el brote 2 el pico de las muertes ocurrió a los 20 días. Los datos epidemiológicos pueden auxiliar en la diferenciación de las enfermedades; normalmente brotes causados por *B. bovis* aparecen 7-10 días posterior al desafío con el hemoparásito, como sucede en el brote 1; *B. bigemina* 15-20 días y *A. marginale* superior a 20 días (Farias, 2023). Las formas subagudas y crónicas de babesiosis y anaplasmosis se sobreponen epidemiológicamente y comparten los mismos hallazgos clínicos y microscópicos. La ausencia de hemoglobinuria y el pico de muertes a los 20 días de ingreso al predio, podría orientar un diagnóstico presuntivo de anaplasmosis.

La babesiosis subaguda suele afectar terneros y múltiples factores tales como virulencia del agente, inmunidad del hospedador, y cantidad del inóculo pueden estar relacionados con la intensidad de los signos clínicos y favorecer la presentación de las distintas formas clínicas (Farias, 2023). Las diferentes presentaciones de los cuadros clínicos y grados de virulencia podrían estar condicionados por la circulación de diferentes cepas de *Babesia* spp., por lo que en Uruguay se deberían realizar estudios sobre esta temática de variaciones genética de las cepas circulantes (Parodi, 2019).

Frente a la ausencia de alteraciones típicas como la hemoglobinuria en los casos de babesiosis, el diagnóstico diferencial debe considerar otras enfermedades

que causan anemia y/o ictericia y que no están asociadas a hemoglobinuria (Constable et al., 2017; Euzebi, 1979), como ejemplo la anaplasmosis, además de otras causas infecciosas, así como intoxicaciones. Pero como quedó demostrado en este trabajo, la forma subaguda no cursa con hemoglobinuria lo cual debe ser incluido en el abordaje integral del diagnóstico.

En lo que respecta a la histopatología a nivel hepático se observó en el brote 1 una necrosis centrolobulillar que es particularmente común en casos de anemia aguda ya que esta porción del lóbulo recibe la menor cantidad de sangre oxigenada y, por lo tanto, es susceptible a la hipoxia además de tener la mayor actividad enzimática (oxidasa de función mixta) capaz de activar compuestos en formas tóxicas (Zachary, 2017).

En cambio, en el brote 2 se pudo observar necrosis paracentral que involucra solo una cuña de parénquima alrededor de la vena central. La forma del acino se ve afectada, debido a la anemia grave y sostenida en el tiempo como sucede aquí. Debido a que varios acinos bordean una sola vena central, los cambios inducidos por la hipoxia no están presentes igualmente en todos los acinos, por lo tanto, hepatocitos en la periferia de algunos acinos tienen cambios más severos que los acinos adyacentes. La formación de un mayor número de vacuolas citoplasmáticas sugiere una hipoxia de curso subagudo, donde los hepatocitos, sometidos a una disminución progresiva del oxígeno, desarrollan degeneración hidrópica y lipídica como intento de adaptación previo a la muerte celular (Zachary, 2017).

Es importante resaltar la rapidez y alta sensibilidad de las técnicas moleculares como la PCRm para la detección temprana y poder instaurar un correcto tratamiento y diagnóstico (Parodi et al., 2020). Se debe de considerar que la babesiosis puede ser confundida con la anaplasmosis bovina y que el tratamiento no es el mismo (Book et al., 2004), y tener en cuenta que además de la anaplasmosis hay otras enfermedades diferenciales (Cuore & Solari, 2022) que deberían ser abordadas de otra manera.

Los resultados obtenidos evidencian diferencias relevantes entre los casos de babesiosis bovina subaguda y aguda, tanto en la presentación clínica como en los hallazgos histopatológicos, especialmente a nivel hepático, por lo tanto, los hallazgos respaldan la hipótesis propuesta. Estas diferencias, sin embargo, no son lo suficientemente específicas para permitir un diagnóstico definitivo, ya que ciertas manifestaciones clínicas y anatomo-patológicas pueden confundirse con cuadros de

anaplasmosis bovina. Para resolver esto es necesario la identificación precisa del agente etiológico dentro del complejo tristeza parasitaria bovina lo que requiere el empleo de pruebas complementarias como el frotis sanguíneo y PCR. Estas pruebas en conjunto permiten distinguir entre presentaciones clínicas similares, pero etiológicamente diferentes.

8 CONCLUSIONES

Se describió un caso típico de babesiosis aguda (hemolítica) en novillos y un caso de babesiosis subaguda no asociada hemoglobinuria en terneras, siendo este el primer caso autóctono reportado en Uruguay causado por *B. bovis*. A considerar que la ausencia de hemoglobinuria no excluye la infección por *B. bovis* y dicha presentación debe ser tenida en cuenta como diagnóstico diferencial sobre todo en bovinos jóvenes. Debido a la posibilidad de confusión con la anaplasmosis bovina, se reafirma la necesidad de realizar un diagnóstico diferencial riguroso, fundamentado en métodos complementarios como el frotis sanguíneo y PCR múltiple. Los factores causantes de la ocurrencia de esta presentación clínica (babesiosis sub aguda) deben ser mejor investigados.

9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Almeida, M. B., Tortelli, F. P., Riet-Correa, B., Montiel, J. L., Soares, M. P., Farias, N. A., Riet-Correa, F., & Schild, A. L. (2006). Tristeza parasitaria bovina na região sul do Rio Grande do Sul: estudo retrospectivo de 1978-20051. *Pesquisa Veterinaria Brasil*, 26, 237-242. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2006000400008>
- Aleman, M., & Carlsson, G.P (2009). Diseases of the hemolymphatic systems. En B.P Smith, *Large animal medicine* (4^a ed., pp. 1155-1159). Mosby Elsevier.
- Amorim, L. S., Wenceslau, A. A., Carvalho, F. S., Carneiro, P. L. S., & Albuquerque G. R. (2014). Bovine babesiosis and anaplasmosis complex: diagnosis and

evaluation of the risk factors from Bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(3), 328-336. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014064>

Arnuphaprasert, A., Nugraheni, Y. R., Aung, A., Asada, M., & Kaewthamasorn, M. (2023). Detection of Babesia bovis using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) with improved thermostability, sensitivity and alternative visualization methods. *Scientific Reports*, 13(1), 1838. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29066-1>

Barros, C. S. L., Driemeier, D., Dutra, I. S., & Lemos, R. A. A. (2006). *Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil*. Ed. Vallée.

Bock, R., Jackson, L., de Vos, A., & Jorgensen, W. (2004). Babesiosis of cattle. *Parasitology*, 129 (Suppl), S247-S269. <https://doi.org/10.1017/s0031182004005190>

Callow, L. L., & McGavin, M. D. (1963). Cerebral babesiosis due to Babesia argentina. *Australian Veterinary Journal*, 39(1), 15-21. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1963.tb04170.x>

Canever, M. F., Vieira, L. L., Reck, C., Richter, L., & Milette, L. C. (2014). First evaluation of an outbreak of bovine babesiosis and anaplasmosis in Southern Brazil using multiplex PCR. *The Korean journal of parasitology*, 52(5), 507-511. <https://doi.org/10.3347/kjp.2014.52.5.507>

Cardozo, H., Nari, A., Franchi, M., López, A., & Donatti, N. (1984). Estudio sobre la ecología del Boophilus Microplus en tres áreas enzoóticas del Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 20(86-87), 4-10. <https://www.revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/977>

Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., & Gruenberg, W. (2017). Diseases of the Hemolytic and Immune Systems. Veterinary medicine. En P. D. Constable, K. W. Hinchcliff, S. H. Done, & W. Gruenberg, *A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats* (11^a ed., Vol. 1, pp. 799-811). Elsevier.

Costa, V. M., Ribeiro, M. F., Duarte, A. L., Mangueira, J. M., Pessoa, A. F., Azevedo, S. S., Barros, A. T., Riet-Correa, F., & Labruna, M. B. (2013). Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria = Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 22(2), 207-213.

<https://doi.org/10.1590/S1984-29612013005000022>

Cuore, U., Altuna, M., Cicero, L., Fernández, F., Luengo, L., Mendoza, R., Nari, A., Pérez Rama, R., Solari, M., & Trelles, A. (2012). Aplicación del tratamiento generacional de la garrapata en la erradicación de una población multirresistente de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 48(187), 5-13.

<https://www.revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/204>

Cuore, U., & Solari, M. (2022). *Manual práctico para el control de la garrapata común del ganado y enfermedades asociadas*. CEV, MGAP.

Euzéby, J. (1979). Las babesiosis de los bovinos. En Centro Médico Veterinario de Paysandú (Ed.), *Jornadas Uruguayas de Buiatría* (Vol. 7, pp. 9-23). CMVP.

Farias, N. A. (2023). Tristeza parasitaria bovina. En F. Riet-Correa, A. Schild, R. Lemos, J. Borges, F. Mendoça, & M. Machado (Ed.), *Doenças de ruminantes e equídeos* (4^a ed., pp. 563-570). MedVet.

Fiel, C., & Nari, A. (2013). *Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes*. Ed Hemisferio Sur.

Figueroa, J. V., Chieves, L. P., Johnson, G. S., & Buening, G. M. (1993). Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood. *Veterinary Parasitology*, 50(1-2), 69-81. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90008-b](https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90008-b)

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2004). Ticks: Acaricide resistance, diagnosis, management and prevention. En *Guideline resistance management and integrated parasite control in ruminants* (pp. pp 1- 32). FAO.

Fry, M. M., & Mc Gavin, M. D. (2007). Bone marrow, blood cells and lymphatic system. En M.D. McGavin & J. F. Zachary (Eds.), *Pathologic basic of veterinary diseases* (4^a ed., pp. 743-832). Mosby Elsevier.

Góis Padilha Hugen, G.F. (2022). *Intoxicação espontânea e reprodução experimental por cebola (Allium cepa) em bovinos* [Tesis de doctorado, Universidade do estado de Santa Catarina]. UDESC.
https://www.udesc.br/arquivos/cav/id_cpmenu/3159/INTOXICA_O_POR_CEBOLA_ALLIUM_CEPA_EM_BOVINOS_16611826874864_3159.pdf

Gonzalez, I., López, G., Nuñez, S., Alejo Menchaca, A., Parodi, P., & Machado, M. (2024). Foco de babesiosis subaguda en terneros no asociada a hemoglobinuria en el departamento de Tacuarembó. En Centro Médico Veterinario de Paysandú (Ed.), *Jornadas Uruguayas de Buiatría* (Vol. 51, pp.138-139). CMVP.

Guglielmone A. A. (1995). Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. *Veterinary Parasitology*, 57(1-3), 109-119.

[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)03115-d](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)03115-d)

Jonsson, N. N., Bock, R. E., Jorgensen, W. K., Morton, J. M., & Stear, M. J. (2012). Is endemic stability of tick-borne disease in cattle a useful concept?. *Trends in Parasitology*, 28(3), 85-89. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2011.12.002>

Kocan, K. M., de la Fuente, J., Blouin, E. F., Coetzee, J. F., & Ewing, S. A. (2010). The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary Parasitology*, 167(2-4), 95-107. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.012>

Lizarazo-Zuluaga, A. P., Carvajal-Gomez, B. I., Wilkowsky, S., Cravero, S., Trangoni, M., & Mosqueda, J. (2022). Development and standardization of a Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) test for the detection of *Babesia bigemina*. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 1056355.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1056355>

Mangold A J. (2003). *El diagnóstico de babesiosis y anaplasmosis. Exóticas en la región*. Sitio Argentino de Producción Animal.
http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/par

[asitarias/Bovinos_garrapatas_tristeza/42-diagnostico_babesiosis_y_anaplasmosis.pdf.](#)

Miraballes, C., Riet-Correa, F., Araoz, V., & Fuellis, C., (2018). Control de la garrapata *Rhipicephalus* (*Boophilus*) microplus y la tristeza parasitaria. *Revista INIA*, (52), 13-17.

Nava, S., Gamietea, I. J., Morel, N., Guglielmone, A. A., & Estrada-Peña, A. (2022). Assessment of habitat suitability for the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) microplus in temperate areas. *Research in Veterinary Science*, 150, 10-21. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2022.04.020>

Organización Mundial de Sanidad Animal. (2014). Babesiosis bovina. En *Manual terrestre de la OIE 2014* (pp. 1-18). OIE.

Parodi, P., Armúa-Fernández, M. T., Corbellini, L. G., Rivero, R., Miraballes, C., Riet-Correa, F., & Venzal, J. M. (2022). Description of bovine babesiosis and anaplasmosis outbreaks in northern Uruguay between 2016 and 2018. *Veterinary Parasitology, Regional Studies and Reports*, 29, 100700. <https://doi.org/10.1016/j.vprs.2022.100700>

Parodi, P., Corbellini, L. G., Leotti, V. B., Rivero, R., Miraballes, C., Riet-Correa, F., Venzal, J. M., & Armúa-Fernández, M. T. (2021). Validation of a multiplex PCR assay to detect *Babesia* spp. and *Anaplasma marginale* in cattle in Uruguay in the absence of a gold standard test. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 33(1), 73-79. <https://doi.org/10.1177/1040638720975742>

Parodi, P., & Menchaca, A. (2024). *Garrapata del bovino Rhipicephalus microplus*. <https://inia.uy/garrapata-del-bovino-rhipicephalus-microplus-1a-parte-la-garrapata-cartilla>

Patarroyo, J. H., Vargas, M. I., & Bicudo, P. L. (1982). Description of lesions in cattle in a natural outbreak of *Babesia bovis* infection in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 11(4), 301-308. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(82\)90098-x](https://doi.org/10.1016/0304-4017(82)90098-x)

Radostits, O. M., Gay, C. C., Blood, D. C., & Hinchcliff, K. W. (2002). *Medicina veterinaria: tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino* (9^a. ed., Vol. 1). McGraw-Hill.

Rivero, R., Gianneechini, E., Matto, C., & Gil, J. (2011). Intoxicación por Lantana camara en bovinos y ovinos en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 47(181), 29-34. <https://www.revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/177>

Rodrigues, G.D., Lucas, M., Ortiz, H.G., dos Santos Concalves, L., Blodorn, W., Silva, L., Saravia, A., Parodi, P., Riet-Correa, F., Menchaca, A., Farias, V., Kütter, T., & Ferreira, R. (2022). Molecular of Anaplasma marginale Theiler (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in horseflies (Diptera: Tabanidae) in Uruguay. *Scientific Report*, 12, 22460. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-27067-0>

Rodríguez-Vivas, R. I., Quiñones, A. F., & Ramírez, C. G. (2005). Epidemiología, prevención y control de la babesiosis bovina. En R. I. Rodríguez-Vivas, *Enfermedades de importancia económica en producción animal* (pp. 205-225). McGraw-Hill.

Solari, M. A. (2006). Epidemiología y perspectivas en el control de hemoparásitos. En Centro Médico Veterinario de Paysandú (Ed.), *Jornadas Uruguayas de Buiatría* (Vol. 34, pp.36-40). CMVP.

Solari, M. A., Cuore, U., Sanchis, J., Gayo, V., Trelles, A., Bermudez, F., & Rizzo, E. (2007). Aplicación del control integrado de parásitos (CIP) a la garrapata Boophilus microplus en Uruguay. Aplicación del control integrado de parásitos (CIP) en un establecimiento comercial. En *Seminario Regional FAO* (pp. 9-25). FAO.

Solari, M. A., Dutra, F., & Quintana, S. (2013). Epidemiología y prevención de los hemoparásitos (Babesia y Anaplasma) en el Uruguay. En C. Fiel, & A. Nari, *Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes*. (pp. 657-688). Ed Hemisferio sur.

Soulsby, E. (1987). *Parasitología y Enfermedades parasitarias en los Animales Domésticos* (7^a ed.). Interamericana.

- Suarez, C. E., & Noh, S. (2011). Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. *Veterinary Parasitology*, 180(1-2), 109-125.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.032>
- Rivero, R., Gianneechini, E., Matto, C., & Gil, J. (2011). Intoxicación por Lantana camara en bovinos y ovinos en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 47(181), 29-34. <https://www.revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/177>
- Vally, T., & Gentry, P. A. (2007). Hematopoietic system. En *Jubb, Kennedy and Palmer's. Pathology of domestic animals* (5^a ed., vol, 3, pp. 239-247). Elsevier Saunders.
- Vanzini, V. R., & Ramírez, L. M. (1994). Babesiosis y Anaplasmosis Bovina: Diagnóstico, epidemiología y control. *INTA-Argentina RIA*, 25(3), 137-190.
- World Organization of Animal Health. (2015). Anaplasmosis bovina. En *Manual Terrestre de la OIE 2015* (pp. 1-16). WOAH.
- World Organization of Animal Health. (2021). Babesiosis bovina. En *Manual Terrestre de la OIE 2018* (pp. 1-18). WOAH.
- Zachary, J. F. (2017). *Pathologic basis of veterinary disease* (6^a. ed.) Elsevier.